

Б. И. Бузыкин¹, В. Н. Набиуллин¹, Р. С. Гараев², Р. В. Честнова³,
Л. Р. Кашапов², Р. Ш. Валеев³, В. Ф. Миронов¹

СИНТЕЗ И СТРОЕНИЕ ПИРИДИНОИЛГИДРАЗОНОВ ДИМЕФОСФОНА, ОБЛАДАЮЩИХ АНТИМИКОБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органической и физической химии им. А. Е. Арбузова Казанского научного центра РАН, Казань, Россия, buz@iorgc.ru;

² ГБОУ ВПО “Казанский государственный медицинский университет” Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, Казань, Россия; garaev@mail.ru;

³ ГАУЗ “Республиканский клинический противотуберкулезный диспансер”, Казань, Россия, guz.rkpd@tatar.ru

Синтезированы никотиноил- и изоникотиноилгидразоны 2-диметоксифосфорил-2-метилпентан-4-она (2-диметоксифосфорил-2-метилпентан-4-он — действующее вещество лекарственного препарата “Димефосфон”). Показано, что в кристаллах обоих гидразонов реализуется только одна пространственная форма $E_{C=N}$ -изомера. В растворах малополярных и полярных растворителей пиридиноилгидразоны димефосфона существуют в виде смеси 2 амидных конформеров одного $E_{C=N}$ -изомера, что обусловлено заторможенностью внутреннего вращения фрагментов молекул вокруг амидной связи (O=C-N). Соотношение конформеров определяется природой растворителя и временем приготовления растворов. Оба гидразона обладают низкой токсичностью и высокой антимикобактериальной активностью.

Ключевые слова: пиридиноилгидразоны димефосфона; никотиноилгидразон димефосфона; изоникотиноилгидразон димефосфона; строение ацилгидразонов; геометрические изомеры; амидные конформеры; ИК спектроскопия; спектроскопия ЯМР; биологическая активность; токсичность; противотуберкулезная активность.

“Димефосфон” — лекарственный препарат, который имеет широкую область применения в медицине [1, 2]. Препарат “Димефосфон” разработан в Институте органической и физической химии им. А. Е. Арбузова КазНЦ РАН и Казанской государственной медицинской академии [3]; его промышленный выпуск осуществляется на ОАО “Тахимфармпрепараты” в Казани.

Препарат “Димефосфон” представляет собой водные растворы 2-(диметоксифосфорил)-2-метилпентан-4-она (диметилового эфира 2-метил-4-оксопент-2-илфосфоновой кислоты, более известного в авторском названии как диметилловый эфир 1,1-диметил-3-оксобутилфосфоновой кислоты, I). I относится к γ -фосфорилированным кетонам и поэтому представляет интерес как прекурсор в синтезе новых потенциально биологически активных соединений.

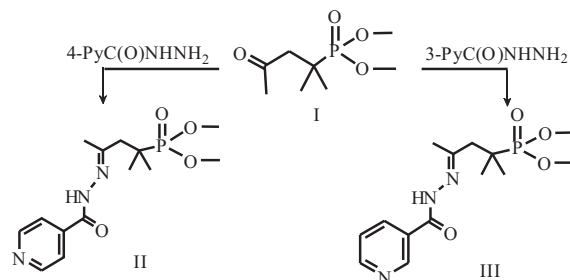
Из производных кетона I описаны его оксим [4, 5] и несколько гидразонов [6].

Учитывая, что в терапии туберкулеза до сих пор одним из основных препаратов является “изониазид” (гидразид изоникотиновой кислоты) [7], целью данной работы был синтез изоникотиноилгидразона димефосфона (II), изучение его строения, химических и биологических свойств, в том числе и противотуберкулезной активности. Кроме того мы решили синтезировать и его изомер — никотиноилгидразона димефосфона (III), хотя ранее установилось мнение, что производные никотиновой кислоты не обладают антитуберкулезной активностью. Ранее утверждалось, что “гидразид 4-пиридинкарбоновой (изоникотиновой) кислоты обладает очень высокой противотуберкулезной активностью, а гидразид 3-пиридинкарбоновой (никотиновой) кислоты совершенно лишен этого действия” [8]. Однако в 2011 г. появилось сообщение [9], в котором утверждалось, что гидразид никотино-

вой кислоты все же проявляет активность в отношении штамма H₃₇Rv, хотя и слабее изониазида: 6,25 мг/мл против 1,25 мг/мл у изониазида.

