

УДК 547.26'118

# ПРОСТРАНСТВЕННО ЗАТРУДНЕННЫЕ ФЕНОЛЬНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ИЗАТИНА, СОДЕРЖАЩИЕ ФРАГМЕНТ ДАБКО: СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ

© 2022 г. А. В. Богданов<sup>a, \*</sup>, А. Д. Волошина<sup>b</sup>, А. П. Любина<sup>b</sup>, С. К. Амерханова<sup>b</sup>, Т. А. Калинина<sup>c</sup>, Т. В. Глухарева<sup>c</sup>, В. Ф. Миронов<sup>b</sup>

<sup>a</sup> ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»,  
Россия, 420008 Казань, ул. Кремлевская, 18

<sup>b</sup> Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова – обособленное структурное подразделение  
ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр РАН»,  
Россия, 420088 Казань, ул. Академика Арбузова, 8

<sup>c</sup> ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина»,  
Россия, 620002 Екатеринбург, ул. Мира, 28  
\*e-mail: abogdanov@inbox.ru

Поступила в редакцию 13.04.2022 г.  
После доработки 25.05.2022 г.  
Принята к публикации 01.06.2022 г.

Реакцией конденсации производных изатина, содержащих фенольный фрагмент, с бромидом 1-(2-гидразинил-2-оксоэтил)-4-аза-1-азониабцикло[2.2.2]октана получен ряд изатин-3-ацилгидразонов, содержащих монокатионизированный фрагмент ДАБКО. Новые соединения обладают противомикробной активностью в отношении фитопатогенных бактерий и грибов, а также ряда антропопатогенных бактерий и грибов. Соли на основе 5-алкилизатинов проявляют бактерицидное действие в отношении золотистого стафилококка в концентрации 15.6 мкг/мл.

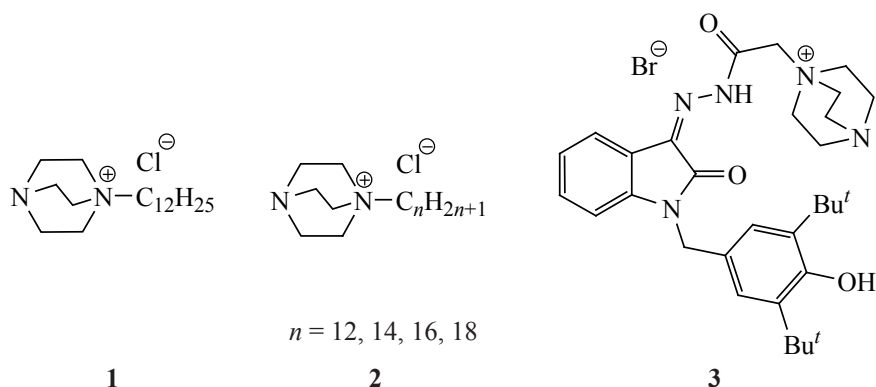
**Ключевые слова:** изатин, ДАБКО, гидразоны, антимикробная активность, антигрибковая активность, фитопатогены

**DOI:** 10.31857/S0514749222080018, **EDN:** DAFPVE

## ВВЕДЕНИЕ

Катионизированные производные 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана (ДАБКО) обладают широким спектром практически полезных свойств. Так, полимерные соли на основе ДАБКО используются в конструировании анионообменных мембран для щелочных батарей [1], металлоорганических каркасных (MOF) соединений для очистки воды от промышленных красителей [2], в качестве структурных компонентов средств доставки лекарственных веществ в терапии рака [3] и люминесцентных полупроводниковых материалов [4]. Однако

подавляющее большинство работ посвящено их применению в качестве биоцидов [5–10] и платформы для получения ионных жидкостей, являющихся средой и катализатором многих органических реакций [11–20]. Несмотря на заметно более высокий интерес к ди- и тетракаатионным структурам на основе ДАБКО, монокватернизированные соли также могут иметь хорошие перспективы в поиске новых физиологически активных веществ с низкой токсичностью. Так, показано, что значительной бактерио- и фунгистатической активностью обладают как длинноцепные алкильные 1,



Монокатионные производные ДАБКО, обладающие противомикробной активностью

**2** [21, 22], так и содержащие оксиндольный фрагмент производные **3** [23] (см. рисунок). Отметим, что к настоящему моменту соединение **3** является единственным представителем класса гибридных соединений, объединяющих в своем составе фрагменты ДАБКО и изатина.

Постоянный рост числа работ по исследованиям изатина обусловлен, прежде всего, тем, что его производные проявляют широкий спектр биологической активности [24–34]. В связи с этим актуальной задачей является получение на его основе нетоксичных водорастворимых производных, обладающих противомикробной активностью. Одним из решений этой задачи может быть функционализация платформы изатина аммониевым фрагментом. Так, в последние годы наши исследования посвящены синтезу и исследованиям противомикробной активности изатин-3-ацилгидразонов, содержащих четвертичный атом азота. При этом на примере полученных нами триэтиламмониевых солей был продемонстрирован высокий потенци-

