

М. Базарбаев¹, А.Х. Жакина², Г.Г. Байкенова³, А.К. Шайымбетова^{1,3},
С.М. Дюсенов¹, А.А. Айткенова⁴, И.К. Акжунусова¹, Д.Р. Садикова³

¹Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт, Алматы;

²Институт органического синтеза и углекислотной химии РК, Караганда;

³Карагандинский экономический университет Казпотребсоюза;

⁴Карагандинский государственный медицинский университет
(E-mail: bazarbaev48@mail.ru)

Синтез и туберкулостатическая активность 2-(2-гидроксibenзоил)- S-3-(пиперидин-1-ил)-пропионилгидразинодитиокарбамата и N-(2-(2-гидроксibenзоил)-гидразино-1-карбонотионил)-метакриламида

В статье взаимодействием S-акрилоил-2-(2-гидроксibenзоил)-гидразинодитиокарбаминовой кислоты с пиперидином осуществлен синтез соответствующего 2-(2-гидроксibenзоил)-S-3-(пиперидин-1-ил)-пропионилгидразинодитиокарбамата. Кроме того, взаимодействием гидразида салициловой кислоты с метакрилоилизотиоцианатом осуществлен синтез N-(2-(2-гидроксibenзоил)-гидразино-1-карбонотионил)-метакриламида. Синтезированные авторами соединения выявили туберкулостатическую активность по отношению к эпизоотическому штамму *M. бычьего вида*.

Ключевые слова: 2-(2-гидроксibenзоил)-S-3-(пиперидин-1-ил)-пропионилгидразинодитиокарбамат, N-(2-(2-гидроксibenзоил)-гидразино-1-карбонотионил)-метакриламид, туберкулостатическая активность, микобактерии.

Введение

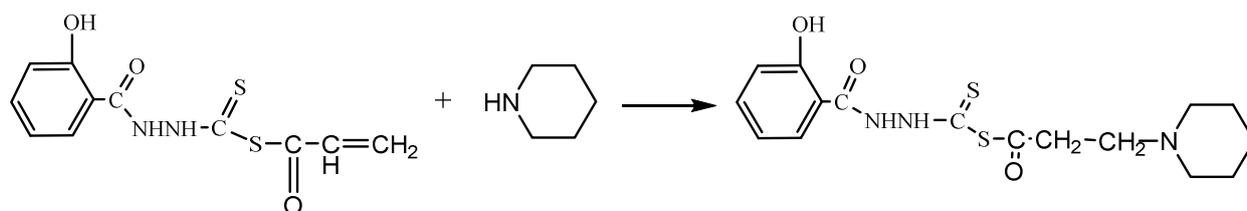
На сегодняшний день в Республике Казахстан ощущается критическая необходимость в разработке новых и недорогих лекарственных средств для лечения многих заболеваний, в том числе и туберкулеза. В этом плане безусловный теоретический и практический интерес представляют салициловая кислота и ее производные, которые привлекают внимание многочисленных исследователей всего мира, занимающихся поиском новых противовоспалительных, жаропонижающих, анальгезирующих, противомикробных, антисептических и противотуберкулезных средств, что обусловлено их широким применением в медицинской практике и их синтетическими возможностями [1, 2].

Целесообразность изучения свойств модифицированных производных салициловой кислоты обусловлена широкими перспективами, которые открывают границы для дальнейшей реализации потенциальных возможностей химической модификации, заложенных в самой структуре этих новых веществ с комбинацией нескольких активных группировок: карбонильной, тиокарбонильной, тиоамидной, дитиокарбаматной, гидразидной. Такая комбинация в молекуле производных салициловой кислоты, содержащей в своей структуре известные фармакофорные группы, зачастую приводит к возникновению новой высокой физиологической активности и снижению токсичности.

