

УДК 615.282.821.1

СИНТЕЗ N-АРИЛ-N-ХЛОРБЕНЗОЛСУЛЬФАМІДІВ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЇХ АНТИМІКРОБНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ.

В роботах [1-6] показано, що паралельно до реакції аніонарилювання завжди йде процес утворення похідних бензолу типу $AgAn$. Співвідношення продуктів реакції аніонарилювання і похідних бензолу - $AgAn$ визначається рядом факторів:

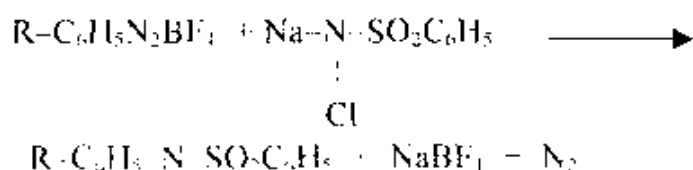
1. Співвідношенням сіль діазонію - каталізатор;
2. Ступенем нуклеофільності аніону, що вводиться в реакційне середовище;
3. Будовою ненасиченої сполуки;
4. Умовами здійснення реакції.

Треба відзначити, що одним із найбільш головних є перший фактор.

У відсутності ненасиченої сполуки побічний процес утворення функціалізованих похідних бензолу типу $AgAn$ може стати основним. Якщо $An = Cl, Br, SCN^-(NCS), NO_2, S^{2-}$, то необхідною умовою проходження реакції є наявність каталізатора - солей міді або заліза. У випадку сильних нуклеофілів, таких як $I, S-C(S)N(C_2H_5)_2, S-C(S)-OC_2H_5, S-C(S)-OC_2H_7, S-P(S)(OMe)_2$, процес утворення йод-, N,N-диетилдитіокарбамато-, ксантогенато-, O,O-диметилдитіофосфатопохідних ароматичних вуглеводнів відбувається однаково як в каталітичних, так і некаталітичних умовах.

Необхідно відзначити, що до даної роботи N-хлорбензолсульфамід-аніон в реакції з ароматичними солями діазонію не був досліджений [1]. Одержання нових похідних хлорамінів представляє значний інтерес для практичної медицини в плані розширення кола нових ефективних антимікробних препаратів. Відомо, що похідні хлорамінів - хлорамін-Б, хлорамін-Т, хлорамін-Х та пантоцид широко знайшли застосування в практичній медицині для лікування інфікованих ран, для знезараження нарівних отруйних речовин, що потрапили на шкіру, дезинфекції рук та предметів догляду за інфекційними хворими, знезараження води [7].

Нами вперше встановлено, що тетрафтороборати арилдїазонію взаємодіють в ацетоновому або водно-ацетоновому (1:2) середовищі з N-хлорбензолсульфаміднатрію тригідратом з виділенням азоту діазогрупи і утворенням нових похідних хлораміну-Б - N-арил-N-хлорбензолсульфамідів (I-IV) за схемою:



$Cl = (I-IV)$

$R = H(I), CH_3(II), CH_2O(III), Br(IV)$.

Реакція відбувається при температурі $+20 \div +25^\circ C$, у випадку ж α -броманіліну - $+10 \div +15^\circ C$. В ролі каталізатора використовували ацетат або тетрафтороборат міді (II). Встановлено, що реакція може відбуватися і у відсутності каталізатора, але в цьому випадку виходи цільових речовин зникаються на 15 - 20%. Знайдено оптимальне співвідношення реагентів - сіль діазонію : N-хлорбензолсульфаміднатрію тригідрат - як 1:1,5. При доведенні співвідношення сіль діазонію : каталізатор - 1:1 - виходи N-арил-N-хлорбензолсульфамідів сягають 76-85%. Виходи, константи, дані [4]. ЯМР 1H спектроскопії і елементного аналізу N-арил-N-хлорбензолсульфамідів представлено в таблиці 1.

Будову N-арил-N-хлорбензолсульфамідів підтверджують дані ІЧ, ЯМР ¹H спектроскопії. ІЧ-спектри містять смуги поглинання ν_{as} і ν_s SO₂-групи відповідно в області 1325-1335 і 1160-1165 см⁻¹ [8,9]. В ЯМР ¹H спектрах сполук I-IV є сигнали протонів ароматичних ядер. Індивідуальність синтезованих речовин встановлювали методом ТЛХ на пластинках Silufol UV-254, елюент – ацетон - хлороформ 1:2.

Експериментальна хімічна частина.

ІЧ спектри сполук (I-IV) зняті у вазеліновому маслі на приладі ИКС-29. Спектри ЯМР ¹H записані на спектрофотометрі Varian-300 з робочою частотою 300 МГц, розчинник - CDCl₃, внутрішній стандарт – ГМДС.

N-феніл-N-хлорбензолсульфамід (I).