Поскольку кетон I обладает хорошей способностью проникать в различные органы [1], нам представлялось целесообразным объединить оба действующих начала в единую молекулу. Кроме того ацилгидразоны, в том числе и гидразоны димефосфона II и III, представляют интерес в качестве объектов теоретической и структурной химии, а также как прекурсоры в синтезе гетероциклических систем (1,2,4-оксадиазолинов, 1,2,4-триазолов и др.).

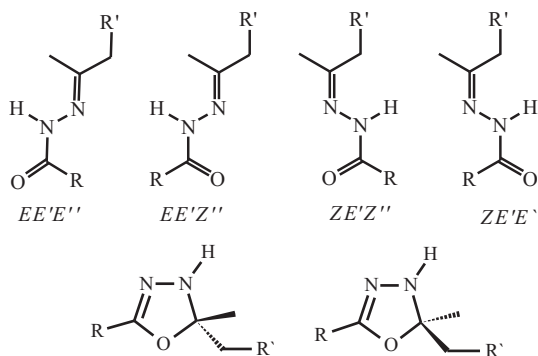
Ранее не описанные пиридиноилгидразоны димефосфона (II, III) получали классическим путем [10] — взаимодействием гидразида соответствующей кислоты и димефосфона в спирте по нижеприведенной схеме.



Пиридиноилгидразоны II и III, представляют собой кристаллические вещества, почти белые или слабо светло-желтые, хорошо растворимые в воде, метаноле, этаноле, хлороформе, ацетонитриле и в диметилсульфоксиде (ДМСО).

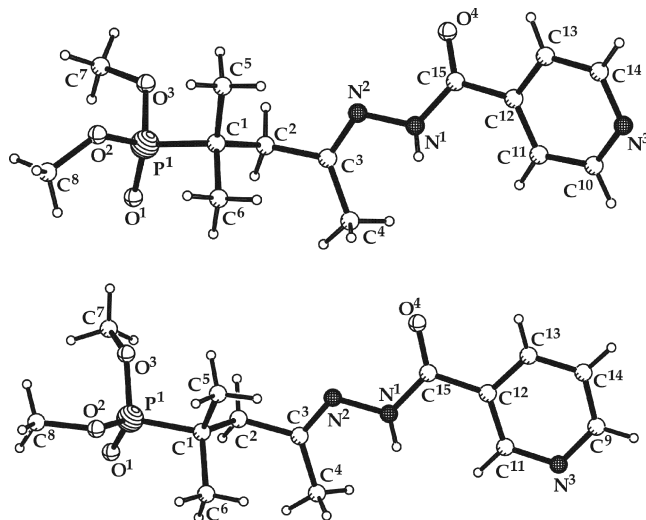
Хорошо известно, что в зависимости от агрегатного состояния, природы заместителей в илиденовом и ацильном фрагментах и природы растворителя ацилгидразоны могут существовать в виде различных пространственных

форм или смеси нескольких из них [10 – 15], в том числе и в циклической форме 1,3,4-оксадиазол-2-ина [16]. Ранее считалось, что ацилгидразоны альдегидов независимо от природы заместителей при аминном атоме азота существуют только в форме *E*-изомера относительно кратной связи C=N. Образование внутримолекулярной водородной связи (ВВС) между группой NH гидразонного фрагмента и акцептором протона в илдене фрагменте альдегидгидразонов (например, пиридиновый атом азота в ацилгидразонах 2-пиридинальдегидов [15] или фосфорильная группа ацилгидразонов фосфорилированных альдегидов, например изучаемых пиридиноилгидразонов II и III) может стабилизировать и *Z*-изомер относительно кратной связи C=N. Для ацилгидразонов несимметрично замещенных кетонов всегда предполагалась возможность реализации 2 изомеров относительно кратной связи C=N [10, 15]. Кроме того, используя метод ИК-спектроскопии, Хаджи [11] первым показал, что ацетил- и бензоилгидразоны такого симметрично замещенного кетона, как ацетон, в растворах также существуют в виде 2 форм, что обусловлено уже другим фактором — затрудненностью внутреннего вращения вокруг амидной связи N–C [15]. Позднее методами дипольных моментов, ИК спектроскопии и спектроскопии ЯМР ^1H было установлено, что ароилгидразоны арилальдегидов, никотиноил- и изоникотиноилгидразоны арилальдегидов в кристаллах и в растворах находятся в виде смеси 2 амидных форм ($E_{\text{C=N}}E_{\text{N-N}}E_{\text{N-C}}$ и $E_{\text{C=N}}E_{\text{N-N}}Z_{\text{N-C}}$ для удобства $EE'E''$ и $EE'Z''$) [12, 13]. При этом присутствия циклических форм типа C1 или C2 для названных ацилгидразонов не обнаружено [12, 13].