Синтез модифицированных производных гидразида салициловой кислоты представляет несомненный интерес в создании новых лекарственных, в том числе противотуберкулезных, соединений. Так, ацилпроизводное гидразида салициловой кислоты, в частности (2-гидроксифенил)-акрилоилдитиокарбаминовая кислота, является удобным синтоном для дальнейшей модификации. Его структура содержит реакционноспособную двойную углерод-углеродную связь для присоединения нуклеофильных реагентов [1, 3–7]. В связи с этим целенаправленный поиск и синтез новых модифицированных эффективных лекарственных средств на основе гидразида салициловой кислоты является актуальным и перспективным направлением как в научном, так и в практическом аспекте.

Экспериментальная часть

Синтез соединения 2-(2-гидроксibenзоил)-S-3-(пиперидин-1-ил)-пропионилгидразинодитиокарбамата, обладающего противотуберкулезной активностью, осуществлен взаимодействием гидразида салициловой кислоты с хлорангидридом акриловой кислоты в среде диоксана в присутствии триэтиламина (акцептора галогеноводорода) с дальнейшим аминированием. Полученное соединение представляет собой белый кристаллический продукт. Выход 70 %.



В целях изучения возможности использования синтезированного соединения в практике лечения различных заболеваний проведено исследование на туберкулостатическую активность соединения 2-(2-гидроксибензоил)-S-3-(пиперидин-1-ил)-пропионилгидразиодитиокарбамата (далее ГЖА-2). Определение туберкулостатической активности ГЖА-2 *in vitro* проводили в филиале «Карагандинская НИВС» ТОО «КазНИВИ» с использованием модифицированной питательной среды Гельберга-М (инновационный патент № 23875 от 21.09.2009).

Далее питательную среду Гельберга-М для проведения опыта с содержанием испытуемого соединения (ГЖА-2) в соотношении 1:2500 готовили по Б.Я. Хайкину (1988) [8]. Полученную смесь вносили в стерильные колбы с бусами и тщательно перемешивали, разливали в пробирки по 5–6 см³ и свертывали при температуре 85 °С в течение одного часа. Взвесь микобактерий готовили на физиологическом растворе хлорида натрия по стандарту мутности ГНИИ им. проф. Л.А. Тарасевича из расчета 500 млн м.к. в см³. В каждую пробирку со средой с соблюдением стерильности произвели посевы по 0,1 см³ бактериальной взвеси. Для каждого штамма брали по три пробирки среды с ГЖА-2. Пробирки выдерживали в течение трех часов в горизонтальном положении при температуре 37 °С. После чего их поместили в термостат, где инкубировали в течение 30 дней. Туберкулостатическую активность ГЖА-2 определяли по отношению к культурам эталонного штамма *M. bovis-8*, эпизоотических штаммов: *M. бычьего вида*, *M. phlei*, *M. scrofulaceum*.

Данные, характеризующие туберкулостатическую активность соединения ГЖА-2 по отношению к различным эталонным и эпизоотическим штаммам микобактерий, представлены в таблице 1.

Т а б л и ц а 1

Характеристика туберкулостатической активности соединения ГЖА-2 по отношению к различным штаммам микобактерий

Наименование культуры	Среда Гельберга-М							
	Дни наблюдения							
	5-й	7-й	10-й	12-й	15-й	20-й	25-й	30-й
	Эталонный штамм <i>M. bovis-8</i>							
Пробирка № 1	–	–	–	+	+	++	++	+++
Пробирка № 2	–	–	–	+	+	++	+++	++++
Пробирка № 3	–	–	–	++	+++	+++	+++	+++
	Эпизоотический штамм <i>M. bovis</i>							
Пробирка № 1	–	–	–	–	–	ед.	ед.	ед.
Пробирка № 2	–	–	–	–	–	–	–	ед.
Пробирка № 3	–	–	–	–	–	–	ед.	ед.
	<i>M. phlei</i>							
Пробирка № 1	–	–	–	+	++	++++	++++	++++
Пробирка № 2	–	–	–	+	+	++	++++	++++
Пробирка № 3	–	–	–	+	+	++	+++	++++
	<i>M. scrofulaceum</i>							
Пробирка № 1	–	–	+	++	+++	+++	+++	+++
Пробирка № 2	–	–	+	+	++	+++	++++	++++
Пробирка № 3	–	+	+	+	++	++	+++	+++

Примечание. е.д. — единичные колонии; + — от 10 до 20 колоний; ++ — от 20 до 50 колоний; +++ — более 100 колоний; ++++ — сплошной рост.

