

В современной синтетической химии имидазольный цикл формируется на основе реакций гетероциклизации, которым посвящена монография Гриммита [1]. Основным реагентом для синтеза цианосодержащих имидазолов является диаминэтилендикарбонитрил. Он применяется в основном в реакциях образования цикла с одновременным формированием связей 1,2 и 2,3. В ходе проведенных исследований нами был предложен подход к построению гидрированных аминокимидазолов на основе полученного нашим коллективом ранее неизвестного 2-аминоэтилен-1,1,2-трикарбонитрила [2]. Разработанный нами подход к синтезу основан на формировании 1,2 и 3,4 (или 1,5 и 2,3) связей цикла [1], существенно отличает данный метод от известных подходов [3]. Несмотря на то, что соединения этого типа ранее в литературе не были описаны, для ряда структур, содержащих имидазольный фрагмент показано наличие выраженной противораковой [4], противовирусной [5] и антимитотической [6] активности. Также среди производных имидазола известны антагонисты различных биологических рецепторов [7-8]. Работ, посвященных исследованию антимикробных свойств производных имидазола к настоящему времени известно немного [9-10]. Продолжая поиск эффективных методов получения азасодержащих гетероциклических соединений [11], нами был оптимизирован метод получения 2-(3-амино-1,4-дiazаспиро[4.5]дек-3-ен-2-илиден)малонитрила 2. В качестве исходных соединений были использованы выделенный и очищенный 2-аминоэтилен-1,1,2-трикарбонитрил [2] и циклогексанон в присутствии ацетата аммония. Выход соединения 2 составил 72%. Строение 2-(3-амино-1,4-дiazаспиро[4.5]дек-3-ен-2-илиден)малонитрила (2) было подтверждено соотношением кристаллографических параметров с полученными ранее [3]. Строение соединения дополнительно установлено проведенным рентгеноструктурным анализом. Молекулярная структура имидазола (2) приведена на рис. 1. Рис. 1 - Молекулярная структура 2-(4-амино-1,3-дiazаспиро[4.5]дец-3-ен-2-илиден)малонитрила Структурной особенностью изучаемых производных имидазола 2 является наличие аминокруппы и NH-фрагмента имидазольного цикла, что потенциально позволяет осуществить его встраивание в полимерные цепи, в том числе полиамидные и полипептидные, а так же возможно присоединение к боковым и С-концевым кислотным функциям полипептидов. С целью определения возможности проявления биологической активности структурного фрагмента имидазола (2) в составе полимерной цепи нами было реализовано его моно- и диацетилирование, и исследовано влияние полученных производных на рост стандартной культуры *S. Aureus*. Моноацетилированное производное 4 было получено с выходом 79% при действии на 2-(3-амино-1,4-дiazаспиро[4.5]дец-3-ен-2-илиден)малонитрил 2 эквимолярного количества ацетилхлорида в присутствии триэтиламина и использовании в качестве растворителя безводного диоксана. Диацетилированное производное 5 было получено при нагревании