$R = 4\text{-Py}$ (II), 3-Py (III); $R' = \text{CMe}_2\text{P}(\text{O})(\text{OMe})_2$

Согласно данным ИК-спектров пиридиноилгидразоны (II, III) в кристаллах, в отличие от пиридиноилгидразонов арилальдегидов [13], существуют только в одной форме. Так, полосы поглощения, обусловленные колебаниями группы NH, и полосы поглощения амид-I проявляются только в виде одиночных полос: ν_{NH} 3212 и 3222 cm^{-1} , $\nu_{\text{амид}}$ 1684 и 1681 cm^{-1} соответственно для гидразонов II и III. Ранее показано [6], что бензоилгидразон I и 4-нитробензоилгидразон I в кристаллах также существуют в одной геометрической форме (ν_{NH} 3219 и 3232 cm^{-1} , $\nu_{\text{амид}}$ 1673 и 1668 cm^{-1} , соответственно) и согласно данным рентгеноструктурного анализа при этом реализуется $E_{\text{C=N}}E_{\text{N-N}}Z_{\text{N-C(O)}}$ -форма [6]. По аналогии с этими данными мы предположили, что и в кристаллах гидразонов II и III реализуется та же $E_{\text{C=N}}E_{\text{N-N}}Z_{\text{N-C(O)}}$ -форма [6]. Дополнительное подтверждение этому выводу получено методом рентгеноструктурного анализа. Про-



Пространственное строение молекул гидразонов II и III.

странственное строение молекул гидразонов II и III приведено на рисунке (подробнее результаты рентгеноструктурного анализа, выполненные Мироновой Е. В. и Литвиновым И. А., будут приведены в отдельном сообщении).

В растворах II и III чаще всего фиксируется по 2 формы, хотя одна из них и доминирует (табл. 1). После анализа данных, приведенных в табл. 1, и с учетом литературных данных [6, 10 – 15], можно сделать вывод, что более стабильная форма и в растворах имеет структуру $E_{\text{C=N}}E_{\text{N-N}}Z_{\text{N-C(O)}}$ -изомера, а вторая форма, появляющаяся в растворах является другим амидным конформером того же изомера, т.е. является $E_{\text{C=N}}E_{\text{N-N}}E_{\text{N-C(O)}}$ -формой. Скорость появления второй формы пиридиноилгидразонов I зависит от природы ацильного фрагмента и природы растворителя (табл. 1). Так для гидразона II уже после приготовления растворов в CDCl_3 фиксируются обе формы практически в равных количествах, тогда как в растворах в D_3CCN , DMCO-d_6 и D_2O доминирующее количество $E_{\text{C=N}}E_{\text{N-N}}Z_{\text{N-C(O)}}$ -формы сохраняется в течение нескольких часов. Для подобных растворов гидразона III и после 5 – 8 ч выдержки (и значительно больше) преобладание $E_{\text{C=N}}E_{\text{N-N}}Z_{\text{N-C(O)}}$ -формы сохраняется (табл. 1). После многих часов выдержки растворов гидразона II в CDCl_3 , D_3CCN и в D_2O в спектрах ЯМР ^1H появляются признаки небольших количеств третьих форм, о пространственной структуре которых трудно делать предположения без дополнительных исследований. Особенности спектров ЯМР ^1H гидразонов II и III в трифторуксусной кислоте (табл. 1), по-видимому, лучше объяснить протонированием доминирующей формы по иминному атому азота [17] и ассоциированием кислоты по фосфорильной группе, нежели предположением о реализации циклических форм типа C1 или C2. В последнем случае сильнопольный сдвиг наблюдался бы не только для сигнала метильных групп ($\text{N}=\text{CMe}$ и CMe_2), но и для сигналов метиленовой группы (табл.1). Через 8 дней соотношение форм гидразона II в F_3CCOOH почти становится равным, и появляются слабые сигналы третьей формы (< 1 %).

Спектры ЯМР ^1H и ^{31}P записаны на приборах Bruker Avance-600 (600 МГц, ^1H), Bruker Avance-400 (400 МГц, ^1H ; 162 МГц, ^{31}P) в дейтерированных растворителях относительно внутреннего сигнала растворителя, и относительно внешнего — H_3PO_4 . Спектры в трифторуксусной кислоте записаны относительно внешнего стандарта — ацетона- d_6 . ИК-спектры получены на приборе FT-IR spectrometer “Vector-22” (Bruker) для суспензий веществ в вазелиновом масле или в таблетках КВг. Температуру плавления определяли на нагревательном столике “Бюэтиус”. Чистоту полученных образцов контролировали методом ТСХ на пластинках “Silufol”. Данные элементного анализа соответствуют вычисленным.