Из представленных в таблице 1 данных видно, что на поверхности питательной среды с ГЖА-2 на 12-е сутки отмечен рост культуры эталонного штамма *M. bovis-8* и эпизоотических штаммов атипичных микобактерий *M. phlei*, *M. scrofulaceum* с переходом на 25–30 сутки в фазу интенсивного роста.

та. Единичные колонии культур эпизоотического штамма *бычьего вида* зарегистрированы только на 20-е сутки без перехода к 25–30 суткам в фазу интенсивного роста.

На рисунке 1 проиллюстрирован характер роста культур различных штаммов на поверхности питательной среды с химическим соединением ГЖА-2.

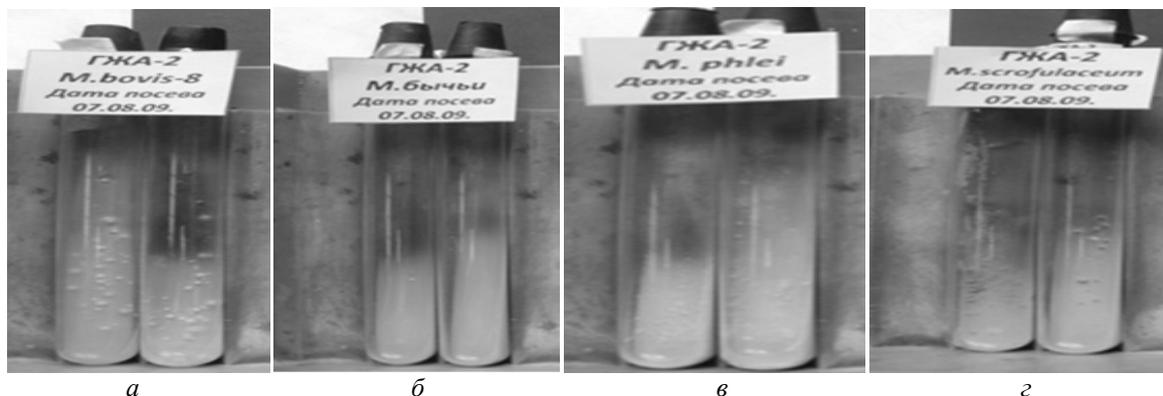
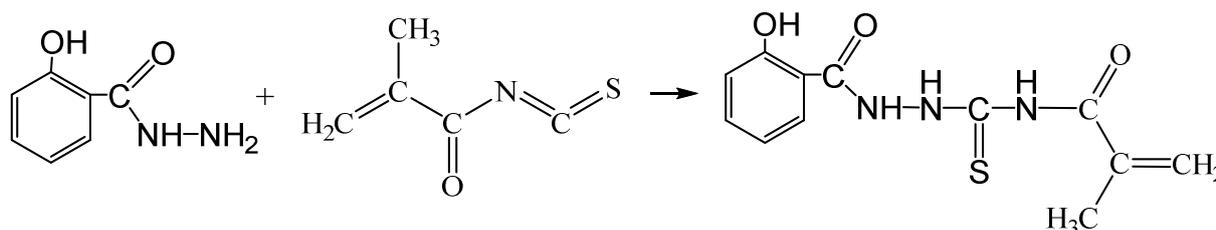


Рисунок 1. Рост культур микобактерий: *M. bovis-8* (эталонный штамм), *M. phlei* и *M. scrofulaceum* (эпизоотические штаммы) на поверхности питательных сред с ГЖА-2