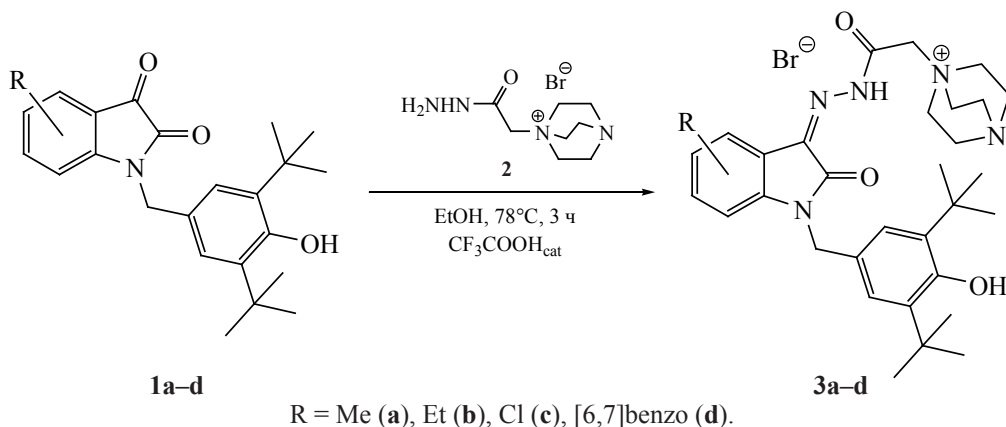
ал данного ряда соединений в поиске антимикробных веществ активных в отношении фитопатогенов бактериального и грибкового происхождения [35].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В продолжение исследования влияния строения катиона и природы заместителей в бензофрагменте изатин-3-ацилгидразонов на уровень противомикробной активности в данной работе осуществлен синтез ряда производных изатина, содержащих моно-катионизированный фрагмент ДАБКО. Целевые соединения получены с высокими выходами по реакции конденсации фенольных производных изатина **1a–d** с бромидом 1-(2-гидразинил-2-оксоэтил)-4-аза-1-азониабисцикло[2.2.2]октана (**2**) (схема 1).

Аммониевые соли **3a–d** получены в индивидуальном виде без дополнительной очистки непосредственно после их выделения из реакционных масс. Они представляют собой порошко-

Схема 1



R = Me (**a**), Et (**b**), Cl (**c**), [6,7]benzo (**d**).

Таблица 1. Противомикробная активность соединений **3a–d**<sup>a</sup>

| Соединение  | МИК, мкг/мл |             |             |             |             |             |             |
|---|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|   | <i>S.a.</i> | <i>B.c.</i> | <i>E.c.</i> | <i>P.a.</i> | <i>A.n.</i> | <i>T.m.</i> | <i>C.a.</i> |
| <b>3a</b>   | 15.6±1.2    | 62.5±5.1    | >500        | >500        | >500        | >500        | >500        |
| <b>3b</b>   | 15.6±1.3    | 125±10      | >500        | >500        | >500        | >500        | >500        |
| <b>3c</b>   | 62.5±5.2    | 62.5±4.8    | >500        | >500        | >500        | >500        | >500        |
| <b>3d</b>   | 15.6±1.1    | 125±9       | >500        | >500        | >500        | >500        | >500        |
| Хлорамфеникол   | 62.5±4.9    | 62.5±5.2    | 125±10      | –           | –           | –           | –           |
| Норфлоксацин  | 2.4±0.2     | 7.8±0.6     | 1.5±0.1     | 3.9±0.3     | –           | –           | –           |
| Бактерицидная и фунгицидная активность (МБК, МФК), мкг/мл |             |             |             |             |             |             |             |
| <b>3a</b>   | 15.6±1.2    | >500        | >500        | >500        | >500        | >500        | >500        |
| <b>3b</b>   | 15.6±1.4    | >500        | >500        | >500        | >500        | >500        | >500        |
| <b>3c</b>   | 62.5±4.9    | >500        | >500        | >500        | >500        | >500        | >500        |
| <b>3d</b>   | 31.3±2.5    | >500        | >500        | >500        | >500        | >500        | >500        |
| Хлорамфеникол   | >500        | >500        | >500        | –           | –           | –           | –           |
| Норфлоксацин  | 2.4±0.2     | 7.8±0.6     | 7.8±0.7     | 15.6±1.3    | –           | –           | –           |

<sup>a</sup> *S.a.*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P FDA 209P; *B.a.*, *Bacillus cereus* ATCC 10702 NCTC 8035; *E.c.*, *Escherichia coli* ATCC 25922; *P.a.*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027; *A.n.*, *Aspergillus niger* VKMF-1119; *T.m.*, *Trichophyton mentagrophytes var. gypseum* 1773; *C.a.*, *Candida albicans* ATCC 10231

образные вещества, растворимые в воде и водном ДМСО, слаборастворимые в хлороформе и этаноле. Строение и состав полученных веществ подтверждено комплексом физико-химических методов. Для всего ряда соединений **3a–d** характерно наличие в ИК спектрах сильно уширенных полос поглощения средней интенсивности в области 3352–3407 и 3206–3230 см<sup>-1</sup>, относящиеся к колебаниям связи N–H гидразонного фрагмента основного и минорного изомеров соответственно. Наличие характерной [36] для ацилгидразонов конформационной *cis–trans*-изомерии амидной группы в растворах гидразонов **3a–d** подтверждается также методом ЯМР <sup>1</sup>H. Так в протонных спектрах всех соединений, зарегистрированных в смеси ДМСО-*d*<sub>6</sub>–CDCl<sub>3</sub> наблюдается удвоение сигналов протонов N–H группы при 12.65–12.82 м.д. (преобладающий изомер) и при 13.29–13.25 м.д. (минорный изомер) в различных соотношениях – от 4:1 до 9:1.

Полученные соединения были протестированы на предмет проявления ими противомикробной активности в отношении антропопато-

генных микроорганизмов: грамположительных *S. aureus* (*S.a.*), *B. cereus* (*B.c.*) и грамотрицательных бактерий *E. coli* (*E.c.*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P.a.*), дрожжей *Candida albicans* (*C.a.*) и грибов *Aspergillus niger* VKMF-1119 (*A.n.*), *Trichophyton mentagrophytes-1773* (*T.m.*). Значения минимальных ингибирующих, бактерицидных и фунгицидных концентраций (МИК, МБК и МФК соответственно) для аммониевых солей **3a–d**, полученные методом серийных микроразведений, представлены в табл. 1. Результаты показали, что соединения **3a, b, d** в отношении *S. aureus* в 4 раза превосходят по активности препарат сравнения хлорамфеникол, причем действуют бактерицидно, то есть значения МИК и МБК этих соединений отличаются между собой не более чем в 4 раза. Против *B. cereus* аммониевые соли **3a–d** оказались менее активны и продемонстрировали лишь бактериостатическое действие. В отношении грамотрицательных бактерий, дрожжей и грибов протестированные соединения не проявляли противомикробного эффекта.

