

# СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ АММОНИЕВЫХ АЦИЛГИДРАЗОНОВ НА ОСНОВЕ 4,6-ДИ-*трет*-БУТИЛ-2,3-ДИГИДРОКСИБЕНЗАЛЬДЕГИДА

© 2022 г. А. В. Богданов<sup>а,\*</sup>, С. В. Бухаров<sup>б</sup>, Р. А. Гарифуллина<sup>б</sup>, А. Д. Волошина<sup>с</sup>, А. П. Любина<sup>с</sup>, С. К. Амерханова<sup>с</sup>, М. С. Безсонова<sup>д</sup>, З. Ю. Хапцев<sup>д</sup>, О. М. Цивилева<sup>е</sup>

<sup>а</sup> Казанский (Приволжский) федеральный университет, ул. Кремлевская 18, Казань, 420008 Россия

<sup>б</sup> Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, 420015 Россия

<sup>с</sup> Институт органической и физической химии имени А. Е. Арбузова, Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, 420088 Россия

<sup>д</sup> Саратовский государственный аграрный университет имени Н. И. Вавилова, Саратов, 410005 Россия

<sup>е</sup> Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, Федеральный исследовательский центр «Саратовский научный центр Российской академии наук», Саратов, 410049 Россия

\*e-mail: abogdanov@inbox.ru

Поступило в редакцию 16 марта 2022 г.

После доработки 17 июля 2022 г.

Принято к печати 21 июля 2022 г.

Реакцией конденсации 4,6-ди-*трет*-бутил-2,3-дигидроксибензальдегида с некоторыми аммониевыми ацетогидразидами получены водорастворимые ацилгидразоны с различным строением катионного центра. Показано, что в отношении золотистого стафилококка, восковой бациллы и фекального энтерококка хлорид триметиламмониевого производного проявляет активность на уровне или выше препаратов сравнения – норфлоксацина и хлорамфеникола соответственно. Полученные соединения не обладают токсическим действием в отношении эритроцитов и нормальных клеток печени человека. Впервые показана высокая активность диэтилметиламмониевого ацилгидразона против образования биопленок, образуемых клиническими штаммами стафилококков. Установлена высокая эффективность новых соединений в ингибировании роста фитопатогенов бактериального и грибкового происхождения.

**Ключевые слова:** фенолы, соли аммония, фитопатогены, гидразоны, антимикробная активность, бактериальные биопленки

**DOI:** 10.31857/S0044460X22100018, **EDN:** JWQOMY

Одним из самых популярных современных направлений в поиске лекарственных препаратов является использование концепции «молекулярной гибридизации», заключающейся в объединении в одной молекуле нескольких фармакологически важных структурных фрагментов [1–4]. Одним из таких фармакофоров является аммониевый фрагмент. Известно, что большинство четвертичных

аммониевых солей обладают различными видами биологической активности, такими как противовирусная, противоопухолевая, антихолинэстеразная, антималярийная и др. [5–13]. Наиболее исследованными являются антибактериальные свойства этих соединений [14–18], при этом предполагается, что механизм их действия связан с изменением заряда поверхности и нарушением целостности бак-

Схема 1.

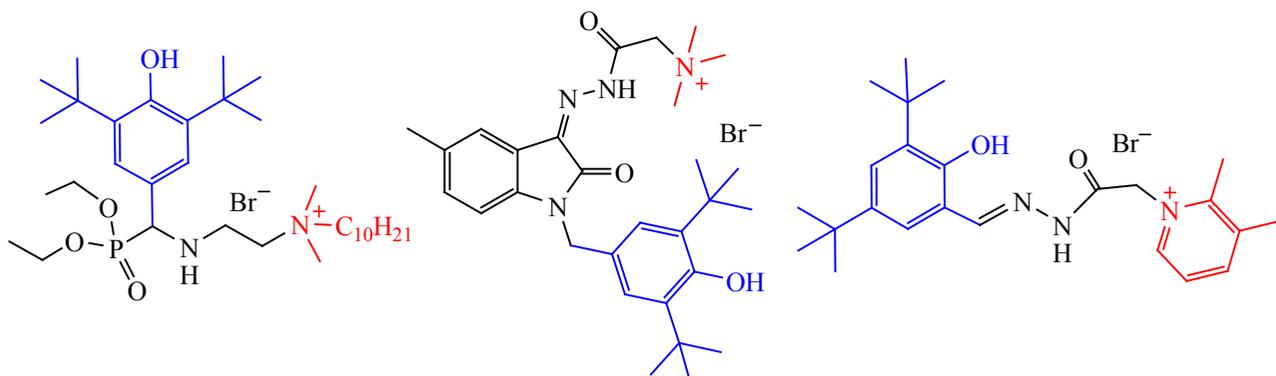
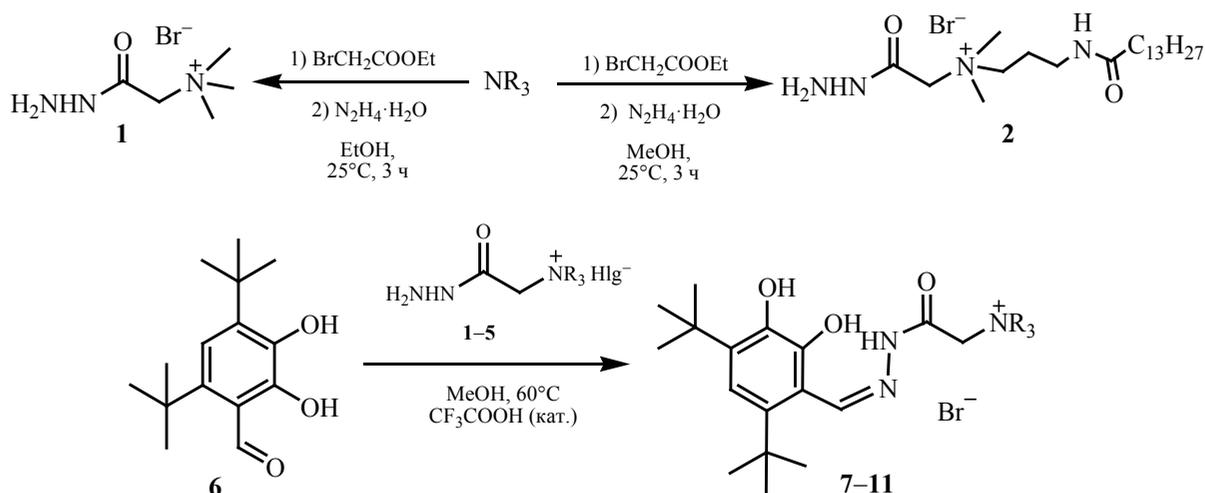


Схема 2.

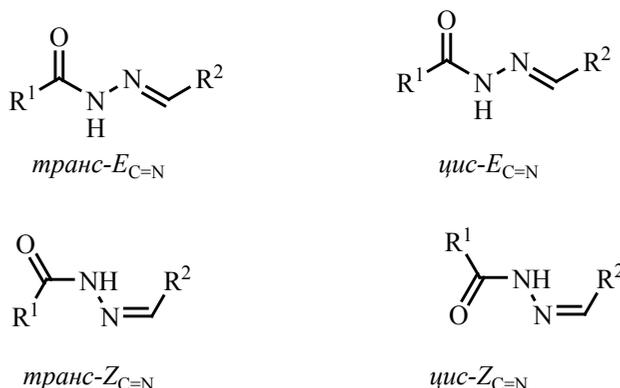


териальной клетки [19–21]. Одним из популярных направлений дизайна четвертичных аммониевых солей является получение полимерных структур, многие из которых обладают свойством разрушать биопленки патогенных микроорганизмов [22–25]. Однако имеются и данные, свидетельствующие о высокой токсичности этих соединений [26, 27]. Одним из возможных путей нивелирования этого негативного эффекта может являться введение в структуру четвертичных аммониевых солей фенольного фрагмента. Следуя концепции «молекулярной гибридизации», весьма перспективным

представляется объединение в одной молекуле четвертичного атома азота и стерически затрудненного фенола, так как последние могут сочетать как антимикробные [28], так и противоопухолевые свойства [29]. Несмотря на всю привлекательность данной синтетической стратегии в настоящее время имеется всего несколько работ по синтезу и исследованию антимикробных свойств гибридных соединений на основе фенолов и четвертичных аммониевых солей (схема 1) [30–32].

