



Научная статья

УДК 547.814.5

Некоторые цианозамещённые спиросочленённые пиразолины и пирролидины, обладающие антимикробной активностью



А. А. Мещерякова¹✉, С. В. Борисова³, Е. А. Константинова^{1,2},
Д. В. Видлацкая¹, Г. Л. Бурьгин^{1,2,4}, В. В. Сорокин¹

¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

²Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленное структурное подразделение ФГБУН ФИЦ «Саратовский научный центр Российской академии наук», Россия, 410049, г. Саратов, пр. Энтузиастов, д. 13

³Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112

⁴Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова, Россия, 410012, г. Саратов, проспект им. П. Столыпина, зд. 4, стр. 3

Мещерякова Анна Аркадьевна, аспирант Института химии, meshcheryakova321@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8039-1106>

Борисова Светлана Васильевна, кандидат химических наук, ассистент кафедры общей, биоорганической и фармацевтической химии, chuvaikinasv@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8025-1296>

Константинова Екатерина Андреевна, ¹магистрант Института химии, ²инженер лаборатории иммунохимии, kate-uliana@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1579-3077>

Видлацкая Дарья Владимировна, студент Института химии, vidlatska6@gmail.com

Бурьгин Геннадий Леонидович, кандидат биологических наук, ¹доцент кафедры органической и биоорганической химии Института химии, ²старший научный сотрудник лаборатории иммунохимии, ⁴доцент кафедры «Растениеводство, селекция и генетика», burygingl@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8031-9641>

Сорокин Виталий Викторович, доктор химических наук, профессор, профессор кафедры органической и биоорганической химии Института химии, sorokiniv@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5861-3307>

Аннотация. Обобщены одноконтурные синтетические подходы к спиросочленённым (ди)азолам, перспективным в плане исследования биологической активности. Предложенные подходы включают в себя реакции конденсации с участием (гетеро)циклических кетонов, метиленактивных компонент и N-нуклеофилов, проходящих в мягких условиях как по ступенчатому, так и по согласованному механизму. Исследована антимикробная активность полученных с помощью предложенных подходов цианозамещённых спиросочленённых пиразолинов и пирролидинов в отношении грамотрицательных (*P. aeruginosa*, *E. coli*) и грамположительных (*S. aureus*) бактерий (определена EC50 (мкг/мл)). В качестве контроля использовался известный компонент антимикробных препаратов широкого спектра действия – ципрофлоксацин. Выяснено, что наибольший ингибирующий эффект по отношению к выделенным грамотрицательным бактериям проявляет 3-амино-2-(4-нитрофенил)-1,2-дизаспиро[4.5]дека-3-ен-4-карбонитрил. При этом фенильный заместитель при втором атоме азота пиразолинового цикла играет важную роль, так как его замена на ароильный фрагмент уменьшает изучаемый эффект в несколько десятков раз вне зависимости от вида второго цикла. Умеренный и высокий ингибирующий эффект проявляют также замещённые спироиндолинопирролизидинкарбонитрилы, содержащие цианогруппы при 2-м атоме углерода пирролизидинового цикла, а фенильный заместитель – при первом. Для пар с одинаковым типом положения заместителей наибольшей антимикробной активностью обладают соединения, содержащие 3,4 Cl₂-заместитель в фенильном фрагменте.

Ключевые слова: спирооксоиндолы, изатин, 1,3-диполярное циклоприсоединение, азометинилиды, согласованные реакции, трехкомпонентные реакции, 3-амино-1,2-дизаспиро[4.5]нон-3-ен-4-карбонитрилы, 3-амино-1,2-дизаспиро[4.5]дека-3-ен-4-карбонитрилы

Для цитирования: Мещерякова А. А., Борисова С. В., Константинова Е. А., Видлацкая Д. В., Бурьгин Г. Л., Сорокин В. В. Некоторые цианозамещённые спиросочленённые пиразолины и пирролидины, обладающие антимикробной активностью // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 4. С. 374–379. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-4-374-379>, EDN: HOOVBF

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)