Для поиска новых молекул-пестицидов в ряду синтезированных изатин-3-ацилгидразонов **3a–d**

**Таблица 2.** Результаты изучения антибактериальной активности соединений **3a–d** диско-диффузионным методом и МИК **3a–d**, полученные методом серийных разведений в агаре<sup>a</sup>

| Соединение              | Диаметр зоны подавления роста, мм |                         | МИК, мкг/мл   |               |
|-------------------------|-----------------------------------|-------------------------|---------------|---------------|
|                         | <i>E.car.</i>                     | <i>P.atr.</i>           | <i>E.car.</i> | <i>P.atr.</i> |
| <b>3a</b>               | 21.83±0.45                        | 16.51±0.26              | 32            | 64            |
| <b>3b</b>               | 20.65±0.20                        | 17.42±0.06              | 32            | 64            |
| <b>3c</b>               | 13.97±0.33                        | 10.27±0.28              | 16            | 32            |
| <b>3d</b>               | 13.69±0.20                        | 12.08±0.43              | 16            | 32            |
| Антибиотик <sup>b</sup> | 48.53±1.58 <sup>c</sup>           | 23.54±1.92 <sup>d</sup> |               | <             |

<sup>a</sup> *E.car.*, *E. carotovora* RCAM 01724; *P.atr.*, *P. atrosepticum* 34-1/1

<sup>b</sup> Коммерчески доступные диски с тетрациклином

<sup>c</sup> Коммерчески доступные диски с тетрациклином (30 мкг/диск)

<sup>d</sup> Коммерчески доступные диски с амоксициллином (20 мкг/диск)

<sup>e</sup> Коммерчески доступные диски субстанции левофлоксацина/хлорамфеникола

также была изучена их противомикробная активность в отношении распространенных в России фитопатогенных микроорганизмов, таких как бактерии *Erwinia carotovora* (*E. Carotovora*), *Pectobacterium atrosepticum* (*P. atrosepticum*) и микроскопические грибы *Alternaria solani* (*A. solani*), *Botrytis cinerea* (*B. cinerea*), *Colletotrichum coccodes* (*C. coccodes*), *Fusarium solani* (*F. solani*), *Phytophthora infestans* (*P. infestans*), *Rhizoctonia solani* (*R. solani*) и *Scerotinia sclerotiorum* (*S. sclerotiorum*).

Результаты исследования биоактивности **3a–d** в отношении фитопатогенных бактерий представлены в табл. 2.

Было показано, что все соединения подавляли рост исследуемых фитопатогенных бактерий.

Минимальные ингибирующие концентрации веществ, полученные для изучаемых штаммов бактерий, лежат в диапазоне 16–64 мкг/мл. Наибольшую активность с МИК 16 мкг/мл проявили соединения **3c** и **d**, содержащие атом хлора и аннелированный бензо-фрагмент. Однако во всех случаях полученные значения МИК ниже, чем у известных антибактериальных веществ левофлоксацина и хлорамфеникола.

Исследование противогрибковой активности методом агаровых блочков показало, что соединения **3a–d** проявляют умеренную активность в отношении фитопатогенных грибов – широко распространенных возбудителей различных заболеваний овощей, ягод и фруктов, – подавляя разрастание мицелия на 42.00–77.28% (табл. 3).

**Таблица 3.** Результаты исследования противогрибковой активности соединений **3a–d** *in vitro* в концентрации 0.05 мг/мл<sup>a</sup>

| Соединение  | Степень ингибирования радиального роста гриба ( <i>I</i> ), % <sup>a</sup> |               |               |               |               |               |               |
|-------------|--|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|             | <i>A.sol.</i>  | <i>B.cin.</i> | <i>C.coc.</i> | <i>F.sol.</i> | <i>P.inf.</i> | <i>R.sol.</i> | <i>S.scl.</i> |
| <b>3a</b>   | 72.41±1.15   | 53.90±0.58    | 2.96±0.88     | 49.92±1.23    | 69.34±1.30    | 0.48±0.20     | 66.44±0.16    |
| <b>3b</b>   | 65.37±0.28   | 62.18±0.34    | 13.77±0.27    | 53.71±0.41    | 66.14±0.92    | 2.94±0.41     | 56.52±1.10    |
| <b>3c</b>   | 63.30±0.29   | 61.12±0.94    | 6.69±0.40     | 42.00±0.25    | 63.55±0.43    | 0             | 64.75±1.65    |
| <b>3d</b>   | 77.28±1.09   | 62.61±0.94    | 16.55±0.37    | 57.03±0.23    | 66.07±0.23    | 17.14±1.95    | 64.46±0.55    |
| Карбендазим | 16.99±0.56   | 100           | 0             | 100           | 0             | 37.08±1.61    | 98.28±0.65    |

<sup>a</sup> *A.sol.*, *Alternaria solani* Sorauer MFP 601021; *B.cin.*, *Botrytis cinerea* Pers. MFG 60449; *C.coc.*, *Colletotrichum coccodes* JS 171-5-76; *F.sol.*, *Fusarium solani* RCAM00877; *P.inf.*, *P. infestans*; *R.sol.*, *Rhizoctonia solani* RCAM01785; *S.scl.*, *Scerotinia sclerotiorum*

<sup>b</sup> 100% – полное подавление роста гриба, 0% – подавления роста гриба не наблюдается

При этом представители всего ряда исследуемых гидразонов практически не оказывали или оказывали лишь слабое ингибирующее действие на рост *C. coccodes* и *R. solani*. Важно при этом отметить, что в отличие от широко применяемого в настоящее время фунгицида карбендазима соединения **3a–d** обладают более широким спектром действия, подавляя рост *A. solani* и оомицета *P. infestans*, в отношении которых карбендазим не эффективен.

