

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. Г.
ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

Кафедра органической и биоорганической химии

**СИНТЕЗ И ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БИОАКТИВНЫХ
ГИДРАЗОНОВ ОКСАЗОЛ-5(4H)-ОНОВ В ГЛУБОКИХ ЭВТЕКТИЧЕСКИХ
РАСТВОРИТЕЛЯХ**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студентки IV курса 412 группы
направления 04.03.01 – «Химия»

Института химии

Биккуловой Эльвиры Рафаиловны

Научный руководитель
профессор, д.х.н.

подпись, дата

В. С. Гринёв

Зав. кафедрой
профессор, д.х.н., профессор

подпись, дата

А. Ю. Егорова

Саратов 2026

Введение

На сегодняшний день проблема антибиотикорезистентности бактерий стоит особенно остро, что обуславливает необходимость поиска новых антибактериальных препаратов, а также модификации уже существующих, например, широкого класса сульфаниламидных антимикробных агентов различного строения, применяемых как в медицине. Поэтому у нас возник особый интерес к гибридным структурам, имеющих биологически активные центры, как оксазолновое кольцо, соединённые гидразо-связью, благодаря возможности их применения в качестве биосовместимых меток, что на сегодняшний день является одним из наиболее актуальных развивающихся направлений органической и фармацевтической химии.

Таким образом, целью настоящей работы является синтез новых представителей ряда гидразонов оксазол-5-(4*H*)-она на основе сульфаниламидных препаратов, изучение их строения и оптических свойств, а также исследование биологической активности полученных соединений.

Задачами работы являются:

1. Оптимизация условий синтеза замещенных сульфаниламидных гидразонов оксазол-5-(4*H*)-она с целью повышения селективности процесса и выхода продукта;
2. Установление строения и структуры полученных соединений с помощью спектральных методов (ЯМР, ИК спектроскопии) и элементного анализа, а также изучение их оптических свойств;
3. Исследование биологической активности полученных соединений *in silico* (ADMETlab 3.0, методом молекулярного докинга (Chimera)) и сравнение с полученными *in vitro* данными (биоактивность по отношению к грамположительным и грамотрицательным бактериям).

1. Синтез и строение замещенных сульфаниламидных гидразонов оксазол-5(4*H*)-она

В связи с идеей получить гибридную структуру, содержащую как оксазольный фрагмент, так и сульфаниламидный, который бы повысил антибактериальные свойства веществ, в реакцию азосочетания были введены сульфаниламидные амины. Однако проведение реакции по классической методике не привело к результату, так как соли диазония образовывались очень затруднительно, выходы продуктов были очень малыми, а сами гидразоны легко осмолялись.

Поэтому нами был предложен подход с использованием глубоких эвтектических растворителей (deep eutectic solvent, DES) на основе хлорида холина и щавелевой кислоты, соответствующие принципам «зеленой» химии. Как уже ранее сообщалось, такие растворители являются распространёнными в органическом синтезе за счёт лёгкой доступности, возможности повторного использования, а также они обладают высокой термической стабильностью, проводимостью, низкой летучестью, токсичностью и являются экологичными.

Механизм действия таких растворителей обусловлен образованием обширной сети межмолекулярных водородных связей, которые обеспечивают стабильность неустойчивых интермедиатов, в том числе такие как соли диазония сульфаниламидных аминов.

В нашем случае DES формируется за счёт взаимодействия донора водородных связей – щавелевая кислота и акцептора водородных связей – хлорид холина (ChCl:OA). Данная эвтектическая смесь была выбрана неслучайно, так как в результате проведения реакции в смеси на основе хлорида холина и винной кислоты, которая использовалась в литературе, описанной выше, образовывались нежелательные побочные продукты. Вероятно, такой эффект был связан с наличием хиральных центров у винной кислоты, что приводило к образованию смеси *R*- и *S*-изомеров. Поэтому было

принято решение использовать щавелевую кислоту, которая к тому же является более реакционноспособной, что ускоряло проведение синтеза.