На рисунке 1а виден характерный рост культур штамма *M. bovis-8*. Колонии микобактерий S-типа с приподнятым (пуговчатым) центром, нежно светло-желтоватым оттенком. На рисунке 1б наблюдается отсутствие роста культур эпизоотического штамма микобактерий бычьего вида, что указывает на туберкулостатическую активность испытуемого соединения (ГЖА-2) по отношению к данному штамму. На рисунке 1в виден характерный рост культур атипичного штамма *M. phlei*. Колонии мелкозернистые S-типа, беловато-кремового цвета. На рисунке 1г виден характерный рост скохромогенной культуры *M. scrofulaceum*. Пигментация колоний желтого цвета различной интенсивности.

В результате исследования установлено, что образец (ГЖА-2) обладает умеренно выраженной туберкулостатической активностью только по отношению к эпизоотическому штамму микобактерий бычьего вида.

Следующим объектом исследования на туберкулостатическую активность является N-(2-(2-гидроксибензоил)-гидразино-1-карбонотионил)-метакриламид (далее ГЖА-10), синтез которого был осуществлен взаимодействием гидразида салициловой кислоты с метакрилоилизотиоцианатом в спиртовой среде, при эквимольном соотношении реагентов с выходом 48 %.



Туберкулостатическая активность синтезированного соединения (ГЖА-10) по отношению к культурам *M. bovis-8*, *M. бычьего вида*, *M. phlei*, *M. scrofulaceum* изучена по методике, которая использовалась при изучении туберкулостатической активности соединения ГЖА-2. Результаты испытания туберкулостатической активности ГЖА-10 приведены в таблице 2 и на рисунке 2.

Из представленных в таблице 2 данных видно, что на поверхности питательной среды с ГЖА-10 на 12-е сутки отмечен рост культуры эталонного штамма *M. bovis-8* и эпизоотических штаммов атипичных микобактерий *M. phlei* и *M. scrofulaceum* с переходом в фазу интенсивного роста к 25–30 суткам. Единичные колонии культур эпизоотического штамма *M. бычьего вида* зарегистрированы только на 20-е сутки без перехода к 25–30 суткам в фазу интенсивного роста.

На рисунке 2 проиллюстрирован характер роста культур различных штаммов микобактерий на поверхности питательной среды с химическим соединением ГЖА-10.

**Характеристика туберкулостатической активности соединения ГЖА-10
по отношению к различным штаммам микобактерий**

Наименование культуры	Среда Гельберга–М							
	Дни наблюдения							
	5-й	7-й	10-й	12-й	15-й	20-й	25-й	30-й
	<i>Эталонный штамм M. bovis-8</i>							
Пробирка № 1	–	–	–			++	++	++
Пробирка № 2	–	–	–	+	+	++	+++	++++
Пробирка № 3	–	–	–	++	+++	+++	+++	+++
	<i>Эпизоотический штамм M. bovis</i>							
Пробирка № 1	–	–	–	–	–	–	–	е.д.
Пробирка № 2	–	–	–	–	–	–	е.д.	е.д.
Пробирка № 3	–	–	–	–	–	–	–	–
	<i>M. phlei</i>							
Пробирка № 1	–	–	–	++++	++++	++++	++++	++++
Пробирка № 2	–	–	–	+	+	++	++	+++
Пробирка № 3	–	–	–	+	+	++	+++	++++
	<i>M. scrofulaceum</i>							
Пробирка № 1	–	–	+	++	+++	+++	+++	+++
Пробирка № 2	–	–	+	+	++	+++	++++	++++
Пробирка № 3	–	+	+	+	++	++	+++	+++

Примечание. е.д. — единичные колонии; + — от 10 до 20 колоний; ++ — от 20 до 50 колоний; +++ — более 100 колоний; ++++ — сплошной рост.

