

УДК 54.567+547.333.2

О. М. Фігурка, М. С. Курка, І. В. Драпак¹, З. В. Губрій, С. В. Хом'як
Національний університет "Львівська політехніка",
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології
¹Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
кафедра загальної біонеорганічної, фізикоїдної хімії

СИНТЕЗ І ВЛАСТИВОСТІ 3-АМІНОКИСЛОТНОЗАМІЩЕНИХ- 2-(3,5-ДИ-ТРЕТ-БУТИЛ-4-ГІДРОКСИФЕНІЛ)-1,4-НАФТОХІНОНІВ

© Фігурка О. М., Курка М. С., Драпак І. В., Губрій З. В., Хом'як С. В., 2014

Отримано нові потенційно біологічно активні сполуки шляхом взаємодії 3-хлоро-2-(3,5-ди-трет-бутил-4-гідроксифеніл)-1,4-нафтохінону з амінокислотами. Проведено комп'ютерне прогнозування та здійснено експериментальне дослідження біологічної активності отриманих сполук, будову яких підтверджено фізико-хімічними методами аналізу.

Ключові слова: 1,4-нафтохінон, просторово екранований фенол, амінокислоти.

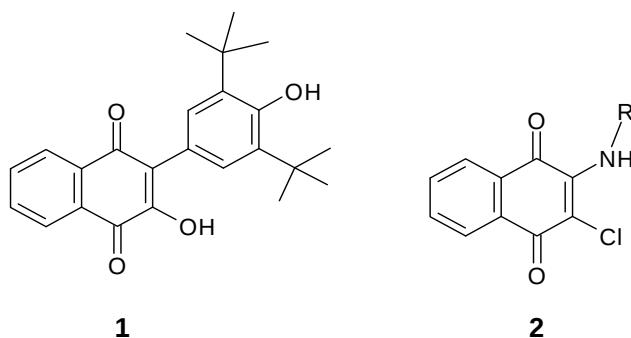
Received new potentially biologically active compounds by reaction of 3-chloro-2-(3,5-di-tert-buthyl-4-hydroxyphenyl)-1,4-naphthoquinones with various amino acids. Carried out calculations of predicted and conducted experimental studies of biological activity obtained compounds. Analysis of compounds and their structure was confirmed.

Key words: 1,4-naphthoquinone, hindered phenol, amino acids.

Мета. Синтез 3-амінокислотозаміщених-2-(3,5-ди-трет-бутил-4-гідроксифеніл)-1,4-нафтохінонів, визначення їх властивостей та біологічної активності.

Аналіз попередніх досліджень і публікацій. Найважливішим завданням сучасної органічної хімії є пошук нових сполук певного складу із заданими властивостями, які можуть бути перспективними для використання в медицині, сільському господарстві або промисловості.

Екрановані феноли є домінантними посеред промислових антиоксидантів [1], за своєю структурою і властивостями близькі до вітаміна Е. Фрагмент 1,4-нафтохінону зустрічається в багатьох сполук природного походження, а саме входить до складу деяких вітамінів, багатьох пігментів, антибіотиків. Ці дані вказують на широкий спектр його біологічної активності [2–4]. Найзначущішим фактором використання похідних 1,4-нафтохінону, як основи для синтезу нових потенційно біологічно активних структур, є здатність пригнічувати вільно-радикальні реакції, які призводять до перебігу в організмі спонтанних ланцюгових реакцій окислення [5].



