

© Коллектив авторов, 2015

Мишель Мадесклер¹, Паскаль Кудер¹, А. В. Лямин², С. Х. Шарипова²,
Ю. В. Зайцева², В. П. Зайцев^{3*}

СИНТЕЗ И АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ МОЧЕВИН ИЗ (1S,2S)-2-АМИНО-1-(4-НИТРОФЕНИЛ)-1,3-ПРОПАДИОЛА

¹ Университет Оверни, Клермон Ферран, Франция;

² Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия;

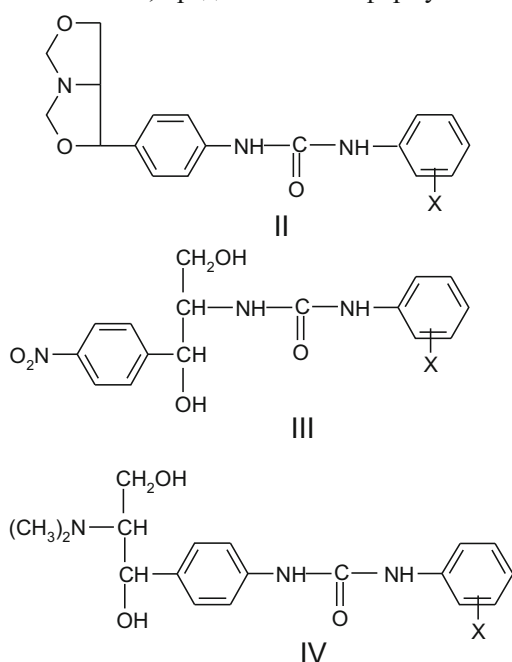
³ Самарский государственный университет, Самара, Россия, E-mail: zvaleri.47@mail.ru

Синтезирован ряд новых производных мочевины из (1S,2S)-2-амино-1-(4-нитрофенил)-1,3-пропандиола и изучена их антимикробная активность. Установлено, что из 8 синтезированных мочевины только 1 соединение проявляет слабый антимикробный эффект в отношении *B. cereus* и *Candida spp.*

Ключевые слова: (1S,2S)-2-амино-1-(4-нитрофенил)-1,3-пропандиол; мочевины; антимикробная активность.

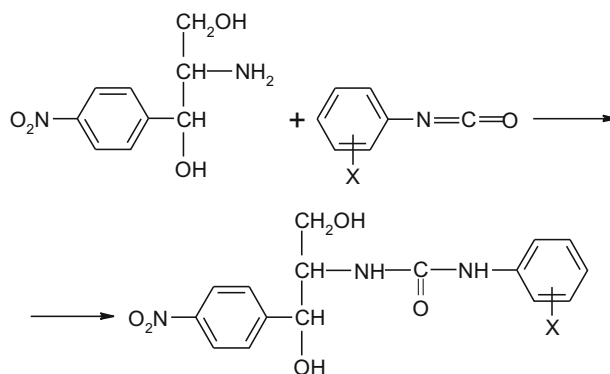
Известно, что производные мочевины проявляют широкий спектр биологической активности. В последние годы замещенные мочевины также используются в качестве объектов исследования супрамолекулярной химии [1, 2]. (1S,2S)-2-амино-1-(4-нитрофенил)-1,3-пропандиол (I), побочный продукт производства антибиотика левомецетина, широко используемый для расщепления рацемических кислот [3, 4], является удобным реагентом для получения замещенных мочевины. Полученные на его основе производные мочевины будут обладать оптической активностью, что повышает их ценность в качестве объектов биологических исследований.

Из соединения I могут быть легко получены производные мочевины, представленные формулами II – IV.



Ранее нами были получены производные мочевины формулы II и изучена их антимикробная активность [5]. Было показано, что эти соединения проявляют активность в отношении штаммов *B. cereus*, *S. aureus*, *St. hemolyticus*. В данной работе получены производные мочевины, представленные формулой III. Их синтез осуществлен с целью расширения круга исследуемых соединений. Кроме того, предполагалось, что наличие в мочевинах III двух гидроксильных групп позволит увеличить их растворимость в воде, что важно для соединений, используемых в качестве лекарственных препаратов.

Соединения IIIa – g были получены по следующей схеме.



X = а) H, б) 2-CH₃O, в) 2-Cl, г) 2-CF₃, д) 3-Cl, е) 4-CH₃O, ж) 4-CH₃

Соединение IIIh получено аналогичным методом взаимодействием 1-нафтилизотиоцианата с соединением I.

