

УДК 547.79:615

А.Х. Жакина¹, Г.Г. Байкенова², М. Базарбаев³, А.К. Шайымбетова³,
С.М. Дюсенов³, А.А. Айткенова³, И.К. Акжунусова⁴, Д.Р. Садикова³

¹Институт органического синтеза и углеродной РК, Караганда;

²Карагандинский экономический университет Казпотребсоюза;

³Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт, Алматы;

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

**Синтез и туберкулостатическая активность
N-3-(2-(2-гидроксибензоил)гидразинил)-3-(оксопропил)-
изоникотиногидразида и 3-(2-(2-гидроксибензоил)-гидразинил)-
пропионил-(морфолин-4)-дитиокарбамата**

В статье приведены результаты испытания туберкулостатической активности химических соединений N-3-(2-(2-гидроксибензоил)гидразинил)-3-(оксопропил)-изоникотиногидразида (ГЖА-45) и 3-(2-(2-гидроксибензоил)-гидразинил)-пропионил-(морфолин-4)-дитиокарбамата (ГЖА-47) по отношению к штаммам: *M.bovis-8* (эталонный штамм), *M.bovis* (эпизоотический штамм), *M.Scrofulaceum* и *M. Phlei* (атипичные штаммы). Установлено, что соединение ГЖА-45 проявило туберкулостатическую активность по отношению к эталонному штамму *M. bovis-8*, эпизоотическому штамму *M. bovis* и атипичному штамму *M. scrofulaceum*, а ГЖА-47 — по отношению к эпизоотическому штамму *M.bovis*, а также к атипичным штаммам *M. phleiu* и *M. scrofulaceum*. Полученные результаты показали, что ГЖА-45 и ГЖА-47 являются перспективными соединениями в плане создания противотуберкулезных препаратов и служат основой для дальнейшего изучения защитной эффективности этих соединений.

Ключевые слова: N-3-(2-(2-гидроксибензоил)гидразинил)-3-(оксопропил)-изоникотиногидразид, 3-(2-(2-гидроксибензоил)-гидразинил)-пропионил-(морфолин-4)-дитиокарбамат, туберкулостатическая активность, микобактерии.

Введение

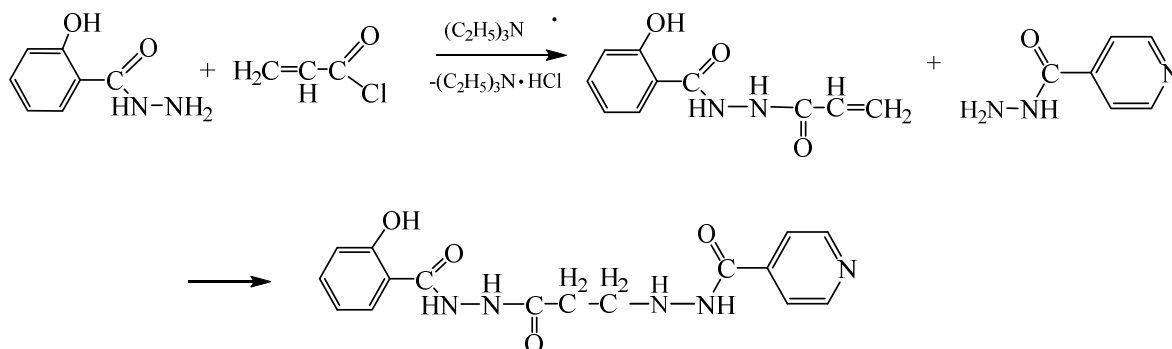
Разработка новых и недорогих лекарственных средств отечественного производства для лечения многих заболеваний на сегодняшний день в Республике Казахстан остается актуальной. Среди многочисленных соединений, обладающих различными противовоспалительными, жаропонижающими, анальгезирующими, противомикробными, антисептическими и противотуберкулезными свойствами, салициловая кислота и ее производные в настоящее время привлекают внимание исследователей всего мира [1–8].

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 фармакофорных групп, зачастую приводящих к возникновению новой высокой физиологической активности и снижению токсичности.

