

УДК 547.53:311.37

СИНТЕЗ ТА АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ФУНКЦІАЛІЗОВАНИХ 2-ТІОЦІАНАТО-2-МЕТИЛ- 3-АРИЛПРОПІОНАТІВ

Б.Д.Грищук, В.С.Барановський, С.І.Климнюк*

Тернопільський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
46027, м. Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2. E-mail: baranovsky@tnpu.edu.ua

* Тернопільський державний медичний університет

*Ключові слова: тіоціанатоарилування; естери метакрилової кислоти;
естери 2-тіоціанато-2-метил-3-арилпропіонових кислот; антибактеріальні
та антигрибкові властивості*

Тіоціанатоарилуванням додецилового, 2-(диметиламіно)етилового та 2,3-епоксипропілового естерів метакрилової кислоти одержані відповідні естери 2-тіоціанато-2-метил-3-арилпропіонових кислот. Встановлено, що тіоціанати, які містять у своїй структурі гліцидильний фрагмент, виявляють антигрибкові властивості.

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF FUNCTIONALIZED 2-THIOCYANATO-2-METHYL-3-ARYLPROPIONATES

B.D.Grishchuk, V.S.Baranovsky, S.I.Klymnyuk

The esters of 2-thiocyanato-2-methyl-3-arylpropionic acids have been synthesized by thiocyanatoarylation of dodecyl, 2-(dimethylamino)ethyl and 2,3-epoxypropyl esters of methacrylic acid. It has been found that thiocyanates containing the glycidol-group in their structure have the antimycotic properties.

СИНТЕЗ И АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫХ 2-ТИОЦИАНАТО-2-МЕТИЛ-3-АРИЛПРОПИОНАТОВ

Б.Д.Грищук, В.С.Барановский, С.И.Климнюк

Тиоцианатоарилуванням додецилового, 2-(диметиламіно)етилового і 2,3-епоксипропілового ефіров метакрилової кислоти отримані відповідні ефіри 2-тіоціанато-2-метил-3-арилпропіонових кислот. Установлено, що тіоціанати, що містять у своїй структурі гліцидильний фрагмент, проявляють протигрибкові властивості.

Органічні тіоціанати представляють значний інтерес не лише в синтетичному плані, але і як біологічно активні речовини широкого спектра дії [1]. Низка таких сполук (алілтіоціанат, 4-метилтіобутилтіоціанат та бензилтіоціанат) виявлені в рослинах родини Brassicaceae (*Coronopus didymus*, *Eruca sativa*, *Lepidium ruderales*, *Lepidium sativum*, *Thlaspi arvense*) [2, 3]. Їх біосинтез здійснюється за участю спеціальних вторинних білкових метаболітів – тіоціанатосинтезуючих глікозинолатів. Такого роду тіоціанати в поєднанні з ізомерними ізотіоціанатами виявляють високу антимікробну активність [4].

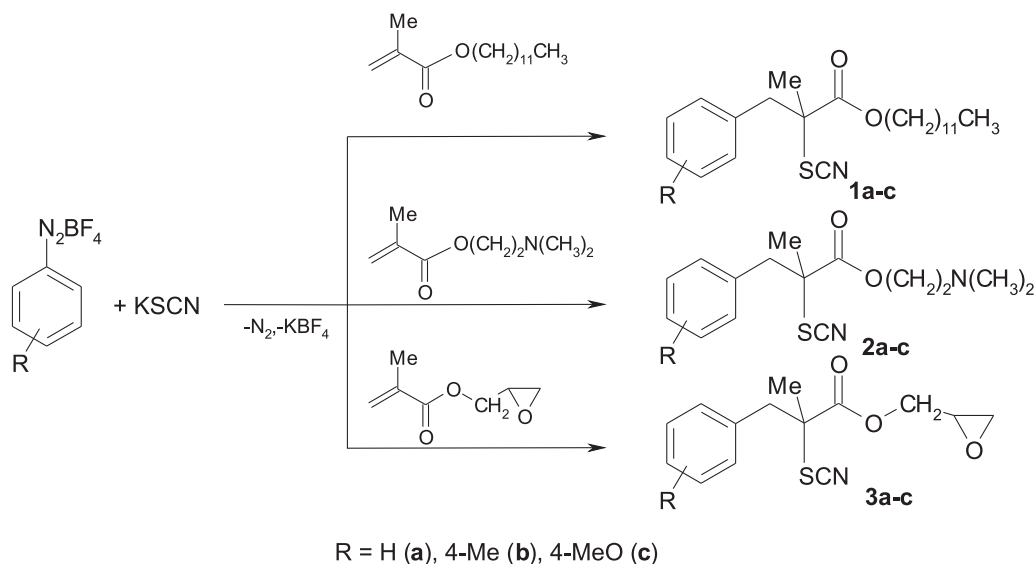
З огляду на те, що органічні тіоціанати є біологічно активними речовинами і окремі з них знайшли застосування як інсектициди, протравлювачі насіння, стабілізатори полімерів, компоненти мастильних олій та емульгатори, актуальною є розробка зручних селективних методів їх синтезу. Найчастіше для цієї цілі використовується реакція нуклеофільного заміщення галогенів, сульфо- та сульфонатних груп на тіоціан-

