

## СИНТЕЗ, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА СПЕЦИФІЧНА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ІМІДОПОХІДНИХ ДЕЯКИХ ПЕРОКСИКАРБОНОВИХ КИСЛОТ

М.Є.Блажеєвський, Л.С.Криськів, Н.Є.Шевельова

Національний фармацевтичний університет  
61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4. E-mail: kabachny@ukrfa.kharkov.ua

*Ключові слова: сукцино(фтало)імідопероксикислоти; кінетика термічного розкладання; антимікробна активність*

*Синтезовані деякі похідні  $\omega$ -сукцино(фтало)імідоаліфатичних пероксикислот, вивчені їх фізико-хімічні та антимікробні властивості.*

**SYNTHESIS, PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES AND SPECIFIC BIOLOGICAL ACTIVITY OF SOME IMIDOALIPHATIC PEROXYACIDS DERIVATIVES**

*M. Ye. Blazheyevsky, L. S. Kryskiv, N. Ye. Shevelyova*

*Some  $\omega$ -succino(phtalo)imidoaliphatic peroxyacids derivatives have been synthesized, their physical, chemical and antimicrobial properties have been studied.*

**СИНТЕЗ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И СПЕЦИФИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ИМИДОПРОИЗВОДНЫХ НЕКОТОРЫХ ПЕРОКСИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ**

*Н.Е. Блажеевский, Л.С. Крыськиев, Н.Е. Шевелёва*

*Синтезированы некоторые производные  $\omega$ -сукцино(фтало)имидоаліфатических пероксикислот, изучены физико-химические и противомикробные свойства.*

Пероксикарбонові кислоти широко застосовують у синтезі лікарських препаратів (окисні агенти для епоксидування олефінів [1-3], добування S- і N-оксидів [4-5], епоксидування ненасичених рослинних олій [6]), як окисники у хімічному та фармацевтичному аналізі [7] вони входять до складу сучасних дезінфекційних, антисептичних [8-9] та відбілюючих [10-11] засобів.

Відомо, що ароматичні пероксикарбонові кислоти характеризуються відносно низькою стійкістю, а більш стійкі вищі аліфатичні пероксикислоти – малорозчинні у воді [12]. Тому неабиякий інтерес викликають пероксикислоти, які поєднують у структурі аліфатичний ланцюг та циклоаліфатичний або ароматичний фрагменти і для яких, окрім вищої термічної стійкості, можна прогнозувати додатково відносно нижчу токсичність. У літературних джерелах описаний синтез чотирьох *n*-(алканоламідо)пербензойних кислот та досліджена їх структура [13].

Метою нашої роботи був синтез  $\omega$ -сукцино(фтало)імідоаліфатичних пероксикарбонових кислот **4a-f** з подальшим вивченням їх фізико-хімічних властивостей, необхідних для практичного застосування.

Цільові пероксикислоти **4a-f** добували за методом Swern [14] на основі  $\omega$ -сукцино(фтало)імідоаліфатичних кислот **3a-f**, одержаних за модифікованою методикою фталоїлування [15] – взає-

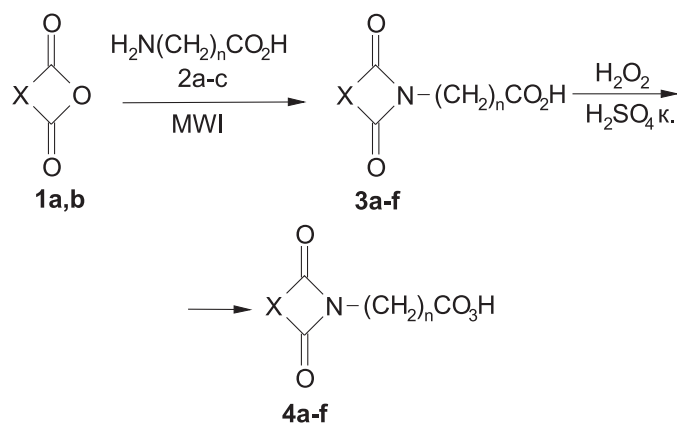
модією еквімолярних кількостей відповідних циклічних ангідридів **1a, b** та амінокислот **2a-c** у твердій фазі, з використанням мікрохвильового опромінення (MWI) [16] (схема).