Article

Some cyano-substituted spiro-linked pyrazolines and pyrrolidines with antimicrobial activity**A. A. Meshcheryakova¹✉, S. V. Borisova³, E. A. Konstantinova^{1,2},
D. V. Vidlatskaya¹, G. L. Burygin^{1,2,4}, V. V. Sorokin¹**¹ Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia² Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13 Entuziastov Ave., Saratov 410049, Russia³ V. I. Razumovsky Saratov State Medical University, 112 Bolshaya Kazachiya St., Saratov 410012, Russia⁴ Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N. I. Vavilov, 4/3 Petra Stolypina Ave., Saratov 410012, RussiaAnna A. Meshcheryakova, meshcheryakova321@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8039-1106>Svetlana V. Borisova, chuvainkasv@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8025-1296>Ekaterina A. Konstantinova, kate-uliana@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1579-3077>

Daria V. Vidlatskaya, vidlatska6@gmail.com

Gennady L. Burygin, burygingl@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8031-9641>Vitaly V. Sorokin, sorokinviv@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-5861-3307>

Abstract. This work summarizes one-pot synthetic approaches to spiro-fused (di)azoles, which are promising in terms of studying biological activity. Proposed approaches involve condensation reactions of (hetero)cyclic ketones, methylene active moieties, and N-nucleophiles, occurring under mild conditions by both stepwise and concerted mechanisms. The antimicrobial activity of signals from the proposed approaches of cyano-substituted spiro-membered pyrazolines and pyrrolidines against gram-negative (*P. aeruginosa*, *E. coli*) and gram-positive (*S. aureus*) losses has been studied (EC50 determination (µg/ml)). The well-known component of broad-spectrum antimicrobial drugs, ciprofloxacin, has been used as a control. It has been found that 3-amino-2-(4-nitrophenyl)-1,2-diazaspiro[4.5]deca-3-ene-4-carbonitrile exhibits the greatest inhibitory effect against selected gram-negative bacteria. In this case, the phenyl substituent at the second nitrogen atom of the pyrazoline ring plays an important role, since its replacement with an aryl fragment reduces the studied effect by several tens of times, regardless of the type of the second ring. Substituted spiroindolinopyrrolizidinedicarbonitriles, containing cyano groups at the 2nd carbon atom of the pyrrolizidine ring and a phenyl substituent at the first, also exhibit a moderate and high inhibitory effect. For pairs with the same type of substituent position, compounds containing a 3,4 Cl₂ substituent in the phenyl fragment have the greatest antimicrobial activity.

Keywords: spirooxindoles, isatin, 1,3-dipolar cycloaddition, azomethine ylides, three-component reaction, 3-amino-1,2-diazaspiro[4.5]non-3-ene-4-carbonitriles, 3-amino-1,2-diazaspiro[4.5]deca-3-ene-4-carbonitriles

For citation: Meshcheryakova A. A., Borisova S. V., Konstantinova E. A., Vidlatskaya D. V., Burygin G. L., Sorokin V. V. Some cyano-substituted spiro-linked pyrazolines and pyrrolidines with antimicrobial activity. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 4, pp. 374–379 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-4-374-379>, EDN: HOOVBF

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

В настоящее время среди азотсодержащих спиросочленённых органических соединений найдено немало веществ, проявляющих различную биологическую активность [1–3].

Особенность расположения гетероциклических фрагментов таких молекул связана с геометрией sp³-гибризованного спиросочленённого узла, при которой эти фрагменты находятся в различных плоскостях пространства, что повышает доступность для взаимодействия с несколькими частями трёхмерной структуры мишени. Кроме того, благодаря ограниченной конформационной подвижности, такое благоприятное расположение фиксируется и потенциально уменьшается время образования комплекса между лигандом и биологической мишенью [4].

Ранее на основе реакций конденсаций с участием (гетеро)циклических кетонов, метиленактивных компонент и N-нуклеофилов, проходящих как по ступенчатому, так и по согласованному механизму, нами были разработаны способы синтеза органических соединений, содержащих спироатом, связанный с атомом азота в составе пятичленного гетероциклического фрагмента [5–7].