Изоникотиноилгидразон диметилового эфира (4-кето-2-метилпент-2-ил)фосфоновой кислоты (II). Смешивают 21,76 г (0,159 моль) гидразида изоникотиновой кислоты, 33,0 г (0,159 моль) диметилового эфира 3-кето-2-метилпент-2-илфосфоновой кислоты, 20 мл метанола и кипятят с обратным холодильником 1 ч. Метанол отгоняют на 3/4 объема. После выдерживания в течение

2 сут из раствора выпадают в осадок кристаллы, которые отфильтровывают и промывают на фильтре смесью диэтилового эфира и метанола (19:1). Получают 35,0 г (69,2 %) гидразона I в виде бесцветных (в массе белых) кристаллов или слабо светло-бежевого кристаллического порошка с т. пл. 110 – 115 °С. $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_4\text{P}$. ИК, см^{-1} : 3466, 1684, 1622 сл, 1594 сл, 1540 пл, 1535, 1414 сл, 1330 сл, 1290, 1270 сл, 1249 сл, 1226, 1193 сл, 1169 сл, 1169 сл, 1152 сл, 1119 сл, 1057, 1038.

Никотиноилгидразон диметилового эфира (4-кето-2-метилпент-2-ил)фосфоновой кислоты (III). Смесью 7,59 г (0,036 моль) кетона I, 5,0 г (0,036 моль) гидразида никотиновой кислоты, 100 мл бензола и 0,01 г серной кислоты кипятят 2 ч с обратным холодильником и насадкой Дина–Старка. После прекращения выделения воды горячий раствор отфильтровывают и маточный раствор охлаждают. Выпавшие кристаллы отфильтровывают, промывают небольшим количеством бензола и сушат 12 ч при температуре 40 – 50 °С. Получают 10,4 г (87,7 %) гидразона III в виде светло-бежевых мелких кристаллов с т. пл. 134 – 136 °С, которые хорошо растворимы в воде и в

Данные ЯМР-спектров (^1H и ^{31}P , δ , м.д. и J Гц) пиридиноилгидразонов димефосфона $\text{R}(\text{C}=\text{O})\text{NHN}=\text{C}(\text{Me})\text{CH}_2\text{C}(\text{Me})_2\text{CP}(\text{O})(\text{OMe})$, $\text{R} = 4\text{-Py}$ (II), $\text{R} = 3\text{-Py}$ (III); (формы: $A = \text{E}_{\text{C}=\text{N}}\text{E}_{\text{N}-\text{N}}\text{Z}_{\text{N}-\text{C}(\text{O})}$; $B = \text{E}_{\text{C}=\text{N}}\text{E}_{\text{N}-\text{N}}\text{E}_{\text{N}-\text{C}(\text{O})}$, C — структура не установлена)

Соеди- нение	Раство- ритель	Формы, %.	¹ H, δ, м.д., J Гц								³¹ P, δ, м.д.	
			CMe ₂		CMe	CH ₂		OMe		R		NH, s
			δ, d	³ J	δ, s	δ, d	³ J	δ, d	³ J			
II	DCCl ₃	<i>A</i> , 56	1,20	16,6	1,97	2,59	12,3			— ^в	9,45	37,5
		<i>B</i> , 44	1,08	15,9	2,00	2,39	14,1	— ^а	— ^б	— ^г	11,44	39,6
		<i>C</i> ^л	1,30	16,0	2,14	— ^б	— ^б			— ^б	~ 11,3	37,2
	D ₃ CCN	<i>A</i> , 94	1,20	16,8	2,02	2,54	12,3	3,70	10,1	— ^е	9,54	38,2
		<i>B</i> , 5	1,30	16,1	2,09	— ^б	— ^б	— ^б	— ^б	— ^б	9,25	40,3
		<i>C</i> ^л	1,24	— ^б	2,10	— ^б	— ^б	— ^б	— ^б	— ^б	11,34	37,7
	DMSO-d ₆	<i>A</i> , 83	1,18	16,9	2,01	2,51	— ^б	3,69	10,2	— ^ж	10,75	38,6
		<i>B</i> , 17	1,14	~ 16	2,08	2,60	— ^б	3,65	— ^б	— ^з	11,12	39,7
	D ₂ O	<i>A</i> , 80	1,19	17,5	2,04	2,55	13,2	3,76	10,5	— ^и		38,7
		<i>B</i> , 10	~ 1,2	— ^б	2,12	2,63	13,8	~ 3,7	10,5	— ^б		38,9
		<i>C</i> ^л , 10	— ^б	— ^б	2,15	— ^б	— ^б	3,68	10,5	— ^б	— ^к	38,2
	TFA	<i>A</i> , 98	0,82	18,2	1,73	2,29	12,9	3,33	10,7	— ^м		41,3
		<i>B</i> , 2	0,90	17,0	1,91	— ^б	— ^б	3,41	10,9		— ^к	39,1
III	DCCl ₃	<i>A</i> , 91	1,20	— ^б	2,02	2,46	— ^б	3,72	10,2	— ^и	9,18	37,5
		<i>B</i> , 9	1,33	15,1	2,15	2,62	— ^б	3,69	— ^б	— ^о	9,27	39,6
	D ₃ CCN	<i>A</i> , 95	1,19	15,3	2,02	2,28	— ^б	3,71	10,3	— ^п	9,35	38,2
		<i>B</i> , 5	1,32	16,1	2,11	2,54	— ^б	3,68	— ^б	— ^р	9,16	40,5
	DMSO-d ₆	<i>A</i> , 97с	1,17	17,1	2,01	2,52	— ^б	3,69	9,8	— ^т	10,67	38,1
	TFA	<i>A</i> , 55	0,83	18,2	1,75	2,30	13,8	3,33	10,7	— ^{у, ф}	— ^к	39,3
		<i>B</i> , 45	0,91	16,6	2,17	2,70	18,6	3,40	10,7	— ^{ф, х}		37,1