натну або ж взаємодія дородану зі спиртами або ненасиченими сполуками. Ці процеси не відзначаються високою регіоселективністю і у більшості випадків тіоціанати одержують у суміші з ізомерними їм ізотіоціанатами [1].

Ефективним методом отримання арилзаміщених алкілтіоціанатів є реакція тіоціанатоарилування, що дозволяє регіоселективно вводити в молекули ненасичених сполук арильні фрагменти та тіоціанатну групу [5, 6]. На її основі розроблені методики синтезу різноманітних тіоціанатів та досліджена їх біологічна активність [7].

Раніше нами показано, що взаємодія тетрафлуороборатів арилдіазонію з алкіловими естерами акрилової та метакрилової кислот у присутності тіоціанатів відбувається з утворенням естерів 2-тіоціанато-3-арилпропіонових кислот [8], які характеризуються вираженими антибактеріальними та антигрибковими властивостями [9].

З метою з'ясування впливу структури алкоксильного фрагменту на прояв антимікробної активності продуктів тіоціанатоарилування метакри-



Схема

латів, на взаємодію тетрафлуороборатів арилдіазонію з додециловим, 2-(диметиламіно)етиловим і 2,3-епоксипропіловим естерами метакрилової кислоти в присутності роданідів одержані додецилові, 2-(диметиламіно)етиліві та 2,3-епоксипропілові естери 2-тіоціанато-2-метил-3-арилпропіонових кислот (**1-3**).

Реакції проводили у водно-ацетоновому (1:3) середовищі при $-15 \div -5^\circ\text{C}$ в умовах купрокаталізу. Найвищі виходи продуктів (55-62%) спостерігались у випадку 2,3-епоксипропілметакрилату, дещо нижчі (30-44%) – для 2-(диметиламіно)етилметакрилату. Виходи, константи, дані елемент-

ного аналізу, ІЧ- та ЯМР ^1H -спектрів синтезованих сполук (**1-3**) представлені в табл. 1 і 2.

Варто зазначити, що тіоціанатоарилування розглянутих ненасичених сполук також супроводжується утворенням тіо- (3-8%) та ізотіоціанатоаренів (10-15%), що є продуктами конкуруючої реакції Гаттермана-Зандмейера.

У випадку 2,3-епоксипропілметакрилату в умовах реакції не спостерігалось розкриття оксиранового кільця, що узгоджується з даними ІЧ-спектрів (смуги поглинання при 910, 1250, 3000 і 3050 cm^{-1} [10]), а також іншими перетвореннями за його участю [11].

