

ЛІТЕРАТУРА

1. Хімія і застосування ефірів тиосульфокислот / В. І. Лубенець, В. П. Новіков, О. В. Лужецька-Швед [та ін.] // Вісник ДУ "Львівська політехніка". "Хімія, технологія речовин та їх застосування". – 1997. – № 332. – С. 215-219.
2. Пат. UA 63325 А. Україна. МПК 7 А01N29/08. 31/14. 33.00. Біоцид для захисту нафтопродуктів та обладнання нафтопереробних підприємств від біопошкоджень / Новіков В. П., Лубенець В. І., Баранович Д. Б. – № 2003042917; Заявл. 03.04.2003; Опубл. 15.01.2004. – Бюл. № 1.
3. Пат. 67037 А. Україна. МПК 7 С07С381/00, С07С381/04. □-Гідроксіалкілові S-естери тиосульфокислот, спосіб їх отримання, алкілюючий реагент солей тиосульфокислот / Лубенець В. І., Баранович Д. Б., Новіков В. П. // № 2003054926; Заявл. 29.05.2003; Опубл. 15.06.2004. – Бюл. № 6.
4. Лубенець В. І. Синтез S-гідроксиалкілових ефірів гетероцикліческих тиосульфокислот / В. І. Лубенець, Н. Е. Стадницькая, В. П. Новіков // Хімія гетероцикл. соед. – 2001. – №3. – С. 403-404.
5. PASS: prediction of activity spectra for biologically active substances / A. Lagunin, A. Stepanchikova, D. Filimonov, V. Porokov // Bioinformatics. – 2000. – V. 16 (8). – P. 747-748.

Поступило до редакції 29.05.2011 р.

**Б. М. Петрушка, Г.М. Тулайдан, О. В. Покришко*,
С. І. Климнюк*, В. С. Барановський, Б. Д. Грищук**

**Тернопільський національний педагогічний університет ім. В. Гнатюка
* Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського**

УДК 547.53:311.37

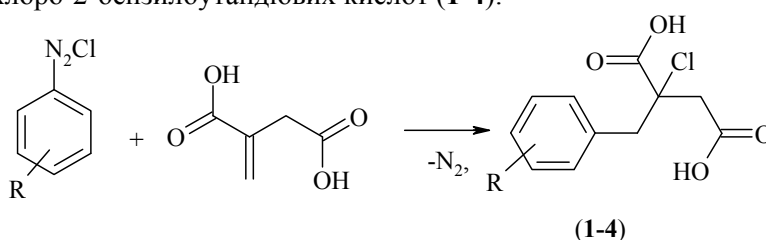
СИНТЕЗ ТА АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ 2-ХЛОРО(ТІОЦІАНАТО)-2-БЕНЗИЛБУТАНДІОВИХ КИСЛОТ

Значний інтерес як в синтетичному, так і теоретичному плані представляє введення в реакцію аніонарилювання ненасичених дикарбонових кислот та їх похідних, які на сьогоднішній день епізодично вивчені лише в реакції Меєрвейна [1, 2].

Так, в роботі [3] показано, що реакція хлоридів арилдіазонію з ітаконовою та аконітовою кислотами проходить з елімінуванням хлороводню і декрбоксілюванням однієї карбоксильної групи та утворенням продуктів арилювання – α -бензилакрилових та арилітаконових кислот з виходом ~20%.

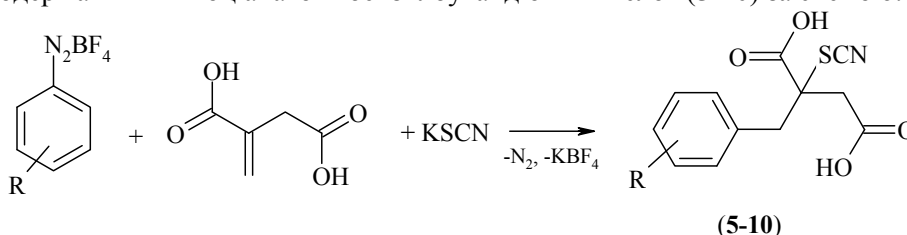
З метою з'ясування впливу структури замісників на реакційну здатність похідних α,β -ненасичених кислот в реакціях Меєрвейна та аніонарилювання нами вивчено купрокаталітичну взаємодію хлоридів та тетрафлуороборатів арилдіазонію з ітаконовою кислотою.