Примечание:

^а Три сигнала при 3,67, 3,70 и 3,66 м.д. трудно соотнести с соответствующими формами. ^б Не удалось идентифицировать. ^в 4-Ру, 4Н как АХ-система, δ_{H_A} 8,63, δ_{H_X} 7,59 м.д., ^3J 7,7, $\delta\nu_{\text{AX}}$ 412 Гц. ^г 4-Ру, 4Н как АХ-система, δ_{H_A} 8,64, δ_{H_X} 7,86, ^3J 6,87 м.д., $\delta\nu_{\text{AX}}$ 310 Гц. ^д Со временем (0,5 – 1,5 ч) появляются сигналы третьей формы, менее 2 – 5 %. ^е 4-Ру, 4Н как АХ-система, δ_{H_A} 8,70 уширен, δ_{H_X} 7,68 уширен., $\delta\nu_{\text{AX}}$ ~ 403 Гц. ^ж 4-Ру, 4Н как АХ-система, δ_{H_A} 8,73 уширен, δ_{H_X} 7,86 уширен, $\delta\nu_{\text{AX}}$ 390 Гц. ^з 4-Ру: 4Н как АХ-система, δ_{H_A} 8,65 уширен, δ_{H_X} 7,52 уширен, $\delta\nu_{\text{AX}}$ 343 Гц. ^и 4-Ру: 4Н как АХ-система, δ_{H_A} 8,60 дд, δ_{H_X} 7,66 дд, ^3J 6,03, ^4J 1,27, $2\delta\nu_{\text{AX}}$ 375 Гц. ^к Не прописываются вследствие обменных процессов. ^л Сигналы третьей формы прописываются сразу после растворения. ^м 4-Ру: 4Н как АХ-система: 8,50 и 8,49 м.д., 8,08, и 8,07 м.д. ^н 3-Ру: 9,06 (1Н, 2-Н), 8,68 (1Н, 4-Н), 8,18 (1Н, 6-Н), 7,35 (1Н, 5-Н) м.д. ^о 3-Ру: идентифицировать удалось лишь сигналы при 8,16 (1Н, 6-Н) и 7,37 (1Н, 5-Н) м.д. ^п 3-Ру: 9,16 (1Н, 2-Н), 8,70 (1Н, 4-Н), 8,13 (1Н, 6-Н), 7,43 (1Н, 5-Н) м.д. ^р 3-Ру: идентифицировать удалось лишь сигналы при 8,14 (1Н, 6-Н) и 7,45 (1Н, 5-Н). ^с Из-за наложений для второй формы удалось идентифицировать лишь сигналы: N=CMe 2,09 и NH 9,05 м.д. ^т 3-Ру: 8,98 (1Н, 2-Н), 8,72 (1Н, 4-Н), 8,16 (1Н, 6-Н), 7,51 (1Н, 5-Н) м.д. ^у 3-Ру: 8,93 с (1Н, 2-Н), 8,61 д (1Н, 4-Н, 3J 8,2) м.д. ^ф Сигналы 5-Н и 6-Н обеих форм прописываются мультиплетами с центрами 8,50 и 7,39 м.д. ^х 3-Ру: 8,99 (1Н, 2-Н), 8,67 (1Н, 4-Н, 3J 8,2) м.д.