Таблиця 1

Виходи, константи, дані елементного аналізу синтезованих сполук

Сполука	Вихід, %	n_D^{20}	d_4^{20}	MR _D		Знайдено, %		Формула	Вирахувано, %	
				знайдено	вираховано	N	S		N	S
1a	54	1,5024	1,0031	114,71	114,88	3,49	8,11	C ₂₃ H ₃₅ NO ₂ S	3,60	8,23
1b	47	1,5120	1,0116	119,73	119,77	3,39	7,96	C ₂₄ H ₃₇ NO ₂ S	3,47	7,94
1c	49	1,5196	1,0494	121,49	121,60	3,27	7,51	C ₂₄ H ₃₇ NO ₃ S	3,34	7,64
2a	39	1,5389	1,1261	81,33	81,50	9,57	11,06	C ₁₅ H ₂₀ N ₂ O ₂ S	9,58	10,97
2b	33	1,5376	1,1102	86,28	86,39	9,07	10,30	C ₁₆ H ₂₂ N ₂ O ₂ S	9,14	10,46
2c	30	1,5358	1,1381	88,31	88,22	8,48	9,93	C ₁₆ H ₂₂ N ₂ O ₃ S	8,69	9,95
3a	62	1,5485	1,2107	72,81	72,70	4,98	11,41	C ₁₄ H ₁₅ NO ₃ S	5,05	11,56
3b	60	1,5316	1,1626	77,61	77,59	4,83	10,95	C ₁₅ H ₁₇ NO ₃ S	4,81	11,01
3c	55	1,5452	1,2223	79,53	79,42	4,38	10,26	C ₁₅ H ₁₇ NO ₄ S	4,56	10,43

Спектри ІЧ та ЯМР ^1H синтезованих сполук

Сполука	ІЧ-спектр		Спектр ЯМР ^1H , δ , м.ч.
	ν (SCN), cm^{-1}	ν (C=O), cm^{-1}	
1a	2160	1732	7,37-7,16 м (5H, Ph); 4,16-4,05 м (2H, OCH ₂); 3,37 д.д., 3,24 д.д. (2H, CH ₂ Ph); 1,70 с (3H, CCH ₃); 1,61 т (2H, OCH ₂ CH ₂); 1,39 т (2H, CH ₂ CH ₃); 1,25 с (16H, 8(-CH ₂ -)), 0,86 т (3H, CH ₂ CH ₃)
1b	2156	1732	7,25-6,92 м (4H, C ₆ H ₄); 4,18-4,07 м (2H, OCH ₂); 3,37 д.д., 3,23 д.д. (2H, CH ₂ C ₆ H ₄); 2,25 с (3H, CH ₃ C ₆ H ₄); 1,70 с (3H, CCH ₃); 1,61 т (2H, OCH ₂ CH ₂); 1,39 т (2H, CH ₂ CH ₃); 1,27 с (16H, 8(-CH ₂ -)), 0,85 т (3H, CH ₂ CH ₃)
1c	2160	1728	7,21-6,84 м (4H, C ₆ H ₄); 4,17-4,04 м (2H, OCH ₂); 3,75 с (3H, CH ₃ C ₆ H ₄); 3,38 д.д., 3,25 д.д. (2H, CH ₂ C ₆ H ₄); 1,71 с (3H, CCH ₃); 1,62 т (2H, OCH ₂ CH ₂); 1,40 т (2H, CH ₂ CH ₃); 1,25 с (16H, 8(-CH ₂ -)), 0,85 т (3H, CH ₂ CH ₃)
2a	2160	1732	7,44-7,22 м (5H, Ph); 4,24-3,98 м (4H, OCH ₂ CH ₂); 3,29 д.д., 3,11 д.д. (2H, CH ₂ Ph); 2,26-2,20 м (6H, N(CH ₃) ₂); 1,71 т (3H, CCH ₃)
2b	2156	1736	7,14-7,03 м (4H, C ₆ H ₄); 4,26-4,02 м (4H, OCH ₂ CH ₂); 3,31 д.д., 3,14 д.д. (2H, CH ₂ C ₆ H ₄); 2,36 с (3H, CH ₃ C ₆ H ₄); 2,28-2,22 м (6H, N(CH ₃) ₂); 1,68 т (3H, CCH ₃)
2c	2160	1724	7,18-7,04 м (4H, C ₆ H ₄); 4,24-3,96 м (4H, OCH ₂ CH ₂); 3,40 с (3H, CH ₃ OC ₆ H ₄); 3,34 д.д., 3,09 д.д. (2H, CH ₂ C ₆ H ₄); 2,30-2,24 м (6H, N(CH ₃) ₂); 1,69 т (3H, CCH ₃)
3a	2160	1728	7,40-7,22 м (5H, Ph); 4,59-4,53 м, 4,05-4,00 м (2H, OCH ₂); 3,40-3,22 м (3H, CH ₂ Ph, CH); 2,83 т (H-цис), 2,72-2,68 м (H-транс) (2H, C_6H_4); 1,70 с (3H, CCH ₃)
3b	2156	1732	7,20-7,11 м (4H, C ₆ H ₄); 4,56-4,49 м, 4,02-3,95 м (2H, OCH ₂); 3,34-3,16 м (3H, CH ₂ C ₆ H ₄ , CH); 2,83 т (H-цис), 2,73-2,67 м (H-транс) (2H, C_6H_4); 2,28 с (3H, CH ₃ C ₆ H ₄); 1,71 с (3H, CCH ₃)
3c	2160	1728	7,18-6,88 м (4H, C ₆ H ₄); 4,58-4,52 м, 4,06-3,99 м (2H, OCH ₂); 3,74 с (3H, CH ₃ O); 3,32-3,15 м (3H, CH ₂ C ₆ H ₄ , CH); 2,83 т (H-цис), 2,73-2,66 м (H-транс) (2H, C_6H_4); 1,68 с (3H, CCH ₃)