Сравнивая результаты наших предыдущих работ по изучению ациклических триалкиламмониевых производных [34, 35] с полученными данными настоящего исследования, можно сказать, что «заключение» катионного центра в жесткий бициклический каркас в полученных фенольных изатин-3-ацилгидразолах **3a–d**, приводит к заметному снижению противомикробной активности.

#### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  записаны на приборах Bruker Avance-400 (Германия) (400, 100.6 МГц соответственно), Bruker Avance-600 (Германия) (600, 150.9 МГц соответственно) в ДМСО- $d_6$  или в смеси  $\text{CDCl}_3$ –ДМСО- $d_6$ . Химические сдвиги приведены относительно сигналов остаточных протонов дейтерированного растворителя. Соотнесение сигналов протонированных атомов углерода сделано на основании данных спектров ЯМР  $^{13}\text{C}$  dept. Масс-спектры MALDI регистрировали на масс-спектрометре UltraFlex III TOF/TOF (Германия). ИК спектры получены на приборе «Bruker Vector-22» (Германия) суспензий веществ в пластинках KBr. Элементный анализ выполнен на анализаторе EuroVector 2000 CHNS-O (Италия). Температуры плавления определяли с помощью прибора Stuart SMP10 (Великобритания). (StatSoft Inc, США). В работе использовались коммерчески доступные ДМСО- $d_6$  (99.9 атом % D, Acros Organics),  $\text{CDCl}_3$  (99.8 атом % D, Acros Organics), трифторуксусная кислота (98%, Acros Organics). Бромид 1-(2-гидразинил-2-оксоэтил)-4-аза-1-азонибицикло[2.2.2]-октана (**2**) и производные изатина **1a–d** получены по описанным ранее методикам [23, 34] соответственно.

Активность тестируемых соединений в отношении антропопатогенных микроорганизмов определяли методом серийных микроразведений

в 96-луночных планшетах [37]. Разведения готовили в бульоне Мюллера–Хинтона для культивирования бактерий и в бульоне Сабуро для грибных патогенов. Для эксперимента использовали культуры грамположительных бактерий: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P FDA 209P, *Bacillus cereus* ATCC 10702 NCTC 8035; грамотрицательных бактерий: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 и грибов: *Trichophyton mentagrophytes* var. *gypseum* 1773, *Aspergillus niger* ВКМФ-1119 и *Candida albicans* ATCC 10231. Концентрация бактерий в опыте составляла  $3.0 \times 10^5$  КОЕ/мл, грибов –  $2.0 \times 10^{2-3}$  КОЕ/мл. Результаты регистрировались каждые 24 ч в течение 5 дней. Культуры бактерий и грибов инкубировали при 37°C и 25°C соответственно. Эксперимент был повторен трижды. Для лучшей растворимости веществ в питательную среду добавляли 5% диметилсульфоксида (ДМСО) – тестируемые штаммы не теряли жизнеспособность при этой концентрации. Для определения МБК и МФК аликвоту суспензии тест-микроорганизмов переносили на агаризованную питательную среду и инкубировали при 37°C либо 25°C соответственно. МБК либо МФК представляют собой минимальные концентрации, при которой отсутствовали колонии микроорганизмов, что свидетельствует об их гибели с эффективностью > 99.9%.

Исследование антибактериальной активности веществ в отношении фитопатогенных бактерий *Erwinia carotovora* RCAM 01724 (ФГБНУ ВНИИСХМ, Санкт-Петербург, Пушкин), *Pectobacterium atrosepticum* 34-1/1 (ФГУП ГосНИИГенетика, Москва) изучали диско-диффузионным методом [38]. Питательную среду КМАФАнМ, приготовленную в соответствии с рекомендациями производителя (ООО «НПЦ «Биокомпас-С», Углич), расплавляли при 60°C и охлаждали до 50°C. Далее среду разливали по 20 мл в чашки Петри диаметром 9 см и оставляли в ламинарном боксе для застывания при комнатной температуре. Бумажные диски (диаметром 6 мм) пропитывали 10 мкл раствора исследуемых соединений в диметилсульфоксиде с концентрацией 10 мг/мл и оставляли в ламинарном шкафу до полного высыхания. Инокулят готовили суспендированием 24-часовых бактериальных культур

в стерильном физрастворе. Суспензии доводили до мутности, эквивалентной 1 по стандарту МакФарланда ( $3 \times 10^8$  КОЕ/мл). В чашку Петри с питательной средой вносили 100 мкл бактериальной суспензии и распределяли по поверхности агаровой пластинки, используя стерильный шпатель Дригальского. Бумажные диски раскладывали на поверхность инокулированных чашек Петри. В качестве стандартов сравнения использовали ряд коммерческих дисков (ФГБНУ «Научный центр фармакотерапии», Санкт-Петербург, Россия) с антибиотиками, такими как тетрациклин (30 мкг/диск) и амоксициллин (20 мкг/диск). Чашки Петри инкубировали при  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  в течение 36 ч. Далее оценивали результаты, измеряя диаметр зоны ингибирования роста вокруг дисков.

