

ТЕХНОЛОГІЯ ПРОДУКТІВ БРОДІННЯ, БІОТЕХНОЛОГІЯ ТА ФАРМАЦІЯ

УДК 547.53:311.37

В.М. Яцюк, В.С. Барановський, Г.М. Тулайдан, О.В. Покришко,
С.І. Климнюк, Б.Д. Гришук
Тернопільський національний педагогічний університет ім. В. Гнатюка,

СИНТЕЗ ТА ПРОТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ БІСГАЛОГЕНО(ТІОЦІАНАТО)АМІДІВ НА ОСНОВІ БЕНЗИДИНУ ТА ЙОГО ПОХІДНИХ

© Яцюк В.М., Барановський В.С., Тулайдан Г.М., Покришко О.В., Климнюк С.І., Гришук Б.Д., 2013

Реакціями хлоро-, бромо- та тіоціанатоарилування амідів акрилової і метакрилової кислот ароматичними солями бісдіазонію синтезовані 3,3'-[4,4'-дифеніл(метан, сульфон)біс(2-хлоро(бромо, тіоціанато)-(2-метил)пропанаміди)] та вивчена їх протимікробна активність.

Ключові слова: аніонарилування, 3,3'-[4,4'-дифеніл(метан, сульфон)біс(2-хлоро(бромо, тіоціанато)-(2-метил)пропанаміди)], протимікробна активність.

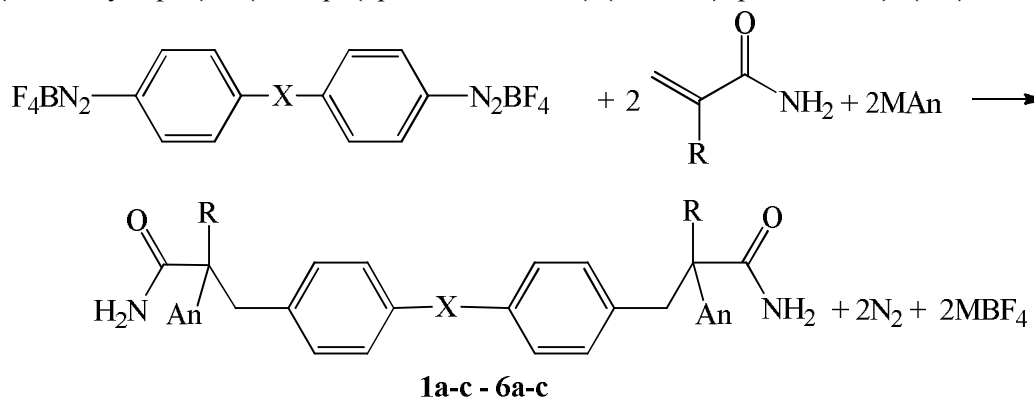
This paper is related to 3,3'- [4,4'-Biphenyl(methane, sulfone)bis(2-chloro(bromo, thiocyanato)-(2-methyl)propanamides)] which were synthesized by reactions of chloro-, bromo- and thiocyanatoarylation of acrylamide and methacrylamide with aromatic bisdiazonium salts. The antimicrobial activity of obtained compounds was studied.

Key words: anionarylation, 3,3'- [4,4'-biphenyl(methane, sulfone)bis(2-chloro(bromo, thiocyanato)-(2-methyl)propanamides)], antimicrobial activity.

Синтезовані раніше продукти галогено- та тіоціанатоарилування амідів акрилової та метакрилової кислот [1, 2] виявилися достатньо ефективними в плані антибактеріальної та антигрибкової активності [3, 4]. Зокрема, 2-тіоціанато-(2-метил)-3-арилпропанаміди характеризуються яскраво вираженою антикан-дидозною дією, пригнічуючи ріст штамів *C. albicans* при концентрації 3.9-7.8 мкг/мл [5].

З метою синтезу нових потенційно біологічно активних речовин досліджено взаємодію ароматичних солей діазонію на основі бензидину та його похідних з амідами ненасичених кислот в умовах реакцій хлоро-, бромо- і тіоціанатоарилування.