Структура синтезованих сполук підтверджується даними ІЧ- та ЯМР ^1H -спектроскопії. Зокрема, в ІЧ-спектрах сполук (**1-3**) спостерігаються характеристичні смуги поглинання тіоціанатної (2156-2160 cm^{-1}) та карбонільної (1724-1736 cm^{-1}) груп. Спектри ЯМР ^1H характеризуються сигналами протонів ароматичних ядер (7,4-6,8 м.ч.) та протонів метиленових груп, зв'язаних з ароматичними ядрами (3,4-3,1 м.ч.), що свідчить про утворення нового карбон-карбонного зв'язку за місцем розриву кратного зв'язку метакрилового фрагменту. Інші сигнали відповідають протонам фрагментів вихідних ненасичених сполук (табл. 2).

Нами досліджено антимікробну дію синтезованих сполук (**1-3**) відносно музейних штамів бактерій (*S. aureus* ATCC 6538, *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 9027) та дріжджоподібних грибів (*C. albicans* ATCC 885-653).

Встановлено, що синтезовані сполуки проявляють антимікробну активність щодо запропонованих тест-мікроорганізмів, окрім споруутворюючих грампозитивних паличок *B. subtilis* (табл. 3).

Найвищу чутливість культура грампозитивних коків виявила до сполуки (**3c**) (МБЦК становила 31,2 мкг/мл). Сполука (**3a**) діяла бактерицидно на культуру *S. aureus* в розведенні 125 мкг/мл, а інші речовини характеризувалися слабкою бактериостатичною дією.

Ефективність естерів (**1-3**) щодо грамнегативних паличок була різною. Чутливість культури *E. coli* до синтезованих сполук коливалася в межах 31,2-125 мкг/мл. Виключення становила сполука (**1c**), яка не мала антимікробної дії на культуру кишкових паличок. З дещо більшою силою синтезовані речовини пригнічували ріст грамнегативної тест-культури *P. aeruginosa*. Сполуки (**1a**, **3a-c**) були ефективними проти синьо-гнійних паличок у розведенні 31,2 мкг/мл. З досліджених речовин (**1-3**) найбільш виражені антимікробні властивості має сполука (**3c**).

Аналіз впливу структури алкоксильного фрагменту в молекулах естерів 2-тіоціанато-3-арилпропіонових кислот показує, що з метою посилення антимікробних властивостей найбільш ефективним є введення гліцидильного фрагменту, що узгоджується з даними робіт [12, 13].

Таким чином, результати мікробіологічних досліджень дозволяють говорити про ефективність синтезованих сполук (**1-3**) у плані антигрибкової, а в окремих випадках і антибактеріальної активності, що розкриває перспективи для створення на їх основі нових антимікробних препаратів.