Для получения эвтектической смеси смешивали хлорид холина и щавелевую кислоту в молярном соотношении 2:1 при нагревании 80°C в течение 1 часа до образования однородной вязкой жидкой фазы с низкими значениями температуры плавления (-17°C). После этого к образовавшейся эвтектике приливают раствор сульфаниламидного амина в этаноле и добавляют навеску нитрит натрия. Полученную смесь перемешивают при температуре 20°C в течение ещё одного часа. При этом синтез исходного субстрата – оксазол-5(4*H*)-она остаётся таким же, как в реакциях получения карбоциклических гидразонов. Образование солей диазония было подтверждено благодаря спектральным данным (рис. 1)

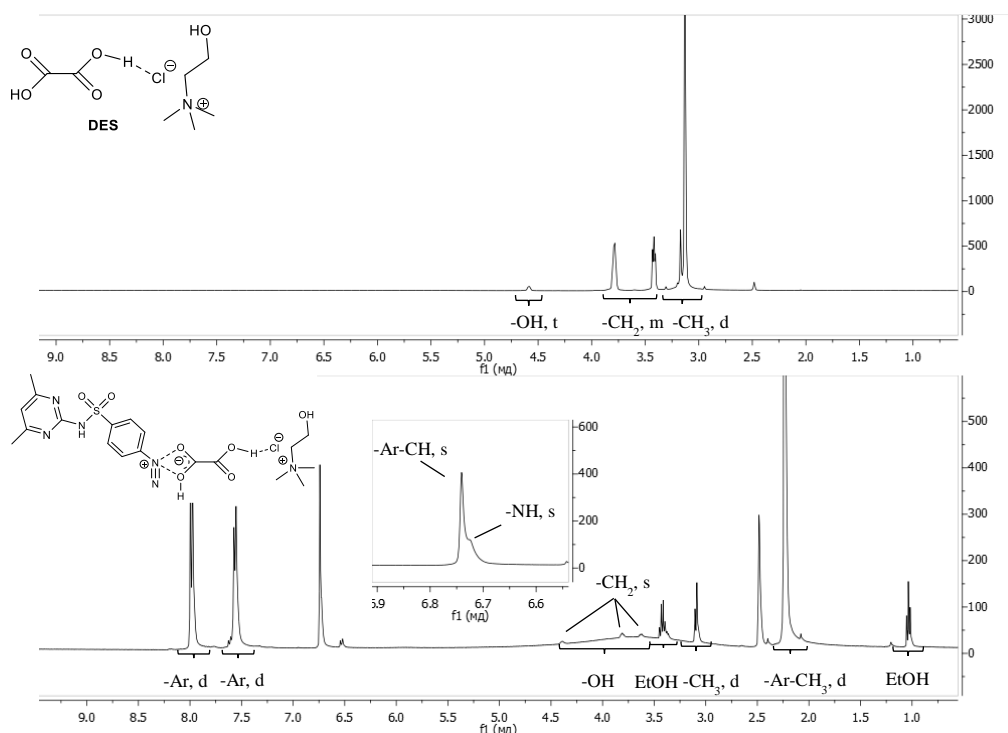


Рисунок 1 – ЯМР ¹H спектр эвтектической смеси ChCl:ОА (сверху) и соли диазония соединения 7с (снизу) в ДМСО-*d*₆

В протонных спектрах ЯМР подтверждением образования диазосоли являются ароматические сигналы в диапазоне значений от 7,98 до 6,74 м.д.

Также отмечены ключевые сигналы для NH-протона при 6,72 м.д. сульфаниламидного фрагмента и заместителей CH₃ в пиримидиновом кольце при 2,24 м.д. При этом сигналы, подтверждающие наличие эвтектической смеси, связанной с солью диазония, остаются в тех же областях.

Таким образом, использование DES позволило не только синтезировать первых представителей замещенных сульфаниламидных гидразонов оксазолон **7a-f**, но и повысить чистоту и выход конечного продукта без необходимости получения солей диазония при низких температурах (схема 1).