Взаємодією тетрафлуороборатів *n,n'*-дифеніл(метан, сульфон)бісдіазонію з амідами акрилової та метакрилової кислот в присутності хлорид-, бромід і роданід-аніонів одержані 3,3'-[4,4'-дифеніл(метан, сульфон)біс(2-хлоро(бромо, тіоціанато)-(2-метил)пропанаміди)] (1-6) за схемою:



An = Cl (1, 2), Br (3, 4), SCN (5, 6); X = – (a), CH_2 (b), SO_2 (c); R = H (1, 3, 5), CH_3 (2, 4, 6); M = Na, K

Хлоро- і бромоарилування акриламідів та метакриламідів відбувається у водно-ацетоновому (1:2) середовищі в присутності каталітичних кількостей купрум (II) хлориду (бромиду) при 15–30 °С. Тіоціанатоарилування відбувається у водно-ацетоновому (1:3) середовищі при –25–10 °С (каталізатор – купрум (II) тетрафлуороборат). Найвищі виходи продуктів бісаніонарилування (38–63 %) досягаються за умов використання такого співвідношення реагентів – сіль бісдіазонію : амід : аніонічний реагент : каталізатор – 1 : 2.1 : 2.1 : 0.1. Реакції також супроводжуються конкуруючим процесом утворення *n,n'*-дихлоро(бромо, тіоціанато)дифенілу (метану, сульфону) з виходами 15–30 % в розрахунку на діазосполуку.

Виходи, температури плавлення та дані ЯМР ¹H спектрів 3,3'-[4,4'-дифеніл(метан, сульфон)біс(2-хлоро(бромо, тіоціанато)-(2-метил)пропанамідів)] (1-6) наведені в табл. 1.

Будова синтезованих продуктів аніонарилування (1-6) узгоджується з даними ІЧ та ЯМР ¹H спектроскопії. В ІЧ спектрах цих сполук спостерігаються смуги поглинання карбонільної та амідної груп в ділянках 1660–1676 і 3386–3412 см⁻¹ відповідно. Бістіоціанатоаміди (5, 6) додатково характеризуються смугами поглинання тіоціанатної групи в ділянці 2148–2164 см⁻¹.

Таблиця 1

Виходи, температури плавлення та дані ЯМР ¹H спектрів 3,3'-[4,4'-дифеніл(метан, сульфон)біс(2-хлоро(бромо, тіоціанато)-(2-метил)пропанамідів)] (1-6)