смеси имидазола 2 с избытком ацетилхлорида в среде безводной уксусной кислоты. По-видимому данное взаимодействие реализуется через стадию промежуточного образования соединения 4. Строение соединений 4 и 5 было предложено на основании данных ИК-спектроскопии и спектроскопии ЯМР ^1H . Для соединений 2 и 4 были получены данные спектроскопии ЯМР ^{13}C . В ИК-спектрах соединений имеются характерные полосы поглощения валентных колебаний $\text{C}\equiv\text{N}$ группы в области 2210-2225 см^{-1} . В ЯМР ^1H спектрах соединений 2, 4, 5 присутствуют сигналы протона NH-группы гидрированного имидазольного цикла при 11,41-11,38 м.д. В результате исследования влияния соединений 4 и 5 на рост стандартной культуры *S. Aureus* было обнаружено, что они обладают ростоподавляющим действием по отношению к данным микроорганизмам в достаточно низких концентрациях (МПК 64-32 мкг/мл). Таким образом, было проведено исследование ацетилирования 2-(3-амино-1,4-дiazаспиро[4.5]дек-3-ен-2-илиден)малононитрила, получены моно- и диацетилированные производные. Установлено наличие ростоподавляющего действия ацилированных производных 2-(3-амино-1,4-дiazаспиро[4.5]дек-3-ен-2-илиден)малононитрила по отношению к *S. Aureus*. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 12-03-31673 мол_а. Экспериментальная часть Контроль над ходом реакций и чистотой синтезированных веществ осуществлялся методом ТСХ на пластинках «Silufol UV-254», проявитель – УФ облучение, пары йода, термическое разложение. ИК-спектры снимали на приборе ИК-Фурье-спектрометре ФСМ-1202 в тонком слое (суспензия в вазелиновом масле). Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C регистрировали на спектрометре Bruker DRX-500 при рабочих частотах 500.13 МГц и 125.76 МГц соответственно, растворитель – DMCO-d_6 , внутренний стандарт – ТМС. Масс-спектры получены на приборе Finnigan MAT.INCOS 50 (электронный удар 70 эВ) и Simadzu GCMS-QP2010S DI (электронный удар 70 эВ). Элементный анализ проводили на приборе Laboratorní Přístroje. 2-(4-Амино-1,3-дiazаспиро[4.5]дец-3-ен-2-илиден)малононитрил (2). К 2.9 г (0.025 моль) аминотрицианоэтилена (полученного по методики изложенной в [2]) в 25 мл. 1,4-диоксана добавляли 4.7 г ацетата аммония и 0.025 моль циклогексанона. Через 2 ч. интенсивного перемешивания реакционную массу разбавляли водой и отфильтровывали выделившийся осадок, промывали водой и пропанолом-2. Перекристаллизовывали из пропанола-2. Выход 72%, т.пл. 198-199°C. ИК спектр, ν , см^{-1} : 3440, 3280-3100 (NH, NH_2), 2225 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 2210 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 1645 ($\text{C}=\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 11.41 с (1H, NH), 6.25 с (2H, $\text{N}=\text{C}-\text{NH}_2$), 1.8-1.2 м (10H, CH_2). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 158.9 ($=\text{C}-\text{N}$), 156.4 ($\text{C}=\text{N}$), 115.6 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 113.9 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 76.1 ($\text{C}=\text{C}(\text{CN})_2$), 42,2 (N-C-N), 36.6 ($\text{CH}_2-\text{C}-\text{CH}_2$), 21.9 ($\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$), 23.8 (CH_2). Масс-спектр, m/z (Iотн., %): 215 (52) Найдено, %: C 61.23; H 5.93; N 32.47. $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_5$. Вычислено, %: C 61.38; H 6.09; N 32.54. Исследование монокристаллов соединений 2 проводили на 4-х кружном автоматическом дифрактометре CAD-4

фирмы "Enraf Nonius", Cu K α излучение, графитовый монохроматор, ω -сканирование. Кристаллы 2 относятся к моноклинной сингонии.