В продолжение поиска эффективных антимикробных агентов на основе аммонийсодержащих

Схема 3.



фенолов [32–36] в данной работе описывается синтез новых гибридных ацилгидразонов **7–11**, содержащих фрагменты стерически затрудненного фенола и четвертичного атома азота, и исследована их антибиопленочная и антифитопатогенная активность. На первом этапе по аналогии с известной методикой [32] последовательностью реакций кватернизации третичных аминов этиловым эфиром бромуксусной кислоты с последующим гидразинолизом были получены с высокими выходами соли аммониевых гидразидов **1–4** (схема 2). При этом гидразиды **1** и **2** были получены нами впервые.

Синтез целевых соединений **7–11** проводили по реакции конденсации 4,6-ди-*трет*-бутил-2,3-дигидроксибензальдегида **6** с аммониевыми ацетогидразидами **1–5** в метаноле в присутствии каталитических количеств трифторуксусной кислоты (табл. 1).

Строение новых соединений однозначно доказано с помощью ЯМР, ИК спектроскопии и масс-спектрометрии, состав подтвержден элементным анализом. Известно, что в обычных условиях (25°C, 1 атм) в растворах ацилгидразоны могут существовать в различных пространственных формах, обусловленных конформационной *цис/транс*-изомерией амидной группы и геометрической *E/Z*-изомерией относительно связи C=N [37] (схема 3).

Так, в спектрах ЯМР  $^1\text{H}$  гидразонов **7–11** в области слабого поля присутствует удвоенный набор сигналов протонов метиленовой группы  $\text{CH}_2\text{N}^+$  (4.33–4.63 и 4.75–4.82 м. д.), арильного заместителя (6.78–6.85 и 6.81–6.82 м. д.), NH-группы (12.58–12.66 и 10.51–10.54 м. д.), альдиминного фрагмента (9.23–9.51 и 8.95–9.01 м. д.) и гидроксильного протона в *орто*-положении (12.58–13.70 и 12.10–12.29 м. д.) соответственно в основном

Таблица 1. Выходы и изомерный состав солей **7–11**

Соединение	NR <sub>3</sub>	Hlg	Выход гидразона, %	Соотношение изомеров
<b>3, 7</b>	Et <sub>2</sub> NMe	Br	77	4.5:1 2.7:1
<b>4, 8</b>		Br	93	
<b>5, 9</b>	NMe <sub>3</sub>	Cl	98	7.5:1
<b>1, 10</b>	NMe <sub>3</sub>	Br	93	4.5:1
<b>2, 11</b>	C <sub>13</sub> H <sub>27</sub> C(O)NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NMe <sub>2</sub>	Br	83	6.5:1

Таблица 2. Антимикробная активность соединений 7–11<sup>a</sup>

Соединение	МИС, мкг/мл						
	<i>Sa</i>	<i>Bc</i>	<i>Ef</i>	<i>Ec</i>	<i>Pa</i>	<i>Tm</i>	<i>Ca</i>
<b>9</b>	<b>7.8±0.6</b>	<b>15.6±1.2</b>	<b>7.8±0.7</b>	>500	>500	>500	<b>62.5±5.3</b>
<b>10</b>	<b>31.3±2.6</b>	<b>15.6±1.3</b>	62.5±5.6	>500	>500	>500	<b>62.5±5.5</b>
<b>11</b>	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
7 <sup>b</sup>	<b>0.98</b>	<b>0.98</b>	– <sup>b</sup>	>500	>500	>500	>500
8 <sup>b</sup>	<b>7.8</b>	<b>3.9</b>	– <sup>b</sup>	>500	>500	>500	>500
Хлорамфеникол	62.5±5.4	62.5±5.3	62.5±5.2	125±11	– <sup>г</sup>	– <sup>г</sup>	– <sup>г</sup>
Норфлоксацин	<b>2.4±0.2</b>	<b>7.8±0.6</b>	<b>7.8±0.6</b>	<b>1.5±0.1</b>	<b>3.9±0.2</b>	– <sup>г</sup>	– <sup>г</sup>
Бактерицидная и фунгицидная активность							
<b>9</b>	62.5±5.5	>500	62.5±5.3	>500	>500	>500	<b>62.5</b>
<b>10</b>	62.5±5.4	>500	62.5±5.2	>500	>500	>500	<b>62.5</b>
<b>11</b>	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
7 <sup>b</sup>	7.8	15.6	– <sup>b</sup>	>500	>500	>500	>500
8 <sup>b</sup>	31.3	31.3	– <sup>b</sup>	>500	>500	>500	>500
Хлорамфеникол	>500	>500	>500	>500	– <sup>г</sup>	– <sup>г</sup>	– <sup>г</sup>
Норфлоксацин	<b>2.4±0.2</b>	<b>7.8±0.6</b>	<b>7.8±0.6</b>	<b>7.8±0.6</b>	<b>15.6±1.3</b>	– <sup>г</sup>	– <sup>г</sup>

<sup>a</sup> *Sa* – *Staphylococcus aureus*, *Ba* – *Bacillus cereus*, *Ef* – *Enterococcus faecalis*, *Ec* – *Escherichia coli*, *Pa* – *Pseudomonas aeruginosa*, *Tm* – *Trichophyton mentagrophytes*, *Ca* – *Candida albicans*.

<sup>b</sup> Приведены данные из работы [32] для сравнения.

<sup>b</sup> – Не исследовалось.

<sup>г</sup> – Нет активности.

и минорном изомерах. Соотнесение сигналов протонов ОН- и NH-групп сделано на основании имеющихся данных по установлению структуры 4,6-ди-*трет*-бутил-2,3-дигидроксибензальдегида **1** [38] и бензоилгидразона на его основе [39]. Соотношение изомеров определено интегрированием площадей пиков сигналов в спектрах ЯМР <sup>1</sup>H продуктов реакций 7–11. В спектрах ЯМР <sup>13</sup>C также наблюдается удвоение некоторых сигналов атомов углерода, например, связанных с четвертичным атомом азота (в группах CH<sub>3</sub>N<sup>+</sup> и CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>). По всей вероятности, образование двух изомеров происходит непосредственно в ходе реакции на стадии формирования связи C=N.

Исследованием антимикробной активности новых соединений **9–11** в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий и против дрожжеподобного патогенного гриба *Candida albicans* установлена селективность их действия. Так, триметиламмониевые производные **9**, **10** показали высокую активность против грамположительных бактерий – золотистого стафилококка, восковой

бациллы и фекального энтерококка (табл. 2). По бактериостатическому действию они оказались активнее хлорамфеникола в 8, 4 и 8 раз соответственно, уступая при этом норфлоксацину. Следует отметить, что замена одной метильной группы при четвертичном атоме азота в соединении **10** на тетрадециламидопропильный фрагмент в соединении **11** привела к резкому снижению активности в отношении исследуемых штаммов бактерий. Вместе с тем, сравнение полученных нами ранее данных [32] показало, что более липофильная диэтилметиламмониевая соль **7** является самой активной из данного ряда соединений, обладая при этом ещё и значительным бактерицидным действием. Важно также отметить факт влияния природы аниона на проявление антимикробного эффекта. Так, хлорид **9** оказался активнее соответствующего бромида **10** в отношении золотистого стафилококка в 4 раза, а против фекального энтерококка – в 8 раз. При этом по бактерицидному действию они оказались равными.