Синтезированные соединения представляют интерес для исследования ввиду наличия пиразольного и индольного гетероциклических фрагментов, входящих в состав изученных соединений с высокой антимикробной активностью [8, 9].

В настоящей работе обобщены применяемые нами однореакторные синтетические подходы к спиросочленённым (ди)азолам и показаны результаты испытания их антимикробной активности.



Материалы и методы

Исследование антимикробной активности

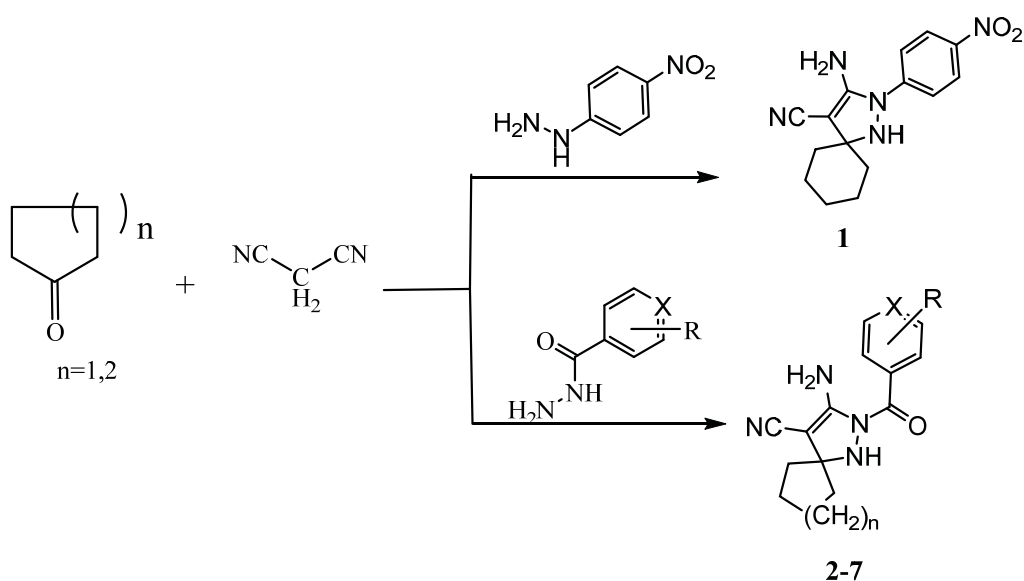
Метод измерения оптической плотности (в жидкой среде). Все эксперименты по определению антимикробной активности осуществляли в 3 повторностях. Статистический анализ данных проводили с помощью программного пакета Excel 2007 (Microsoft, США). Результаты представлены в виде средних значений с указанием доверительных интервалов при $P = 0,05$ (уровень доверительности 95%).

Культуру засеивали в жидкую среду LB на 18 ч. Затем в 25 мл среды добавляли 100 мкл культуры и инкубировали 1 ч при температуре 37°. В стерильный 96-луночный иммунологический планшет вносили 150 мкл жидкой питательной среды LB. Затем добавляли 24 мкл заранее приготовленных растворов исследуемых соединений в ДМСО в концентрации 10 мкг/мл. Затем делали ряд двукратных разведений от 0,195 до 400 мкг/мл, после чего

добавляли 150 мкл бактериальной культуры. Измерения проводили с помощью планшетного спектрофотометра (Multiskan Ascent, Thermo Scientific), при длине волны 595 нм. Затем определяли EC50 (мкг/мл).