Кристаллографические параметры: $a = 20.7450(7)$ Å, $b = 5.822(1)$ Å, $c = 20.852(1)$ Å, $\beta = 116.10(1)$ Å, Z 8, пространственная группа $C 1 2/c 1$. Факторы недостоверности R 0.051 [3]. 2-(4-ацетил-3-имино-1,4-дiazаспиро[4.5]декан-2-илиден)малононитрил (4). 2.15 г 2-(4-Амино-1,3-дiazаспиро[4.5]дец-3-ен-2-илиден)малононитрил (0.01 моль) и 0.8 г сухого триэтиламина растворяли в 15 мл безводного диоксана. К полученному раствору при интенсивном перемешивании прикапывали 0.78 г (0.01 моль) свежеперегнанного ацетилхлорида, поддерживая температуру реакционной массы не выше 20°C, после чего смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 0.5 ч. К полученной суспензии прибавляли 50 мл холодной дистиллированной воды, выделившийся осадок отфильтровывали и перекристаллизовывали из ледяной уксусной кислоты. Выход соединения 4 составил 2.0 г (79%). Т пл. 256-258°C (разл.). ИК спектр, ν , см⁻¹: 3440, 3220 (NH), 2225 (C $\equiv$ N), 2210 (C $\equiv$ N), 1730 (C=O), 1645 (C=N). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м.д.: 171.7 (O=C-N), 152.6 (=C-N), 157.5 (C=N), 116.0 (C $\equiv$ N), 115.0 (C $\equiv$ N), 91.2 (C=C(CN)₂), 43.7 (N-C-N), 35.6 (CH₂-C-CH₂), 24.3 (O=C-CH₃), 22.8 (CH₂-CH₂-C-CH₂-CH₂), 22.7 (CH₂). Масс-спектр, m/z (Iотн., %): 257 (43) Найдено, %: C 60.63; H 5.92; N 27.37. C₁₃H₁₅N₅O. Вычислено, %: C 60.69; H 5.88; N 27.22. N-(1-ацетил-3-(дицианометилен)-1,4-дiazа-спиро[4.5]декан-2-илиден)ацетамид (5). 0,215 г 2-(4-Амино-1,3-дiazаспиро[4.5]дец-3-ен-2-илиден)мало-нонитрил (0.01 моль) и 0.8 г уксусного ангидрида нагревали до кипения. Далее выдерживали при комнатной температуре в течение 0.5 ч. К полученному раствору добавляли 5 мл холодной дистиллированной воды, выделившийся осадок отфильтровывали и перекристаллизовывали из ледяной уксусной кислоты. Выход соединения 5 составил 0,20 г (74%). Т пл. 223-224°C (разл.). ИК спектр, ν , см⁻¹: 3203 (NH), 2221 (C $\equiv$ N), 1732 (C=O), 1661 (C=N). Спектр ЯМР ¹H, δ , м.д.: 11.38 с (1H, NH), 2.61 с (3H, C(O)CH₃), 2.53 м (2H, CH₂), 2.22 с (3H, C(O)CH₃), 1.8-1.2 м (8H, CH₂). Масс-спектр, m/z (Iотн., %): 299 (39) Найдено, %: C 60.16; H 5.80; N 23.55. C₁₅H₁₇N₅O₂. Вычислено, %: C 60.19; H 5.72; N 23.40.

Экспериментальная биологическая часть Культивирование музейного штамма *S. Aureus* J49 (ATCC 25923) осуществлялось в питательном бульоне Brain-Heart Infusion (BHI; Gibco, США) во флаконах с аэрацией при 35°C. Для экспериментальных целей ночную культуру разводили так, чтобы концентрация в свежем BHI составила 10⁷ микробных тел/мл, затем растили при 37°C до достижения средней log-фазы (время было установлено в предварительном эксперименте). Расчет концентрации микробных тел производили, измеряя оптическую плотность бактериальной суспензии (1 единица оптической плотности = 8,5·10⁸ КОЕ/мл при длине волны 540 нм). Использован метод серийных разведений в бульоне (Методические указания 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным

препаратам», Минздрав России, 2004). Исследуемое вещество протестировано в двух сериях экспериментов, в каждом повторе опыта для него готовились 2 ряда разведений. В пробирки, содержащие по 0,5 мл соответствующего разведения тестируемого вещества в ВНІ или стерильном ВНІ (референтная проба), вносили по 0,5 мл инокулума (10^6 КОЕ/мл) не позднее 30 мин с момента его приготовления так, чтобы конечная концентрация *S. aureus* составляла 5×10^5 КОЕ/мл. Опытные аэрируемые пробирки инкубировали в течение 24 ч в обычной атмосфере при 35°C, а пробирки с референтной пробой – при 4°C. Наличие роста определяли в проходящем свете, сравнивая опытные пробирки с референтной пробой. Минимальной подавляющей концентрацией (МПК) считали наименьшую концентрацию, которая приводила к видимому подавлению роста микроорганизма.