Экспериментальная часть

В продолжение поиска новых биологически активных соединений и установления зависимости «структура–активность» среди производных салициловой кислоты осуществлен синтез аминопро-

пионильного производного салициловой кислоты N-3-(2-(2-гидроксибензоил)гидразинил)-3-оксопропил)-изоникотиногидазида взаимодействием салициловой кислоты с хлорангидридом акриловой кислоты в присутствии триэтиламина — акцептора галогеноводорода в среде диоксана с дальнейшим образованием N-акрилоил-2-гидроксибензогидазида с выходом 82 %. Далее N-акрилоил-2-гидроксибензогидазид подвергли нуклеофильному присоединению с гидразидом изоникотиновой кислоты в спиртовой среде с образованием N-3-(2-(2-гидроксибензоил)гидразинил)-3-оксопропил)-изоникотиногидазида с выходом 56 %:



Синтезированное соединение N-3-(2-(2-гидроксибензоил)гидразинил)-3-оксопропил)-изоникотиногидазид (ГЖА-45) представляет собой кристаллический продукт, растворимый в полярных органических растворителях. В ИК-спектре синтезированного соединения ГЖА-45 наблюдается исчезновение полос поглощения, характерных для C=C при 1635–1625 см⁻¹, проявляются полосы деформационных колебаний C–H в области 1470–1350 см⁻¹, а также присутствуют полосы поглощения для C=O группы в области 1697–1680 см⁻¹, для NH и OH групп — 3320–3260 см⁻¹. Вычислено, %: C 55,97; H 4,99; N 20,40; O 18,64. Найдено, %: C 55,94; H 4,90; N 20,37; O 18,67.

В целях изучения возможности использования синтезированного соединения в практике лечения различных заболеваний проведено исследование на туберкулостатическую активность соединения N-3-(2-(2-гидроксибензоил)гидразинил)-3-оксопропил)-изоникотиногидазида.

Определение туберкулостатической активности N-3-(2-(2-гидроксибензоил)гидразинил)-3-оксопропил)-изоникотиногидазида проводили в филиале «Карагандинская научно-исследовательская ветеринарная станция» ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт» с использованием модифицированной питательной среды Гельберга-М (Инновационный патент № 23875 от 21.09.2009 г.).

Далее питательную среду Гельберга-М для проведения опыта с содержанием испытуемого соединения (ГЖА-45) в соотношении 1:2500 готовили по Б.Я. Хайкину (1988). 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 Государственного научно-исследовательского института стандартизации и контроля 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-45. Пробирки выдерживали в течение трех часов в горизонтальном положении при температуре 37 °С. После чего их помещали в термостат, где инкубировали в течение 30 дней.

Для сравнения результатов испытания туберкулостатической активности изучаемых химических соединений одновременно были произведены посевы взвеси микобактерий (МТ) на среду Гельберга-М без добавления химических соединений (контрольный опыт).

Туберкулостатическую активность N-3-(2-(2-гидроксибензоил)гидразинил)-3-оксопропил)-изоникотиногидазида в опытах определяли по отношению к культурам эталонного штамма *M. bovis*-8, эпизоотических штаммов: *M. bovis*, *M. phlei* и *M. scrofulaceum*. Данные, характеризующие туберкулостатическую активность соединения ГЖА-45 по отношению к различным штаммам микобактерий, представлены в таблице 1 и на рисунке 1.

Результаты испытания туберкулостатической активности ГЖА-45 по отношению к различным штаммам МТ

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

Примечание. + — от 10 до 20 колоний; ++ — от 20 до 50 колоний.

Как видно из таблицы 1, соединение ГЖА-45 проявило туберкулостатическую активность по отношению к штаммам *M. bovis-8*, *M. bovis* и *M. scrofulaceum*, так как в дни наблюдений на поверхности питательной среды с ГЖА-45 не отмечался рост колоний названных штаммов. Между тем эпизоотический штамм *M. phlei* обладал некоторой устойчивостью к испытываемому соединению ГЖА-45, и к 20–25 суткам на поверхности питательной среды наблюдалось появление от 20 до 50 колоний названного штамма.