Експериментальна частина

ІЧ-спектри зняті в тонкій плівці на спектрометрах ИКС-29 і Specord M80. Спектри ЯМР ^1H

Антимікробна активність синтезованих сполук

Сполука	Досліджувані тест-культури мікроорганізмів									
	S. aureus		E. coli		C. albicans		B. subtilis		P. aeruginosa	
	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК
1a	250	500	31,2	62,5	15,6	31,2	н/а	н/а	31,2	62,5
1b	125	250	125	250	31,2	62,5	н/а	н/а	62,5	125
1c	125	250	н/а	н/а	125	250	н/а	н/а	62,5	125
2a	125	250	62,5	125	62,5	125	н/а	н/а	62,5	125
2b	250	500	125	250	125	250	н/а	н/а	125	250
2c	125	250	62,5	125	62,5	125	н/а	н/а	62,5	125
3a	62,5	125	31,2	62,5	62,5	125	н/а	н/а	31,2	62,5
3b	125	250	125	250	250	500	н/а	н/а	31,2	62,5
3c	15,6	31,2	31,2	62,5	15,6	31,2	н/а	н/а	31,2	62,5

синтезованих сполук записані в ДМСО- d_6 на приладі «Varian Mercury», робоча частота – 400 МГц, внутрішній стандарт – ТМС.

Додециловий естер 2-тіоціанато-2-метил-3-фенілпропіонової кислоти (1a)

До 5 мл (0,022 Моль) додецилметакрилату, 2,7 г (0,028 Моль) роданіду калію і 0,9 г (0,0025 Моль) гексагідрату тетрафлуороборату купруму (II) $Cu(BF_4)_2 \cdot 6H_2O$ в 60 мл водно-ацетонової (1:3,5) суміші додають при $-10 \div -5^\circ C$ впродовж 15 хв 5,0 г (0,026 Моль) тетрафлуороборату фенілдіазонію. Спостерігається виділення азоту протягом 1 год. Після його припинення реакційну суміш обробляють 100 мл діетилового етеру, витяжки промивають водою і сушать хлоридом кальцію. Після відгонки етеру залишок хроматографують на колонці з Al_2O_3 (елюент: гексан-хлороформ 5:2). Одержують 4,6 г (54%) сполуки (1a).

Сполуки (1b) і (1c) одержані аналогічно.

2-(Диметиламіно)етилловий естер 2-тіоціанато-2-метил-3-фенілпропіонової кислоти (2a)

До 2,8 мл (0,02 Моль) (2-диметиламіно) етилметакрилату, 2,7 г (0,028 Моль) роданіду калію і 1,0 г (0,003 Моль) $Cu(BF_4)_2 \cdot 6H_2O$ в 50 мл водно-ацетонової (1:3) суміші додають впродовж 15 хв 5,0 г (0,026 Моль) тетрафлуороборату фенілдіазонію. Азот виділяється при $-10 \div -5^\circ C$ протягом 1 год. Після припинення його виділення в реакційну суміш додають 75 мл води і екстрагують 100 мл діетилового етеру. Після відгонки етеру залишок розчиняють у бензолі та пропускають аміак впродовж 1 год для переведення фенілізотіоціанату у фенілтіосечовину. Після відокремлення утвореної тіосечовини упарюють бензол і залишок хроматографують на колонці з Al_2O_3 (елюент: гексан – хлороформ – метанол 5:1:1)). Після ІЧ-спектрофотометричного аналізу одержаних фракцій виділяють 2,3 г (39%) сполуки (2a).

Сполуки (2b) і (2c) одержані аналогічно.

2,3-Епоксипропіловий естер 2-тіоціанато-2-метил-3-фенілпропіонової кислоти (3a)

До 2,9 мл (0,02 Моль) 2,3-епоксипропілметакрилату, 2,6 г (0,027 Моль) роданіду калію і 1,0 г (0,003 Моль) $Cu(BF_4)_2 \cdot 6H_2O$ в 50 мл водно-ацетонової (1:3) суміші додають при перемішуванні впродовж 15 хв 5,0 г (0,026 Моль) тетрафлуороборату фенілдіазонію. Азот виділяється при $-5^\circ C$ протягом 30 хв. Після припинення його виділення реакційну суміш обробляють 100 мл діетилового етеру, витяжки промивають водою і сушать хлоридом кальцію. Після відгонки етеру залишок хроматографують на колонці з Al_2O_3 (елюент: гексан – хлороформ 5:3). Після ІЧ-спектрофотометричного аналізу одержаних фракцій виділяють 3,5 г (62%) сполуки (3a).