**Таблица 3.** Цитотоксическое действие и гемолитическая активность соединений **9**, **10**

Соединение	IC <sub>50</sub> , мкМ.	HC <sub>50</sub> , мкг/мл
<b>9</b>	65.7	>250
<b>10</b>	80.0	>250

Исследование гемолитической активности ацилгидразонов **9**, **10** указало на отсутствие гемотоксичности. Так, значение HC<sub>50</sub>, показывающее концентрацию, вызывающую гемолиз 50% эритроцитов, составило >250 мкг/мл. Принимая во внимание существенное влияние природы галогенида в солях **9**, **10**, представлялось целесообразным также оценить их цитотоксическое действие в отношении нормальных клеток печени человека (табл. 3). Как видно из полученных данных, цитотоксичность хлорида **9** и бромида **10** оказалась низкой и при этом практически не зависела от природы аниона.

Из более чем 140 видов описанных возбудителей маститов наиболее частой этиологической причиной выступают стафилококки и стрептококки [40–42]. В данной работе было впервые проведено исследование активности соединений **7**, **8** против *Staphylococcus spp.*, относящихся к так называемой группе NAS (non-aureus *Staphylococci*), и *Staphylococcus aureus*, выделенных из молока коров с признаками клинического мастита, которые являются наиболее частыми возбудителями этого опасного заболевания. В последнее время получены данные, что маститы, вызванные этими стафилококками, протекают длительно, нанося ощутимый экономический ущерб. Поэтому в последние годы большинство исследователей относят NAS к эмерджентным возбудителям маститов [43, 44]. Антибактериальная активность соединений **7**, **8** определялась методом диффузии в агар [45], который основан на оценке угнетения роста тест-микроорганизмов под действием растворов тестируемых соединений с различной концентрацией. Использовались выделенные клинические штаммы *Staphylococcus spp.* и референтный штамм *S. aureus* ATCC 6538 (P209).

Полученные данные показали, что по отношению ко всем выделенным клиническим штам-

мам *Staphylococcus spp.*, выделенных от больных маститом коров, и в отношении референтного штамма *S. aureus* ATCC 6538 (P209) наибольшей активностью обладало соединение **7**, содержащее диэтилметиламониевый фрагмент. Минимальная концентрация, при которой обнаруживалась задержка роста, составила 6 мкг/мл, в то время как соединение **8** не обладало антибактериальной активностью уже в концентрации 100 мкг/мл.

В результате микроскопического изучения способности выделенных культур *Staphylococcus spp.* к образованию биопленок, было установлено, что все выделенные клинические штаммы стабильно образовывали биопленку при выращивании на покровных стеклах при 37°C через 24–36 ч.

В связи с тем, что наибольшую активность в отношении *Staphylococcus spp.* проявило соединение **7**, в дальнейшей работе мы использовали именно его. Для того чтобы выявить именно антибиопленочное действие и не спутать его с антибактериальным действием, раствор соединения **7** вносили в бульон с выросшими биопленками из расчета, чтобы конечная концентрация составляла 0.006 мг/мл. Результат учитывали через 24 ч после культивирования. После окраски фиксированных препаратов конго красным и фуксином, было установлено негативное влияние соединения **7** на биопленки стафилококков.

В продолжение исследования антифитопатогенной активности аммониевых ацилгидразонов [46] в данной работе было впервые определено действие представителей данного типа аммониевых солей против грибов *Fusarium oxysporum* IBPPM 543 и *Phytophthora cactorum* VKM F-985. Среди разнообразных мицелиальных патогенных грибов грибы из родов *Fusarium* и *Phytophthora* являются одними из самых разрушительных известных патогенов растений, поражают широкий круг хозяев и способны вызывать потери урожая и, в конечном

**Таблица 4.** Фунгицидная активность соединений **7** и **8** против гриба *Fusarium oxysporum* IBPPM 543

Соединение	с, мкг/мл <sup>a</sup>	Величина ингибирования, % <sup>a</sup> при возрасте культуры, сут			EC <sub>50</sub> , мкг/мл <sup>a</sup>
		5	7	10	
<b>7</b>	37.76	60	16	1	31.47
<b>8</b>	39.36	60	54	46	
	9.84	14	20	27	12.30
	4.92	12	7	0	
	2.46	10	4	0	
	0.984	2	1	0	
	0.492	0	0	0	
Флудиоксонил	60	35	16	9	
	30	33	15	8	
	15	30	13	5	
	10	23	10	2	

<sup>a</sup>Здесь и далее приведены средние величины, среднее квадратичное отклонение не превышало 0.03 от приведенного значения.

итоге, гибель целых зараженных растений [47]. *F. oxysporum* относят к агрессивным возбудителям среди видов *Fusarium*, и, в частности, различные отрасли пищевой промышленности чрезвычайно восприимчивы к фузариозу зерновых культур [48]. *Phytophthora cactorum* является возбудителем фитофтороза женьшеня, растения, которое широко применяется в традиционной медицине для лечения различных заболеваний, включая рак [49].

Первичный скрининг на наличие антифунгальных свойств на примере соединений **7**, **8**, вводимых в состав агаризованной среды для культивирования грибов *F. oxysporum* и *P. cactorum*, проводили в интервале концентраций от 40 до 0.5 мкг/мл (от 80 до 1 нмоль/мл). Величину ингибирования роста гриба выражали в процентах с учетом того, что количественная характеристика отсутствия ингибирования выражается величиной 0%. Значение ингибирования не ниже 10% при возрасте грибной культуры 10 сут показала диметилпиридиниевая соль **8** (табл. 4), поэтому его фунгицидную активность далее тестировали при более низких концентрациях.

На основании полученных данных нами был рассчитан показатель EC<sub>50</sub>, равный концентрации препарата, при которой величина радиального роста колонии гриба относительно бесфунгицидного контроля снижалась на 50%. Данная величина,

рассчитанная для возраста грибной культуры 5 сут. (табл. 4), оказалась наименьшей для аммониевой соли **8**. Минимальная ингибирующая концентрация этого вещества равна 2.46 мкг/мл при условии, что величины ингибирования ниже 10% не учитываются. Данный подход при анализе МИК применяется достаточно широко при оценке фунгицидной эффективности новых соединений [50]. При этом следует отметить, что оба ацилгидразона **7** и **8** демонстрировали более выраженное, в сравнении с флудиоксоном, ингибирование *F. oxysporum* на ранней стадии вегетативного роста мицелия (до 7 сут). Более того, соединение **8** даже при возрасте грибной культуры 10 сут оказывало ингибирующее действие на радиальный рост колоний фузариума на 46 и 27% при уровне около 40 и 10 мкг/мл соответственно, что в 5.8–13.5 раз превосходило фунгицидное действие флудиоксона (табл. 4). Значительное снижение антифунгальной способности в динамике эксперимента выявлено у соединения **7**. Оно характеризовалось тем, что в начале опыта, до 5 сут культивирования *F. oxysporum*, это соединение ингибировало рост мицелия на 60% с последующим резким снижением эффективности. Можно предположить, что при дальнейшем росте гриба происходили либо утилизация препарата как источника углерода, либо процессы его биодеструкции с полной потерей фунгицидных свойств.

**Таблица 5.** Фунгицидная активность соединений **7** и **8** против гриба *Phytophthora cactorum* VKM F-985

Соединение	с, мкг/мл	Величина ингибирования, % при возрасте культуры, сут			EC <sub>50</sub> , мкг/мл
		5	10	14	
<b>7</b>	9.44	85	87	80	5.55
<b>8</b>	4.92	39	46	44	6.31
Флудиоксонил	10	38	35	9	13.16

**Таблица 6.** Сравнительная фунгицидная активность аммониевых солей **7** и **8**

№	с, нмоль/мл	Величина ингибирования при возрасте культуры 5 сут, %	
		<i>F. oxysporum</i>	<i>P. cactorum</i>
<b>7</b>	80	60	97
	20	9	85
	10	5	18
	2	1	3
<b>8</b>	80	60	82
	20	14	44
	10	12	39
	2	2	13

Результаты эксперимента по оценке устойчивости *P. cactorum* к растворам соединений **7**, **8** представлены в табл. 5. Величина EC<sub>50</sub>, рассчитанная для возраста грибной культуры 5 сут, оказалась самой низкой для соединения **7**. При этом оба соединения **7**, **8** проявляли свойства эффективных фунгицидных агентов и характеризовались величиной ингибирования не ниже 39% в течение всего периода наблюдений. Имело место быть некоторое усиление фунгицидных свойств тестируемых соединений как компонент питательной среды роста *P. cactorum*, особенно для гидразона **8** – на 18% к 10 сут развития мицелия. Однако наиболее важным является тот факт, что соединение **7** даже при длительном культивировании фитотрофы ингибировало радиальный рост колоний гриба на 80% при уровне менее 10 мкг/мл, что в 8.9 раз превосходило фунгицидное действие широко применяемого препарата флудиоксонила (табл. 5).