Нами встановлено, що хлориди арилдіазонію взаємодіють з ітаконовою кислотою з виділенням азоту діазогрупи і приєднанням за місцем розриву кратного карбон-карбонового зв'язку арильного радикала і хлору з утворенням 2-хлоро-2-бензилбутандіових кислот (**1-4**):



R = 2-Me (**1**), 4-Me (**2**), 4-MeO (**3**), 4-Br (**4**)

Тетрафлуороборати арилдіазонію взаємодіють з дослідженою ненасиченою сполукою в присутності роданіду калію з одержанням 2-тіоціанато-2-бензилбутандіових кислот (**5-10**) за схемою:



R = H (**5**), 2-Me (**6**), 3-Me (**7**), 4-Me (**8**), 4-MeO (**9**), 4-Br (**10**)

Реакція хлороарилування відбувається у водно-ацетоновому середовищі (1:2) при 25÷30°C в присутності каталізатора – хлориду купруму (II), а тіоціанатоарилування проходить у водно-ацетоновому середовищі (1:2.5) при -15÷-10°C в присутності тетрафлуороборату купруму (II). Виходи продуктів

аніонарилювання складають 54-75%. Виходи, константи і дані елементного аналізу синтезованих сполук (1-10) представлені в табл. 1.

Таблиця 1

Виходи, константи і дані елементного аналізу 2-хлоро(тіоціанато)-2-бензилбутандіових кислот (1-10)

№	Вихід, %	T.пл., °C*	Знайдено, %			Формула	Обчислено, %		
			Cl	N	S		Cl	N	S
1	58	170	13.88	–	–	C ₁₂ H ₁₃ O ₄ Cl	13.81	–	–
2	56	199	13.90	–	–	C ₁₂ H ₁₃ O ₄ Cl	13.81	–	–
3	54	192	13.09	–	–	C ₁₂ H ₁₃ O ₅ Cl	13.00	–	–
4	62	182	11.11	–	–	C ₁₁ H ₁₀ BrO ₄ Cl	11.03	–	–
5	67	125	–	5.19	12.15	C ₁₂ H ₁₁ NO ₄ S	–	5.28	12.09
6	61	171	–	4.96	11.51	C ₁₃ H ₁₃ NO ₄ S	–	5.01	11.48
7	55	118	–	5.14	11.55	C ₁₃ H ₁₃ NO ₄ S	–	5.01	11.48
8	70	128	–	5.06	11.53	C ₁₃ H ₁₃ NO ₄ S	–	5.01	11.48
9	75	127	–	4.83	10.97	C ₁₃ H ₁₃ NO ₅ S	–	4.74	10.86
10	58	156	–	4.00	9.29	C ₁₂ H ₁₀ BrNO ₄ S	–	4.07	9.32

Примітка. * Речовини (1-4) перекристалізовані з етанолу, а (5-10) – з метанолу.

Хлороарилування ітаконової кислоти також супроводжується утворенням хлороаренів (20-25%), а тіоціанатоарилування – суміші тіо- (3-5%) та ізотіоціанатоаренів (15-20%), які є продуктами конкуруючої реакції Гаттермана-Зандмейєра.

При проведенні реакцій хлоро- та тіоціанатоарилування в досліджених умовах не спостерігалось елімінування хлоро(тіоціанато)водню та декарбоксілювання однієї COOH-групи, що узгоджується з даними елементного аналізу, ІЧ та мас-спектрів сполук (1-10).

Структура синтезованих сполук (1-10) підтверджується даними ІЧ- та ЯМР ¹H спектроскопії. Зокрема, в їх ІЧ спектрах спостерігаються характеристичні смуги поглинання карбонільної (1700-1712 см⁻¹), а сполук (5-10) – тіоціанатної груп (2148-2164 см⁻¹). Спектри ЯМР ¹H містять сигнали протонів ароматичних ядер (7.68-6.82 м. ч.). Протони метиленових груп, зв'язаних з ароматичними ядрами утворюють мультиплети разом з сигналами протонів метиленових груп фрагменту янтарної кислоти (3.43-2.61 м. ч.), що свідчить про утворення нового карбон-карбонного зв'язку за місцем розриву кратного зв'язку метакрилового фрагменту.