спиртах. $C_{14}H_{22}N_3O_4P$. ИК-спектр, cm^{-1} : 3222, 3206, 1681, 1615 сл, 1586 сл, 1539, 1446, 1414, 1331 сл, 1294, 1276, 1251 сл, 1225, 1184, 1173, 1152, 1121 сл, 1085 сл, 1054, 1033.

Экспериментальная биологическая часть

Острую токсичность исследуемых пиридиноилгидразонов II и III определяли на белых беспородных мышах и крысах при внутрибрюшинном способе введения. Результаты исследований обрабатывали по методу Беренса [18]. Обработка результатов графическим методом показала, что средне-смертельная доза (LD_{50}) для мышей у гидразона II составляет $2005 \pm 59,6$ мг/кг, а гидразона III — 1788 ± 31 мг/кг. Для крыс токсичность гидразона III составила 2326 ± 48 мг/кг. По литературным данным для изониазида доза LD_{50} составляет $151 \pm 6,9$ мг/кг [19]. Таким образом, новые гидразоны II и III в 13 – 15 раз менее токсичны, чем их прекурсор изониазид.

По характеру токсичности пиридиноилгидразоны II и III не отличались друг от друга. При введении их в токсико-летальных дозах у животных через 2 – 3 мин после инъекции наблюдается угнетение дыхания (затрудняется акт вдоха, выслушивается “скрипящее дыхание”), через 4 – 5 мин — резко падает двигательная активность, снижается мышечный тонус, конечности теряют способность удерживать тело. При этом животные не переходят в состояние “бокового положения”, т.е. они сохраняют способность переворачиваться на живот при укладывании на спину. Такая клиника интоксикации отличается от действия токсических доз димефосфона, вызывающего наркозоподобное состояние с переходом животных в “боковое положение”.

При определении токсичности гидразона II наблюдали, что в летальных дозах он вызывает снижение мышечного тонуса у животных, что, возможно, связано со способностью его вызывать миорелаксирующий эффект. В этом отношении интерес представляла избирательность получаемого результата, что могло выявляться при использовании малых доз соединения. Поэтому брали ещё и дозы 20 мг/кг для гидразона II и 8 мг/кг для изониазида — препарата сравнения (формально молекула гидразона II состоит на 40 % из изониазидного фрагмента и на 60 % из остатка I, т.е. при гидролизе 20 мг гидразона II может появиться 8 мг изониазида). Исследуемые препараты вводили внутрибрюшинно за 30 мин до теста. Миорелаксирующее действие оценивали на вращающемся стержне. Время удержания животного на стержне, оцениваемое в секундах, отражающее уровень мышечного тонуса, составило для гидразона II $5,3 \pm 2,0$, изониазида $7,5 \pm 3,0$ (контроль $7,5 \pm 3,0$ с). Получается, что изониазид в низких концентрациях не обладает миорелаксирующим действием. Следовательно, выявленное свойство гидразона II обусловлено его молекулой в целом, а не продуктами его гидролиза.

После инъекции гидразона II в дозе 2000 мг/кг (близкой к LD_{50}) у животных после 3 – 5 мин двигательного возбуждения постепенно развивается нарушение дыхания, на фоне которого они погибают в течение 1 сут. При этом проявление судорожных приступов не наблюдалось. Выжившие животные через 1 сут практически не отличаются от контрольных животных. В отличие от изониазида,

который вызывает бурные клонико-тонические судороги, гидразон II не вызывает симптомов нейротоксического действия при остром отравлении экспериментальных животных. Таким образом, полученный изоникотиноилгидразон II по характеру действия на животных отличается и от димефосфона, и от изониазида.

Исследование двигательной и исследовательской активности гидразона II (в дозе 20 мг/кг) и изониазида (в дозе 8 мг/кг) проводили с помощью теста “Открытое поле”. “Открытое поле” представляет собой ограниченную площадку с отверстиями и нарисованными линиями на полу. 3 группам по 10 мышей (третья — контроль) соединения вводили за 30 мин до тестирования. Оценивали число пересеченных линий (гидразон II $46,5 \pm 26$, изониазид $26,1 \pm 13$, контроль 43 ± 22), что отражает двигательную активность, и число заглядываний в отверстие (гидразон II $11,6 \pm 4,3$, изониазид $8,6 \pm 4,4$, контроль $13,2 \pm 4,7$), что является показателем уровня исследовательской активности. Таким образом, изониазид в данной дозе по сравнению с контролем вызывает уменьшение исследовательской и двигательной активности почти в 2 раза, в то время как изоникотиноилгидразон II не влияет на эти параметры.