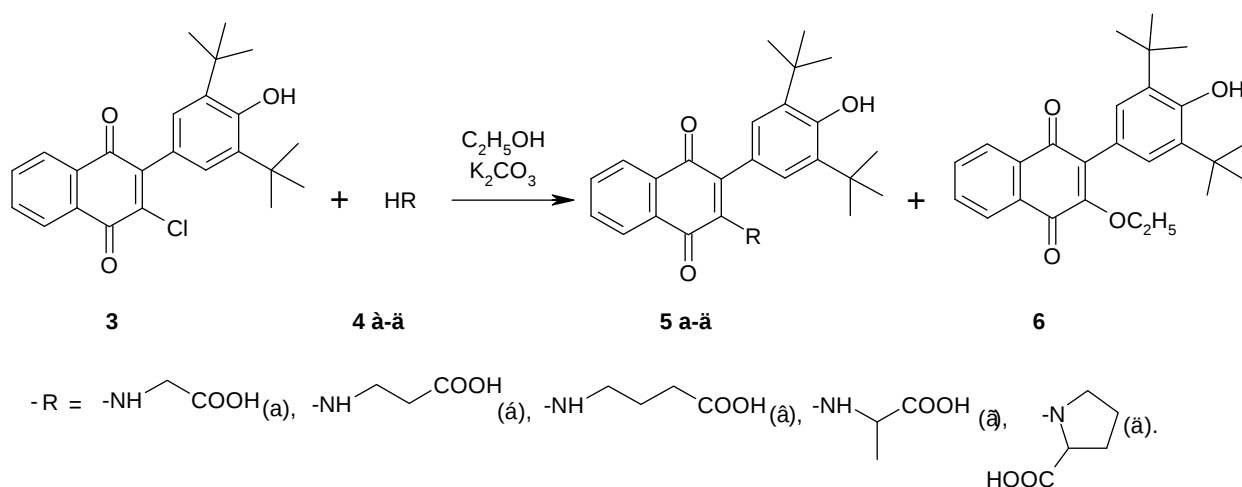
Для прикладу сполука 3-гідрокси-2-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гідроксифеніл)-1,4-нафтохінон **1** поєднує корисні властивості нафтохінонового фрагменту та екранованого фенолу, це інгібітор росту ракових клітин [6], а також високоактивний антиоксидант [7].

Зважаючи на особливу цінність і біологічну сумісність з живими організмами, амінокислоти становлять безсумнівний інтерес, як складові для пошуку нових біологічно активних структур. Амінокислотні похідні 1,4-нафтохінону **2** характеризуються широким спектром біологічної активності і помірною токсичністю [8].

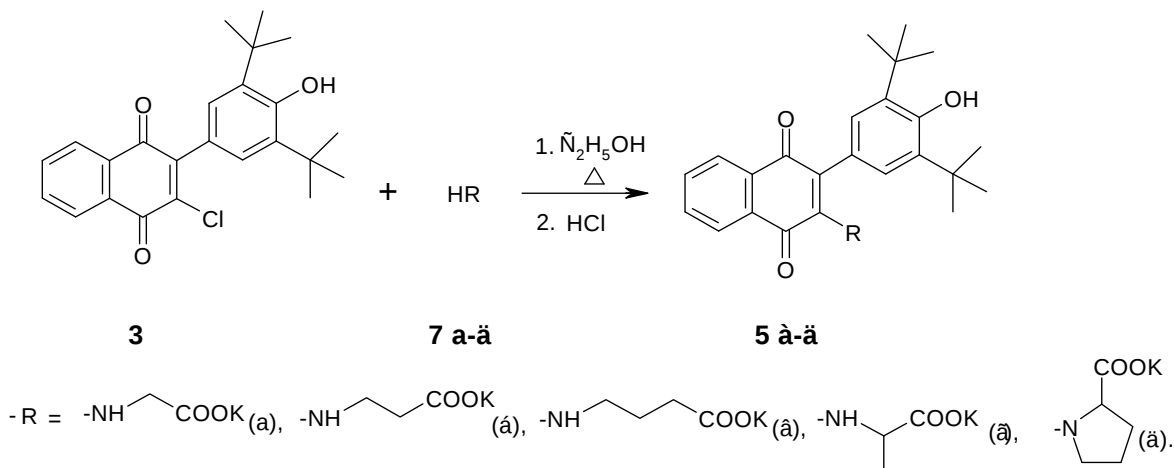
Наведемо новий тип амінокислотних похідних 1,4-нафтохінону сполучених з 2,6-ди-*трет*-бутил-4-гідроксифенолом та простий шлях їх синтезу.

Обговорення результатів. В якості вихідного матеріалу використовували 3-хлоро-2-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гідроксифеніл)-1,4-нафтохінон **3** отриманий за допомогою взаємодії 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону та 2,6-ди-*трет*-бутилфенолу [9].

З поміж амінокислотного ряду для першочергових взаємодій було обрано таку групу аліфатичних амінокислот: α -гліцин, α -алінін, α -пролін, β -аланін та γ -аміномасляну кислоту. Похідні цих амінокислот отримували реакцією 3-хлоро-2-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гідроксифеніл)-1,4-нафтохінону **3** з відповідною амінокислотою в етанолі, в присутності K_2CO_3 .



