

# СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГИДРАЗИДА САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

Получен ряд алкиловых эфиров (2-гидроксибензоил)-гидразинодитиокарбаминовой кислоты. Среди синтезированных соединений выявлено вещество с выраженной антимикробной активностью.

Среди обширного класса серосодержащих соединений особый интерес вызывают производные дитиокарбаминовых кислот, которые являются важными синтонами для получения разнообразных соединений, нашедших применение как эффективные антибактериальные [1], противогрибковые [2], пестицидные [3], бактерицидные [4] и другие средства.

Как известно, дитиокарбаминовые кислоты общей формулы  $R_2NCSH_2$ , за исключением отдельных представителей, являются малоустойчивыми соединениями, но, несмотря на это, довольно реакционноспособными в реакциях нуклеофильного, электрофильного и радикального присоединения.

Взаимодействие дитиокарбаминовых кислот с органилгалогенидами является удобным методом синтеза эфиров дитиокислот (дитиоуретанов), характеризующиеся широким спектром биологического действия, что дало рекомендовать их

в качестве лекарственных средств, консервантов, пестицидов и т.д. В то же время известно, что наличие в структуре органических соединений атома серы часто обуславливает их низкую токсичность. В медицинской практике широко используются серосодержащие соединения в качестве антибактериальных, противотуберкулезных средств[5].

Анализ литературных данных[1-5] показал, что производные дитиокарбаминовых кислот на основе гидразида салициловой кислоты мало изучены. Поэтому целью наших исследований явился синтез и изучение биологической активности данного класса соединений.

Гидразид салициловой кислоты подвергался взаимодействию с сероуглеродом с дальнейшим алкилированием образующегося дитиокарбамата, различными органилгалогенидами в присутствии акцептора галогеноводорода – триэтиламина:

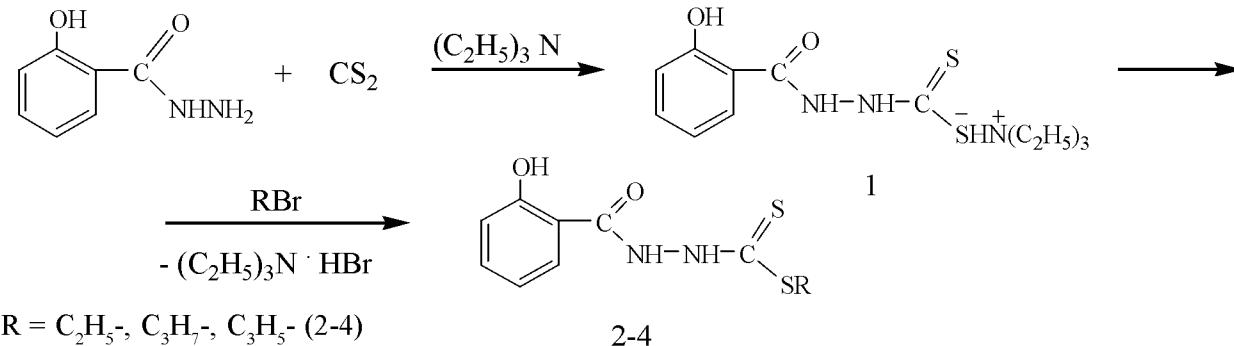


Таблица 1. Антимикробная активность пропилового эфира (2-гидроксибензоил) – гидразинодитиокарбаминовой кислоты

№	Соединение	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
1	ГЖА-1	17±0,3	19±0,2	16±0,1	15±0,1	22±0,1
2	Линкомицина гидрохлорид	24±0,1	22±0,1	21±0,2	-	
3	Нистатин				22±0,1	

В процессе исследования установлено, что алкилирование дитиокарбаматов гидразида салициловой кислоты различными органическими реагентами целесообразно проводить без выделения промежуточного соединения (1), так как дитиокарбаматы являются неустойчивыми соединениями и подвергаются разложению.

Полученные соединения (2-4) представляют собой кристаллические вещества, растворимые в полярных органических растворителях и нерастворимые в воде.

Выходы целевых продуктов, в зависимости от электронных и стерических особенностей молекул реагирующих веществ составили от 60-70%.

Синтезированные соединения (2-4) очищались перекристаллизацией из бензола. Чистота выделенных продуктов контролировалась с помощью ТСХ. Строение полученных соединений доказано ИК-спектроскопией.

В ИК-спектрах соединений (2-4) проявляется полоса поглощения характерная для валентных колебаний группы C=S ( $1255\text{--}1295\text{ cm}^{-1}$ ), спектры также содержат полосы поглощения в области  $752\text{--}796\text{ cm}^{-1}$ , характерная для валентных колебаний C-S связи. Имеются полосы поглощения амидного карбонила в области  $1690\text{--}1660\text{ cm}^{-1}$ , валентных колебаний гидроксила и NH групп в области  $3400\text{--}3180\text{ cm}^{-1}$ .