Противосудорожную активность никотиноилгидразона III и I изучали на модели коразоловых судорог. Гидразон III и I (с учетом эквимоларности) вводили мышам (3 группы по 6 особей) соответственно в дозах 1000 и 600 мг/кг внутрибрюшинно за 15 мин до отравления коразолом (125 мг/кг подкожно). Оценивали латентный (бессудорожный) период (гидразон III $2,0 \pm 0,2$ мин, димефосфон $3,0 \pm 0,3$ мин, контроль $1,0 \pm 0,1$ мин), способность предотвращать судороги, продолжительность жизни (гидразон III $6,8 \pm 2,0$ мин, димефосфон $17,7 \pm 8,5$ мин, контроль $8,7 \pm 3,7$) и выживаемость животных (все мыши погибли). Установлено, что гидразон III в данной дозе в сравнении с контролем проявляет противосудорожную активность в виде удлинения латентной фазы в сравнении с контролем на 1 мин, но не

Таблица 2
Результаты анализа бактериостатической активности изоникотиноилгидразона димефосфона (II и III) и изониазида (контроль) на приборе ВАСТЕС MGIT 960

Соединение	Концентрация мкг/мл	Время, сут								
		4	5	6	7	8	9	10	11	41
II	0,1	5	15	20	25	29+				—
	0,5	—	—	15	25	30+				—
	1,0	—	—	—	25	30	35	35+		—
	5,0	—	—	—	15	15	28	28	30+	—
	10,0	—	—	—	10	10	16	16	16	—
	20,0	—	—	—	10	10	10	10	10	—
III	0,1	10	—	—	15	15	22	28	35+	—
	0,5	5	—	—	15	18	27	30	30+	—
	1,0	2	—	—	10	14	24	25	25	25
	5,0	0	—	—	2	11	15	15	15	15
	10,0	0	—	—	2	10	15	15	15	15
	20,0	0	—	—	5	5	5	5	5	5
Изониазид	0,1	10	—	—	15	25	29	30+	—	—
	0,5	5	—	—	10	15	15	15	15	15
	1,0	0	—	—	5	5	5	5	5	5

влияет на продолжительность жизни и выживаемость. I в эквивалентной дозе также оказал противосудорожное действие, удлиняя в сравнении с контролем латентный период на 2 мин, увеличивая среднюю продолжительность жизни мышей на 9 мин. Однако на выживаемость мышей I не влиял.

Изучение бактериостатической активности гидразонов II и III в отношении микобактерий туберкулеза штамма H₃₇Rv проводили, используя стандартную ростовую систему ВАСТЕС MGIT 960 (Becton Dickinson). Использовали питательную среду Мидлбрук 7 H9 с обогащательной добавкой ВАСТЕС MGIT. Опыты проводили методом серийных разбавлений на штамме *M. tuberculosis* H₃₇Rv. Культуру лабораторного штамма взвешивали на электронных весах и навеску в количестве 10 мг помещали в фарфоровую ступку, тщательно растирали и готовили суспензию культуры по бактериальному стандарту мутности 100 млн микробных тел в 1 мл (10 ед.). Полученную суспензию в количестве 0,1 мл засеивали в пробирки BBL, содержащие жидкую питательную среду и 5,0 мл раствора исследуемого соединения (для каждого разведения), и устанавливали в прибор. Наличие роста микобактерий или отсутствие такового прибор регистрировал ежедневно в течение 11 или 41 сут. Минимальную ингибирующую концентрацию определяли как наименьшую концентрацию, при которой рост *M. Tuberculosis* задерживался на 1 сут по сравнению с изониазидом. Результаты проведенных исследований приведены в табл. 2. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что гидразон II (МИК 10 мкг/мл) по антимикобактериальной активности уступает изониазиду (сравнительный результат МИК 0,5 мкг/мл), а его изомер — гидразон III (МИК 0,1 мкг/мл) — превосходит. Преимуществом изученных гидразонов II и III перед изониазидом является их низкая токсичность и хорошая растворимость в воде, а перед I — то, что они являются кристаллами, что перспективно для разработки пероральных твердых лекарственных форм, удобных для применения и транспортировки.

Работа выполнена при финансовой поддержке совместного гранта Российского фонда фундаментальных ис-

следований и Академии наук Республики Татарстан (грант 09-03-97007-р_поволжье_a).