Перевагами запропонованого способу одержання кислот **3a-f** є спрощення умов (відсутність розчинника [17], інертної атмосфери, нагрівання, підвищеного тиску, еквімолярне співвідношення реагентів), скорочення тривалості синтезу в 4-30 разів [15, 17] та підвищення виходів цільових продуктів **3a-f** (табл. 1).

Пероксикислоти **4a-f** – білі дрібнокристалічні речовини, добре розчинні в ацетоні, діоксані, етилацетаті, етанолі. Сполуки **4a-c** добре розчинні у воді, **4d-f** – малорозчинні.

Індивідуальність та чистоту синтезованих пероксикислот **4a-f** доводили в процесі синтезу, значеннями температур плавлення, даними хімічного функціонального аналізу (алкаліметрія, йодометричне титрування – визначення «активного кисню»), УФ-, ІЧ- та <sup>1</sup>H ЯМР-спектроскопією (табл. 1, 2).

В ІЧ-спектрах пероксикислот **4c-f** виявлені характерні смуги поглинання відповідних функціональних груп, см<sup>-1</sup>: 3437-3213 ( $\nu_{O-H}$ ), 1770-1762 ( $\nu_{C=O}$ ), 1466-1427 ( $\delta_{O-O-H}$ ), 1150-1110 ( $\delta_{O-O-H}$ ). Порівняння ІЧ-спектрів пероксикарбонових кислот **4c-f** з відповідними карбоновими кислотами **3c-f** показує, що за наявності пероксидної групи вини-



X = (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> (1a, 3a-c, 4a-c), o-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (1b, 3d-f, 4d-f);  
n = 1 (2a, 3a, 3d, 4a, 4d), 2 (2b, 3b, 3e, 4b, 4e), 5 (2c, 3c, 3f, 4c, 4f).

Схема

Таблиця 1

Фізико-хімічні властивості пероксикислот 4a-f T=295K, c = 1·10<sup>-3</sup> Моль/л

| Сполука | Брутто-формула                                  | Вихід, % | Акт. О, % | E <sub>нейтр.</sub> <sup>1</sup><br>г/Моль | Т.пл., °C         | pKa <sup>3</sup>       | k <sub>істр.</sub><br>л·Моль <sup>-1</sup> ·хв <sup>-1</sup> |
|---------|---|----------|-----------|--|-------------------|------------------------|--|
| 4a      | C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>5</sub>   | 23       | 9,2       | 173  | 83-107            | 7,45±0,05<br>(3,6±0,1) | –  |
| 4b      | C <sub>7</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>5</sub>   | 25       | 8,5       | 187  | 76-78<br>(розкл.) | 8,0±0,1<br>(4,8±0,1)   | –  |
| 4c      | C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>5</sub> | 60       | 6,9       | 229  | 41-43             | 8,32±0,02<br>(5,3±0,1) | 2,48   |
| 4d      | C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>5</sub>  | 65       | 7,2       | 221  | 106-108           | 7,5±0,1<br>(3,6±0,1)   | 9,67   |
| 4e      | C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>5</sub>  | 85       | 6,8       | 235  | 93-95             | 8,10±0,04<br>(4,9±0,1) | 2,11   |
| 4f      | C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>5</sub> | 88       | 5,8       | 277  | 91-93             | 8,3±0,1<br>(5,3±0,1)   | 14,64 <sup>2</sup>   |

Примітки: <sup>1</sup> у дужках наведено значення pKa відповідних кислот **3a-f**; <sup>2</sup> T=303K, 4 об. % EtOH.

кає характерна смуга валентних коливань у діапазоні 821-883 см<sup>-1</sup>.

УФ-спектри пероксикислот **4d-f** у воді характеризуються максимумом поглинання в області 222 нм.