З цієї причини цей синтез ми проводили в нейтральних умовах, з амінокислотами у вигляді солей, під час нагрівання реакційної суміші протягом 4 год. Як відомо, нуклеофільність аміногрупи вільної амінокислоти в цвіттер-іонної формі настільки низька, що заміщення атома хлору в 3-хлоро-2-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гідроксифеніл)-1,4-нафтохіноні **3** на амінокислотний залишок не відбувається. Тому амінокислоти нейтралізували гідроксидом калію і в результаті отримували їх солі **7 а-д**, котрі є нуклеофілами і реагують як основи, а не кислоти [10]. У результаті було отримано бажані 3-амінокислотнозаміщені-2-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гідроксифеніл)-1,4-нафтохінони **5 а-д** з хорошим виходом (35 – 54 %).



Дані прогнозованого скринінгу біологічної активності за програмою PASS [11] показують, що нові синтезовані сполуки можуть мати деякий спектр біологічної активності і основна частина з них може проявляти антиоксидантні властивості, як і очікувалось (табл. 1).

Таблица 1

Результати прогнозованого скринінгу біологічної активності за програмою PASS (Pa>0,5)

Дані PASS \ Сполука	5a	5б	5в	5г
<i>Reductant</i>	0,719	0,806	0,888	
<i>Membrane integrity antagonist</i>			0,770	
<i>Mucomembranous protector</i>	0,761	0,825	0,844	0,780
<i>Gluconate 2-dehydrogenase (acceptor) inhibitor</i>	0,742	0,729	0,752	0,863
<i>CYP2J substrate</i>		0,705	0,730	
<i>CYP2J2 substrate</i>			0,720	
<i>Proteasome ATPase inhibitor</i>	0,756			
<i>Eye irritation, inactive</i>			0,703	
<i>Alopecia treatment</i>				0,700

Вивчено фунгібактеріоцидну активність синтезованих сполук методом дифузії діючої речовини в агар на тест культурах бактерій *Escherichia coli*, *Mycobacterium luteum* та грибів *Candida tenuis*, *Aspergillus niger* за стандартною методикою [12].

Було встановлено, що досліджувані сполуки проявляють вибірково антибактеріальну дію. Зокрема, речовини **5a**, **5б** мають помірну бактерицидну активність щодо грам-позитивних бактерій *S.aureus*, *M.luteum* в концентрації 0,5 %, про що свідчить діаметр зони затримки росту цих бактерій 13,4 – 15,7 мм. Найвищі показники бактерицидної активності характерні для сполуки **5г** щодо *M.luteum*, діаметр зони затримки росту цих бактерій становить 27 мм, а мінімальна бактериостатична концентрація дорівнює 62,5 мкг/мл та мінімальна бактеріоцидна концентрація – 125 мкг/мл. Проте, культура грамнегативних бактерій *E.coli* виявилась резистентною до дії всіх досліджуваних сполук.

Результати досліджень наведені в табл. 2.

Таблиця 2

Фунгібактерицидна активність досліджуваних сполук

Сполука	Концентрація (%)	Діаметр зон пригнічення росту мікроорганізмів (мм)				
		<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>M.luteum</i>	<i>C.tenuis</i>	<i>A.niger</i>
5a	0,5	0	15,7	8,7	0	0
	0,1	0	0	0	0	0
5б	0,5	0	15,0	11,4	0	0
	0,1	0	0	0	0	0
5в	0,5	0	0	10,7	0	0
	0,1	0	0	0	0	0
5г	0,5	0	0	27,0	0	0
	0,1	0	0	19,0	0	0
5д	0,5	0	0	0	0	0
	0,1	0	0	0	0	0

Синтезовані сполуки **5a-д** дослідили також на фунгіцидну дію методом серійних розбавлень. Встановлено, що лише сполука **5г** проявила фунгіцидну дію на ріст дріжджових грибів *C.tenuis* в концентрації 250 мкг/мл.

Експериментальна частина. ІЧ-спектри були записані на спектрофотометрі “Specord M-80” в таблетках з КВг. Спектри ¹H ЯМР зареєстровані на спектрометрі “Varian VXR-400”, хімічні зсуви ¹H виражені в шкалі відносно ТМС, інтегральні інтенсивності сигналів відповідають зробленим віднесенням. Контроль за перебігом реакцій та індивідуальність речовин здійснювали за допомогою ТШХ на пластинах “Silufol UV-254”. Елементний аналіз сполук виконували на стандартному лабораторному обладнанні для мікроаналізу. Вихідні речовини, допоміжні сполуки та розчинники, які були використані в роботі, отримували та очищали за стандартними методиками.