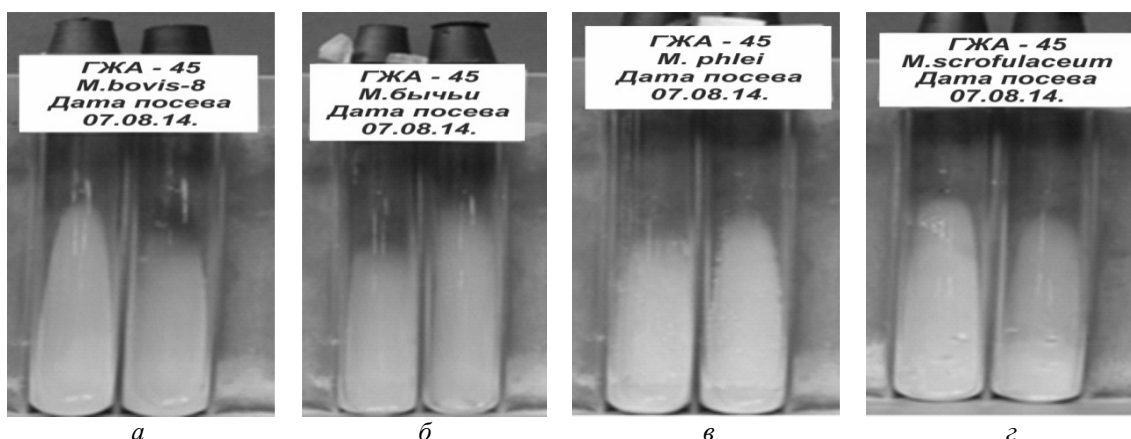
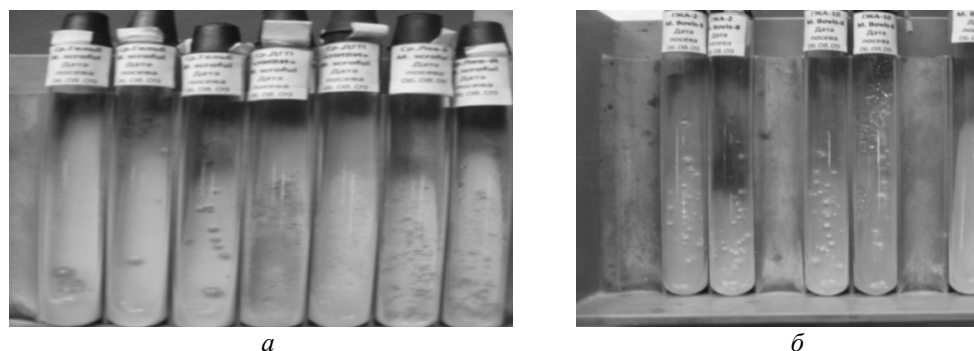


Рисунок 1. Результаты испытания туберкулостатической активности ГЖА-45 по отношению к различным штаммам микобактерий

На рисунке 1а, б, з видно отсутствие на поверхности питательной среды с испытываемым соединением ГЖА-45 характерного роста культур как эталонного (*M. bovis-8*), так и эпизоотических (*M. bovis*, *M. scrofulaceum*) штаммов, что указывает на туберкулостатическую активность испытываемого соединения по отношению к указанным штаммам. Между тем на поверхности питательной среды с испытываемым соединением ГЖА-45 наблюдается рост характерных мелких, нежных светлокремового цвета колоний культуры штамма *M. phlei*.

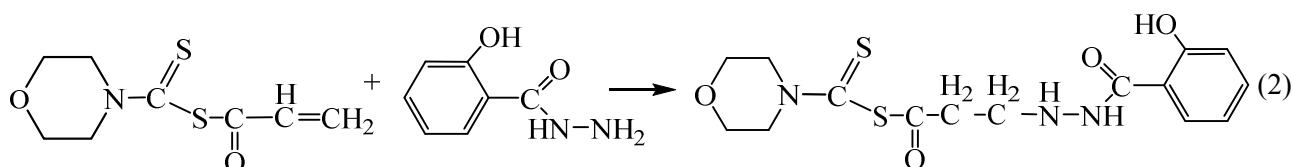
Результаты контрольного опыта проиллюстрированы на рисунке 2, где виден характерный рост культур атипичных штаммов: *M. scrofulaceum* и *M. phlei* (эпизоотические штаммы), а также *M. bovis-8* (эталонный штамм) и *M. bovis* (эпизоотический штамм) на среде Гельберга-М без добавления испытуемого химического соединения ГЖА-45.



а — атипичные микобактерии *M. scrofulaceum*;
б — штаммы бычьего вида *M. bovis-8* (эталонный штамм) и *M. bovis* (эпизоотический штамм)

Рисунок 2. Характерный рост культур различных штаммов микобактерий на среде Гельберга-М без ГЖА-45

Как известно, решающее влияние на физиологическую активность соединения оказывает содержание различных фармакофобных групп в структуре соединения. В продолжение исследования зависимости «структура–активность» среди производных салициловой кислоты осуществлен синтез 3-(2-(2-гидроксибензоил)-гидразинил)-пропионил-(морфолин-4)-дитиокарбамата (ГЖА-47). Синтез соединения ГЖА-47 осуществляли взаимодействием морфолина с сероуглеродом в среде диоксана в присутствии триэтиламина без выделения промежуточного соединения из реакционной среды с дальнейшим взаимодействием с хлорангидридом акриловой кислоты. Выпавший осадок гидрохлорида триэтиламина отфильтровали. К фильтрату добавили гидразид салициловой кислоты. Выпавший осадок отфильтровали и перекристаллизовали из этилового спирта. Полученный продукт 3-(2-(2-гидроксибензоил)-гидразинил)-пропионил-(морфолин-4)-дитиокарбамат представляет собой кристаллическое вещество с выходом 64 %.