До 0,15 моля N-хлорбензолсульфаміднатрій тригідрату, 0,1 моля Cu(BF₄)₂ • 6H₂O в 150 мл водно-ацетонової суміші (1:2) протягом 45 хв додавали 0,1 моль тетрафтороборату фенілдiazонію. Азот виділявся при t = 20 - 25°C протягом 150 хв. Після припинення виділення азоту реакційну суміш обробляли 200 мл ефіру, витяжки промивали водою і сушили хлоридом кальцію. Після упарювання ефіру залишок перекристалізували з етанолу і одержали 20,33 г (76%) сполуки (I) з т.пл. 153,5°C. ІЧ спектр (ν , см⁻¹): 1325 (ν_{as} SO₂), 1160 (ν_s SO₂). Спектр ЯМР ¹H (δ , м.д.): 7,73-7,64 м (5H, C₆H₅-N); 7,58-7,36 м (5H, C₆H₄-S). Знайдено, %: S 11,89; N 5,18; Cl 13,21. C₁₂H₁₀O₂ClNS. Вираховано, %: S 11,96; N 5,23; Cl 13,27.

Таким же чином одержали сполуки II - IV. Аналогічно проводили дослід у відсутності каталізатора.

Експериментальна біологічна частина.

Протимікробну активність синтезованих сполук вивчали методом двократних серійних розведень в рідкому поживному середовищі (для бактерій - в м'ясо-пептоному бульйоні (МПБ), для грибів - в рідкому середовищі Сабуро в мікрomodифікації) з використанням 96-лушкових планшетів для імунологічних досліджень і мікротитратора Такачі.

Як тест-об'єкти використані грам-позитивні (*S. aureus* F 49), грам-негативні (*P. aeruginosa* 51, *S. typhimurium* 1534, *P. mirabilis*), споротвірні (*B. subtilis* 39) та дріжджеві гриби (*C. albicans* ЦШВІ, *S. cerevisiae*).

Якщо препарат викликав затримку росту тест-штаму в концентрації 15,6 мкг/мл і меншій, то його активність оцінювалась як висока. Для розчинення препаратів брали їх в кількості 10 мг, розчиняли в 0,25 мл ДМФА і розводили 9,75 мл дистильованої води до робочої концентрації. Результати антимікробних досліджень відображені в таблиці 2.

Як видно з таблиці, всі досліджені речовини проявляють дуже слабку активність у відношенні досліджених тест-об'єктів за винятком дріжджевого гриба *S. cerevisiae*. Найбільше виділяється в цьому плані сполука I.

Крім того вивчався вплив досліджуваних речовин на інтенсивність розвитку і росту аеробної, анаеробної, умовно-патогенної та патогенної мікрофлори. З цією метою для посівів та інкубації використовувались поживні середовища: Ендо, Плюскірева, простий агар, кров'яний агар, глюкозний бульйон, середовище Кіт-Тароці, середовище Сабуро.

Результати досліджень, одержані при використанні рідких поживних середовищ для культивування різних штамів *S. albus*- 209, *S. aureus*, *S. citreus*, представлені в таблиці 3.

Досліджувані речовини вносили до поживного середовища одночасно із внесенням культури мікроорганізмів (після попереднього розчинення їх в спирті) з розрахунку 1мг речовини на 1 мл середовища та інкубували 24 год, після чого досліджували їх вплив на інтенсивність росту мікроорганізмів впродовж 7 діб. У випадку використання твердих

поживних середовищ в чашках Петрі, попередньо готували добову культуру мікроорганізмів, після чого використовували лунковий метод дослідження препаратів на антимікробну активність. В кожному лунку вносили по 1 мг досліджуваних речовин, попередньо розчинених в етиловому спирті.

В результаті досліджень було виявлено, що найбільш ефективною бактеріоцидною та бактеріостатичною дією володіють препарати I та IV на штами мікроорганізмів *S. albus*-209, *S. aureus*, *S. citreus*. Препарати II і III на рідких поживних середовищах проявляють менш виражену бактеріоцидну та бактеріостатичну дію до вищезгаданих штамів мікроорганізмів.

Поряд з цим, нами були проведені дослідження на бактеріоцидну та бактеріостатичну активність препаратів на твердих поживних середовищах, зокрема МПА та кров'яному агарі, з метою виявлення антимікробної дії на α і β гемолітичні штами стафілококків. В результаті досліджень було встановлено, що синтезовані сполуки (I-IV), які є похідними хлораміну-Б і зокрема N-феніл-N-хлорбензолсульфамід (I) та N-о-бромбензол-N-хлорбензолсульфамід (IV) володіють вираженими антимікробними властивостями по відношенню до α і β гемолітичних штамів стафілококків.