Сравнение фунгицидной активности аммониевых солей **7**, **8** против гриба *Fusarium oxysporum* с их антагонистическим действием в отношении фитотрофы выявило значительно большую способность соединений ингибировать радиальный

рост мицелия *P. cactorum* при одинаковых концентрациях в среде выращивания грибов (табл. 6).

В продолжение работы была изучена активность соединений **7**, **8** в отношении некоторых бактериальных фитопатогенов: *Micrococcus luteus*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Pectobacterium atrosepticum*, *Pseudomonas fluorescens* и *Xanthomonas campestris*. Данные штаммы бактерий являются возбудителями многих заболеваний культурных растений, приводя к снижению их качества и непригодности для приема в пищу [51–53]. В связи с этим поиск новых препаратов для борьбы с фитопатогенами бактериального происхождения также представляется актуальной задачей. Так, определение активности соединений **7**, **8** показало их ненулевую активность против бактериальных тест-систем (табл. 7). Сравнение на данном этапе проводили с коммерческим препаратом 0.05%-ного раствора хлоргексидина биглюконата в воде. Вне зависимости от тест-штаммов антибактериальное действие аммониевых солей **7**, **8** характеризовалось величиной ширины зоны ингибирования не менее 4 мм. При этом соединение **7** оказалось в различной степени

**Таблица 7.** Бактерицидная активность соединений **7** и **8** (с 2 ммоль/л)

Соединение	Ширина зоны ингибирования, мм <sup>a</sup>				
	<i>M. luteus</i>	<i>P. atrosepticum</i>	<i>P. carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	<i>Ps. fluorescens</i>	<i>X. campestris</i>
<b>7</b>	12	9	9	10	8.5
<b>8</b>	7	4	7	4	7
Хлоргексидин (500 мкг/мл)	5	4	5	4	5

<sup>a</sup> Приведены величины, средние по результатам трех экспериментов.

**Таблица 8.** Сравнительная бактерицидная активность соединений **7** и **8** (с 2 ммоль/л)

Бактериальная тест-система	Ширина зоны ингибирования, мм				
	12	10	8	6	4
<i>Micrococcus luteus</i> В-109	<b>7</b>	–	–	<b>8</b>	–
<i>Pectobacterium atrosepticum</i> 1043	–	–	<b>7</b>	–	<b>8</b>
<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i> MI	–	–	<b>7</b>	<b>8</b>	–
<i>Pseudomonas fluorescens</i> EL-2.1	–	<b>7</b>	–	–	<b>8</b>
<i>Xanthomonas campestris</i> В-610	–	–	<b>7</b>	<b>8</b>	–

эффективнее не только пиридиниевого аналога **8**, но и препарата сравнения.

Суммируя предварительные данные можно заключить, что наиболее высокий антифитопатогенный эффект проявило соединение **7**, содержащее диэтилметиламмониевый фрагмент (табл. 8).

Таким образом, в данной работе был получен ряд водорастворимых аммониевых ацилгидразонов, содержащих стерически затрудненный пирокатехиновый фрагмент. Было установлено, что триметиламмониевые производные проявляют высокую активность против грамположительных бактерий (*S. aureus*, *B. cereus* и *E. faecalis*) при отсутствии гемо- и цитотоксичности. Также впервые показана способность диэтилметиламмониевого гидразона разрушать биопленки, образованные клиническими штаммами стафилококков, выделенных от больных маститом коров. Определена высокая активность представителей данного ряда соединений против фитопатогенов бактериального (*M. luteus*, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, *P. atrosepticum*, *P. fluorescens* и *X. campestris*) и грибкового (*F. oxysporum* и *P. cactorum*) происхождения, превосходящая широко применяемые препараты.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

4,6-Ди-*трет*-бутил-2,3-дигидроксибензальдегид **6** [38] и соединения **7**, **8** [32] получены по описанным ранее методикам. Гидразид **5** (реагент Жирара Т) является коммерчески доступным реагентом.

ИК спектры записаны на спектрометре Bruker Vector-22 для суспензий веществ в пластинках КВг. Спектры ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C зарегистрированы на приборе Bruker Avance-400 (400 и 100.6 МГц соответственно) и Bruker Avance-600 (600 и 150 МГц соответственно). Значения химических сдвигов приведены относительно остаточных сигналов дейтерированного растворителя. Масс-спектры MALDI регистрировали на масс-спектрометре UltraFlex III TOF/TOF. Температуры плавления измеряли на приборе SMP10 Stuart. Элементный анализ проведен с использованием анализатора CHNS-3. Содержание галогенов определяли пиролизом в токе кислорода.

**Бромид 2-гидразинил-N,N,N-триметил-2-оксоэтиламмония (1).** К раствору 4 мл (13.6 ммоль, 20%-ный водный раствор) триметиламина в 10 мл этанола добавляли 1 мл (9.0 ммоль) этило-

вого эфира бромуксусной кислоты. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре 3 ч и оставляли на ночь. Растворитель удаляли в вакууме, добавляли диэтиловый эфир и снова удаляли его в вакууме. Остаток помещали в морозильную камеру. Полученный бромид 2-этокси-2-оксоэтил-N,N,N-триметиламмония (выход 1.5 г, 74%) растворяли в 15 мл этанола, добавляли 0.37 мл (7.4 ммоль, 80%-ный водный раствор) гидразингидрата, перемешивали при комнатной температуре 3 ч и оставляли на ночь. Растворитель удаляли в вакууме, остаток промывали диэтиловым эфиром и сушили в вакууме. Выход 1.2 г (85%), белый порошок, т. пл. 168–170°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м. д.: 3.25 с [9H,  $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+$ ], 4.14 с (2H,  $\text{CH}_2$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta_{\text{C}}$ , м. д.: 50.4 [ $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+$ ], 60.3 ( $\text{CH}_2$ ), 162.5. Найдено, %: С 28.68; Н 6.43; Вг 38.06; N 19.40.  $\text{C}_5\text{H}_{14}\text{BrN}_3\text{O}$ . Вычислено, %: С 28.32; Н 6.65; Вг 37.67; N 19.81.

**Бромид N-(2-гидразинил-2-оксоэтил)-N,N-диметил-3-тетрадециламидопропил-1-аммония (2).** К раствору 1 г (3.2 ммоль) N-[3-(диметиламино)пропил]тетрадеканамида в 5 мл метанола добавляли 0.38 мл (3.4 ммоль) этилового эфира бромуксусной кислоты. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре 3 ч и оставляли на ночь. Растворитель удаляли в вакууме с последующим добавлением к остатку диэтилового эфира. Полученный раствор снова вакуумировали. К образовавшемуся маслянистому осадку добавляли 5 мл метанола и 0.18 мл (3.6 ммоль, 80%-ный водный раствор) гидразингидрата, перемешивали при комнатной температуре 3 ч и оставляли на ночь. Растворитель удаляли в вакууме, остаток 3 раза промывали диэтиловым эфиром и сушили в вакууме. Выход 1.3 г (87%), белый порошок, т. пл. 53–55°C. ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3412, 3284, 3085, 2916, 2850, 1686, 1641, 1560, 1470, 1261, 1125. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 0.86 т (3H,  $\text{CH}_3$ ,  $^3J_{\text{HH}}$  6.9), 1.24 уш. с (20H, 10  $\text{CH}_2$ ), 1.44–1.52 м (2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.80–1.88 м (2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.07 т (2H,  $\text{CH}_2$ ,  $^3J_{\text{HH}}$  7.6), 3.06–3.13 м (2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.17 с [6H,  $(\text{CH}_3)_2\text{N}^+$ ], 3.42–3.49 м (2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.98–4.05 м (2H,  $\text{CH}_2$ ), 4.55 уш. с (2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.93 с (1H, NH), 9.72 с (1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta_{\text{C}}$ , м. д.: 13.9 ( $\text{CH}_3$ ), 22.0 ( $\text{CH}_2$ ), 22.7 ( $\text{CH}_2$ ), 25.1 ( $\text{CH}_2$ ), 28.6 ( $\text{CH}_2$ ), 28.7 ( $\text{CH}_2$ ), 28.8 ( $\text{CH}_2$ ), 28.88 ( $\text{CH}_2$ ), 28.94 ( $\text{CH}_2$ ), 28.98 ( $\text{CH}_2$ ), 31.2 ( $\text{CH}_2$ ), 35.4 ( $\text{CH}_2$ ), 51.2 [ $(\text{CH}_3)_2\text{N}^+$ ],