Сполуки (3b) і (3c) одержані аналогічно.

Мікробіологічне дослідження

Антимікробну активність синтезованих речовин визначали за допомогою методу серійних розведень у рідкому поживному середовищі (МПБ).

Спочатку готували 1%-ні маточні розчини речовин у ДМФА. Безпосередньо перед дослідом їх розводили в МПБ від 1:20 до 1:640. У кожен пробірник вносили по 0,2 мл бактеріальної суспензії досліджуваних культур з концентрацією мікробних тіл 10^5 в 1 мл. Посіви інкубували при $37^\circ C$ протягом 18-24 год, після чого візуально враховували наявність чи відсутність росту мікроорганізмів. За мінімальну бактеріостатичну концентрацію (МБсК) приймали ту найменшу кількість речовини, в присутності якої відбувалось пригнічення росту культури. Її виражали числовим значенням розведення 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.

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

Висновки

1. Взаємодією тетрафлуороборатів арилдіазонію з додециловим, 2-(диметиламіно)етиловим

та 2,3-епоксипропіловим естерами метакрилової кислоти в присутності роданіду калію одержані відповідні естери 2-тіоціанато-2-метил-3-арилпропіонових кислот.

2. Встановлено, що функціоналізовані 2-тіоціанато-2-метил-3-арилпропіонати характеризуються високою антигрибковою активністю. Показано, що введення в їх структуру гліцидильного фрагменту посилює їх антимікробні властивості.

Література

1. Pataj S. *The chemistry of functional groups: The Chemistry of Cyanates and Their Thio Derivatives* / S.Pataj. – New York: Wiley-Interscience, 1977. – Pt. 2. – P. 819-886.
2. Walker N.J., Gray I.K. // *J. Agric. Food Chem.* – 1970. – Vol. 18. – P. 346-352.
3. Schluëter M., Gmelin R. // *Phytochemistry.* – 1972. – Vol. 11. – P. 3427-3431.
4. Luëthy J., Benn M.H. // *Can. J. Biochem.* – 1977. – Vol. 55. – P. 1028-1031.
5. Grishchuk B.D., Gorbovoi P.M., Ganushchak N.I., Dombrovskii. A.V. // *Russ. Chem. Rev.* – 1994. – Vol. 63. – P. 257-267.
6. Грищук Б.Д., Горбовий П.М., Барановський В.С., Ганущак М.І. // *ЖОФХ.* – 2008. – Т. 6, вип. 3 (23). – С. 16-32.
7. Grishchuk B.D., Gorbovyi P.M., Baranovskyi V.S. et al. // *Int. Conf. «New technologies of isolation and application of biologically active substances».* – Alushta, Crimea, Ukraine. – 2002. – P. 19.
8. Грищук Б.Д., Горбовой П.М., Ганущак Н.И. // *ЖОХ.* – 1989. – Т. 59, вып. 5. – С. 1969-1972.
9. Горбовой П.М., Нивалов В.Н., Проданчук Н.Г. и др. // *Хим.-фарм. журн.* – 1990. – Т. 24, №2. – С. 139, 140.
10. Дрюк В.Г., Карцев В.Г., Войцеховская М.А. *Оксираны – синтез и биологическая активность.* – М., 1999. – 547 с.
11. Недоля Н.А., Хилько М.Я., Миналева А.И., Трофимов Б.А. // *ЖОрХ.* – 1987. – Т. 23, вып. 7. – С. 1426-1429.
12. Грищук Б.Д., Загричук Г.Я., Власик Л.И. и др. // *Хим.-фарм. журн.* – 1999. – Вып. 1. – С. 22, 23.
13. Горбовой П.М., Загричук Г.Я., Барановский В.С. и др. // *ЖОХ.* – 2000. – Т. 70, вып. 11. – С. 1872-1875.

Надійшла до редакції 28.08.2010 р.