Таблиця 2

Характеристика ІЧ та ЯМР ¹H спектрів 2-тіоціанато-2-бензилбутандіових кислот (5-10)

№	ІЧ спектр, □, см ⁻¹		Спектр ЯМР ¹ H, □, м.ч.
	C=O	SCN	
1	1712	–	7.28-6.97 м (4H, C ₆ H ₄); 3.36-2.71 м (2H, CH ₂ C ₆ H ₄ ; 2H, CH ₂ C(O)O); 2.29 с (3H, CH ₃)
2	1700	–	7.41-7.02 м (4H, C ₆ H ₄); 3.39-2.65 м (2H, CH ₂ C ₆ H ₄ ; 2H, CH ₂ C(O)O); 2.27 с (3H, CH ₃)
3	1704	–	7.17-6.84 м (4H, C ₆ H ₄); 3.72 с (3H, CH ₃); 3.29-2.67 м (2H, CH ₂ C ₆ H ₄ ; 2H, CH ₂ C(O)O)
4	1708	–	7.61-7.26 м (4H, C ₆ H ₄); 3.40-2.69 м (2H, CH ₂ C ₆ H ₄ ; 2H, CH ₂ C(O)O)
5	1708	2156	7.56-7.09 м (5H, C ₆ H ₅); 3.33-2.79 м (2H, CH ₂ C ₆ H ₄ ; 2H, CH ₂ C(O)O)
6	1712	2152	7.51-6.94 м (4H, C ₆ H ₄); 3.42-2.78 м (2H, CH ₂ C ₆ H ₄ ; 2H, CH ₂ C(O)O); 2.28 с (3H, CH ₃)
7	1704	2156	7.28-6.86 м (4H, C ₆ H ₄); 3.35-2.69 м (2H, CH ₂ C ₆ H ₄ ; 2H, CH ₂ C(O)O); 2.29 с (3H, CH ₃)
8	1700	2160	7.48-6.97 м (4H, C ₆ H ₄); 3.37-2.61 м (2H, CH ₂ C ₆ H ₄ ; 2H, CH ₂ C(O)O); 2.26 с (3H, CH ₃)
9	1704	2156	7.15-6.82 м (4H, C ₆ H ₄); 3.74 с (3H, CH ₃); 3.26-2.64 м (2H, CH ₂ C ₆ H ₄ ; 2H, CH ₂ C(O)O)
10	1708	2148	7.68-7.32 м (4H, C ₆ H ₄); 3.43-2.71 м (2H, CH ₂ C ₆ H ₄ ; 2H, CH ₂ C(O)O)

Нами встановлено, що ітаконова кислота в умовах реакції Мервейна утворює виключно продукти хлороарилування, а результати представлені в роботі [3] стосовно структури кінцевих продуктів можливо зв'язані з тим, що хлороарильовані похідні ітаконової кислоти є термічно нестабільними сполуками, які під час вакуумної дистиляції можуть легко елімінувати хлороводень, декарбоксілюватися та зазнавати інших деструктивних перетворень.

Таким чином, ґрунтуючись на виходах цільових продуктів, можна стверджувати про достатньо високий ступінь активації кратного зв'язку двома карбоксильними групами фрагменту янтарної кислоти. Наявність в структурі ненасичених сполук двох карбоксильних груп не впливає на регіонаправленість реакцій хлоро- та тіоціанатоарилування і прояв амбідентності родан-групою. Одержані хлоро- і

тіоціанатоарильовані похідні ітаконової кислоти представляють інтерес як потенційні біологічно активні речовини, а також як проміжні продукти у синтезі гетероциклічних сполук.

Раніше нами реакцією тіоціанатоарильовання алкілових естерів акрилової та метакрилової кислот одержані 2-тіоціанато-1-алкоксикарбоніл-2-арилетани [4], які характеризуються достатньо ефективними антибактеріальними та антигрибковими властивостями [5].

Зважаючи на це, нами досліджено антимікробні властивості 2-хлоро(тіоціанато)-2-бензилбутандіових кислот (**1-10**) відносно 5 музейних штамів: *S. aureus* ATCC 6538, *E. coli* ATCC 25922, *C. albicans* ATCC 885-653, *B. subtilis* ATCC 6633, *P. aeruginosa* ATCC 9027.

Проведені дослідження показали, що сполуки (**1-10**) проявляють слабку антимікробну активність відносно випробуваних тест-мікроорганізмів (табл. 3).

Таблиця 3

Антибактеріальна та антигрибкова активність 2-хлоро(тіоціанато)-2-бензилбутандіових кислот (1-10)

Сполуки	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>C. albicans</i>		<i>B. cereus</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК
1	250	500	125	250	н/а	н/а	н/а	н/а	125	250
2	125	250	250	500	500	н/а	н/а	н/а	125	250
3	250	500	500	н/а	250	500	н/а	н/а	500	н/а
4	62,5	125	125	125	250	250	500	н/а	125	125
5	125	250	125	125	125	250	н/а	н/а	500	н/а
6	н/а	н/а	250	500	н/а	н/а	н/а	н/а	250	250
7	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	125	250
8	250	250	250	500	250	250	н/а	н/а	500	н/а
9	250	500	250	250	500	н/а	н/а	н/а	250	500
10	250	500	125	250	250	500	н/а	н/а	125	250

Чутливість культури грампозитивних коків до цих сполук коливалася в межах 250-500 мкг/мл. Причому лише сполуки (**2, 4, 5**) виявляють незначну антистафілококову активність, а решта речовин на даний штам практично не діють.