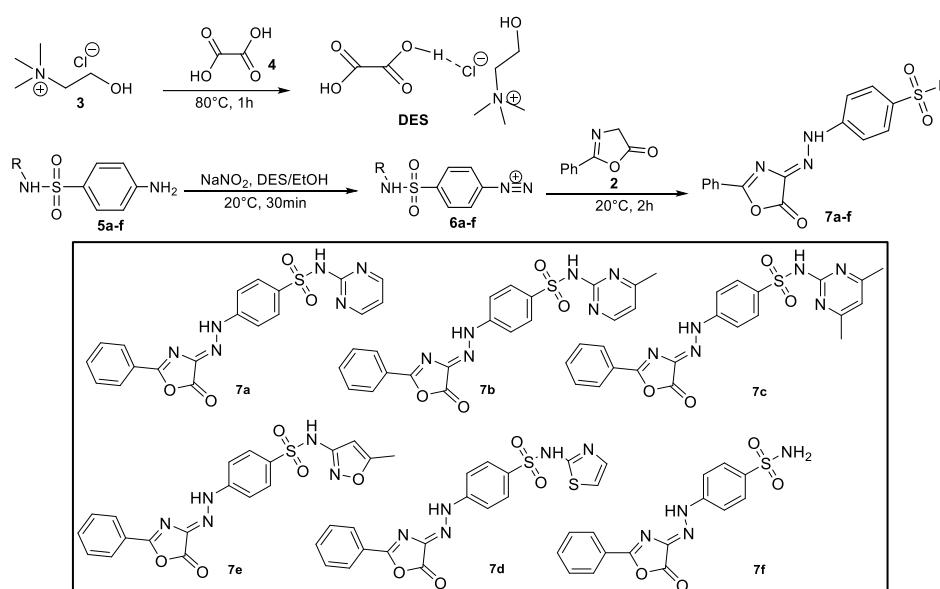


Схема 1 – Синтез замещенных сульфаниламидных гидразонов оксазол-5(4H)-она в эвтектической смеси ChCl:OA

Структура полученных соединений **7a-f** установлена также при помощи ЯМР и ИК спектроскопии.

В ИК- спектрах в длинноволновой области наблюдаются сигналы для NH гидразогруппы и сульфониламидного фрагмента (-SO₂-NH-) при 3243-3260 см⁻¹, для связи C=N в пиримидиновом кольце при 1597-1640 см⁻¹, а также валентные колебания карбонильной группы C=O оксазольного кольца в диапазоне 1785-1795 см⁻¹. Помимо этого наблюдаются выраженные симметричные валентные

колебания для связи SO_2 в областях $1141\text{-}1162\text{ см}^{-1}$ и асимметричные при $1327\text{-}1441\text{ см}^{-1}$.

В ЯМР ^1H спектрах отмечается наличие двух характерных синглетов в слабом поле в пределах от 13,07 до 10,32 м.д, что указывает на наличие NH-протонов гидразонного и сульфаниламидного фрагмента. Однозначно сказать, какой именно синглет к какой группе относится, нельзя, поскольку оба протона сильно дезэкранированы. Однако можно предположить, что химический сдвиг NH-протона в сульфаниламидном фрагменте будет находиться в более слабом поле, чем гидразонный протон, за счёт соседней группы SO_2 , которая создаёт π , π -сопряжение и имеет отрицательный индуктивный эффект.

Кроме этого, в протонных спектрах для соединения **7f** имеется характерный сигнал аминогруппы ($-\text{NH}_2$) при 7,32 м.д., а для **7b**, **7c**, **7e** фиксируются сигналы метильных групп ($-\text{CH}_3$) в пределах от 2,30 до 2,34 м.д.

В ЯМР ^{13}C спектрах присутствуют сигналы атомов углерода в оксазольном кольце для $\text{C}=\text{O}$ связи в значениях $157,4\text{-}170,5$ м.д. и в ароматическом кольце для СН-углерода, которые наблюдаются от 124 до 135 м.д. Для метильных групп фиксируются сигналы углерода в пределах от 11,47 до 23,7.

Таким образом, были получены первые представители ряда замещенных сульфаниламидных гидразонов оксазол-5(4H)-она с помощью глубокого эвтектического растворителя на основе хлорида холина и щавелевой кислоты. Такой подход позволил более безопасно, быстрее и препаративно проводить реакции, что сегодня являются очень значимыми характеристиками в органическом синтезе.