№	Ап	X	R	Вихід, %	T _{пл} , °C *	Спектр ЯМР ¹ H, δ, м.ч.
1a	Cl	–	H	46	190	7.91 с, 7.56 с (4H, NH ₂); 7.51 д, 7.18 д (8H, -C ₆ H ₄ -C ₆ H ₄ -); 4.60 т (2H, CHCl); 3.28 дд, 3.11 дд (4H, CH ₂)
1b	Cl	CH ₂	H	42	206	7.65 с, 7.23 с (4H, NH ₂); 7.14 с (8H, -C ₆ H ₄ -CH ₂ -C ₆ H ₄ -); 4.54 т (2H, CHCl); 3.89 с (2H, -C ₆ H ₄ -CH ₂ -C ₆ H ₄ -); 3.24 дд, 3.01 дд (4H, CH ₂)
1c	Cl	SO ₂	H	38	208	7.81 с, 7.53 с (4H, NH ₂); 7.84 д, 7.47 д (8H, -C ₆ H ₄ -SO ₂ -C ₆ H ₄ -); 4.62 т (2H, CHCl); 3.33 дд, 3.15 дд (4H, CH ₂)
2a	Cl	–	CH ₃	51	197	8.01 с, 7.72 с (4H, NH ₂); 7.40 д, 7.10 д (8H, -C ₆ H ₄ -C ₆ H ₄ -); 3.31 д, 3.16 д (4H, CH ₂); 1.87 с (6H, CH ₃)
2b	Cl	CH ₂	CH ₃	39	223	7.72 с, 7.35 с (4H, NH ₂); 7.09 с (8H, -C ₆ H ₄ -CH ₂ -C ₆ H ₄ -); 3.91 с (2H, -C ₆ H ₄ -CH ₂ -C ₆ H ₄ -); 3.27 д, 3.04 д (4H, CH ₂); 1.83 с (6H, CH ₃)
2c	Cl	SO ₂	CH ₃	43	211	8.02 с, 7.68 с (4H, NH ₂); 7.77 д, 7.36 д (8H, -C ₆ H ₄ -SO ₂ -C ₆ H ₄ -); 3.35 д, 3.14 д (4H, CH ₂); 1.86 с (6H, CH ₃)
3a	Br	–	H	55	195	7.81 с, 7.50 с (4H, NH ₂); 7.56 д, 7.25 д (8H, -C ₆ H ₄ -C ₆ H ₄ -); 4.52 т (2H, CHBr); 3.34 дд, 3.18 дд (4H, CH ₂)
3b	Br	CH ₂	H	47	205	7.67 с, 7.32 с (4H, NH ₂); 7.18 с (8H, -C ₆ H ₄ -CH ₂ -C ₆ H ₄ -); 4.46 т (2H, CHBr); 3.92 с (2H, -C ₆ H ₄ -CH ₂ -C ₆ H ₄ -); 3.18 дд, 2.94 дд (4H, CH ₂)
3c	Br	SO ₂	H	43	212	7.85 с, 7.58 с (4H, NH ₂); 7.89 д, 7.49 д (8H, -C ₆ H ₄ -SO ₂ -C ₆ H ₄ -); 4.49 т (2H, CHBr); 3.37 дд, 3.19 дд (4H, CH ₂)
4a	Br	–	CH ₃	58	201	7.84 с, 7.61 с (4H, NH ₂); 7.46 д, 7.20 д (8H, -C ₆ H ₄ -C ₆ H ₄ -); 3.35 д, 3.22 д (4H, CH ₂); 1.84 с (6H, CH ₃)
4b	Br	CH ₂	CH ₃	52	214	7.76 с, 7.41 с (4H, NH ₂); 7.11 с (8H, -C ₆ H ₄ -CH ₂ -C ₆ H ₄ -); 3.88 с (2H, -C ₆ H ₄ -CH ₂ -C ₆ H ₄ -); 3.21 д, 2.99 д (4H, CH ₂); 1.86 с (6H, CH ₃)
4c	Br	SO ₂	CH ₃	41	219	7.99 с, 7.70 с (4H, NH ₂); 7.81 д, 7.40 д (8H, -C ₆ H ₄ -SO ₂ -C ₆ H ₄ -); 3.31 д, 3.13 д (4H, CH ₂); 1.87 с (6H, CH ₃)
5a	SCN	–	H	58	138	7.75 с, 7.48 с (4H, NH ₂); 7.53 д, 7.23 д (8H, -C ₆ H ₄ -C ₆ H ₄ -); 4.23 т (2H, CH(SCN)); 3.25 дд, 3.07 дд (4H, CH ₂)
5b	SCN	CH ₂	H	55	141	7.77 с, 7.45 с (4H, NH ₂); 7.08 с (8H, -C ₆ H ₄ -CH ₂ -C ₆ H ₄ -); 4.21 т (2H, CH(SCN)); 3.92 с (2H, -C ₆ H ₄ -CH ₂ -C ₆ H ₄ -); 3.12 дд, 2.92 дд (4H, CH ₂)
5c	SCN	SO ₂	H	63	179	7.78 с, 7.44 с (4H, NH ₂); 7.95 д, 7.53 д (8H, -C ₆ H ₄ -SO ₂ -C ₆ H ₄ -); 4.27 т (2H, CH(SCN)); 3.36 дд, 3.16 дд (4H, CH ₂)
6a	SCN	–	CH ₃	61	155	8.06 с, 7.78 с (4H, NH ₂); 7.44 д, 7.19 д (8H, -C ₆ H ₄ -C ₆ H ₄ -); 3.43 д, 3.07 д (4H, CH ₂); 1.85 с (6H, CH ₃)
6b	SCN	CH ₂	CH ₃	49	164	7.84 с, 7.53 с (4H, NH ₂); 7.05 с (8H, -C ₆ H ₄ -CH ₂ -C ₆ H ₄ -); 3.89 с (2H, -C ₆ H ₄ -CH ₂ -C ₆ H ₄ -); 3.17 д, 2.93 д (4H, CH ₂); 1.85 с (6H, CH ₃)
6c	SCN	SO ₂	CH ₃	58	196	7.94 с, 7.67 с (4H, NH ₂); 7.83 д, 7.39 д (8H, -C ₆ H ₄ -SO ₂ -C ₆ H ₄ -); 3.34 д, 3.01 д (4H, CH ₂); 1.86 с (6H, CH ₃)

* Речовини перекристалізовані з метанолу.