У <sup>1</sup>H ЯМР-спектрах пероксикислот **4d-f** виявлено сигнали відповідних протонів (табл. 2). Уширення сигналу ОН-груп у діапазоні 11,90-13,15 м.ч. та зміщення його в область сильного поля, порівняно з вихідними кислотами **3d-f**, підтверджує на-

явність внутрішньомолекулярного водневого зв'язку. Внаслідок цього протон потрапляє у зону позитивного екранування карбонільної групи, що узгоджується з даними літератури [18].

Значення констант іонізації pKa пероксикислот **4a-f** визначали методом рН-потенціометричного титрування наважок 0,1 Моль/л розчином луку (стандартизованим за бурштиноювю кислотою) за рівнянням Хассельбаха-Гендерсона. Показано, що зростання довжини аліфатичного лан-

Таблиця 2

<sup>1</sup>H ЯМР-спектри пероксикислот (4d-e)

| Сполука | δ, м.ч.     |                    |  |                  |                    |
|---------|-------------|--------------------|--|------------------|--------------------|
|         | ОН          | H <sub>аром.</sub> | CH <sub>2</sub>                              | NCH <sub>2</sub> | CH <sub>2</sub> CO |
| 4d      | 13,15 уш. с | 4H, 7,85 м         | –  | 2H, 4,30 с       |                    |
| 4e      | 12,30 уш. с | 4H, 7,80 м         | –  | 2H, 3,75 τ       | 2H, 2,55 τ         |
| 4f      | 11,95 с     | 4H, 7,80 м         | 6H, (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> , 1,35 м | 2H, 3,60 τ       | 2H, 2,20 τ         |

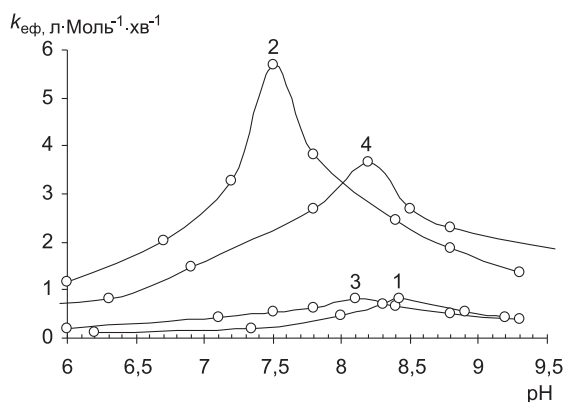


Рис. 1. Залежність  $k_{\text{еф}}$  реакції розкладання пероксикислот від рН середовища: 1 – **4c** ( $3,60 \cdot 10^{-3}$  Моль/л,  $T=303$  К), 2 – **4d** ( $1,35 \cdot 10^{-3}$  Моль/л,  $T=301$  К), 3 – **4e** ( $4,60 \cdot 10^{-3}$  Моль/л,  $T=295$  К), 4 – **4f** ( $0,99 \cdot 10^{-3}$  Моль/л,  $T=295$  К). 1 – **4d** ( $1,35 \cdot 10^{-3}$  Моль/л,  $T=301$  К), 2 – **4f** ( $0,99 \cdot 10^{-3}$  Моль/л,  $T=295$  К), 3 – **4e** ( $4,60 \cdot 10^{-3}$  Моль/л,  $T=295$  К), 4 – **4c** ( $3,60 \cdot 10^{-3}$  Моль/л,  $T=303$  К).

цюга корелює з підвищенням значення величини  $pK_a$  відповідної пероксикислоти **4a-f** (табл. 1).

Враховуючи низькі виходи (~25%) і нестабільність пероксикислот **4a, b** за стандартних умов (табл. 1), подальші дослідження проводили з використанням сполук **4c-f**.