2 Исследование оптических свойств замещенных сульфаниламидных гидразонов оксазол-5(4H)-она

Сегодня электронная спектроскопия является одним из основных методов анализа органических веществ, которая позволяет изучать поведение молекул при наличии разных заместителей, изменении рН системы или образовании комплексов с металлами. Именно поэтому нам представилось интересным

исследовать оптические свойства замещенных сульфаниламидных гидразонов оксазолон в нейтральной и слабощелочной среде в контексте изучения антибактериальной активности. Очень важно, чтобы синтезированная органическая молекула при изменении pH сохраняла свои противомикробные свойства, так как большинство патогенных бактерий предпочитают именно слабощелочную среду.

Так, были изучены спектры поглощения в УФ-видимой областях нейтральных и депротонированных форм для полученных замещенных сульфаниламидных гидразонов, стабилизированных благодаря наличию развитой протяженной цепи π -сопряжения при изменении pH среды (рис. 2).

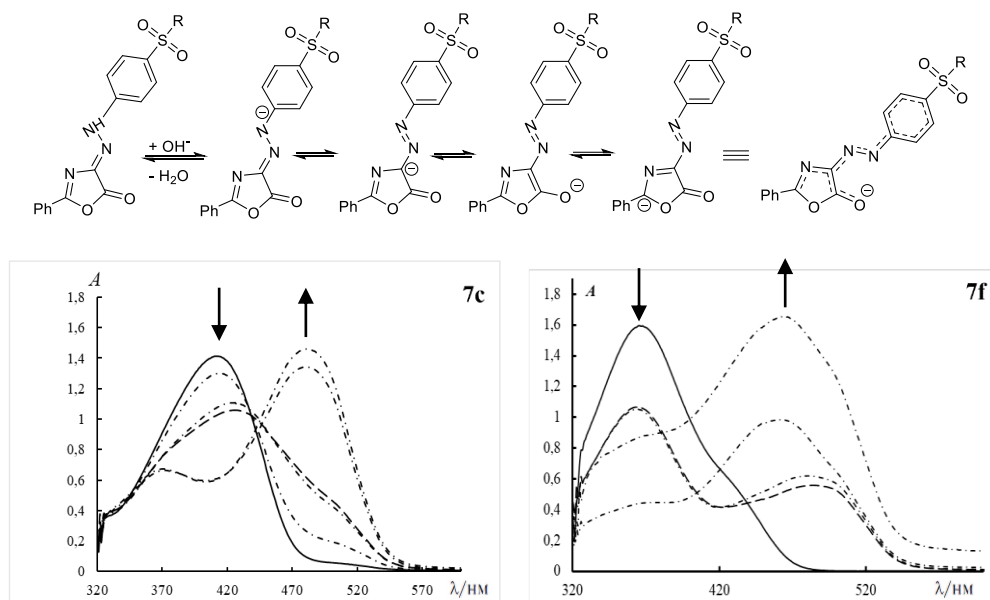


Рисунок 2 – Наличие депротонированной формы гидразонов и УФ-видимые спектры для соединений **7c** (слева) и **7e** (справа)

Как можно увидеть, спектры поглощения для всех соединений, зарегистрированные во времени, демонстрируют характерные изобестические точки, наличие которых подтверждает существование равновесия двух форм. Электронные спектры поглощения демонстрируют два

пика в диапазонах 369–415 нм и 452–484 нм, которые соответствуют переходам $S_0 \rightarrow S_2$ и $S_0 \rightarrow S_1$ соответственно (табл. 1).

Таблица 1 – Максимумы и молярные коэффициенты поглощения сульфаниламидных арилгидразонов оксазол-5(4H)-она **7a-f** для нейтральной и слабощелочной среды