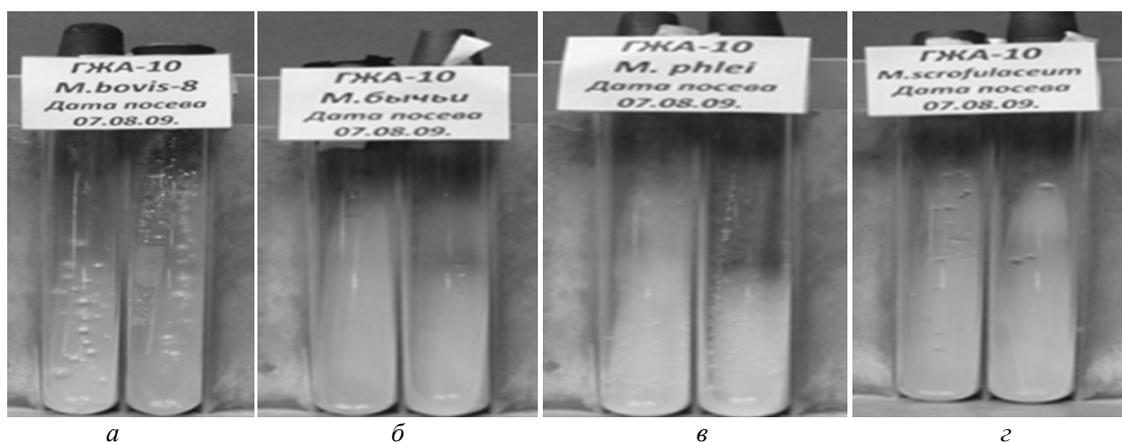


Рисунок 2. Рост культур микобактерий штаммов *M. bovis-8* (эталонный штамм), эпизоотических штаммов *M. phlei* и *M. scrofulaceum* на поверхности питательной среды с ГЖА-10

На рисунке 2а виден характерный рост культур штамма *M. bovis-8*. Колонии микобактерий S-типа с приподнятым (пуговчатым) центром, нежные, со светло-желтоватым оттенком. На рисунке 2б видно отсутствие роста культур эпизоотического штамма *M. бычьего вида*, что указывает на туберкулостатическую активность испытуемого соединения (ГЖА-10) по отношению к упомянутому выше штамму микобактерий. На рисунке 2в виден характерный рост культур атипичного штамма *M. phlei*. Колонии мелкозернистые S-типа, беловато-кремового цвета. На рисунке 2г виден характерный рост скотохромогенной культуры *M. scrofulaceum*. Пигментация колоний желтого цвета различной интенсивности.

В результате исследования установлено, что образец ГЖА-10 подавляет первичный рост культур только эпизоотического штамма микобактерий бычьего вида.

Выводы

Таким образом, результаты исследования показывают, что соединения 2-(2-гидроксибензоил)-S-3-(пиперидин-1-ил)-пропионилгидразинокрбамат и N-(2-(2-гидроксибензоил)-гидразино-1-

карбонотионил)-метакриламид проявляют туберкулостатическую активность только по отношению к эпизоотическому штамму *M. бычьего вида*.

Список литературы

- 1 Лазовская Л.А. Специфическая химиотерапия при туберкулезе как антропонозе // Ветеринарная патология. — 2012. — № 1, 2. — С. 154–156.
- 2 Комаров Ф.И., Марквардт Ф., Бокарев И.Н. и др. Лечение ишемической болезни сердца препаратом «Микристин» // Современная медицина. — 1979. — № 10. — С. 66–70.
- 3 Dolin P.J., Raviglione M.C., Kochi A. Global tuberculosis incidence and mortality during 1990–2000 // Bull. World Health Organ. — 1994. — Vol. 72. — P. 213–220.
- 4 Сигидин Я.А. Салицилаты // Современная медицина. — 1972. — № 9. — С. 50–55.
- 5 Машковский М.Д. Простагландины // Фармакология и токсикология. — 1974. — № 1. — С. 109–116.
- 6 Чернух А.М. Воспаление (очерки патологии и экспериментальной терапии). — М.: Медицина, 1979. — 448 с.
- 7 Машковский М.Д. Современные анальгетики и эндогенные механизмы боли и обезболивания // Вестн. АМН СССР. — 1980. — № 9. — С. 52–57.
- 8 Хайкин Б.Я. Рекомендации. Лабораторная диагностика туберкулеза. — Омск, 1988. — 26 с.