Результати вивчення кінетики термічного (298 К) розкладання сполук **4c-f** залежно від рН у розбавлених водних розчинах ( $10^{-3}$  Моль/л) методом йодометричного титрування показали, що реакція відбувається за іонно-молекулярним механізмом і підпорядковується кінетичному рівнянню другого порядку (лінійний характер залежності оберненої концентрації пероксикислоти від часу). Залежність  $k_{\text{еф}}$  реакції розкладання

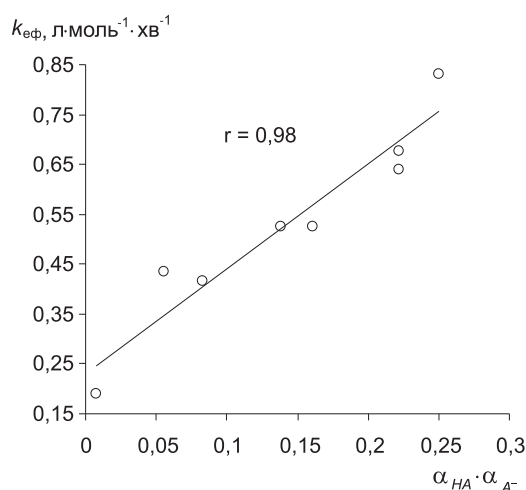


Рис. 2. Залежність  $k_{\text{еф}}$  розкладання пероксикислоти **4e** від добутку молярних часток її молекулярної форми ( $\alpha_{\text{HA}}$ ) та аніона ( $\alpha_{\text{A}^-}$ )  $c = 5 \cdot 10^{-4}$  Моль/л,  $T = 296$  К.

другого порядку від рН має вигляд дзвоноподібної кривої з максимумом при рН, що приблизно дорівнює  $pK_a$  відповідної пероксикислоти (рис. 1).

Лінійна залежність  $k_{\text{еф}}$  розкладання пероксикислоти від добутку молярних часток її молекулярної форми ( $\alpha_{\text{HA}}$ ) та аніона ( $\alpha_{\text{A}^-}$ ) (рис. 2) свідчить, що саме вони беруть участь у перехідному стані процесу.

За даними тангенсу кута нахилу залежності  $k_{\text{еф}}$  від добутку  $\alpha_{\text{HA}} \cdot \alpha_{\text{A}^-}$  розраховані значення  $k_{\text{іст}}$  процесу розкладання пероксикислот **4c-f** (табл. 1). Відсутність  $\text{CO}_2$  (за реакцією з баритовою водою) серед газоподібних продуктів реакції додатково засвідчує її іонний механізм та відсутність побічного процесу декарбоксілювання.

Таблиця 3

Результати мікробіологічних випробувань пероксикислот **4d, 4f** на бактерицидну та спороцидну активність

| Мікробна культура           | Експозиція, хв | Пероксикислота* |                  | Контроль |
|-----------------------------|----------------|-----------------|------------------|----------|
|                             |                | <b>4d</b> (0,1) | <b>4f</b> (0,05) |          |
| St. aureus<br>ATCC 6538-P   | 5              | +               | +                | +        |
|                             | 30             | +               | +                | +        |
|                             | 60             | -               | -                | +        |
| E. coli<br>ATCC 25922       | 5              | +               | +                | +        |
|                             | 30             | +               | -                | +        |
|                             | 60             | -               | -                | +        |
| Ps. aeruginosa<br>ATCC 9027 | 5              | +               | +                | +        |
|                             | 30             | +               | +                | +        |
|                             | 60             | -               | -                | +        |
| B. subtilis<br>ATCC 6633    | 5              | +               | +                | +        |
|                             | 30             | +               | +                | +        |
|                             | 60             | -               | -                | +        |

Примітка: \* у дужках наведено вміст пероксикислоти у випробуваному розчині у % (-) – ріст не спостерігається, (+) – наявний ріст мікроорганізмів.

На прикладі пероксикислот **4d** та **4f** вивчений вплив довжини аліфатичного ланцюга на прояв ними бактерицидної та спороцидної активності стосовно стандартного набору еталонних мікробних культур. Дослідження проводили на кафедрі мікробіології НФаУ (зав. кафедри проф. Філімонова Н.І.) методом тест-об'єктів контамінованих мікробними культурами [19] з навантаженням  $2 \cdot 10^9$  клітин/мл (табл. 3).