Соединения	$n \rightarrow \pi^*$ (нейтр.), нм	Изобес. точка, нм	$n \rightarrow \pi^*$ (депротон), нм
7a	415 ($\epsilon = 46850$)	450 ($\epsilon = 32450$)	483 ($\epsilon = 46400$)
7b	371 ($\epsilon = 57703$)	445 ($\epsilon = 20100$)	482 ($\epsilon = 32900$)
7c	412 ($\epsilon = 54705$)	406 ($\epsilon = 6976$)	452 ($\epsilon = 11859$)
7d	408 ($\epsilon = 10408$)	441 ($\epsilon = 6537$)	484 ($\epsilon = 10488$)
7e	406 ($\epsilon = 19300$)	429 ($\epsilon = 17421$)	470 ($\epsilon = 20666$)
7f	369 ($\epsilon = 17532$)	400 ($\epsilon = 10874$)	469 ($\epsilon = 18309$)

Благодаря наличию π -сопряженной системы и подвижного NH-протона у гидразогруппы при изменении кислотности среды наблюдается гипохромный эффект, т.е. сдвиг положения интенсивности полосы поглощения в сторону бóльших значений длин волн.

Полученные спектры для гидразонов **7a-f** снимались в растворе ацетона, а затем к полученной концентрации приливали по 1 мкл щелочи NaOH до тех пор, пока полоса поглощения не станет стабильной. Полученные высокие значения молярного коэффициента говорят о том, что синтезированные замещенные сульфаниламидные гидразоны оксазолона при данных длин волн способны хорошо поглощать фотоны света, за счёт наличия в структуре сопряженных хромофорных фрагментов. Благодаря этому свойству можно сделать предположение о присутствии ярко выраженных флуоресцентных свойств.

Поэтому гидразоны оксазолона являются потенциальными кандидатами в качестве применения их как хемосенсоров, биоорганальных красителей или люминесцентных маркеров, что является актуальным направлением в современной химии.

3 Оценка антибактериальной и антибиопленочной активности замещенных сульфаниламидных гидразонов оксазол-5(4H)-она на основе *in vitro* данных

Для образцов **7a** и **7e** была зафиксирована антимикробная активность методом диффузии в агар. Бактериальную суспензию наносили на агар Мюллера–Хинтона, после чего размещали бумажные диски, пропитанные растворами исследуемых соединений в ДМСО (рис. 3). В качестве контроля использовали ДМСО и стандартные антибиотики: ампициллин, тетрациклин, стрептомицин, канамицин.

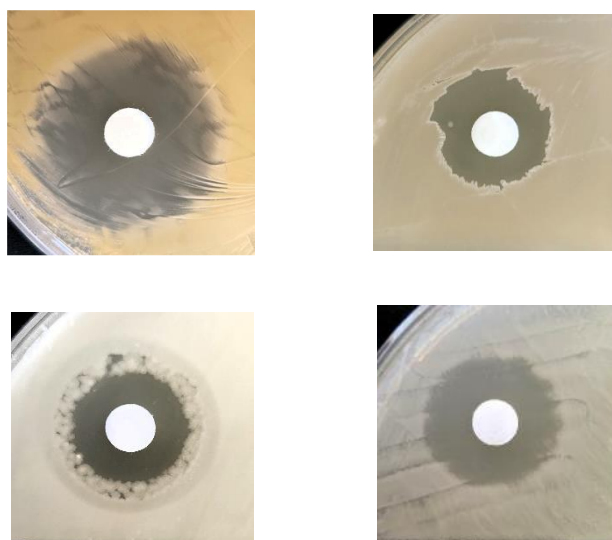


Рисунок 3 – Фотографии ингибирующего действия образца **7e** на бумажных дисках в отношении *S.aureus* (а), *B.subtilis* (б), *B.cereus* (г), *E. coli* (е) методом диффузии в агар

Наибольшие зоны ингибирования проявлялись при воздействии соединений **7a** и **7e** на бактерии золотистого стафилококка (*S.aureus*), а также *E. coli*, которые в равной степени угнетают рост бактерий, что является многообещающим свойством для перспективных антимикробных агентов. Кроме этого, для замещенных сульфаниламидных гидразонов **7a** и **7e** количественно была определена минимальная ингибирующая концентрация (МИК) в мкг/мл методом двукратных серийных разведений в жидкой среде в

отношении грамположительных (первые 4 столба) и грамотрицательных (последние 4 столба) бактерий (табл. 2). В качестве сравнения были взяты исходные сульфаниламидные амины.