ЛІТЕРАТУРА

1. Грищук Б.Д., Горбовой П.М., Ганушак Н.И., Домбровский А.В. Реакции ароматических солей диазония с непредельными соединениями в присутствии нуклеофилов // Усп. химии.- 1994.- Т.63.- №3.- С. 269-279.
2. Грищук Б.Д., Горбовой П.М., Ганушак М.І. //Тез.доп. XVII Укр. конф. з орг. хімії.- Харків.- 1995.- С. 27.
3. Грищук Б.Д. //Авт. дис. докт. хім. наук.-1996.-Львів. ДУ "Львівська політехніка",- 40 с.
4. Грищук Б.Д., Горбовой П.М., Свидерская Л.П., Дячук А.А., Тихонов В.П., Ганушак Н.И. Некатализируемое взаимодействие солей диазония с эфирами акриловой и метакриловой кислот в присутствии солей N,N-диэтилдитиокарбаминовой кислоты // Журн. общей химии - 1990.- Т.60.- Вып. 2.- С. 432-436.
5. Грищук Б.Д., Горбовой П.М., Кудрик Е.Я., Ганушак Н.И. Взаимодействие ароматических солей диазония с эфирами акриловой и метакриловой кислот в присутствии солей ксантогеновых кислот // Журн. общей химии.- 1996.- Т.66.- Вып.4. - С. 635-638.
6. Грищук Б.Д., Горбовой П.М., Кудрик Е.Я., Ганушак Н.И. Реакции тетрафтороборатов арилдиазония с акрилонитрилом в присутствии солей N,N-диэтилдитиокарбаминовой кислоты // Укр. хим. журнал.- 1995.- Т.61.-№ 5.-С.14-16.
7. Машковский М.Д. Лекарственные средства. -М.: Медицина.- 1978. - Т. 2.- С. 333.
8. Наканиси К. Инфракрасные спектры и строение органических соединений. М.: Мир. - 1965.- С. 66,67.

Константи, виходи, дані елементного аналізу, ІЧ та ЯМР ¹H спектрив

N-арил-N-хлорбензолсульфамідів.

R - C₆H₅-N-SO₂-C₆H₄ (I-IV)

—
Cl

№ п/п	R	Вихід, %		Т.пл. °С/ розчинник для кристалізації	Знайдено, %			Брутто-формула	Вираховано, %		
		A	Б		S	N	Cl		S	N	Cl
I	H	76	61	153,5, етанол	11,89	5,18	13,21	C ₁₂ H ₁₀ O ₂ ClNS	11,96	5,23	13,27
II	p-CH ₃	79	59	154, ізопропільовий спирт	11,32	4,91	12,55	C ₁₃ H ₁₂ O ₂ ClNS	11,37	4,97	12,61
III	p- CH ₃ O	82	65	152-153, ізопропільовий спирт -октан 1:1	10,70	4,66	11,87	C ₁₄ H ₁₂ O ₃ ClNS	10,76	4,71	11,93
IV	o-Br	85	68	156, ізопропільовий спирт	9,18	4,00	33,28	C ₁₂ H ₉ O ₂ BrClNS	9,24	4,04	33,33*
№ п/п	ІЧ спектр, ν, см ⁻¹				Спектр ЯМР ¹ H, δ, м.д.						
	ν _{ас} SO ₂			ν _с SO ₂							
I	1325			1160	7,73-7,64 м (5H, C ₆ H ₄ -N); 7,58-7,36 м (5H, C ₆ H ₅ -S)						
II	1330			1160	7,87-7,81 м (4H, C ₆ H ₄); 7,59-7,35 м (5H, C ₆ H ₅); 2,38 с (3H, p-CH ₃)						
III	1335			1165	7,88-7,82 м (4H, C ₆ H ₄); 7,59-7,37 м (5H, C ₆ H ₅); 3,81 с (3H, p-CH ₃ O)						
IV	1330			1165	7,82-7,71 м (4H, C ₆ H ₄); 7,57-7,38 (5H, C ₆ H ₅)						

Примітка: А - у присутності каталізатора, Б - у відсутності каталізатора, * - загальний вміст галогенів

Таблиця 2

Антимікробні властивості N-арил-N-хлорбензолсульфамідів,
R - C₆H₅-N(CI)-SO₂-C₆H₅ (I-IV)

№ сполуки	Мінімальні бактеріостатичні концентрації в мкг/мл					
	<i>S. typhimurium</i> 1534	<i>P. mirabilis</i>	<i>S. aureus</i> F-49	<i>P. aeruginosa</i> 51	<i>B. subtilis</i> 39	<i>S. albicans</i> ЦШВ1
I	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	500
II	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а
III	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а
IV	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а

Таблиця 3

Антимікробні властивості N-арил-N-хлорбензолсульфамідів
R - C₆H₅-N(CI)-SO₂-C₆H₅ (I-IV)

№ сполуки	Штами мікроорганізмів	Інтенсивність росту мікрофлори, дні											
		1	2	3	4	5	6	7	8				
I	<i>S. albus</i> 209	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>S. aureus</i> 47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>S. citreus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
II	<i>S. albus</i> 209	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>S. aureus</i> 47	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>S. citreus</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
III	<i>S. albus</i> 209	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>S. aureus</i> 47	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>S. citreus</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IV	<i>S. albus</i> 209	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>S. aureus</i> 47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>S. citreus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Примітка: середовище - МПБ.