Як видно з даних табл. 3, пероксикислота **4f** у порівнянні з коротколанцюговим гомологом виявилась більш активною стосовно *E. coli*, спор *B. subtilis*. Обидві кислоти незалежно від довжини ланцюга показали бактерицидну дію відносно культури *St. aureus*. та *Ps. aeruginosa*.

Вищу спороцидну активність пероксикислоти з довшим ланцюгом **4f**, на наш погляд, можна пояснити дещо більшим значенням величини її реального окисно-відновного потенціалу порівняно з коротколанцюговим гомологом **4d** (0,605 В та 0,565 В відповідно, при рН 7,3).

### Експериментальна частина

Мікрохвильове опромінення реакційних сумішей проводили у побутовій мікрохвильовій печі потужністю 800 Вт.

Спектри ЯМР записані на приладі Varian Mercury-VX200 (робоча частота 199,97 МГц) в ДМСО- $d_6$ , внутрішній стандарт – ТМС.

ІЧ-спектри реєстрували на спектрометрі Bruker Tensor 27 FT-IR в таблетках з KCl (концентрація пероксикислоти 1%).

Електронні спектри поглинання зняті в автоматичному режимі на модернізованому спектрофотометрі СФ-46 у воді з використанням програмного забезпечення «Спектр» (ВО «Техномир»).

Потенціометричне титрування виконували на лабораторному іонімірі И-130 (НПО «Аналитприбор») зі скляним електродом типу ЕСЛ 43-07 (електрод порівняння – насичений хлоридсрібний (НХСЕ) стандартним 0,1 Моль/л розчином NaOH).

Для вимірювання електродного потенціалу системи збирали гальванічне коло без перенесення, складене з індикаторного платиного електроду ЕПВ-1 та НХСЕ. Електрорушійну силу реєстрували з точністю  $\pm 1$  мВ. Значення величин реальних потенціалів пероксикислот (стосовно НХСЕ) отримані на фоні розчину 0,02 Моль/л KCl при 293 К.

Обробку експериментальних даних проводили з використанням табличного процесора Excel програмного пакету Microsoft Office Professional 2003.

Антимікробну активність вивчали за стандартною методикою [19].

**2-Сукциноімідоацетатна кислота (3a).** На суміш 0,01 Моль (1,0 г) бурштинового ангідриду та 0,01 Моль (0,75 г) амінооцтової кислоти діяли мікрохвильовим опроміненням до одержання гомогенного розплаву і ще впродовж 30 с. Розплав охолоджували. Вихід з (EtOH) – 1,4 г (92%).

Аналогічно одержували кислоти **3b-f**. Кислоти **3d-f** перекристалізували з етилацетату.

**2-Сукциноімідопероксиацетатна кислота (4a).** 0,01 Моль (1,73 г) кислоти **3a** розчиняли в 0,03 Моль (3,10 г) 95%  $H_2SO_4$ . При постійному охолодженні до  $10^\circ C$  і перемішуванні краплями додавали попередньо змішану і охолоджену до  $10^\circ C$  суміш 0,03 Моль (2,04 г) 50%  $H_2O_2$  та 0,03 Моль (3,10 г) 95%  $H_2SO_4$ .

Суміш витримували ще 2 год при кімнатній температурі, потім вливали в 40 мл  $H_2O$  і екстрагували етилацетатом (2×40 мл). Екстракт сушили безводним  $Na_2SO_4$ , відфільтровували, розчинник відганяли.

Одержаний продукт очищували, розчиняючи в етилацетаті, і осаджували *n*-гексаном. Аналогічно одержували пероксикислоти **4b-c**.

Пероксикислоти **4d-f** одержували за описаною методикою, а враховуючи їх значно меншу гідрофільність, виділення проводили на скляному фільтрі, промиваючи дистильованою водою до рН~7 (за універсальним індикатором).

### Висновки

1. Розроблено ефективний спосіб одержання  $\omega$ -сукцино(фтало)імідокарбонових кислот з використанням мікрохвильового опромінення; чистота та індивідуальність їх доведена сучасними методами.