Досліджено спектри ІЧ-поглинання одержаних сполук **5 а-д**, де спостерігаються смуги поглинання, обумовлені присутністю просторово екранованого фенолу: вузька смуга поглинання при 3650–3630 см⁻¹, характерна для валентних коливань гідроксилу екранованого фенолу, інтенсивна смуга при 2900–2850 см⁻¹ – валентні коливання СН-зв’язку в метильних групах, смуги поглинання середньої інтенсивності при 1350–1320 см⁻¹ – деформаційні коливання СН в метильних групах. В інтервалі 1265-1210 см⁻¹ проявляються дві смуги поглинання середньої інтенсивності, що відносяться до коливань зв’язку Аг-ОН в просторово-екранованих фенолах, а також дві групи смуг в області 885–870 і 830–815 см⁻¹ (неплощинні деформаційні коливання тетразаміщеного бензенового кільця) [13]. Смуга коливання при 3352 см⁻¹ відповідає валентним, а смуга при 1520 см⁻¹ деформаційним коливанням вторинних NH-груп, окрім амінокислотного похідного котре містить пролін **5д**. Поглинання нафтохінонового і фенольного фрагменту проявляється в вигляді двох пар піків при 1680 і 1640 см⁻¹ (C=O) та 1600 і 1560см⁻¹ (C=C). Також в спектральних даних одержаних

амінокислотних похідних відсутнє поглинання при 750см^{-1} , що відповідає коливанням зв'язку C-Cl в 2-NR-3-хлоро-1,4-нафтохінонах [9], натомість наявні смуги поглинання при 1400 та 728 см^{-1} , які відповідають коливанням $-\text{CH}_2-$ груп в сполуках **5а**, **5б**, **5в**, **5д**. Із збільшенням алкільного ланцюга в сполуках **5б**, **5в**, **5д** спостерігається збільшення інтенсивності поглинання в області $3000\text{--}2800\text{ см}^{-1}$ [14].

В усіх спектрах ПМР присутні сигнали метильних протонів *трет*-бутильних груп, що проявляються у вигляді синглетів при 1,4-1,5 м.ч. Синглети протонів ОН-групи проявляються при 5,20-6,45 м.ч., що характерно для екранованих фенолів. Протони нафтохінонового фрагменту проявляються в межах 8,6 – 7,6 м.ч. у вигляді двох мультиплетів [15]. Протони вторинної аміногрупи в сполуках **5а**, **5б**, **5в**, **5г** проявляються при 6,81 і 6,71 м.ч. відповідно. Сигнали карбоксильної групи не проявляються, ймовірно, через уширення піка та через дейтерообмін з розчинником.

Загальна методика синтезу 3-амінокислотозаміщених-2-(3,5-ди-трет-бутил-4-гідроксифеніл)-1,4-нафтохінонів, (5 а-д).

Нагрівали при $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ (0,012 моль) 3-хлоро-2-(3,5-ди-трет-бутил-4-гідроксифеніл)-1,4-нафтохінон **3** із (0,012 моль) відповідних солей аліфатичних амінокислот **7 а-д** в етанолі впродовж 4 годин. Розчинник видаляли у вакуумі. Осад, що випав, очищали екстракцією із суміші вода-дихлорометан (1:1). Отриманий водний розчин солей осаджували хлороводневою кислотою та сушили. Одержано кристали оранжевого, червоного та фіолетового кольорів. Виходи (35 – 54 %).

[3-(3,5-Ди-трет-бутил-4-гідроксифеніл)-1,4-діоксо-1,4-дигідронафталін-2-іл]амінооцтова кислота 5а

$T_{\text{топл.}}=187\text{--}189\text{ }^{\circ}\text{C}$

Обчислено, %: С 71,70, Н 6,71, N 3,22. Знайдено, %: С 71,58, Н 6,63, N 3,29; $\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{NO}_5$.

ІЧ спектр, см^{-1} : 3632, 3338, 3056, 1722, 1672, 1576, 1504, 1345, 1292, 1236, 728.

^1H ЯМР спектр (200 MHz, CDCl_3), δ , ppm (J , Hz): 8.11 (1H, d, $J=7.5$, CH quin.); 8.04 (1H, d, $J=7.5$, CH quin.); 7.69 (1H, t, $J=7.6$, CH quin.); 7.60 (1H, t, $J=7.6$, CH quin.); 7.19 (2H, s, CH-Ar); 6.63 (1H, br.s., NH); 5.24 (1H, s, OH); 4.02 (2H, s, CH_2); 1.43 (18H, s, tert-but- CH_3).