Для определения МИК веществ использовали метод серийных разведений в агаре [39]. Бактериальные штаммы выращивали при  $25^\circ\text{C}$  в течение ночи на питательном агаре. Конечная плотность суспензий всех бактерий составляла от  $10^5$  до  $10^6$  КОЕ/мл. Исходные растворы соединений готовили в ДМСО и дополнительно разбавляли в расплавленном питательном агаре ( $55^\circ\text{C}$ ), чтобы получить конечные концентрации в диапазоне от 512 до 4 мкг/мл. После разливания в чашки Петри и застывания агара проводили инокуляцию стандартизированными суспензиями бактерий. Для этого на поверхность агаровой пластинки наносили 5 раз по 2 мкл суспензии в виде капель, при этом образовывались пятна диаметром 3–4 мм. Чашки инкубировали при  $25^\circ\text{C}$  в течение 48 ч в асептических условиях. Затем наблюдали появление видимых колоний в чашках Петри, не содержащих вещество, и содержащих вещество в концентрации меньше МИК. За значение МИК принималась самое низкое значение концентрации, при которой в чашке Петри не наблюдался видимый рост бактериальных колоний во всех трех параллелях.

Для микроскопических фитопатогенных грибов *Alternaria solani* Sorauer MFP 601021 (ФГБНУ ВИЗР, Санкт-Петербург, Пушкин), *Botrytis cinerea* Pers. MFG 60449 (ФГБНУ ВИЗР, Санкт-Петербург, Пушкин), *Colletotrichum coccodes* JS 171-5-76 (ФГУП ГосНИИГенетика, Москва), *Fusarium solani* RCAM00877 (ФГБНУ ВНИИСХМ, Санкт-

Петербург, Пушкин), *Phytophthora infestans* (Нанкайский университет, Китай), *Rhizoctonia solani* RCAM01785 (ФГБНУ ВНИИСХМ, Санкт-Петербург, Пушкин) и *Scerotinia sclerotiorum* (Нанкайский университет, Китай) противогрибковая активность была изучена с использованием метода агаровых блочков [40]. Микроскопические грибы культивировали на картофельно-декстрозном агаре при  $25^\circ\text{C}$  в течение 7 дней. Растворы соединений готовили с концентрацией 0.5 мг/мл путем растворения 10 мг соединения в 2 мл ДМСО с последующим добавлением 18 мл стерильной воды. В асептических условиях однородные агаровые блочки с мицелием гриба (диаметром 4 мм) вырезали из 7-дневной культуры тестируемого гриба с использованием стерильного пробкового сверла. Агаровые блочки помещали мицелием вниз в центр чашек Петри, содержащих 18 мл питательной среды, гомогенно смешанной с 2 мл испытуемых растворов. Отрицательный контроль готовили с использованием питательной среды с добавлением только ДМСО и воды. Грибы инкубировали при  $25^\circ\text{C}$  (*R. solani*, *S. sclerotiorum*, *B. cinerea* – 72 ч, остальные грибы – 96 ч) и после инкубации измеряли диаметр грибковых колоний. Ингибирование роста гриба определяли по формуле:

$$I (\%) = [(C - T) / (C - 4 \text{ мм})] \times 100,$$

где  $I$  – процент ингибирования радиального роста гриба, %;  $T$  – среднее значение диаметра колоний в присутствии каждого соединения, мм;  $C$  – средний диаметр колоний в отсутствие соединения в идентичных условиях, мм.

Расчет среднего значения и среднеквадратичного отклонения проводили в MS Excel.

**Аммониевые соли 3a–e (общая методика).** К раствору производного изатина **1a–d** (1 ммоль) в 10 мл абсолютного этанола добавляли одной порцией бромид 1-(2-гидразинил-2-оксоэтил)-4-аза-1-азониабцикло[2.2.2]октана **2** (1 ммоль) и 3 капли трифторуксусной кислоты. Реакционную массу нагревали при кипении растворителя в течение 1.5 ч. После самопроизвольного охлаждения раствора до комнатной температуры выпавший осадок отфильтровывали, промывали абсолютным диэтиловым эфиром и сушили в вакууме (12 мм рт.ст.).

**Бромид 1-(2-{2-[1-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксибензил)-5-метил-2-оксоиндолин-3-илиден]гидразинил}-2-оксоэтил)-4-аза-1-азониабцикло[2.2.2]октана (3a).** Выход 0.49 г (76%), желтый порошок, т.пл. 239–241°C. ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3594 (OH), 3392 (N–H), 2953 (C–H), 1665 (C=O), 1621 (C=O), 1468 (C=C), 1328 (C=N). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ – $\text{CDCl}_3$ , 1:1),  $\delta$ , м.д.: 1.31 с (18H, *t*-Bu), 2.29 с (3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.36–3.43 м (6H,  $\text{CH}_2$ ), 4.04–4.07 м (6H,  $\text{CH}_2$ ), 4.73 с (2H,  $\text{NCH}_2$ ), 5.05 с [2H,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_2$ ], 6.00 с (1H, OH), 6.81 д (1H,  $^3J_{\text{HCCN}}$  8.1 Гц), 7.14 д (1H,  $^3J_{\text{HCCN}}$  9.1 Гц), 7.23 с (1H), 12.79 с (1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ – $\text{CDCl}_3$ , 1:1),  $\delta$ , м.д.: 20.4, 29.7, 33.9, 43.4, 44.2, 52.0, 60.4, 118.3, 124.0, 125.0, 132.2, 132.8, 137.0, 139.0, 141.0, 153.1, 160.4, 164.5. Масс-спектр,  $m/z$ : 546 [ $M - \text{Br}$ ] $^+$ . Найдено, %: C 61.17; H 6.97; Br 12.66; N 11.06.  $\text{C}_{32}\text{H}_{44}\text{BrN}_5\text{O}_3$ . Вычислено, %: C 61.28; H 7.02; Br 12.75; N 11.17.