2. Синтезовані  $\omega$ -сукцино(фтало)імідопероксикарбонові кислоти методом Сверна; показано, що їх величини  $pK_a$  збільшуються із зростанням довжини аліфатичного фрагменту. Реакція термічного розкладання синтезованих пероксикислот у розбавлених водних розчинах відбувається за іонно-молекулярним механізмом і підпорядковується кінетичному рівнянню другого порядку. Максимальна швидкість процесу розкладання спостерігається при рН, які відповідають величинам  $pK_a$  пероксикислот.

3. Виявлена бактерицидна та спороцидна активність синтезованих пероксикислот стосовно *St. aureus*, *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, спор *B. subtilis* при концентрації 0,05 та 0,1% (мас.).

## Література

1. Shi H., Zhang Z., Wang Y. // *J. Mol. Catal. Chem.* – 2005. – Vol. 238, №1-2. – P. 13-25.
2. Wiktelius D., Berts W., Jensen A.J. et al. // *Tetrahedron.* – 2006. – Vol. 62, №15. – P. 3600-3609.
3. Andrus M.B., Poehlein B.W. // *Tetrahedron Lett.* – 2000. – Vol. 41, №7. – P. 1013-1014.
4. Hilker I., Bothe D., Prüss J., Warnecke H.-J. // *Chem. Engineering Sci.* – 2001. – Vol. 56, №2. – P. 427-432.
5. Блажеєвський М.Є. // *ЖОФХ.* – 2005. – Т. 3, №2 (10). – С. 61-65.
6. Zhu X., Kreutter K.D., Hu H. et al. // *Tetrahedron Lett.* – 2008. – Vol. 49, №5. – P. 832-834.
7. Блажеєвський М.Є. // *Фармац. журн.* – 2003. – №5. – С. 66-78.
8. Omidbakhsh N. // *Am. J. of Infection Control.* – 2006. – Vol. 34, №9. – P. 571-577.
9. Пат. США 0238719. – Режим доступу до патенту: [http://www.google.com/patents/download/7749334\\_Methods\\_and\\_agents\\_for\\_cleaning.pdf](http://www.google.com/patents/download/7749334_Methods_and_agents_for_cleaning.pdf).
10. Пат. США 0222004 A1. – Режим доступу до патенту: [http://www.google.com/patents/download/11\\_096\\_111\\_Particulate\\_bleaching\\_composi.pdf](http://www.google.com/patents/download/11_096_111_Particulate_bleaching_composi.pdf).
11. Пат. США 7645302 B2. – Режим доступу до патенту: [http://www.google.com/patents/download/7645302\\_Bleaching\\_compositions.pdf](http://www.google.com/patents/download/7645302_Bleaching_compositions.pdf).
12. *Organic peroxides* / Ed. D.Swern. – Vol. 1. – New York: Wiley – Interscience, 1970. – 654 p.
13. *The chemistry of peroxides* / Ed. Z.Rappoport. – Vol. 2, part 1. – Chichester: John Wiley&Sons, Inc., 2006. – 1524 p.
14. Silbert L.S., Siegel E., Swern D. // *J. Org. Chem.* – 1962. – Vol. 27. – P.1336-1342.
15. Bose A.K., Jayaraman M., Okawa A. et al. // *Tetrahedron Lett.* – 1996. – Vol. 37, №39. – P. 6989 – 6992.
16. Рахманкулов Д.Л., Бикбулатов И.Х., Шулаев Н.С. и др. *Микроволновое излучение и интенсификация химических процессов.* – М.: Химия, 2003. – 220 с.
17. Завьялов С.И., Дорофеева О.В., Румянцева Е.Е. и др. // *Хим.-фарм. журн.* – 2002. –Т. 36, №8. – С. 40-41.
18. Swern D., Clements A.H., Luong T.M. // *Analyt. Chem.* – 1969. – №41 (3). – P. 412-416.
19. Леви М.И. // *Дезинфекционное дело.* – 2001. – №3. – С. 10.
20. Блажеєвський М.Є., Черних В.П. // *Фізіологічно активні речовини.* – 1999. – №2 (28). – С. 58-65.

Надійшла до редакції 22.02.2011 р.