Спороутворюючі грампозитивні палички *B. cereus* є однаково індиферентними до всіх синтезованих сполук, бактерицидна активність яких виявлена на рівні концентрації початкового розведення (1000 мкг/мл). Отже даним сполукам не притаманна антибактеріальна активність.

Низьку ефективність виявляють сполуки (**1-10**) щодо грамнегативних паличок (*E. coli*) та псевдомонад (*P. aeruginosa*). Їх антибактеріальні властивості стосовно даних тест-культур проявляються практично в тій же концентрації, що й для *S. aureus*.

Виняток складає лише сполука (**4**) активність якої до випробуваних штамів бактерій та грибів була в 2-4 ризи вищою ніж для решти – 2-хлоро(тіоціанато)-2-бензилбутандіових кислот, що на наш погляд зумовлено наявністю в структурі ароматичного радикалу атома бромю.

Таким чином, антибактеріальні та антигрибкові властивості синтезованих похідних ітаконової кислоти є на достатньо низькому рівні, тому з метою їх посилення необхідно модифікувати структуру 2-хлоро(тіоціанато)-2-бензилбутандіових кислот введенням специфічних фармакофорних груп, або переведенням їх у водорозчинні солі. Синтезовані нами продукти хлоро- і тіоціанатоарильовання ітаконової кислоти можуть бути рекомендовані лише як синтони для одержання на їх основі нових біологічно активних речовин.

Експериментальна частина

ІЧ спектри сполук (**1-10**) записані у вазеліновій олії (нуйолі) на спектрометрі SPECORD M80 в діапазоні 4000-400 см⁻¹. Спектри ЯМР ¹H отримані в ДМСО-d₆ на приладі Varian Mercury (400 МГц), зовнішній стандарт – ТМС. Мас-спектри зареєстровані на хромато-мас-спектрометрі Agilent 6850/5973 N. Елементний аналіз проводили за стандартними методиками. Дані елементного аналізу відповідають брутто-формулам.

Індивідуальність синтезованих сполук встановлювали методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) на пластинках Silufol UV-254 (елюент – хлороформ : метанол (етнол) : ацетон (2:1:1)).

2-Хлоро-2-(2-метилбензил)бутандіова кислота (1)

До 9.21 г (0.0708 моль) ітаконової кислоти, 1.21 г (0.007 моль) дигідрату купрум (II) хлориду у 120 мл водно-ацетонової суміші (1:2) додавали протягом 30 хв. 13 г (0.0841 моль) *o*-толїлдіазоній хлориду. Азот виділявся при 20 ÷ 30⁰ С протягом 4 год. Після припинення виділення азоту в реакційну суміш додавали 100 мл води і екстрагували 150 мл діетилового етеру. Витяжки промивали водою. Після упарювання етеру залишок вимивали бензолом. Після перекристалізації з етанолу одержали 11.1 г (58%) сполуки (**1**) у вигляді безбарвних кристалів з T_{пл.} = 170⁰С. ІЧ спектр (ν, см⁻¹): C=O (1712). ЯМР ¹H спектр (δ, м.ч.): 7.51-6.94 м (4H,

C₆H₄); 3.42-2.78 м (2H, CH₂C₆H₄; 2H, CH₂C(O)O); 2.28 с (3H, CH₃). Мас-спектр (m/z): 246 (M⁺). Знайдено %: Cl 13.88; C₁₂H₁₃O₄Cl. Обчислено %: Cl 13.81.

Аналогічно одержували сполуки **2-4**.

2-Тіоціанато-2-бензилбутандіова кислота (5)

До 4.2 г (0.032 моль) ітаконової кислоти, 1.4 г (0.004 моль) гексагідрату тетрафлуороборату купруму (II) і 3.9 г (0.04 моль) роданіду калію в 150 мл водно-ацетонової суміші (1:2.5) додавали протягом 1 год. 6.8 г (0.035 моль) тетрафлуороборату фенілдіазонію. Азот виділявся при -10÷-5°C протягом 1.5 год. Після припинення виділення азоту в реакційну суміш додавали 100 мл води і екстрагували 100 мл діетилового етеру. Витяжки промивали водою, сушили хлоридом кальцію. Після упарювання етеру залишок перекристалізували з метанолу. Одержали 5.7 г (67%) сполуки (**5**) у вигляді безбарвних кристалів з T_{пл.} = 125°C.