61.1 ( $\text{CH}_2$ ), 63.0 ( $\text{CH}_2$ ), 161.8, 172.4. Масс-спектр (MALDI),  $m/z$ : 385 [ $M - \text{Br}$ ] $^+$ . Найдено, %: С 53.89; Н 9.63; Вг 17.46; N 11.80.  $\text{C}_{21}\text{H}_{45}\text{BrN}_4\text{O}_2$ . Вычислено, %: С 54.18; Н 9.74; Вг 17.16; N 12.04.

**Бромид 2-[2-(4,6-ди-*трет*-бутил-2,3-дигидроксибензилиден)гидразинил]-N,N-диэтил-N-метил-2-оксоэтиламмония (7)** получали по методике [32]. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): основной изомер, 1.39 с (9H, *t*-Bu), 1.44 с (9H, *t*-Bu), 1.46 т (6H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N}^+$ ,  $^3J_{\text{HH}}$  7.2), 3.34 с (3H,  $\text{CH}_3\text{N}^+$ ), 3.68–3.73 м (4H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 4.63 с (2H,  $\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 6.12 уш. с (1H, OH), 6.85 с (1H, ArH), 9.51 с (1H, =CH), 12.56 уш. с (1H, NH), 13.30 с (1H, OH); минорный изомер, 4.64 с (2H,  $\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 6.81 с (1H, ArH), 8.26 с (1H, OH), 8.93 с (1H, =CH), 10.38 уш. с (1H, NH), 12.08 с (1H, OH), остальные сигналы совпадают с сигналами протонов основного изомера. Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ -ДМСО- $d_6$ ),  $\delta_{\text{C}}$ , м. д.: 28.7, 32.5, 34.6, 34.9, 48.0, 57.6, 57.7, 58.7, 111.4, 114.3, 136.3, 140.1, 141.1, 147.2, 152.0, 157.7.

**Бромид 1-{2-[2-(4,6-ди-*трет*-бутил-2,3-дигидроксибензилиден)гидразинил]-2-оксоэтил}-2,3-диметилпиридиния (8)** получали по методике [32]. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): основной изомер, 1.35 с (9H, *t*-Bu), 1.42 с (9H, *t*-Bu), 2.54 с (3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.70 с (3H,  $\text{CH}_3$ ), 5.73 с (2H,  $\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 6.79 с (1H, ArH), 7.96 т (1H, 3-Пу,  $^3J_{\text{HH}}$  7.0), 8.28 уш. с (1H, OH), 8.49 д (1H, 4-Пу,  $^3J_{\text{HH}}$  7.6), 8.93 д (1H, 2-Пу,  $^3J_{\text{HH}}$  5.9), 9.31 с (1H, =CH), 12.49 с (1H, NH), 12.91 с (1H, OH); минорный изомер, 1.39 с (9H, *t*-Bu), 1.41 с (9H, *t*-Bu), 2.50 с (3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.67 с (3H,  $\text{CH}_3$ ), 6.02 с (2H,  $\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 6.85 с (1H, ArH), 8.25 уш. с (1H, OH), 8.89 д (1H, 2-Пу,  $^3J_{\text{HH}}$  5.9 Гц), 9.01 с (1H, =CH), 10.65 с (1H, NH), 12.29 с (1H, OH), остальные сигналы совпадают с сигналами протонов основного изомера. Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta_{\text{C}}$ , м. д.: основной изомер, 17.0 ( $\text{CH}_3$ ), 19.2 ( $\text{CH}_3$ ), 29.0 ( $\text{CMe}_3$ ), 32.5 ( $\text{CMe}_3$ ), 34.8 ( $\text{CMe}_3$ ), 35.0 ( $\text{CMe}_3$ ), 58.8 ( $\text{CH}_2$ ), 111.9, 114.2 (CH), 124.3, 136.3, 138.2, 138.8, 142.0, 144.8, 146.4, 148.0, 150.5, 155.5, 160.4; минорный изомер, 17.5 ( $\text{CH}_3$ ), 29.3 ( $\text{CMe}_3$ ), 33.8 ( $\text{CMe}_3$ ), 35.8 ( $\text{CMe}_3$ ), 35.9 ( $\text{CMe}_3$ ), 59.6 ( $\text{CH}_2$ ), 113.7, 115.2, 125.0, 137.0, 139.6, 144.9, 149.2, 165.1, остальные сигналы совпадают с сигналами основного изомера.

**Общая методика синтеза новых гидразонов 9–11.** К раствору соответствующего гидразида 1,

**2** или **5** (3.0 ммоль) в 15 мл метанола, добавляли 0.78 г (3.1 ммоль) 4,6-ди-*трет*-бутил-2,3-дигидроксибензальдегида **6** и 3 капли трифторуксусной кислоты. Реакционную смесь перемешивали при 60°C в течение 6 (для соединений **10**, **11**) или 8 ч (для соединения **9**). Растворитель удаляли в вакууме, порошкообразный твердый остаток промывали диэтиловым эфиром и сушили в вакууме.

**Хлорид 2-[2-(4,6-ди-трет-бутил-2,3-дигидроксибензилиден)гидразинил]-N,N,N-триметил-2-оксоэтиламмония (9)**. Выход 98%, белый порошок, т. пл. 213–215°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м. д.: основной изомер, 1.36 с (9H, *t*-Bu), 1.39 с (9H, *t*-Bu), 3.32 с [9H,  $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+$ ], 4.41 с (2H,  $\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 6.78 с (1H, ArH), 8.27 с (1H, OH), 9.40 с (1H, =CH), 12.60 с (1H, NH), 13.70 уш. с (1H, OH); минорный изомер, 4.82 с (2H,  $\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 6.81 с (1H, ArH), 8.34 с (1H, OH), 9.01 с (1H, =CH), 10.52 с (1H, NH), 12.29 с (1H, OH), остальные сигналы совпадают с сигналами протонов основного изомера. Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta_{\text{C}}$ , м. д.: основной изомер, 29.1 (CMe<sub>3</sub>), 32.5 (CMe<sub>3</sub>), 34.8 (CMe<sub>3</sub>), 35.0 (CMe<sub>3</sub>), 53.5 (CH<sub>3</sub>N<sup>+</sup>), 63.0 (CH<sub>2</sub>), 112.0, 114.1 (CH), 136.2, 139.1, 142.0, 148.2, 151.0 (CH), 159.4; минорный изомер, 32.4 (CMe<sub>3</sub>), 53.2 [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>], 61.7 (CH<sub>2</sub>), 113.2, 114.7 (CH), 136.5, 146.5, 148.9, 161.9, остальные сигналы совпадают с сигналами основного изомера. Масс-спектр (MALDI),  $m/z$ : 365 [M – Cl]<sup>+</sup>. Найдено, %: C 59.78; H 8.63; Cl 9.06; N 10.40. C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>. Вычислено, %: C 60.06; H 8.57; Cl 8.86; N 10.51.