М. Базарбаев, А.Х. Жакина, Г.Г. Байкенова, А.К. Шайымбетова,
С.М. Дюсенов, А.А. Айткенова, И.К. Акжунусова, Д.Р. Садикова

2-(2-Гидроксибензоил)-S-3-(пиперидин-1-ил)-пропионилгидразино- дитиокарбамат және N-(2-(2-гидроксибензоил)-гидразино-1-карбонотионил)- метакриламид химиялық қоспаларын синтездеу және олардың микобактериялардың әр түрлі штамдарына қарсы туберкулостатикалық пәрменділігі

Мақалада 2-(2-гидроксибензоил)-S-3-(пиперидин-1-ил)-пропионилгидразинодитиокарбамат және N-(2-(2-гидроксибензоил)-гидразино-1-карбонотионил)-метакриламид химиялық қоспалардың микобактериялардың эталондық және эпизоотиялық штамдарына қарсы туберкулостатикалық пәрменділігін анықтау бағытында жүргізілген зерттеулер қорытындысы баяндаған. Авторлар талған химиялық қоспалардың ірі қара малының туберкулезінің эпизоотиялық штаммына қарсы туберкулостатикалық пәрменділігін анықтаған.

M. Bazarbaev, A.H. Zhakina, G.G. Baikenova, A.K. Shaiymbetova,
S.M. Dyusenov, A.A. Aitkenova, I.K. Akzhunusova, D.R. Sadikova

Synthesis and tuberculostatic activity 2-(2-hydroxybenzoyl)-S-3-(piperidine-1-yl)- propionylhydrazinedithiocarbamates and N-(2-(2-hydroxybenzoyl)-hydrazine- 1-carbonyl)-methacrylamide

2-(2-hydroxybenzoyl)-S-3-(piperidine-1-yl)-propionylhydrazinodithiocarbamate was synthesized by the interaction of S-akriloyl-2-(2-hydroxybenzoyl)-hydrazinodithiocarbamino acid with piperidine. Also N-(2-(2-hydroxybenzoyl)-hydrazino-1-carbonothionyl-methacrylamide was synthesized by the interaction of hydrazide of salicylic acid with methacryloyl isothiocyanate. It was revealed that the synthesized compounds exhibit tuberculostatic activity to epizootic bovine strains of *M. tuberculosis*.

References

- 1 Lazovskaya L.A. *Veterinary Pathology*, 2012, 1–2, p. 154–156.
- 2 Komarov F.I., Markwardt F., Bokarev I.N. et al. *Modern medicine*, 1979, 10, p. 66–70.
- 3 Dolin P.J., Raviglione M.C., Kochi A. *Bull. World Health Organ.*, 1994, 72, p. 213–220.
- 4 Sigidin Ya.A. *Modern medicine*, 1972, 9, p. 50–55.
- 5 Mashkovsky M.D. *Pharmacology and toxicology*, 1974, 1, p. 109–116.

- 6 Chernukh A.M. *Inflammation (Essays on pathology and experimental therapy)*, Moscow: Meditsina, 1979, 448 p.
- 7 Mashkovsky M.D. *Bull. of Academy of medical sciences of the USSR*, 1980, 9, p. 52–57.
- 8 Khaikin B.Ya. *Recomendations. Laboratory diagnostics of tuberculosis*, Omsk, 1988, 26 p.