Результаты и их обсуждение

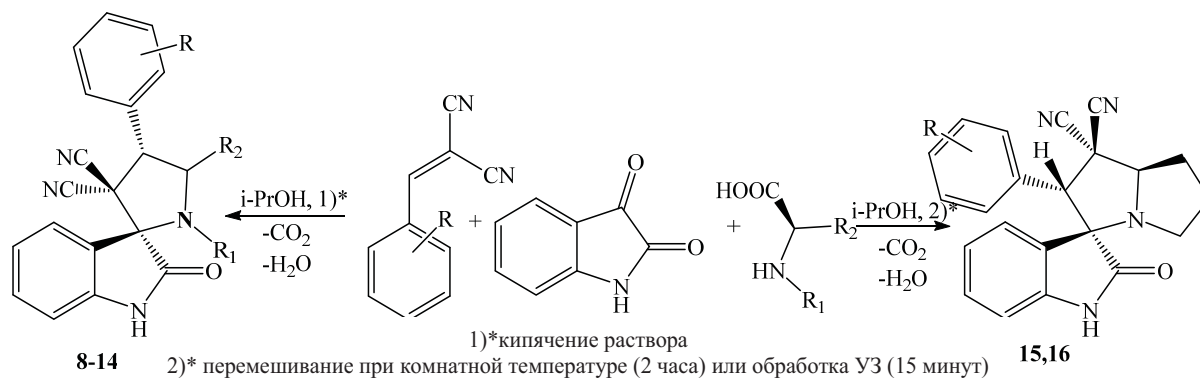
Синтез полизамещённых пиразолинов, спиросочленённых с алициклическим кольцом, удобно осуществлять через многокомпонентное взаимодействие замещённых гидразинов или гидразидов с динитрилом малоновой кислоты и циклоалканами. Динитрил малоновой кислоты наряду с высокой активностью за счёт СН-кислотности обеспечивает вхождение в целевое соединение сопряжённой аминогруппы и фармакофорной нитрильной группы. Указанное взаимодействие наиболее хорошо протекает в условиях ультразвуковой или микроволновой активации в воде или этаноле [5, 6] с выходами 70–85%.



2: X=N, R=H, n=1; **3:** X=CH₂, R=2-NO₂, n=1; **4:** X=CH₂, R=2-NO₂, n=2;
5: X=CH₂, R=3-NO₂, n=2; **6:** X=CH₂, R=3-NO₂, n=1; **7:** X=N, R=H, n=2

Для синтеза пиралидинов (пирализи-динов), спиросочленённых с фармакофорным индолиновым фрагментом, удобно использовать трёхкомпонентную реакцию между предварительно полученным из динитрила малоновой кислоты и бензальдегидов арилиден-малондинитрилом, изатином и аминокислотами и их производными (саркозином, пролином). Превращение реализуется как 1,3-диполярное

циклоприсоединение промежуточно образующегося азометинида к активированной двойной связи илидена. При этом в целевое соединение входит две цианогруппы. Согласованный механизм реакции обеспечивает её высокую регио- и диастереоселективность. Нами подобраны условия для селективного получения изомерных спироиндолинопиралидизидинов **12–14** и **15, 16** [7].



8:R=3,4,5(OCH₃)₃ R₁=CH₃ R₂=H; 9:R=OCH₂Ph, R₁=CH₃ R₂=H; 10:R=3,4(Cl)₂, R₁=CH₃ R₂=H;
11:R=2,3,4(OCH₃)₃ R₁=CH₃ R₂=H; 12:R=H, R₁+R₂=(CH₂)₃; 13:R=3,4(Cl)₂, R₁+R₂=(CH₂)₃;
14:R=2,3,4(OCH₃)₃, R₁+R₂=(CH₂)₃; 15: R=H, R₁+R₂=(CH₂)₃; 16: R=3,4 Cl₂, R₁+R₂=(CH₂)₃

Биологическая активность соединений 1–16 исследовалась в отношении грамотрицательных (*P. aeruginosa*, *E. coli*) и грамположительных (*S. aureus*) бактерий. В качестве

контроля использовался известный компонент антимикробных препаратов широкого спектра действия – ципрофлоксацин. Полученные результаты приведены в таблице.