Спектри ЯМР ^1H синтезованих сполук характеризуються сигналами протонів ароматичних ядер в ділянці 7.95–7.40 і 7.53–7.10 м.ч. (два дублети), які відповідають *орто*- і *мета*-протонам дифенільного фрагменту. Протони метиленових груп, зв'язаних з ароматичними ядрами, утворюють два дублети дублетів в ділянці 3.37–3.12 і 3.18–2.92 м.ч. (для похідних акриламиду), або два дублети в ділянці 3.33–2.93 м.ч. у випадку метакриламідних похідних. Протони метинових груп, зв'язаних з атомами хлору, бромово або тіоціанатною групою, утворюють триплети в ділянці 4.62–4.21 м.ч., а метильні протони метакрилового фрагменту характеризуються синглетами (1.87–1.83 м.ч.).

Досліджено антимікробні властивості 3,3'-[4,4'-дифеніл(метан, сульфон)біс(2-хлоро(бромо, тіоціанато)-(2-метил)пропанамідів)] (**1-6**) відносно тест-культур бактерій (*S. aureus* ATCC 6538, *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 9027), та дріжджових грибів (*C. albicans* ATCC 885-653).

Проведені дослідження показали, що сполуки (**1-6**) проявляють слабку антимікробну активність відносно випробуваних тест-мікроорганізмів (табл. 2).

Таблиця 2

Антибактеріальна та антигрибкова активність 3,3'-[4,4'-дифеніл(метан, сульфон)біс(2-хлоро(бромо, тіоціанато)-(2-метил)пропанамідів)] (1-6**)**

№	An	X	R	Досліджувана тест-культура мікроорганізмів				
				<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>
1a	Cl	–	H	125.0	500.0	250.0	н/а	250.0
1b	Cl	CH ₂	H	250.0	н/а	125.0	н/а	250.0
1c	Cl	SO ₂	H	125.0	250.0	62.5	500.0	125.0
2a	Cl	–	CH ₃	125.0	500.0	125.0	н/а	250.0
2b	Cl	CH ₂	CH ₃	500.0	н/а	125.0	н/а	250.0
2c	Cl	SO ₂	CH ₃	125.0	250.0	125.0	н/а	125.0
3a	Br	–	H	250.0	500.0	250.0	н/а	250.0
3b	Br	CH ₂	H	125.0	500.0	62.5	н/а	250.0
3c	Br	SO ₂	H	62.5	250.0	62.5	н/а	125.0
4a	Br	–	CH ₃	250.0	500.0	250.0	н/а	250.0
4b	Br	CH ₂	CH ₃	125.0	н/а	125.0	н/а	500.0
4c	Br	SO ₂	CH ₃	62.5	250.0	62.5	500.0	125.0
5a	SCN	–	H	250.0	250.0	125.0	н/а	250.0
5b	SCN	CH ₂	H	250.0	500.0	125.0	н/а	250.0
5c	SCN	SO ₂	H	62.5	125.0	62.5	н/а	125.0
6a	SCN	–	CH ₃	125.0	250.0	250.0	н/а	250.0
6b	SCN	CH ₂	CH ₃	250.0	500.0	125.0	н/а	250.0
6c	SCN	SO ₂	CH ₃	125.0	250.0	62.5	500.0	125.0

Найчутливішими до досліджених речовин були грамнегативні бактерії *E. coli*. Майже 40% сполук (**1a**, **2a**, **3a**, **3b**, **4a**, **5b**, **6b**) виявили бактерицидну дію в мінімальній концентрації 500 мкг/мл. Найстійкішою виявилася культура спороутворюючих грампозитивних паличок *B. subtilis*. Лише сполуки (**1c**, **4c**, **6c**) на основі діамінодифенілсульфону характеризувалися антимікробним впливом на неї.