**Бромид 1-(2-{2-[1-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксибензил)-5-этил-2-оксоиндолин-3-илиден]гидразинил}-2-оксоэтил)-4-аза-1-азониабцикло[2.2.2]октана (3b).** Выход 0.47 г (75%), желтый порошок, т.пл. 195–197°C. ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3634 (OH), 3407 (N–H), 2961 (C–H), 1685 (C=O), 1623 (C=O), 1485 (C=C), 1358 (C=N). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ – $\text{CDCl}_3$ , 1:1),  $\delta$ , м.д.: 1.16 т (3H,  $\text{CH}_3$ ,  $^3J_{\text{HCCN}}$  7.5 Гц), 1.32 с (18H, *t*-Bu), 2.57 к (2H,  $\text{CH}_2$ ,  $^3J_{\text{HCCN}}$  7.5 Гц), 3.33–3.36 м (6H,  $\text{CH}_2$ ), 4.10–4.14 м (6H,  $\text{CH}_2$ ), 4.71 с (2H,  $\text{NCH}_2$ ), 5.09 с [2H,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_2$ ], 5.55 с (1H, OH), 6.77 д (1H,  $^3J_{\text{HCCN}}$  8.1 Гц), 7.04 с (2H), 7.13 д (1H,  $^3J_{\text{HCCN}}$  7.7 Гц), 7.50 с (1H), 12.82 с (1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ – $\text{CDCl}_3$ , 1:1),  $\delta$ , м.д.: 15.3, 27.8, 29.6, 33.7, 43.3, 44.4, 52.1, 60.0, 109.6, 120.9, 118.1, 123.9, 124.9, 131.2, 135.9, 136.6, 139.3, 141.1, 153.1, 160.4, 164.8. Масс-спектр,  $m/z$ : 560 [ $M - \text{Br}$ ] $^+$ . Найдено, %: C 61.74; H 7.09; Br 12.36; N 10.87.  $\text{C}_{33}\text{H}_{46}\text{BrN}_5\text{O}_3$ . Вычислено, %: C 61.82; H 7.18; Br 12.47; N 10.93.

**Бромид 1-(2-{2-[1-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксибензил)-5-хлор-2-оксоиндолин-3-илиден]гидразинил}-2-оксоэтил)-4-аза-1-азониабцикло[2.2.2]октана (3c).** Выход 0.53 г (84%), желтый порошок, т.пл. 259°C (разл.). ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3591 (OH), 3352 (N–H), 2955 (C–H), 1687 (C=O), 1612 (C=O), 1445 (C=C), 1338 (C=N). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ – $\text{CDCl}_3$ , 1:1),  $\delta$ , м.д.: 1.39 с (18H,

*t*-Bu), 3.28–3.45 м (6H,  $\text{CH}_2$ ), 4.23–4.29 м (6H,  $\text{CH}_2$ ), 4.68 с (2H,  $\text{NCH}_2$ ), 5.21 с (1H, OH), 5.50 с [2H,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_2$ ], 6.68–6.73 м (1H), 7.06 с (2H), 7.20–7.24 м (1H), 8.04–8.07 м (1H), 12.65 с (1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 30.2 ( $\text{CH}_3$ ), 34.4, 43.1 ( $\text{CH}_2$ ), 44.3 ( $\text{CH}_2$ ), 52.6 ( $\text{CH}_2$ ), 59.7 ( $\text{CH}_2$ ), 112.3 (CH), 120.4, 120.7, 124.1 (CH), 126.2, 127.5, 131.5 (CH), 134.0, 139.5, 142.1, 153.4, 160.1, 165.8. Масс-спектр,  $m/z$ : 566 [ $M - \text{Br}$ ] $^+$ . Найдено, %: C 57.43; H 6.28; Br 12.21; Cl 5.35; N 10.74.  $\text{C}_{31}\text{H}_{41}\text{BrClN}_5\text{O}_3$ . Вычислено, %: C 57.50; H 6.34; Br 12.35; Cl 5.49; N 10.82.

**Бромид 1-(2-{2-[1-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксибензил)-6,7-бензо-2-оксоиндолин-3-илиден]гидразинил}-2-оксоэтил)-4-аза-1-азониабцикло[2.2.2]октана (3d).** Выход 0.57 г (90%), желтый порошок, т.пл. 265°C (разл.). ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3634 (OH), 3407 (N–H), 2961 (C–H), 1685 (C=O), 1623 (C=O), 1485 (C=C), 1358 (C=N). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ – $\text{CDCl}_3$ , 1:1),  $\delta$ , м.д.: 1.25 с (18H, *t*-Bu), 3.30–3.36 м (6H,  $\text{CH}_2$ ), 3.83–3.89 м (6H,  $\text{CH}_2$ ), 5.05 с [2H,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_2$ ], 5.35 с (2H,  $\text{NCH}_2$ ), 6.54 с (1H, OH), 7.06 с (2H), 7.35 д.д. (1H,  $^3J_{\text{HCCN}}$  7.9, 8.2 Гц), 7.47 д.д. (1H,  $^3J_{\text{HCCN}}$  7.7, 7.4 Гц), 7.64 д (1H,  $^3J_{\text{HCCN}}$  8.2 Гц), 7.77 д (1H,  $^3J_{\text{HCCN}}$  8.2 Гц), 7.86 д (1H,  $^3J_{\text{HCCN}}$  7.9 Гц), 8.14 д (1H,  $^3J_{\text{HCCN}}$  8.9 Гц), 12.76 с (1H, NH). Масс-спектр,  $m/z$ : 582 [ $M - \text{Br}$ ] $^+$ . Найдено, %: C 63.29; H 6.58; Br 12.01; N 10.47.  $\text{C}_{35}\text{H}_{44}\text{BrN}_5\text{O}_3$ . Вычислено, %: C 63.38; H 6.64; Br 12.06; N 10.56.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Описанный в работе подход позволяет в одну стадию получать с высокими выходами производные изатина, содержащие фрагмент диазабициклооктана в структуре гидразонного заместителя. Было установлено, что все новые монокатионные изатин-3-ацилгидразоны проявляют хорошую активность против золотистого стафилококка, пектобактерий и фитопатогенных грибов. В то же время следует отметить тот факт, что описанные ранее аммониевые изатин-3-ацилгидразоны, содержащие ациклический четвертичный атом азота, обладали лучшей активностью в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. Вместе с тем, высокая активность против некоторых возбудителей болезней растений указывает на хорошие перспективы в поиске эффективных

антифитопатогенов среди представителей данного класса производных изатина.