Результаты изучения антимикробной активности соединений 1–16
Antimicrobial activity of compounds 1–16

№	Штаммы бактерий (EC50, мкг/мл) / Bacterial strains (EC50, µg/ml)		
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> K-12
1	0,6±0,4	122±8	0,209±0,006
2	–	104±4	122±7
3	69±4	78±5	196±2
4	–	–	301±13
5	–	–	357±27
6	189±6	193±21	94±13
7	–	270±28	304±11
8	–	–	–
9	–	–	–
10	356±7	21±3	376±6
11	178±10	61±4	–
12	12±3	8,6±0,7	176±11
13	5,9±1,1	3,4±0,3	80±8
14	64±2	23±2	131±4
15	40±3	74±3	145±8
16	55±4	18±2	–
Ципрофлоксацин / Ciprofloxacin	76,16±1,02	23±2	2,8±0,6

Наибольший ингибирующий эффект по отношению к выбранным грамотрицательным

бактериям проявляет 3-амино-2-(4-нитрофенил)-1,2-дiazаспиро[4.5]дек-3-ен-4-карбонитрил **1**,



содержащий фенильный заместитель при втором атоме азота пиразолинового цикла. Наличие этого заместителя, видимо, играет важную роль, так как его замена на ароильный фрагмент (2–7) уменьшает изучаемый эффект в несколько десятков раз вне зависимости от вида второго цикла.

Умеренный и высокий ингибирующий эффект по отношению к *P. aeruginosa* и *S. aureus* проявляют также замещенные спироиндолинопирролизидиндикарбонитрилы 10–16 с различным положением дикарбонитрильного и фенильного заместителей, однако следует заметить, что лучшие результаты получены для соединений 12–14, содержащих цианогруппы при 2-м атоме углерода пирролизидинового цикла, а фенильный заместитель – при первом. Для пар с одинаковым типом положения заместителей (13 и 16, 12 и 15) наибольшей антимикробной активностью обладают соединения, содержащие 3,4 Cl₂-заместитель в фенильном фрагменте.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности синтеза и исследования антимикробной активности более широко круга замещенных 3-амино-2-(R-фенил)-1,2-дiazаспиро[4.5]дек-3-ен-4-карбонитрилов и 2-оксо-1'-(R-арил)-5',6',7',7a'-тетрагидроспиро[индолин-3,3'-пирролизин]-2',2'(1'H)-дикарбонитрилов.

Список литературы

1. Gutti G., Kumar D., Paliwal P., Ganeshpurkar A., Khemraj Lahre K., Kumar A., Krishnamurthy S., Sushil Kumar Singh S. K. Development of pyrazole and spiropyrazoline analogs as multifunctional agents for treatment of Alzheimer's disease // *Bioorganic Chemistry*. 2019. Vol. 46. P. 103080. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103080>
2. Hiesinger K., Dar'in D., Proschak E. Spirocyclic Scaffolds in Medicinal Chemistry // *Journal of Medicinal Chemistry*. 2020. Vol. 64, № 1. P. 150–183. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01473>
3. Chupakhin E., Babich O., Prosekov A. Spirocyclic Motifs in Natural Products // *Molecules*. 2019. Vol. 24, № 22. P. 4165–4169. <https://doi.org/10.3390/molecules24224165>
4. Zheng Y., Tice C. M., Singh S. B. The Use of Spirocyclic Scaffolds in Drug Discovery // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2014. Vol. 24, № 16. P. 3673–3682. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.06.081>
5. Борисова С. В., Абдуллаева С. Ч., Кочуков А. С., Сорокин В. В. Илденмалонитрилы в трёхкомпонентном синтезе новых гетероциклических систем // Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии: межвуз. сб. науч. тр. XV Всерос. конф. молодых ученых с международ. участием. Саратов : Саратовский источник, 2021. С 57–58.
6. Ивонин М. А., Бычок О. Ю., Сафарова Н. В., Сорокин В. В. Трёхкомпонентный синтез 5-арил-3-амино-ш-пиразол-4-карбонитрилов и 3-амино-1,2-дiazаспиро [4.5] дек-3-ен-4-карбонитрилов // *Журнал общей химии*. 2017. Т. 87, № 10. С. 1728–1731.
7. Meshcheryakova A. A., Neumoina K. S., Sorokin V. V. Three-Component Synthesis of Spiropyrazolines Derived from Benzohydrazides // *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2023. Vol. 59, № 8. P. 1309–1314. <https://doi.org/10.1134/S1070428023080031>
8. Gupta N., Bhojani G., Tak R., Jakhar A., Khan N., Chatterjee S., Kureshy R. Highly Diastereoselective Syntheses of Spiro-Oxindole Dihydrofuran Derivatives in Aqueous Media and Their Antibacterial Activity // *Chemistry Select*. 2017. Vol. 2, № 33. P. 10902–10907. <https://doi.org/10.1002/slct.201702314>
9. Гуревич П. А., Еремкин А. В., Карнов С. В., Солёнова Е. А., Павлова С. И., Андреева Г. В. Ацетилирование 2-(3-амино-1, 4-дiazаспиро [4. 5] дек-3-ен-2-илиден) малонитрила и определение антимикробной активности полученных соединений по отношению к *S. aureus* // *Вестник Казанского технологического университета*. 2013. Т. 16, № 20. С. 141–143.