В ИК-спектре синтезированного соединения ГЖА-47 наблюдаются полосы поглощения для С=О группы в области 1695–1710 см⁻¹, характерные для С=S при 1250–1320 см⁻¹, для NH и OH групп — 3420–3260 см⁻¹. Вычислено, %: С 48,77; Н 5,18; N 11,37; О 17,32; S 17,36. Найдено %: С 48,70; Н 5,10; N 11,35; О 17,20; S 17,35.

Туберкулоостатическая активность соединения ГЖА-47 по отношению к культурам *M. bovis-8*, *M. bovis*, *M. phlei* и *M. scrofulaceum* была изучена по методике, которая использовалась при изучении туберкулоостатической активности соединения ГЖА-45. Результаты испытания соединения ГЖА-47 приведены в таблице 2.

Из данных таблицы 2 видно, что на поверхности питательной среды с соединением ГЖА-47 первичный рост культуры *M. bovis-8* наблюдался на 15-е сутки с последующим переходом в фазу интенсивного роста на 25–30-е сутки. Испытуемое соединение ГЖА-47 несколько задерживало сроки появления первичного роста культур эпизоотического штамма *M. bovis* и атипичных штаммов *M. phlei* и *M. scrofulaceum*, где единичный рост колоний отмечался только на 25-е сутки.

Туберкулоостатическая активность ГЖА-47 по отношению к различным штаммам МТ

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

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

На рисунке 3 проиллюстрирован характер роста культур различных штаммов микобактерий на поверхности питательной среды с химическим соединением ГЖА-47.

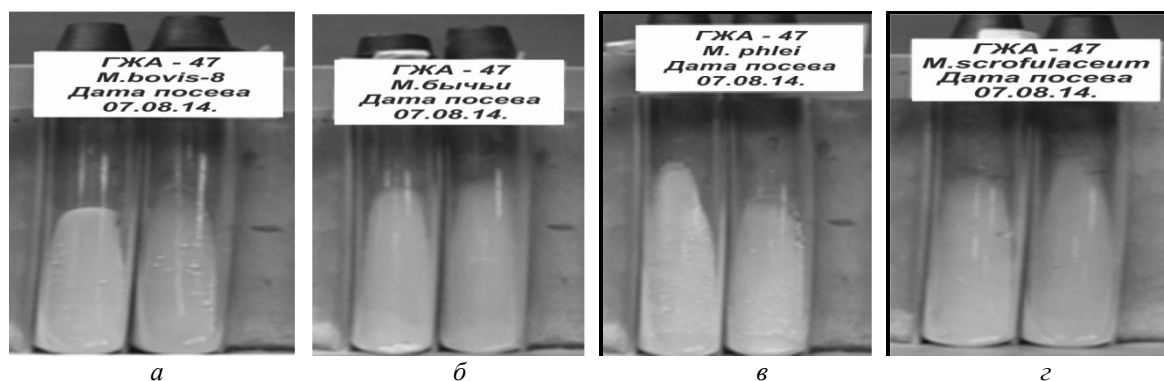


Рисунок 3. Результаты испытания туберкулоостатической активности ГЖА-47 по отношению к штаммам микобактерий *M. bovis-8*, *M. bovis*, *M. phlei* и *M. scrofulaceum*

На рисунке 3а виден характерный рост культур эталонного штамма *M. bovis-8* (колонии S-типа с приподнятым, пуговчатым центром, светло-желтоватым оттенком). На рисунке 3в заметен рост культуратипичного штамма *M. phlei* (колонии мелкозернистые S-типа, с беловато-кремовым цветом). На рисунке 3б, з наблюдается отсутствие роста культур штаммов *M. bovis* и *M. scrofulaceum*, что указывает на туберкулоостатическую активность испытуемого соединения ГЖА-47 по отношению к названным штаммам.