**Бромид 2-[2-(4,6-ди-трет-бутил-2,3-дигидроксибензилиден)гидразинил]-N,N,N-триметил-2-оксоэтиламмония (10)**. Выход 93%, белый порошок, т. пл. 215–217°C. ИК спектр,  $\nu$ , см<sup>-1</sup>: 3435, 3152, 2958, 2874, 1694, 1593, 1478, 1414, 1366, 1272, 1200, 1169, 1129, 970, 770. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м. д.: основной изомер, 1.36 с (9H, *t*-Bu), 1.40 с (9H, *t*-Bu), 3.34 с [9H,  $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+$ ], 4.40 с (2H,  $\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 6.79 с (1H, ArH), 8.32 с (1H, OH), 9.23 с (1H, =CH), 12.58 с (1H, NH), 12.64 с (1H, OH); минорный изомер, 1.37 с (9H, *t*-Bu), 4.82 с (2H,  $\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 6.82 с (1H, ArH), 8.36 с (1H, OH), 8.97 с (1H, =CH), 10.54 с (1H, NH), 12.12 с (1H, OH), остальные сигналы совпадают с сигналами протонов основного изомера. Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta_{\text{C}}$ , м. д.: основной изомер, 29.6

(CMe<sub>3</sub>), 33.0 (CMe<sub>3</sub>), 35.4 (CMe<sub>3</sub>), 35.6 (CMe<sub>3</sub>), 54.1 [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>], 63.2 (CH<sub>2</sub>), 112.4, 114.8 (CH), 136.9, 139.4, 142.6, 148.7, 151.3 (CH), 160.0; минорный изомер, 32.9 (CMe<sub>3</sub>), 53.8 [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>], 62.3 (CH<sub>2</sub>), 113.3, 115.2 (CH), 137.52, 139.6, 142.5, 164.6, остальные сигналы совпадают с сигналами основного изомера. Масс-спектр (MALDI),  $m/z$ : 365 [M – Br]<sup>+</sup>. Найдено, %: C 53.79; H 7.63; Br 18.24; N 9.70. C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>. Вычислено, %: C 54.05; H 7.71; Br 17.98; N 9.46.

**Бромид N-{2-[2-(4,6-ди-трет-бутил-2,3-дигидроксибензилиден)гидразинил]-2-оксоэтил}-N,N-диметил-3-тетрадециламинопропил-1-аммония (11)**. Выход 83%, бежевый порошок, т. пл. 169–171°C. ИК спектр,  $\nu$ , см<sup>-1</sup>: 3447, 3169, 3067, 2957, 2924, 2853, 1701, 1634, 1594, 1598, 1468, 1416, 1366, 1273, 1214, 1154, 1127, 970, 770. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): основной изомер, 0.85 т (3H, CH<sub>3</sub>,  $^3J_{\text{HH}}$  6.8), 1.16–1.28 м (20H, CH<sub>2</sub>), 1.36 с (9H, *t*-Bu), 1.40 с (9H, *t*-Bu), 1.42–1.48 м (2H, CH<sub>2</sub>), 1.85–1.94 м (2H, CH<sub>2</sub>), 2.01–2.08 м (2H, CH<sub>2</sub>), 3.09–3.15 м (2H, CH<sub>2</sub>), 3.30 с [6H,  $(\text{CH}_3)_2\text{N}^+$ ], 3.52–3.59 м (2H, CH<sub>2</sub>), 4.33 с (2H,  $\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 6.78 с (1H, ArH), 7.92 т (1H, NH,  $^3J_{\text{HH}}$  5.7), 8.27 с (1H, OH), 9.23 с (1H, =CH), 12.58 уш. с (1H, NH), 12.66 с (1H, OH); минорный изомер, 4.75 с (2H,  $\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 6.81 с (1H, ArH), 8.95 с (1H, =CH), 10.51 с (1H, NH), 12.10 с (1H, OH), остальные сигналы совпадают с сигналами протонов основного изомера. Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta_{\text{C}}$ , м. д.: основной изомер, 14.4 (CH<sub>3</sub>), 22.5 (CH<sub>2</sub>), 23.3 (CH<sub>2</sub>), 25.6 (CH<sub>2</sub>), 29.17 (CH<sub>2</sub>), 29.28 (CH<sub>2</sub>), 29.40 (CH<sub>2</sub>), 29.48 (CH<sub>2</sub>), 29.51 (CMe<sub>3</sub>), 29.52 (CH<sub>2</sub>), 29.56, 31.8 (CH<sub>2</sub>), 33.0 (CMe<sub>3</sub>), 35.3 (CMe<sub>3</sub>), 35.5 (CMe<sub>3</sub>), 35.8 (CH<sub>2</sub>), 35.9 (CH<sub>2</sub>), 52.0 [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>], 61.2 (CH<sub>2</sub>), 63.5 (CH<sub>2</sub>), 112.4, 114.7 (CH), 136.9, 139.4, 142.6, 148.7, 151.3 (CH), 159.7, 172.9; минорный изомер, 51.6 [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>], 60.4 (CH<sub>2</sub>), 63.4 (CH<sub>2</sub>), 113.5, 115.2 (CH), 140.0, 139.5, 142.5, 147.0, 149.1 (CH), 164.5, остальные сигналы совпадают с сигналами основного изомера. Масс-спектр (MALDI),  $m/z$ : 618 [M – Br]<sup>+</sup>. Найдено, %: C 62.09; H 9.65; Br 11.06; N 8.40. C<sub>36</sub>H<sub>65</sub>BrN<sub>4</sub>O<sub>4</sub>. Вычислено, %: C 61.96; H 9.39; Br 11.45; N 8.03.

Для определения антимикробной и антибиопленочной активности навеску (0.1 г) исследуемых соединений предварительно растворяли в

диметилсульфоксиде (4 мл) с последующим добавлением дистиллированной воды до объема 10 мл. Полученные растворы стерилизовали в пенициллиновых флаконах в автоклаве при 110°C в течение 15 мин. Соответствующие разведения готовили асептически. Для индикации биопленки на покровном стекле с помощью световой микроскопии использовали метод с окраской матрикса биопленки в течение 15 мин смесью 1%-ного водного раствора конго красного с добавлением 10% Твин 80. После инкубации препарат промывали проточной водой и сушили. Для контрастирования бактериальных клеток в составе биопленки препарат окрашивали в течение 6 мин 10%-ным водным раствором карболового фуксина, затем повторно промывали проточной водой и высушивали. Микроскопию проводили при помощи светового микроскопа под иммерсионным объективом при 100-кратном увеличении.

Бактерии *Micrococcus luteus*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Pectobacterium atrosepticum*, *Pseudomonas fluorescens* выращивали на мясопептонной среде (Бакто агар) [54, 55]. Бактерии *Xanthomonas campestris* выращивали на среде с глюкозой, дрожжевым экстрактом и карбонатом кальция [56, 57]. Концентрация Бакто агара в плотных средах составляла 18 г/л. рН питательных сред доводили до величины 7.2–7.4. Все культуры выращивали при 28°C. Мицелиальные культуры *F. oxysporum* и *P. cactorum* выращивали при 27°C на питательной среде следующего состава (г/л): глюкоза – 20, пептон – 2.0, дрожжевой экстракт – 3.0,  $K_2HPO_4$  – 1.0,  $KH_2PO_4$  – 1.0,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  – 0.25, рН 6.0. Для приготовления плотных сред в питательные растворы добавляли 1.8–2% агара. Полученные результаты были статистически обработаны с использованием пакета программ Microsoft Excel.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Богданов Андрей Владимирович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2483-4742>

Бухаров Сергей Владимирович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5130-9441>

Волошина Александра Дмитриевна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3540-8554>

Амерханова Сюмбеля Камилевна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5385-4742>

Хапцев Заур Юрьевич, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6301-7307>

Цивилева Ольга Михайловна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5269-349X>

#### БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы выражают благодарность Спектро-аналитическому центру Казанского научного центра РАН за техническую поддержку проведенных исследований.

#### ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена за счет средств Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (Приоритет-2030). Изучение антифитопатогенной активности выполнено в рамках Программы фундаментальных научных исследований Российской академии наук (тема № 121031100266-3, О.М. Цивилева).