В целях изучения возможности использования синтезированных соединений (2-4) в практике лечения различных заболеваний, проведено исследование на антимикробную и цитотоксическую активность для соединения (2) – пропилового эфира (2-гидроксибензоил) – гидразинодитиокарбаминовой кислоты (ГЖА-1).

Изучение антимикробной активности вышеуказанного образца проводилось по отношению к тест-штаммам, рекомендуемых Государственной фармакопеей: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 и к дрожжевому грибку *Candida albicans* ATCC 885-653 ме-

тодом диффузии в агар [6,7]. Исследуемый образец (ГЖА-1) растворяли в 96% этиловом спирте в концентрации 1 мг/мл. Препараты сравнения – линкомицин гидрохлорида для бактерий и нистатин для дрожжевого грибка *Candida albicans*

Антимикробная активность пропилового эфира (2-гидроксибензоил) – гидразинодитиокарбаминовой кислоты оценивалась по диаметру зон задержки роста тест-штаммов (мм). Диаметр зон задержки роста меньше 10 мм и сплошной рост в чашке оценивали как отсутствие антибактериальной активности, 10-15 мм – слабая активность, 15-20 мм – умеренно выраженная активность, выше 20 мм – выраженная. Образец (ГЖА-1) испытывался в 3-х параллельных опытах. Статистическую обработку проводили методами параметрической статистики с вычислением средней арифметической и стандартной ошибки. Результаты исследований антимикробной активности образца (ГЖА-1) приведены в таблице 1.

В результате исследования установлено, что образец (ГЖА-1) обладает умеренно-выраженной антибактериальной активностью в отношении грамположительных (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) и грамотрицательных (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) штаммов бактерий, а также выраженным антигрибковым действием в отношении дрожжевого грибка *Candida albicans*.

Цитотоксичность пропилового эфира (2-гидроксибензоил) – гидразинодитиокарбаминовой кислоты (ГЖА-1) оценивали в teste выживаемости личинок морских раков *Artemia salina* (Leach) методом Brine shrimp cytotoxicity (J. I. McLaughlin, 1991 [8]; Alfredo Beloz, 1992 [9]; Ahmed Taha, Hashim Alsaed, 2000 [10]). Эксперименты проводятся на личинках двухдневного возраста в условиях культивирования *in vitro*. Личинки выращиваются погружением яиц морских раков *Artemia salina* (Leach) в искусственную морскую воду и инкубированием 48 ч при

Таблица 2. Цитотоксическая активность пропилового эфира (2-гидроксибензоил) – гидразинодитиокарбаминовой кислоты

Соединение	Процент погибших личинок после 24 часов, %			$LD_{50}$ мкг/мл интервал	95% доверительный	Активность
100 мкг/мл ГЖА-1	10 мкг/мл 83,25	1 мкг/мл 56,61	16,65	8,569	3,959-17,623	Обладает

температуре 37 °C. Навеску каждого исследуемого образца (ГЖА-1) растворяют в 2мл метанола, затем из этого раствора брали по 500 мкл (3 параллели), 50 мкл (3 параллели), 5 мкл (3 параллели). После испарения метанола в каждый флакон добавляют по 5 мл искусственной морской воды. Таким образом, если начальная масса навески составляет 2 мг, то конечные концентрации образца составляют 100 мкг/мл, 10 мкг/мл и 1 мкг/мл, соответственно, каждой концентрации в 3 повторениях. В каждый флакон с образцами с помощью пастеровской пипетки сажают по 10 личинок морских раков *Artemia salina* 2-дневного возраста. После этого все флаконы оставляют при комнатной температуре на свету 24 часа. По истечении 24 часов пересчитывают выжившие и погибшие личинки. Затем с использованием полученных данных по верхнему и нижнему токсическому лимиту рассчитывают половинную дозу образца.

Результаты тестирования цитотоксической активности образца (ГЖА-1) приведены в табл . 2.

Как видно из таблицы 2, представленный на исследование образец (ГЖА-1) проявил умеренно-выраженную цитотоксическую активность в отношении личинок морских раков *Artemia salina*.

Таким образом, образец (ГЖА-1) обладает выраженным антигрибковым действием, что выявляет его как перспективное соединение в плане создания на его основе антимикробных препаратов, в частности противогрибкового средства, для лечения грибковых заболеваний, вызванных дрожжевым грибком *Candida albicans*.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ИК-спектры сняты на спектрометре «AVATAR-320» в таблетках KBr. Спектры ПМР регистрировались на спектрометре Mercury-300 фирмы VARIAN с рабочей частотой 300 МГц в растворах  $CDCl_3$ ,  $CCl_4$ ,  $CD_3OD$ .