ЛИТЕРАТУРА

1. А. О. Визель, Р. С. Гараев, *Новый аспект фармакологического подхода к соединению фосфора. Димефосфон*, "Печать-сервис-XXI-век", Казань, (2011).
2. В. Г. Малышев, И. В. Федоскин, *Применение димефосфона в медицине (фармаколитические, патогенетические и клинические аспекты)*, Наука, Москва, (2008).
3. Б. А. Арбузов, А. О. Визель, К. М. Ивановская и др., *Докл. АН СССР*, **182**(1), 101 – 104 (1968).
4. Р. Р. Шагидуллин, И. И. Вандюкова, Е. Е. Зверева и др., *Изв. АН. Сер. хим.*, № 7, 1253 – 1258 (2007).
5. Р. С. Гараев, Л. Н. Залялютдинова, А. Г. Овчинникова и др., *Материалы научно-практической конференции, посвященной памяти профессора Я. В. Костина "Общество, здоровье, лекарство"*, Саранск, (2005), с. 37.
6. Б. И. Бузыкин, В. Н. Набиуллин, Е. В. Миронова и др., *Ж. общей химии*, **82**(10), 1600 – 1618 (2012).
7. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Т. 2, Торсинг, Харьков (1998), с. 331 – 333.
8. Г. Н. Першин, Е. И. Гвоздева, *Учебник фармакологии*, Медицина, Москва (1967), с. 22.
9. R. V. Sidhaye, A. E. Dhanawade, K. Manasa, G. Aishwarya, *Cur. Pharma Res.*, **1**(2), 135 – 139 (2011).
10. Ю. П. Китаев, Б. И. Бузыкин, *Гидразоны*, Наука, Москва (1974).
11. D. Hadgi, *Spectrochim. Acta*, **23**(3), 571 – 577 (1967).
12. С. А. Флегонтов, З. С. Титова, Б. И. Бузыкин, Ю. П. Китаев, *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, № 3, 559 – 565 (1976).
13. С. А. Флегонтов, З. С. Титова, Б. И. Бузыкин, Ю. П. Китаев, *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, № 2, 335 – 339 (1977).
14. К. Н. Зеленин, В. В. Пирсон, А. А. Потехин и др., *Ж. орган. химии*, **14**(3), 490 – 495 (1978).
15. V. V. Syakaev, S. N. Podyachev, B. I. Buzykin, et al., *J. Molec. Struct.*, **788**(1 – 3), 55 – 62 (2006).
16. A. A. Santilli, R. L. Morris, *J. Heterocycl. Chem.*, **16**(6), 1197 – 1200 (1979).
17. В. В. Зверев, Т. Н. Пылаева, Ю. П. Китаев, *Основность гидразонов*, В кн. "Химия гидразонов" (ред. Ю. П. Китаев), Наука, Москва (1977), сс. 40 – 71.
18. Л. М. Беленький, *Элементы количественной оценки фармакологического эффекта*. Ленинград (1963).
19. W. M. Benson, P. L. Stefkro, M. D. Roe, *Am. Rev. Tuberk.*, **65**(4), 376-391 (1952)

Поступила 09.11.11

SYNTHESIS AND STRUCTURE OF DIMEPHOSPHONE PYRIDINOYL HYDRAZONES POSSESSING ANTIMYCOBACTERIAL ACTIVITY

B. I. Buzykin^{1*}, V. N. Nabiullin¹, R. S. Garaev², R. V. Chesynova³, L. R. Kashapov², R. Sh. Valeev³, and V. F. Mironov¹

¹ Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Kazan, Tatarstan, 420088 Russia;

² Kazan State Medical University, Kazan, Tatarstan, 420008 Russia;

³ Republic Clinical TB Dispensary, Kazan, Tatarstan, 420049 Russia;

* e-mail: buz@iopec.ru;

Nicotinoylhydrazone and isonicotinoylhydrazone of 2-dimethoxyphosphoryl-2-methylpentan-4-one (active component of drug Dimephosphone) have been synthesized. It is established that the crystals of both hydrazones contain a single spatial form of E_{C=N} isomer. In solutions of low-polarity and polar solvents, both dimephosphone pyridinoylhydrazones exist in the form of two amide conformers of the same E_{C=N} isomer. This is related to retarded internal rotation of the molecular fragments around amide bond (O=C–N). The ratio of conformers is determined by the nature of solvent and the time of solution preparation. Both hydrazones possess low toxicity and high antimycobacterial activity.

Key words: Dimephosphone pyridinoylhydrazones; dimephosphone nicotinoylhydrazone; dimephosphone isonicotinoylhydrazone; structure of acylhydrazones; geometric isomers; amide conformers; IR spectroscopy; NMR spectroscopy; biological activity; toxicity; antituberculous activity