Заключение

Таким образом, результаты исследования показывают, что соединение N-3-(2-(2-гидроксибензоил)гидразинил)-3-(оксипропил)-изоникотиногидразид проявило туберкулоостатическую активность по отношению к штаммам *M. bovis-8* (эталонный штамм), *M. bovis* (эпизоотический штамм) и *M. scrofulaceum* (атипичный штамм), а 3-(2-(2-гидроксибензоил)-гидразинил)-пропионил-(морфолин-4)-дитиокарбамат — по отношению к эпизоотическому штамму *M. bovis*, а также к атипичным штаммам *M. phlei* и *M. scrofulaceum*.

Полученные результаты показали, что ГЖА-45 и ГЖА-47 являются перспективными соединениями в плане создания противотуберкулезных препаратов и служат основой для дальнейшего изучения защитной эффективности этих соединений.

Список литературы

- 1 Лазовская Л.А. Специфическая химиотерапия при туберкулезе как антропозоонозе // Ветеринарная патология. — 2012. — № 1, 2. — С. 154–156.
- 2 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.
- 3 Сигидин Я.А. Салицилаты // Современная медицина. — 1972. — № 9. — С. 50–55.
- 4 Машковский М.Д. Простагландины // Фармакология и токсикология. — 1974. — № 1. — С. 109–116.
- 5 Чернух А.М. Воспаление (очерки патологии и экспериментальной терапии). — М.: Медицина, 1979. — 448 с.
- 6 Машковский М.Д. Современные анальгетики и эндогенные механизмы боли и обезболивания // Вестн. АМН СССР. — 1980. — № 9. — С. 52–57.
- 7 Комаров Ф.И., Марквардт Ф., Бокарев И.Н. и др. Лечение ишемической болезни сердца препаратом микростин // Современная медицина. — 1979. — № 10. — С. 66–70.
- 8 Хайкин Б.Я. Рекомендации // Лабораторная диагностика туберкулеза. — Омск, 1988. — 26 с.

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

N-3-(2-(2-гидроксибензоил)гидразинил)-3-(оксопропил)-изоникотиногидразид және 3-(2-(2-гидроксибензоил)-гидразинил)-пропионил-(морфолин-4)-дитиокарбамат химиялық қоспаларын синтездеу және олардың туберкулостатикалық белсенділігі

Мақалада N-3-(2-(2-гидроксибензоил)гидразинил)-3-(оксопропил)-изоникотиногидразид және 3-(2-(2-гидроксибензоил)-гидразинил)-пропионил-(морфолин-4)-дитиокарбамат химиялық қоспаларының микобактериялардың *M. bovis-8* (эталондық штамм), *M. bovis* (эпизоотиялық штамм) штамдарына және де атипті микобактериялардың *M. phlei* және *M. scrofulaceum* штамдарына қарсы туберкулостатикалық белсенділігін анықтау бағытында жүргізілген зерттеулер қорытындысын келтірілген.

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

Synthesis and tuberculostatic activity N-3-(2-(2-hydroxybenzoyl)hydrazinyl)-3-(oxopropyl)-isonicotinehydrazide and 3-(2-(2-hydroxybenzoyl)-hydrazinyl)-propionyl-(morpholine-4)-dithiocarbamate

In the article authors provide the results of tuberculostatic activity research of the following chemical compounds: N-3-(2-(2-hydroxybenzoyl)hydrazinyl)-3-(oxopropyl)-isonicotinehydrazide and 3-(2-(2-hydroxybenzoyl)-hydrazinyl)-propionyl-(morpholine-4)-dithiocarbamate as related to strains: *M. bovis-8* (reference strain), *M. bovis* (epizootic strain) and *M. scrofulaceum*, *M. phlei* (atypical strains).

References

- 1 Lazovskaya L.A. *Veterinary Pathology*, 2012, 1–2, p. 154–156.
- 2 Dolin P.J., Raviglione M.C., Kochi A. *Bull. World Health Organ.*, 1994, 72, p. 213–220.
- 3 Sigidin Ya.A. *Modern medicine*, 1972, 9, p. 50–55.
- 4 Mashkovsky M.D. *Pharmacology and toxicology*, 1974, 1, p. 109–116.
- 5 Chernukh A.M. *Inflammation (Essays on pathology and experimental therapy)*, Moscow: Meditsina, 1979, 448 p.
- 6 Mashkovsky M.D. *Bull. of Academy of medical sciences of the USSR*, 1980, 9, p. 52–57.
- 7 Komarov F.I., Markwardt F., Bokarev I.N. et al. *Modern medicine*, 1979, 10, p. 66–70.
- 8 Khaikin B.Ya. *Laboratory diagnostics of tuberculosis*, Omsk, 1988, 26 p.