Таблица 2 – Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) в мкг/мл для грамположительных и грамотрицательных штаммов бактерий

В-ва	Минимальная ингибирующая концентрация, мкг/мл							
	<i>S.aureus</i> 209P	<i>M.luteus</i> B-109	<i>B.subtilis</i> 26D	<i>B.cereus</i> 8035	<i>P.aeruginosa</i> V-31	<i>P.fluorescens</i> T283	<i>P.putida</i> TSh-18	<i>E. coli</i> K-12
5а (сульфа диазин)	500	64	128	250	>500	>500	–	32
7а	31,3	125	125	62,5	–	–	–	31,3
5е (сульфа метокса зол)	128	–	128	–	256	–	>1024	64
7е	31,3	62,5	62,5	62,5	–	–	–	62,5

Из приведенной таблицы видно, что для некоторых бактерий, таких как *S.aureus*, *B.cereus*, *B.subtilis* образцы **7а** и **7е** смогли превзойти показатели ингибирования роста бактерий в среднем на ~70% в сравнении с исходными сульфаниламидными аминами (выделено красным), что является перспективным результатом.

Помимо исследования антибактериальных свойств нами также оценивались антибиопленочная активность полученных соединений (табл. 3). Минимальную бактерицидную концентрацию (МБК) в мкг/мл определяли путем высева бактерий на плотную среду.

Таблица 3 – Минимальная бактерицидная концентрация (МБК) в мкг/мл для грамположительных и грамотрицательных штаммов бактерий

В-ва	Минимальная бактерицидная концентрация, мкг/мл							
	<i>S.aureus</i> 209P	<i>M.luteus</i> B-109	<i>B.subtilis</i> 26D	<i>B.cereus</i> 8035	<i>P.aeruginosa</i> V-31	<i>P.fluorescens</i> T283	<i>P.putida</i> TSh-18	<i>E. coli</i> K-12
5а (сульфа диазин)	64	512	>1024	>1024	>2048	>1024	–	250
7а	62,5	250	500	250	–	–	–	125
5е (сульфа метокса зол)	500	–	>500	–	>1024	–	>2048	128
7е	125	250	250	500	–	–	–	500

Наиболее перспективным в борьбе с формированием биопленок оказался гидразон **7е**. Его ингибирующее действие смогло подавить рост образования биопленок всех приведенных грамположительных бактерий, что объясняется структурными различиями в клеточных стенках бактерий у грамотрицательного штамма, так как их внешняя мембрана способна снижать проницаемость веществ. Так, его подавляющее действие на биопленкообразование бактерий золотистого стафилококка (*S.aureus*) варьировалось в пределах от 9 % до 75% в заданном диапазоне концентраций по сравнению с образцом **7а**.

Таким образом, на примере анализа соединений **7а** и **7е**, можно сказать, что добавление в структуру сульфаниламидов оксазольного каркаса, действительно, способствовало увеличению антибактериальной и антибиопленочной активности. Такая модификация обладает многообещающими свойствами и заслуживает дальнейшего более глубокого изучения.

Выводы

1. Синтезированы новые ранее неизвестные представители ряда карбоциклических арилгидразонов оксазол-5(4H)-она, в том числе ранее недоступных – на основе сульфаниламидных аминов с применением нового подхода – использования глубоких эвтектических растворителей. Установлены структуры полученных соединений с помощью ЯМР и ИК спектроскопии.

2. Изучены оптические свойства в УФ и видимой областях нейтральных и депротонированных форм гидразонов, показано, что в основной среде гидразоны способны существовать в равновесии нейтральной и депротонированной форм, максимумы поглощения которых существенно отличаются.

3. Изучены фармакокинетические профили синтезированных соединений с помощью хемоинформатического подхода ADMET. Показано, что введение оксазольного фрагмента через гидразонный линкер в структуры сульфаниламидов повышает липофильность и уменьшает токсикологические характеристики.

4. Для ряда представителей сульфаниламидных гидразонов оксазол-5(4H)-она показана выраженная антимикробная активность в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий. Методом молекулярного докинга смоделированы предполагаемые рецептор-лигандные комплексы гидразонов с ключевыми белками-мишенями, связывание с которыми подавляет рост бактерий.