3-[3-(3,5-Ди-трет-бутил-4-гідроксифеніл)-1,4-діоксо-1,4-дигідронафталін-2-іл]амінопропіонова кислота 5б

$T_{\text{топл.}}=157\text{--}159\text{ }^{\circ}\text{C}$

Обчислено, %: С 72,14, Н 6,95, N 3,12. Знайдено, %: С 72,06, Н 7,05, N 3,04; $\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{NO}_5$.

ІЧ спектр, см^{-1} : 3560, 3352, 2936, 1720, 1680, 1632, 1592, 1568, 1504, 1432, 1344, 1296, 1232, 728.

^1H ЯМР спектр (200 MHz, CDCl_3), δ , ppm (J , Hz): 8.12 (1H, d, $J=7.5$, CH quin.); 8.01 (1H, d, $J=7.5$, CH quin.); 7.76-7.62 (2H, m, CH quin.); 7.11 (2H, s, CH-Ar); 6.34 (1H, br.s., NH); 5.23 (1H, s, OH); 3.72 (2H, t, $J=6.8$, 3- CH_2); 3.26 (2H, t, $J=6.8$, 2- CH_2); 1.44 (18H, s, tert-but- CH_3).

4-[3-(3,5-Ди-трет-бутил-4-гідроксифеніл)-1,4-діоксо-1,4-дигідронафталін-2-іл]аміномасляна кислота 5в

$T_{\text{топл.}}=191\text{--}193\text{ }^{\circ}\text{C}$

Обчислено, %: С 72,55, Н 7,18, N 3,02. Знайдено, %: С 72,58, Н 7,06, N 3,05; $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{NO}_5$.

ІЧ спектр, см^{-1} : 3632, 3328, 2956, 1704, 1672, 1568, 1520, 1248, 1292, 728.

^1H ЯМР спектр (200 MHz, CDCl_3), δ , ppm (J , Hz): 8.12 (1H, d, $J=7.5$, CH quin.); 8.06 (1H, d, $J=7.5$, CH quin.); 7.72 (1H, t, $J=7.6$, CH quin.); 7.62 (1H, t, $J=7.6$, CH quin.); 7.06 (2H, s, CH-Ar); 5.94 (1H, br.s., NH); 5.25 (1H, s, OH); 2.67 (2H, m, 4- CH_2); 2.07 (2H, t, $J=7.0$, 2- CH_2); 1.61 (2H, m, 3- CH_2); 1.44 (18H, s, tert-but- CH_3).

1-[3-(3,5-Ди-трет-бутил-4-гідроксифеніл)-1,4-діоксо-1,4-дигідронафтален-2-іл]-піролідиніл-2-карбонова кислота 5г

$T_{\text{топл.}} = 134-136^{\circ}\text{C}$

Обчислено, %: С 71,14, Н 6,95, N 3,12. Знайдено, %: С 71,19, Н 7,00, N 3,07; $\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{NO}_5$.

ІЧ спектр, cm^{-1} : 3632, 2952, 2760, 1728, 1680, 1632, 1600, 1568, 1520, 1456, 1336, 1232, 728.

^1H ЯМР спектр (200 MHz, CDCl_3), δ , ppm (J, Hz): 8.13 (1H, d, $J=7.5$, CH quin.); 7.99 (1H, d, $J=7.5$, CH quin.); 7.73-7.59 (2H, m, CH quin.); 7.12 (2H, s, CH-Ar); 5.97 (1H, br.s., NH); 5.22 (1H, s, OH); 4.34 (1H, q, $J=7.1$, CH); 1.69 (3H, d, $J=7.1$, CH_3); 1.41 (18H, s, tert-but- CH_3).

2-[3-(3,5-Ди-трет-бутил-4-гідроксифеніл)-1,4-діоксо-1,4-дигідронафталін-2-іл]аміно-пропіонова кислота 5д

$T_{\text{топл.}} = 133-136^{\circ}\text{C}$

Обчислено, % С 73,24, Н 6,99, N 2,95. Знайдено, %, С 72,98, Н 7,08, N 3,07; $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{NO}_5$.

ІЧ спектр, cm^{-1} : 3632, 2944, 2912, 2416, 1744, 1696, 1332, 1304, 1272, 816, 724, 696.