Визначено, що найчутливішою культурою *S. aureus* була до сполук **3c**, **4c** і **5c** (МБцК становила 62.5 мкг/мл). Стосовно тест-штамів грамнегативних паличок *E. coli* та *P. aeruginosa* ефективність сполук виявилася різною. Чутливість культури кишкової палички була в межах концентрацій 125–500, а синьо-гнійної палички – 62.5–250 мкг/мл. Проте слід відзначити неефективність сполук **1b**, **2b** і **4b** проти *E. coli*, у той час, коли проти *P. aeruginosa* діяли всі сполуки.

Усі досліджені речовини мали незначну антигрибкову дію і були ефективними в концентраціях 125–250 мкг/мл.

Отже, аналіз даних антимікробної активності синтезованих 3,3'-(4,4'-дифеніл(метан, сульфон)біс(2-хлоро(бромо, тіоціанато)-(2-метил)пропанамідів)) вказує на істотне послаблення їх

антибактеріальної та антигрибкової дії, порівняно з 2-галогено(тіоціанато)-(2-метил)-3-арилпропанамідами. Ця закономірність, насамперед, зумовлена більш ніж двократною різницею молекулярних мас даних сполук, що негативно впливає на їх розчинність у живильних середовищах та здатність до проникнення крізь мембрани клітин мікроорганізмів. Незначного підвищення антимікробної активності синтезованих речовин можна досягнути за рахунок модифікації ароматичного фрагменту, що підтверджено даними мінімальних бактерицидних концентрацій для продуктів аніонарилювання на основі діамінодифенілсульфону.

Експериментальна частина. ІЧ-спектри синтезованих сполук записані у вазеліновій олії на спектрофотометрі SPECORD M80. Спектри ЯМР ^1H зняті в $\text{DMSO-d}^6 + \text{CCl}_4$ на приладі Varian Mercury, робоча частота 400 МГц, зовнішній стандарт – ТМС. Індивідуальність синтезованих сполук здійснювали методом ТШХ на пластинках Silufol UV-254, елюенти: бензол-метанол, 3:1; метанол-бензол-ацетон, 1:2:1.

3,3'-(4,4'-Дифеніл)біс(2-хлоропропанамід) (1a)

До 2.8 г (0.04 моль) акриламід, 0.7 г (0.004 моль) дигідрату купрум (II) хлориду і 2.3 г (0.041 моль) хлориду натрію в 120 мл водно-ацетонового (1:2) розчину додавали впродовж 2 год. 7.5 г (0.0195 моль) тетрафлуороборату *n,n'*-дифенілбісдіазонію. Азот виділявся при 30–35 °С впродовж 120 хв. Після припинення виділення азоту в реакційну суміш додавали 50 мл води і екстрагували 100 мл діетилового етеру. Витяжки промивали водою і сушили безводним кальцій хлоридом. Після упарювання етеру залишок витримували при –20 °С до повної кристалізації. Одержану тверду фазу перекристалізували з метанолу. Одержали 3.3 г (46%) сполуки **1a** і 1.3 г (29%) *n,n'*-дихлородифенілу.

3,3'-(4,4'-Дифеніл)біс(2-бромпропанамід) (3a)

До 2.8 г (0.04 моль) акриламід, 1.0 г (0.004 моль) дигідрату купрум (II) броміду і 4.0 г (0.041 моль) броміду калію в 150 мл водно-ацетонового (1:2) розчину додавали впродовж 1 год. 7.5 г (0.0195 моль) тетрафлуороборату *n,n'*-дифенілбісдіазонію. Азот виділявся при 15–20 °С впродовж 90 хв. Після припинення виділення азоту в реакційну суміш додавали 50 мл води і екстрагували 100 мл діетилового етеру. Витяжки промивали водою і сушили безводним кальцій хлоридом. Після упарювання етеру залишок витримували при –20 °С до повної кристалізації. Одержану тверду фазу перекристалізували з метанолу. Одержали 4.9 г (55%) сполуки **3a** і 1.6 г (26%) *n,n'*-дибромодифенілу.