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Viegas-Junior C., Danuello A., da Silva Bolzani V., Barreiro E.J., Fraga C.A.M.* // *Curr. Med. Chem.* 2007. Vol. 14. P. 1829. doi 10.2174/092986707781058805
2. *Berube G.* // *Expert Opin. Drug Discov.* 2016. Vol. 11. P. 281. doi 10.1517/17460441.2016.1135125
3. *Kumar H.M.S., Herrmann L., Tsogoeva S.B.* // *Bio-org. Med. Chem. Lett.* 2020. Vol. 30. P. 127514. doi 10.1016/j.bmcl.2020.127514
4. *Design of hybrid molecules for drug development* / Ed. M. Decker. Amsterdam: Elsevier, 2017. 352 p.
5. *Катаев В.Е., Стробыкина И.Ю., Захарова Л.Я.* // *Изв. АН. Сер. хим.* 2014. Т. 63. С. 1884; *Kataev V.E., Strobyskina I.Yu., Zakharova L.Ya.* // *Russ. Chem. Bull.* 2014. Vol. 63. P. 1884. doi 10.1007/s11172-014-0680-x
6. *Osimitz Th.G., Droege W.* // *Toxicology Res. Appl.* 2021. Vol. 5. P. 1. doi 10.1177/23978473211049085
7. *Padrtova T., Marvanova P., Odehnalova K., Kubinova R., Parravicini O., Garro A., Enriz R.D., Humpa O., Oravec M., Mokry P.* // *Molecules* 2017. Vol. 22. P. 2048. doi 10.3390/molecules22122048

8. *Nair V.P., Hunter J.M.* // *Continuing Educ. Anaesth. Critical Care Pain*. 2004. Vol. 4. P. 164. doi 10.1093/bjaceaccp/mkh045
9. *Conejo-Garcia A., Pisani L., Del Carmen Nunez M., Catto M., Nicolotti O., Leonetti F., Campos J.M., Gallo M.A., Espinosa A., Carotti A.* // *J. Med. Chem.* 2011. Vol. 54. P. 2627. doi 10.1021/jm101299d
10. *Skrzypczak N., Pyta K., Ruszkowski P., Mikolajczak P., Kucinska M., Murias M., Gdaniec M., Bartl F., Przybylski P.* // *J. Enzyme Inhibit. Med. Chem.* 2021. Vol. 36. P. 1898. doi 10.1080/14756366.2021.1960829
11. *Yang J.S., Song D., Ko W.J., Kim B., Kim B.-K., Park S.-K., Won M., Lee K., Lee K., Kim H.M., Han G.* // *Eur. J. Med. Chem.* 2013. Vol. 63. P. 621. doi 10.1016/j.ejmech.2012.12.063
12. *Basilico N., Migotto M., Ilboudo D.P., Taramelli D., Stradi R., Pini E.* // *Bioorg. Med. Chem.* 2015. Vol. 23. P. 4681. doi 10.1016/j.bmc.2015.05.055
13. *Baker N., Williams A.J., Tropsha A., Ekins S.* // *Pharm. Res.* 2020. Vol. 37. P. 104. doi 10.1007/s11095-020-02842-8
14. *Panunzio M., Malabarba A., Vicennati P.* // *Arxivoc* 2004. Vol. 13. P. 36. doi 10.3998/ark.5550190.0005.d05
15. *Jennings M.C., Minbiole K.P.C., Wuest W.M.* // *ACS Infect. Dis.* 2015. Vol. 1. P. 288. doi 10.1021/acsinfecdis.5b00047
16. *Hegstad K., Langsrud S., Lunestad B.T., Scheie A.A., Sunde M., Yazdankhah S.P.* // *Microb. Drug Resist.* 2010. Vol. 16. P. 91. doi 10.1089/mdr.2009.0120
17. *Sapozhnikov S.V., Shtyrlin N.V., Kayumov A.R., Zamaldinova A.E., Iksanova A.G., Nikitina E.V., Krylova E.S., Grishaev D.Yu., Balakin K.V., Shtyrlin Yu.G.* // *Med. Chem. Res.* 2017. Vol. 26. P. 3188. doi 10.1007/s00044-017-2012-9
18. *Vereshchagin A.N., Frolov N.A., Egorova K.S., Seitzkalieva M.M., Ananikov V.P.* // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. Vol. 22. P. 6793. doi 10.3390/ijms22136793
19. *Knauf G.A., Cunningham A.L., Kazi M.I., Riddington I.M., Crofts A.A., Cattoir V., Trent M.S., Davies B.W.* // *mBio* 2018. Vol. 9. e02394-17. doi 10.1128/mBio.02394-17
20. *Chauret C.P.* // *Encycl. Food Microbiol.* 2014. Vol. 3. P. 360. doi 10.1016/B978-0-12-384730-0.00407-9
21. *Kwasniewska D., Chen Y.-L., Wiczorek D.* // *Pathogens* 2020. Vol. 9. P. 459. doi 10.3390/pathogens9060459
22. *Xu Q., Hu X., Wang Y.* // *Molecular Biotechnol.* 2021. Vol. 63. P. 1103. doi 10.1007/s12033-021-00371-2
23. *Druvari D., Koromilas N.D., Bekiari V., Bokias G., Kallitsis J.K.* // *Coatings* 2018. Vol. 8. P. 8. doi 10.3390/coatings8010008
24. *Jiao Y., Niu L., Ma S., Li J., Tay F.R., Chen J.* // *Progr. Polym. Sci.* 2017. Vol. 71. P. 53. doi 10.1016/j.progpolymsci.2017.03.001
25. *Xue Y., Xiao H., Zhang Y.* // *Int. J. Mol. Sci.* 2015. Vol. 16. P. 3626. doi 10.3390/ijms16023626
26. *Hrubec T.C., Seguin R.P., Xu L., Cortopassi G.A., Datta S., Hanlon A.L., Lozano A.J., McDonald V.A., Healy C.A., Anderson T.C., Musse N.A., Williams R.T.* // *Toxicology Rep.* 2021. Vol. 8. P. 646. doi 10.1016/j.toxrep.2021.03.006
27. *Di Nica V., Gallet J., Villa S., Mezzanotte V.* // *Ecotoxicol. Environ. Safety* 2017. Vol. 142. P. 567. doi 10.1016/j.ecoenv.2017.04.028
28. *Ogata M., Tutumimoto Sato K., Kunikane T., Oka K., Seki M., Urano Sh., Hiramatsu K., Endo T.* // *Biol. Pharm. Bull.* 2005. Vol. 28. P. 1120. doi 10.1248/bpb.28.1773
29. *Selassie C.D., Verma R.P., Kapur S., Shusterman A.J., Hansch C.* // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2.* 2002. P. 1112. doi 10.1039/b201478e
30. *Starodubtseva R.R., Gibadullina E.M., Pazilova N.B., Sapunova A.S., Voloshina A.D., Sudakov I.A., Vyshtakalyuk A.B., Pudovik M.A., Burilov A.R., Bukharov S.V.* // *Med. Chem. Commun.* 2018. Vol. 9. P. 2106. doi 10.1039/c8md00481a
31. *Богданов А.В., Зарипова И.Ф., Волошина А.Д., Стробыкина А.С., Кулик Н.В., Бухаров С.В., Миронов В.Ф.* // *ЖОХ* 2018. Т. 88. С. 61; *Bogdanov A.V., Zaripova I.F., Voloshina A.D., Strobyskina A.S., Kulik N.V., Bukharov S.V., Mironov V.F.* // *Russ. J. Gen. Chem.* 2018. Vol. 88. P. 57. doi 10.1134/S1070363218010097
32. *Bogdanov A.V., Iskhakova K.R., Voloshina A.D., Sapunova A.S., Kulik N.V., Terekhova N.V., Arsenyev M.V., Ziyatdinova G.K., Bukharov S.V.* // *Chem. Biodivers.* 2020. Vol. 17. e2000147. doi 10.1002/cbdv.202000147
33. *Bogdanov A.V., Zaripova I.F., Voloshina A.D., Strobyskina A.S., Kulik N.V., Bukharov S.V., Voronina Ju.K., Khamatgalimov A.R., Mironov V.F.* // *Monatsh. Chem.* 2018. Vol. 149. P. 111. doi 10.1007/s00706-017-2049-y
34. *Bogdanov A.V., Zaripova I.F., Voloshina A.D., Sapunova A.S., Kulik N.V., Bukharov S.V., Voronina Ju.K., Vandyukov A.E., Mironov V.F.* // *ChemistrySelect.* 2019. Vol. 4. P. 6162. doi 10.1002/slct.201901708
35. *Богданов А.В., Кадомцева М.Е., Бухаров С.В., Волошина А.Д., Миронов В.Ф.* // *ЖОрХ.* 2020. Т. 56. С. 488; *Bogdanov A.V., Kadomtseva M.E., Bukharov S.V., Voloshina A.D., Mironov V.F.* // *Russ. J. Org. Chem.* 2020. Vol. 56. P. 555. doi 10.1134/S107042802003032X
36. *Богданов А.В., Волошина А.Д., Хаматгалимов А.Р., Терехова Н.В., Миронов В.Ф.* // *Докл. АН.* 2020.