^1H ЯМР спектр (200 MHz, CDCl_3), δ , ppm (J, Hz): 8.10 (1H, d, $J=7.5$, CH quin.); 7.98 (1H, d, $J=7.5$, CH quin.); 7.72-7.59 (2H, m, CH quin.); 7.22 (2H, s, CH-Ar); 5.23 (1H, s, OH); 4.99 (1H, m, 2-CH); 2.79 (2H, m, 5- CH_2); 2.35 (2H, m, 3- CH_2); 1.80 (2H, m, 4- CH_2); 1.41 (18H, s, tert-but- CH_3).

Висновки. Синтезовано новий ряд амінокислотних похідних 1,4-нафтохінону з фрагментом екранованого фенолу. На основі віртуального комп'ютерного скринінгу біологічної активності для одержаних сполук спрогнозовано деяку антибактеріальну, антиоксидантну та ферментативну активності та визначено напрямки подальших досліджень. Експериментальними біологічними дослідженнями виявлено високу антибактеріальну та фунгіцидну активності для деяких синтезованих сполук.

1. Єршов В. В. / *Пространственно-затрудненные фенолы* / Єршов В. В., Никифоров Г. А., Володькин А. А. – М.: Химия, 1972. – с. 257.
2. Dweek A. C. / *Natural ingredients for colouring and styling* / Dweek A. C. // *Int. J. Cosmetic Sci.* 24 (5), 2002, – P. 287–302.
3. Bentley R. / *Biosynthesis of Vitamin K (menaquinone) in Bacteria* / Bentley, R., Meganathan, R. // *Bacteriological Reviews*, 46(3): 1982, 241-280.
4. Vishnu K. Tandor / *Design, Synthesis and evaluation of novel 1,4-naphthoquinone derivatives as antifungal and anticancer agents* / Vishnu K. Tandor, Rakeshwar B. Chhor, Ravindra V. Singh, Sanjay Rai, Dharmendra B. Yadav // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 14, 2004. – P. 1079–1083.
5. Бучкевич І. Р. / *Синтез та властивості 6,7-заміщених-1,4-нафтохінонів та одержання нових S-N-O-гетероциклічних сполук на їх основі* / Дис. канд. хім. наук: 02.00.03. – Львів, 2010, с. 37.
6. G. Wurm / *2-(3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-1,4-naphthochinone as 5-lipoxygenase inhibitor* / G. Wurm // *Arch. Pharm.*, Vol. 324, № 8, 1991, – P. 491–495.
7. G. Wurm / *Methylated 2-aryl-1,4-naphthoquinone derivatives, 5-lipoxygenase inhibitors having reduced antioxidant activity* / G. Wurm, S. Schwandt // *Pharmazie*, Vol. 58, 2003, – P. 531–538.
8. Миколів О. Б. / *Біологічна активність амінокислотних похідних 1,4-нафтохінону* / Миколів О. Б., Журахівська Л. Р., Марінцова Н. Г., Губицька І. І., Болібрux Л. Д., Новіков В. П., Шеремета Р. О., Степанюк Г. І. // *Вісник Національного медичного університету Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Актуальні питання фармакології”*. – Вінниця. – 2007. – № 11(2/2), с. 791–792.
9. С. А. Русских / *Нуклеофильное арилирование производных нафто- и антрахинонов 2,6-ди-трет-бутилфенолом* / С. А. Русских, Л. С. Клименко, Е. П. Фокин // *Ж. Орг. химии*. – 1983. – Т. XIX. – Вып. 1. – с. 158–163.
10. Марінцова Н. Г. / *Синтез та властивості деяких фосфоро- і сірковмісних амінокислотних похідних 1,4-нафтохінону* // Дис. канд. хім. наук: 02.00.03. – Львів, 1997, с. 9, 28, 42–50.
11. Садым А. В. / *Интернет-система прогноза спектра биологической активности химических соединений* / Садым А. В., Лагунин А. А., Филимонов Д. А., Поройков В. В. / *Химико-фармацевтический журнал*, 2002, 36 (10). – С.21–26.
12. Лабинская А. С. / *Микробиология с техникой микробиологических исследований*. – М.: Медицина, 1972, с. 91–93.
13. Л. А. Казыцына. *Применение*

УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии / Л. А. Казицына, Н. Б. Куплетская. – М.: Высшая школа, 1971. – 263 с. 14. Плиев Т. Н. / Идентификация алкилфенольных структур по инфракрасным и ультрафиолетовым спектрам / Плиев Т. Н. // Журн. прикл. спектроскопии. – 1970. 13. – С.124–126. 15. Ю. М. Воловенко. Ядерный магнитный резонанс / Ю. М. Воловенко, О. В. Туров. – К.: Перун, 2007. – 476 с.