### БЛАГОДАРНОСТИ

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

### ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена за счет средств Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета («Приоритет-2030»).

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

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

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

Любина Анна Павловна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2816-8142>

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

Калинина Татьяна Андреевна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7549-686X>

Глухарева Татьяна Владимировна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5231-9879>

Миронов Владимир Фёдорович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4198-3774>

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Couture G., Alaaeddine A., Boschet F., Ameduri B. *Progr. Polym. Sci.* **2011**, *36*, 1521–1557. doi 10.1016/j.progpolymsci.2011.04.004
- Parmar B., Bisht K.K., Rajput G., Suresh E. *Dalton Trans.* **2021**, *50*, 3083–3108. doi 10.1039/d0dt03824e
- Wu M.-X., Yang Y.-W. *Adv. Mater.* **2017**, *29*, 1606134. doi 10.1002/adma.201606134
- Liu W., Lustig W.P., Li J. *EnergyChem.* **2019**, *1*, 100008. doi 10.1016/j.enchem.2019.100008
- Zakharova L.Ya., Pashirova T.N., Doktorovova S., Fernandes A.R., Sanchez-Lopez E., Silva A.M., Souto S.B., Souto E.B. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 5534. doi 10.3390/ijms20225534
- Vereshchagin A.N., Frolov N.A., Egorova K.S., Seitkalieva M.M., Ananikov V.P. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 6793. doi 10.3390/ijms22136793
- Fernandes A.R., Sanchez-Lopez E., dos Santos T., Garcia M.L., Silva A.M., Souto E.B. *Materials.* **2021**, *14*, 7541. doi 10.3390/ma14247541
- Zubris D.L., Minbiole K.P.C., Wuest W.M. *Curr. Top. Med. Chem.* **2017**, *17*, 305–318. doi 10.2174/1568026616666160829155805
- Dizman B., Elasmri M.O., Mathias L.J. *J. Appl. Polym. Sci.* **2004**, *94*, 635–642. doi 10.1002/app.20872
- Ista L.K., Dascier D., Ji E., Parthasarathy A., Corbitt Th.S., Schanze K.S., Whitten D.G. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* **2011**, *3*, 2932–2937. doi 10.1021/am200820a
- Mohammadi M.K., Saghanezhad S.J., Razzaghiasl N. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* **2017**, *31*, 535–544. doi 10.4314/bcse.v31i3.17
- Hou H.-L., Qiu F.-L., Ying A.-G., Xu S.-L. *Chin. Chem. Lett.* **2015**, *6*, 377–381. doi 10.1016/j.ccllet.2014.11.018
- Jamasbi N., Irankhah-Khanghah M., Shirini F., Tajik H., Langarudi M.S.N. *New J. Chem.* **2018**, *42*, 9016–9027. doi 10.1039/c8nj01455h
- Ali Ghumro S., Alharthy R.D., Al-Rashida M., Ahmed S., Malik M.I., Hameed A. *ACS Omega.* **2017**, *2*, 2891–2900. doi 10.1021/acsomega.7b00618
- Faisal M., Shahid S., Ghumro S.A., Saeed A., Larik F.A., Shaheen Z., Channar P.A., Fattah T.A., Rasheed S., Mahesar P.A. *Synth. Commun.* **2018**, *48*, 462–472. doi 10.1080/00397911.2017.1409898
- Seyyedi N., Shirini F., Langarudi M.S.N. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 44630. doi 10.1039/c6ra05878g
- Gupta R., Yadav M., Gaur R., Arora G., Rana P., Yadav P., Adholeya A., Sharma R.K. *ACS Omega.* **2019**, *4*, 21529–21539. doi 10.1021/acsomega.9b03237
- Faisal M., Haider A., ul Aein Q., Saeed A., Larik F.A. *Front. Chem. Sci. Eng.* **2019**, *13*, 586–598. doi 10.1007/s11705-018-1788-6
- Shirini F., Langarudi M.S.N., Daneshvar N., Mashhadinezhad M., Nabinia N. *J. Mol. Liq.* **2017**, *243*, 302–312. doi 10.1016/j.molliq.2017.07.080
- Dehkordi R.B., Ghasemzadeh M.A., Safaei-Ghomi J. *Appl. Organomet. Chem.* **2020**, e5721. doi 10.1002/aoc.5721
- Kontos R.C., Schallenhammer S.A., Bentley B.S., Morrison K.R., Feliciano J.A., Tasca Ju.A., Kaplan A.R., Bezpalko M.W., Scott Kassel W., Wuest W.M., Minbiole K.P.C. *ChemMedChem.* **2019**, *14*, 83–87. doi 10.1002/cmdc.201800622