ІЧ спектр (ν, см⁻¹): SCN (2156). C=O (1708). ЯМР ¹H спектр (δ, м.ч.): 7.56-7.09 м (5H, C₆H₅), 3.33-2.79 м (2H, CH₂C₆H₄; 2H, CH₂C(O)O). Мас-спектр (m/z): 255 (M⁺). Знайдено %: N 5.19, S 12.15; C₁₂H₁₁NO₄S. Обчислено %: N 5.28, S 12.09.

Аналогічно одержували сполуки **6-10**.

Методика дослідження антимікробної активності

Для визначення антимікробної активності синтезованих речовин (**1-10**) користувались методом серійних розведень у рідкому живильному середовищі – м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ).

Спочатку готували 1% маточні розчини речовин у 96.3%-ному етанолі. Безпосередньо перед дослідом їх розводили в МПБ від 1:20 до 1:2560. У кожен пробірку вносили по 0.2 мл бактеріальної суспензії досліджуваних культур з концентрацією мікробних тіл 10⁵ в 1 мл. Посіви інкубували при 37°C протягом 18-24 год., після чого візуально враховували наявність чи відсутність росту. За мінімальну бактериостатичну концентрацію (МБСК) приймали ту найменшу кількість речовини, в присутності якої відбувалось пригнічення росту культури. Її виражали числовим значенням розведення активного субстрату і перераховували у мкг/мл. Висвіаючи 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 етилового спирту.

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

РЕЗЮМЕ

Реакціями хлоро- та тіоціанатоарилування ітаконової кислоти синтезовані 2-хлоро(тіоціанато)-2-бензилбутандіові кислоти та досліджені їх антимікробні властивості. Встановлено, що вони проявляють слабку антимікробну активність відносно випробуваних штамів стафілококів, аеробних бацил, кишкових паличок, дріжджових грибів та псевдомонад.

РЕЗЮМЕ

Реакциями хлор- и тиоцианатоарилування итаконовой кислоты синтезированы 2-хлоро(тиоцианато)-2-бензилбутандиовые кислоты и исследованы их антимикробные свойства. Установлено, что они проявляют слабую антимикробную активность в отношении испытанных штаммов стафилококков, аэробных бацилл, кишечных палочек, дрожжевых грибов и псевдомонад.

SUMMARY

2-Chloro(thiocyanato)-2-benzilbutandionic acids were synthesized by reactions of chloro- and thiocyanatoarylation of itaconic acid. The investigation of their antimicrobial properties were established that they exhibit weak antimicrobial activity against the tested strains of staphylococci, aerobic bacilli, coliform bacteria, yeasts and pseudomonads.

ЛІТЕРАТУРА

1. Домбровский А. В. Развитие и синтетическое использование реакции Меервейна / А. В. Домбровский // Усп. химии. – 1984. – Т. 53. – Вып. 10. – С. 1625–1645.
2. Mathur K. V. L. Coupling of Aconitic Acid and Itaconic Acid with Certain Diazonium Chlorides / K. V. L. Mathur, M. Krishnamurti, U. K. Pandit // J. Amer. Chem. Soc. – 1953. – V. 75, N 13. – P. 3240, 3241.
3. Похідні \square , \square -ненасичених кислот і алільні сполуки в реакціях Меервейна та аніонарилування / Б. Д. Гришук, В. С. Барановський, П. М. Горбовий [та ін.] // Наук. записки ТНПУ ім. В. Гнатюка. Серія: Хімія. – 2004. – Вип. 8. – С. 3–18.
4. Гришук Б.Д. Тиоцианатоарилування ефіров акрилової і метакрилової кислот / Б.Д. Гришук, П.М. Горбовой, Н.И. Ганущак // Журн. общей химии.– 1989. – Т. 59. – Вып. 8. – С. 1868–1872.
5. Синтез и противомикробные свойства 1-тиоцианато-1-алкоксикарбонил-2-арилэтанов / Б. Д. Гришук, Н. Г. Проданчук, П. М. Горбовой [и др.] //Хим.-фарм. журн. – 1990. – Т. 24.– Вып. 2. – С. 139, 140.

Поступило до редакції 01.06.2011 р.