3,3'-(4,4'-Дифеніл)біс(2-тіоціанатпропанамід) (5a)

До 2.8 г (0.04 моль) акриламід, 1.4 г (0.004 моль) гексагідрату купрум (II) тетрафлуороборату і 4.0 г (0.041 моль) роданіду калію в 100 мл водно-ацетонового (1:3) розчину додавали впродовж 1 год. 7.5 г (0.0195 моль) тетрафлуороборату *n,n'*-дифенілбісдіазонію. Азот виділявся при –15 ÷ –20 °С впродовж 90 хв. Після припинення виділення азоту в реакційну суміш додавали 30 мл води і екстрагували 50 мл діетилового етеру. Витяжки промивали водою і сушили безводним кальцій хлоридом. Після упарювання етеру залишок витримували при –20 °С до повної кристалізації. Одержану тверду фазу перекристалізували з метанолу. Одержали 4.7 г (58%) сполуки **5a** і 1.1 г (21 %) *n,n'*-дитіоціанатодифенілу..

Аналогічно одержані відповідні біс(хлоро, бром, тіоціанато)пропанаміди з використанням тетрафлуороборатів бісдіазонію на основі діамінодифенілметану та діамінодифенілсульфону.

Мікробіологічне дослідження. Протимікробну активність синтезованих речовин визначали за допомогою методу серійних розбавлень у рідкому живильному середовищі (МПБ). Спочатку готували 1 % маточні розчини речовин у диметилформаміді. Безпосередньо перед дослідом їх розводили в МПБ від 1:10 до 1:320. У кожен пробірку вносили по 0,2 мл бактеріальної суспензії досліджуваних культур з концентрацією мікробних тіл 10^5 в 1 мл за Мак Фарлендом. Посіви інкубували при 37°С впродовж 18–24 год, після чого візуально враховували наявність чи відсутність росту мікроорганізмів. За мінімальну бактериостатичну концентрацію (МБСК) приймали ту найменшу кількість речовини, в присутності якої відбувалось пригнічення росту культури. Її

виражали числовим значенням розбавлення активного субстрату. Висіваючи вміст пробірок з відсутністю ознак росту на м'ясо-пептонний агар у чашках Петрі, визначали мінімальну бактерицидну концентрацію (МБЦК). Контролем були пробірки, які містили еквівалентну кількість диметилформаміду.

Кожний дослід повторювали десятикратно. Результати оброблено за методом варіаційної статистики з використанням значення медіани (Me).

1. *Взаимодействие тетрафтороборатов арилдиазония с акриламидом в присутствии тиоцианатов, бромидов, хлоридов щелочных металлов и аммония* / Б. Д. Грищук, П. М. Горбовой, Н.И. Ганущак [и др.] // Журнал общей химии.–1993. – Т. 63, Вып. 10. – С. 2335–2341.
2. *Барановский В. С. Синтез и гетероциклизация продуктов тиоцианатоарилрования метакриламида* / В. С. Барановский, Р. В. Симчак, Б. Д. Грищук // Журнал общей химии. – 2009. – Т. 79, Вып. 2. –С. 280–284.
3. *Грищук Б. Д. Синтез біологічно активних речовин - продуктів аніонарилювання ненасичених сполук* / Б. Д. Грищук, В. С. Барановський, С.І. Климнюк / Фармацевтичний часопис. – 2011. – № 4 (20). – С. 117–126.
4. *Grishchuk B.D. Synthesis of biologically active compounds by anionarylation reaction* / B.D. Grishchuk, V.S. Baranovskii, S.I. Klimnyuk // International Scientific Conference “Biologically Active Substances: Fundamental and Applied Problems (Abstracts). - Novy Svet, AR Crimea, Ukraine. – 2011. – P. 36.
5. *Грищук Б.Д. Синтез, антибактериальные и противогрибковые свойства 2-тиоцианато-(2-метил)-3-арилпропионамидов и 2-амино-5-бензил-(5-метил)тиазол-4-онов* / Б.Д. Грищук, В.С. Барановский, С.И. Климнюк // Химико-фармацевтический журнал. – 2011. – Т. 45, № 9. – С. 96–99.