Контроль за ходом реакции и чистотой полученных соединений осуществляли методом тон-

кослойной хроматографии на пластинках «Silufol UV-354» с проявлением пятен парами йода, в системе изопропиловый спирт-аммиак-вода – 7:2:1.

### Этиловый эфир (2-гидроксибензоил)-гидразинодитиокарбаминовой кислоты (2).

К раствору 1,52 г (0,01моль) гидразида салициловой кислоты и 1,01г (0,01моль) триэтиламина в 30 мл дистиллированной воды при температуре 5-10°C медленно добавили 0,76 г (0,01моль) сероуглерода, растворенного в 5 мл этанола. Затем к реакционной смеси при капали 1,09 г (0,01 моль) бромистого этила в 5 мл этанола при той же температуре. Реакционную массу перемешивали в течение 2-3 ч. Экстрагировали бензолом. Отделили органический слой, и после отгонки растворителя получили 1,2 г (68%) белого порошкообразного вещества с т.пл. 131-132°C.

Пропиловый эфир (2-гидроксибензоил)-гидразинодитиокарбаминовой кислоты (3) синтезирован аналогично соединению (2) из 1,52 г (0,01моль) гидразида салициловой кислоты, 1,01г (0,01г) триэтиламина, 0,76 г(0,01 моль) сероуглерода и 1,23 (0,01моль) бромистого пропиля. Получено 0,8 г (59%) белого порошкообразного вещества с т.пл. 227-228°C.

Алиловый эфир (2-гидроксибензоил)-гидразинодитиокарбаминовой кислоты (4) синтезирован аналогично соединению (2) из 1,52 г (0,01моль) гидразида салициловой кислоты, 1,01г (0,01г) триэтиламина, 0,76 г(0,01 моль) сероуглерода и 1,20 г (0,01моль) бромистого аллила. Получено 0,72 ( 52%) белого порошкообразного вещества с т.пл. 101-102°C.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бырько В.М. Дитиокарбаматы. М.: Наука, 1984. С.15.
2. Кораблев М.В. Производные дитиокарбаминовых кислот. Химия, токсикология, фармакология и клиническое применение. Минск. Беларусь, 1971. 152 с.
3. Оаэ С. Химия органических соединений серы. М.: Химия, 1975. С.62.
4. Каримов М. Производные дитиокарбаминовых кислот. Синтез и биологическая активность органических соединений. Ташкент. ФАН. 1985. С.57-59.

5. Каюкова Л.А., Пролиев Л.Д. Основные направления поиска новых противотуберкулезных средств // Хим. Фарм. Ж. 2000. Т.34. №1. С.12-19.
6. Meyer B.N., Ferrigni N.R., Putnam J.E., Jacobsen L.B., Nichols D.E. and McLaughlin J.L. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents // *Planta Medica*. 1982. V. 45. P. 31-34.
7. Ferrigni N.R., McLaughlin J.L. Use of potato disc and brine shrimp bioassays to detect activity and isolate piceatannol as the antileukemic principle from the seeds of *Euphorbia lagascae* // *Journal of Natural Products*. 1984 (Mar-Apr). V. 47. №2. P. 347-352.
8. McLaughlin J.L. Crown Gall Tumors on Potato Discs and Brine Shrimp Lethality: Two Simple Bioassays for Higher Plant Screening and Fractionation // *Methods in Plant Biochemistry*. 1991. V. 6. P. 1-32.
9. Alfredo Beloz. Brine shrimp bioassay screening of two medicinal plants used by the Warao: *Solanum straminifolium* and *Virola surinamensis* // *Journal of Ethnopharmacology*. 1992. V. 37. P. 225-227.
10. Ahmed Taha, Hashim Alsayed. Brine Shrimp Bioassay of Ethanol Extracts of *Sesuvium verrocosum*, *Salsola baryosma* and *Zygophyllum quatarense* Medical Plants from Bahrain // *Phytotherapy research*. 2000. V. 14. P. 48-50.

### Резюме

(2-гидроксибензоил)-гидразинодитиокарбаминдық қышқылдың бірнеше алкил эфирлері алынды. Синтезделген қосылыстардың ішінде антимикробтық белсенділік танытқан зат алынды.

### Resume

We synthesized a number of ethers of (2-hydralxybenzoil)-hydrazindithiocarbaminc acids. Some substances have a good antibacterial properties.

TOO « Институт органического  
синтеза и углехимии РК»

г. Караганда

Поступила 22.12.2007 г.