22. Жильцова Е.П., Паширова Т.Н., Кашапов Р.Р., Гайсин Н.К., Гнездилов О.И., Лукашенко С.С., Волошина А.Д., Кулик Н.В., Зобов В.В., Захарова Л.Я., Коновалов А.И. *Изв. АН Сер. хим.* **2012**, *61*, 110–118. [Zhiltsova E.P., Pashirova T.N., Khashapov R.R., Gaisin N.K., Gnezdilov O.I., Lukashenko S.S., Voloshina A.D., Kulik N.V., Zobov V.V., Zakharova L.Ya., Kononov A.I. *Russ. Chem. Bull.* **2012**, *61*, 113–120.] doi 10.1007/s11172-012-0016-7
23. Богданов А.В., Кадомцева М.Е., Бухаров С.В., Волошина А.Д., Миронов В.Ф. *ЖОХ.* **2020**, *56*, 488–491. [Bogdanov A.V., Kadomtseva M.E., Bukharov S.V., Voloshina A.D., Mironov V.F. *Russ. J. Org. Chem.* **2020**, *56*, 555–558.] doi 10.1134/S107042802003032X
24. Kumar G., Singh N.P., Kumar K. *Drug Res.* **2021**, *71*, 115–121 doi 10.1055/a-1238-2639
25. Liu B., Jiang D., Hu G. *Curr. Top. Med. Chem.* **2022**, *22*, 25–40. doi 10.2174/1568026621666211116090456
26. Song F., Li Zh., Bian Yu., Huo X., Fang Ju., Shao L., Zhou M. *Arch Pharm.* **2020**, *353*, e2000143. doi 10.1002/ardp.202000143
27. Chauhan G., Pathak Dh.P., Ali F., Bhutani R., Kapoor G., Khasimbi Sh. *Curr. Org. Synth.* **2020**, *17*, 1–38. doi 10.2174/1570179417666200924150907
28. Shagufta, Ahmad I. *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, *213*, 113157. doi 10.1016/j.ejmech.2021.113157
29. Kumar R., Takkar P. *Med. Chem. Res.* **2021**, *30*, 847–876. doi 10.1007/s00044-021-02699-5
30. Wati F.A., Santoso M., Moussa Z., Fatmawati S., Fadlan A., Judeh Z.M A. *RSC Adv.* **2021**, *11*, 25381. doi 10.1039/d1ra03091d
31. Brandao P., Marques C., Burke A.J., Pineiro M. *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, *211*, 113102. doi 10.1016/j.ejmech.2020.113102
32. Chen Yu., Liu Q., Yang F., Yu H., Xie Yu., Yao W. *Int. J. Biol. Macromol.* **2022**, *200*, 151–161. doi 10.1016/j.ijbiomac.2021.12.163
33. Cheke R.S., Patil V.M., Firke S.D., Ambhore J.P., Ansari I.A., Patel H.M., Shinde S.D., Pasupuleti V.R., Hassan M.I., Adnan M., Kadri A., Snoussi M. *Pharmaceuticals.* **2022**, *15*, 272. doi 10.3390/ph15030272
34. Богданов А.В., Зарипова И.Ф., Волошина А.Д., Стробыкина А.С., Кулик Н.В., Бухаров С.В., Миронов В.Ф. *ЖОХ.* **2018**, *88*, 61–71. [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**, *88*, 57–67.] doi 10.1134/S1070363218010097
35. Bogdanov A., Tsivileva O., Voloshina A., Lyubina A., Amerhanova S., Burtceva E., Bukharov S., Samorodov A., Pavlov V. *ADMET & DMPK.* **2022**, *10*, 163–179. doi 10.5599/admet.1179
36. Syakaev V.V., Podyachev S.N., Buzykin B.I., Latypov Sh.K., Habicher V.D., Kononov A.I. *J. Mol. Struct.* **2006**, *788*, 55–62. doi 10.1016/j.molstruc.2005.11.018
37. *National Committee for Clinical Laboratory Standards, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility. Tests for Bacteria that Grow Aerobically – Sixth Edition: Approved Standard, M7-A5, NCCLS, Wayne, 2000.*
38. Wanger A. *Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols.* Eds. R. Schwlbe, L. Steele-Moore, A.C. Goodwin. Boca Raton–London–N.Y.: CRC Press Taylor & Francis Group. **2007**, *3*, 53–74. doi 10.1201/9781420014495
39. Hanlon A., Taylor M., Dick J.D. *Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols.* Eds. R. Schwlbe, L. Steele-Moore, A.C. Goodwin. Boca Raton–London–N.Y.: CRC Press Taylor&Francis Group. **2007**, *6*, 91–104. doi 10.1201/9781420014495
40. Obydenov K.L., Kalinina T.A., Galieva N.A., Beryozkina T.V., Zhang Y., Fan Z., Glukhareva T.V., Bakulev V.A. *J. Agric. Food Chem.* **2021**, *69*, 12048–2062. doi 10.1021/acs.jafc.1c03325

# Sterically Hindered Phenolic Isatin Derivatives Containing DABCO Fragment: Synthesis and Antimicrobial Activity Evaluation

A. V. Bogdanov<sup>a, \*</sup>, A. D. Voloshina<sup>b</sup>, A. P. Lyubina<sup>b</sup>, S. K. Amerkhanova<sup>b</sup>, T. A. Kalinina<sup>c</sup>,  
T. V. Glukhareva<sup>c</sup>, and V. F. Mironov<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Kazan (Volga region) Federal University, ul. Kremlyovskaya, 18, Kazan, 420008 Russia

<sup>b</sup> A.E. Arbutov Institute of Organic and Physical Chemistry, Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences,  
ul. Akademika Arbutova, 8, Kazan, 420088 Russia

<sup>c</sup> Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin,  
ul. Mira, 28, Ekaterinburg, 620002 Russia

\*e-mail: abogdanov@inbox.ru

Received April 13, 2022; revised May 25, 2022; accepted June 1, 2022

The condensation reaction of isatin derivatives containing a phenolic fragment with 1-(2-hydrazinyl-2-oxoethyl)-4-aza-1-azoniabicyclo[2.2.2]octane bromide yielded a series of isatin-3-acylhydrazones containing the monocationized DABCO fragment. New compounds have antimicrobial activity against phytopathogenic bacteria and fungi, as well as a number of anthropathogenic bacteria and fungi. Salts based on 5-alkylisatins exhibit a bactericidal effect against *Staphylococcus aureus* at a concentration of 15.6 µg/mL.

**Keywords:** isatin, DABCO, hydrazones, antimicrobial activity, antifungal activity, phytopathogens