References

1. Gutti G., Kumar D., Paliwal P., Ganeshpurkar A., Khemraj Lahre K., Kumar A., Krishnamurthy S., Sushil Kumar Singh S. K. Development of pyrazole and spiropyrazoline analogs as multifunctional agents for treatment of Alzheimer's disease. *Bioorganic Chemistry*, 2019, vol. 46, pp. 103080. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103080>
2. Hiesinger K., Dar'in D., Proschak E. Spirocyclic Scaffolds in Medicinal Chemistry. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2020, vol. 64, no. 1, pp. 150–183. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01473>
3. Chupakhin E., Babich O., Prosekov A. Spirocyclic Motifs in Natural Products. *Molecules*, 2019, vol. 24, no. 22, pp. 4165–4169. <https://doi.org/10.3390/molecules24224165>
4. Zheng Y., Tice C. M., Singh S. B. The Use of Spirocyclic Scaffolds in Drug Discovery. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2014, vol. 24, no. 16, pp. 3673–3682. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.06.081>
5. Borisova S. V., Abdullayeva S. Ch., Kochukov A. S., Sorokin V. V. Ilydenmalonitriles in the synthesis of new heterocyclic systems. *Contemporary Problems of Theoretical and Experimental Chemistry: International collection of scientific papers of the XV All-Russ. conf. of young scientists with internat. participation*. Saratov, Saratovskii istochnik, 2021, pp. 57–58 (in Russian).



6. Ivonin M. A., Bychok O. Yu., Safarova N. V., Sorokin V. V. Three-component synthesis of 5-aryl-3-amino-1H-pyrazole-4-carbonitriles and 3-amino-1,2-diazaspiro[4.5]dec-3-ene-4-carbonitriles. *Zhurnal obshchey khimii* [Russian Journal of General Chemistry], 2017, vol. 87, no. 10, pp. 1728–1731 (in Russian).
7. Meshcheryakova A. A., Neumoina K. S., Sorokin V. V. Three-Component Synthesis of Spiropyrazolines Derived from Benzohydrazides. *Russian Journal of Organic Chemistry*, 2023, vol. 59, no. 8, pp. 1309–1314. <https://doi.org/10.1134/S1070428023080031>
8. Gupta N., Bhojani G., Tak R., Jakhar A., Khan N., Chatterjee S., Kureshy R. Highly Diastereoselective Syntheses of Spiro-Oxindole Dihydrofuran Derivatives in Aqueous Media and Their Antibacterial Activity. *Chemistry Select*, 2017, vol. 2, no. 33, pp. 10902–10907. <https://doi.org/10.1002/slct.201702314>
9. Gurevich P. A., Eremkin A. V., Karpov S. V., Solenova E. A., Pavlova S. I., Andreeva G. V. Acetylation of 2-(3-amino-1, 4-diazaspiro [4. 5] dec-3-en-2-ylidene) malononitrile and determination of the antimicrobial activity of the resulting compounds against *S. aureus*. *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta* [Bulletin of the Kazan Technological University], 2013, vol. 16, no. 20, pp. 141–143 (in Russian).

Поступила в редакцию: 26.05.2024; одобрена после рецензирования 06.06.2024;
принята к публикации 18.06.2024; опубликована 25.12.2024
The article was submitted 26.05.2024; approved after reviewing 06.06.2024;
accepted for publication 18.06.2024; опубликована 25.12.2024