- Т. 494. С. 15; Bogdanov A.V., Voloshina A.D., Khamatgalimov A.R., Terekhova N.V., Mironov V.F. // Doklady Chem. 2020. Vol. 494. Pt 1. P. 136. doi 10.1134/S0012500820090013
37. Syakaev V.V., Podyachev S.N., Buzykin B.I., Latypov Sh.K., Habicher V.D., Konovalov A.I. // J. Mol. Struct. 2006. Vol. 788. P.55. doi 10.1016/j.molstruc.2005.11.018
38. Arsenyev M.V., Baranov E.V., Fedorov A.Yu., Chesnokov S.A., Abakumov G.A. // Mendeleev Commun. 2015. Vol. 25. P. 312. doi 10.1016/j.mencom.2015.07.029
39. Арсеньев М.В., Хамалетдинова Н.М., Баранов Е.В., Чесноков С.А., Черкасов В.К. // Изв. АН. Сер. хим. 2016. № 7. С. 1805; Arsenyev M.V., Khamaletdinova N.M., Baranov E.V., Chesnokov S.A., Cherkasov V.K. // Russ. Chem. Bull. 2016. V. 65. P. 1805. doi 10.1007/s11172-016-1514-9
40. Levison L.J., Miller-Cushon E.K., Tucker A.L., Bergeron R., Leslie K.E., Barkema H.W., De Vries T.J. // J. Dairy Sci. 2016. Vol. 99. P. 1341. doi 10.3168/jds.2015-9809
41. Vakkamaki J., Taponen S., Heikkila A.-M., Pyorala S. // Acta Vet. Scand. 2017. Vol. 59. P. 33. doi 10.1186/s13028-017-0301-4
42. Verbeke J., Piepers S., Supre K., De Vlieghe S. // J. Dairy Sci. 2014. Vol. 97. P. 6926. doi 10.3168/jds.2014-8173
43. Pyorala S., Taponen S. // Vet. Microbiol. 2009. Vol. 134. P. 3. doi 10.1016/j.vetmic.2008.09.015
44. Simojoki H., Salomaki T., Taponen S., Iivanainen A., Pyorala S. // Vet. Res. 2011. Vol. 42. P. 49. doi 10.1186/1297-9716-42-49
45. Felipe V., Breser M. L., Bohl L. P., Rodrigues da Silva E., Morgante C. A., Correa S. G., Porporatto C. // Int. J. Biol. Macromol. 2019. Vol. 126. P. 60. doi 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.159
46. Bogdanov A., Tsivileva O., Voloshina A., Lyubina A., Amerhanova S., Burtceva E., Bukharov S., Samorodov A., Pavlov V. // ADMET & DMPK. 2022. Vol. 10. P. 163. doi 10.5599/admet.1179
47. Wang T., Gao C., Cheng Y., Li Z., Chen J., Guo L., Xu J. // Plants 2020. Vol. 9. P. 769. doi 10.3390/plants9060769
48. Mastanjevic K., Krstanovic V., Mastanjevic K., Sarkanj B. // Fermentation 2018. Vol. 4. P. 3. doi 10.3390/fermentation4010003
49. Han J.-H., Park G.-C., Kim K.S. // Mycobiology 2017. Vol. 45. P. 370. doi 10.5941/MYCO.2017.45.4.370
50. Lim B., Cheng Y., Kato T., Pham A.T., Le Du E., Mishra A.K., Grinhagen E., Moreau D., Sakai N., Waser J., Matile S. // Helv. Chim. Acta 2021. Vol. 104. e2100085. doi 10.1002/hlca.202100085
51. Abd-El-Khair H., Abdel-Gaied T.G., Mikhail M.S., Abdel-Alim A.I., El-Nasr H.I.S. // Bull. Nat. Res. Centre. 2021. Vol. 45. P. 37. doi 10.1186/s42269-021-00491-4
52. Huang X., Ren J., Li P., Feng S., Dong P., Ren M. // J. Sci. Food Agric. 2021. Vol. 101. P. 1744. doi 10.1002/jsfa.10829
53. Ragošova L., Penázova E., Gazdik F., Pecenka J., Cechova J., Pokluda R., Baranek M., Grzebelus D., Eichmeier A. // Agronomy. 2020. Vol 10. P. 443. doi 10.3390/agronomy10030443
54. Davidson C. M., Cronin F. // Appl. Microbiol. 1973. Vol. 26. P. 439. doi 10.1128/am.26.3.439-440.1973
55. McCoy R.H., Pilcher K. S. // J. Fish. Board Canada. 1974. Vol. 31. P. 1553. doi 10.1139/f74-193
56. Essenberg M., Doherty M.D.A., Hamilton B.K., Henning V.T., Cover E.C., McFaul S.J., Johnson W.M. // Phytopathology. 1982. Vol. 72. P. 1349. doi 10.1094/Phyto-72-1349
57. Ming D., Ye H., Schaad N.W., Roth D.A. // Phytopathology. 1991. Vol. 81. P. 1358. doi 10.1094/Phyto-81-1358

# Synthesis and Antimicrobial Activity Evaluation of Ammonium Acylhydrazones Based on 4,6-Di-*tert*-butyl-2,3-dihydroxybenzaldehyde

V. Bogdanov<sup>a,\*</sup>, S. V. Bukharov<sup>b</sup>, R. A. Garifullina<sup>b</sup>, A. D. Voloshina<sup>c</sup>, A. P. Lyubina<sup>c</sup>,  
S. K. Amerkhanova<sup>c</sup>, M. S. Bezsonova<sup>d</sup>, Z. Yu. Khaptsev<sup>d</sup>, and O. M. Tsivileva<sup>e</sup>

<sup>a</sup> Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, 420008 Russia

<sup>b</sup> Kazan National Research Technological University, Kazan, 420015 Russia

<sup>c</sup> A. E. Arbusov Institute of Organic and Physical Chemistry, Federal Research Center "Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences", Kazan, 420088 Russia

<sup>d</sup> Saratov State Vavilov Agrarian University, Saratov, 410005 Russia

<sup>e</sup> Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Federal Research Center "Saratov Scientific Center of the Russian Academy of Sciences", Saratov, 410049 Russia

\*e-mail: abogdanov@inbox.ru

Received March 16, 2022; revised July 17, 2022; accepted July 21, 2022

The condensation reaction of 4,6-di-*tert*-butyl-2,3-dihydroxybenzaldehyde with some ammonium acetylhydrazides yielded water-soluble acylhydrazones with different structures of the cationic center. It was shown that in relation to *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Enterococcus faecalis*, trimethylammonium chloride derivative exhibits activity at or above the level of comparison drugs, norfloxacin and chloramphenicol, respectively. The resulting compounds do not have a toxic effect on erythrocytes and normal human liver cells. The high activity of diethylmethylammonium acylhydrazone against the formation of biofilms formed by clinical staphylococci strains was shown for the first time. The high efficiency of new compounds in inhibiting the growth of phytopathogens of bacterial and fungal origin was established.

**Keywords:** phenols, ammonium salts, phytopathogens, hydrazones, antimicrobial activity, biofilms