Синтез соединений III осуществляли в абсолютном бензоле при комнатной температуре взаимодействием соединения I с соответствующим изоцианатом. Полученные мочевины являются твердыми веществами, их отделяли от реакционной смеси фильтрованием под вакуумом, затем промывали на фильтре бензолом. В результате хроматографического анализа (ТСХ) было установлено, что полученные вещества содержат при-

Выходы, температуры плавления и данные ПМР-спектров соединений IIIa – h

Соединение	Выход, %	Т. пл., °С	Спектр ¹ H ЯМР (диметилсульфоксид (ДМСО)-d ₆), δ, м.д. (J Гц)									Молекулярная формула
			N'H (с, 1H)	NH (д, 1H)	H _{аром}	CH-OH (д, 1H)	CH ₂ -OH (дд, 1H)	CH-O (д, 1H)	CH-N (м, 1H)	CH ₂ -O (м, 2H)	CH ₃ (с, 3H)	
IIIa	78	199 – 200	8,58	6,15 (8,8)	9H (8,20 – 6,78)	6,01 (4,4)	4,98 и 4,95 (6,2 и 4,6)	5,08 (3,2)	3,86 – 3,78	3,52 – 3,37	–	C ₁₆ H ₁₇ N ₃ O ₅
IIIb	82	157 – 158	8,22	6,99 – 6,68 ^a	8H (8,25 – 6,68)	5,92 (4,4)	уш.с 4,92 ^b	5,08 (2,2)	3,91 – 3,82	3,58 – 3,47	3,83	C ₁₇ H ₁₉ N ₃ O ₆
IIIc	80	200 – 201	8,27	7,14 (8,0)	8H (8,18 – 6,82)	5,97 (4,4)	4,97 и 4,95 (6,2 и 4,6)	5,09 (2,7)	3,89 – 3,81	3,49 – 3,35	–	C ₁₆ H ₁₆ ClN ₃ O ₅
IIIд	75	193 – 194	8,00	7,12 (7,0)	8H (8,18 – 7,06)	5,97 (4,4)	4,97 и 4,94 (6,2 и 4,6)	5,09 (2,9)	3,89 – 3,78	3,61 – 3,44	–	C ₁₇ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₅
IIIe	80	205 – 206	8,80	6,22 (8,8)	8H (8,20 – 6,84)	6,02 (4,4)	4,99 и 4,94 (6,2 и 4,8)	5,08 (3,3)	3,87 – 3,77	3,52 – 3,38	–	C ₁₆ H ₁₆ ClN ₃ O ₅
IIIf	75	212 – 213	8,39	6,00 (9,0)	8H (8,20 – 6,71)	5,98 (4,4)	4,96 и 4,93 (6,2 и 4,8)	5,08 (3,1)	3,92 – 3,69	3,50 – 3,36	3,63	C ₁₇ H ₁₉ N ₃ O ₆
IIIg	82	192 – 193	8,47	6,09 (8,8)	8H (8,20 – 6,92)	6,09 (4,4)	4,96 и 4,93 (6,2 и 4,8)	5,08 (3,4)	3,86 – 3,76	3,56 – 3,34	2,16	C ₁₇ H ₁₉ N ₃ O ₅
IIIh	85	155 – 156	8,64	6,79 (8,9)	11H (8,22 – 7,28)	6,05 (4,4)	5,01 и 4,97 (6,2 и 4,8)	5,4 (3,4)	3,93 – 3,85	3,65 – 3,36	–	C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₅

^a Сигнал протона группы NH перекрывается со сложным сигналом ароматических протонов.

^b В указанном соединении сигнал протона группы OH имеет форму уширенного синглета.

меси. Подобрать растворитель для перекристаллизации удалось только в одном случае, в остальных случаях мочевины были очищены колоночной хроматографией. Для очистки использовали колонку 3×40 см, заполненную силикагелем марки SDS (элюент указан в экспериментальной части в каждом конкретном случае). В результате были получены хроматографически и спектрально чистые вещества (таблица).

Строение полученных соединений доказано с помощью ЯМР ¹H спектров. Съемка спектров в ДМСО-d₆ с добавлением 1 – 2 капель дейтерированной воды позволила надежно идентифицировать сигналы протонов OH и NH групп, которые в результате добавления дейтерированной воды исчезают, при этом также в случае соединений IIIb, c, e, g становится более четко виден диастереотопный характер протонов группы CH₂. Вследствие диастереотопного характера протонов группы CH₂ сигнал протона связанной с ней группы OH является дублетом дублетов (таблица).

Экспериментальная химическая часть

Спектры ЯМР ¹H снимали на спектрометре Bruker Avance 200 с рабочей частотой 200 МГц в ДМСО-d₆. Данные элементного анализа соответствуют вычисленным значениям.

(1S,2S)-1-[2-Гидрокси-1-гидроксиметил-2-(4-нитрофенил)этил]-3-фенилмочевина (IIIa).

В круглодонную колбу на 100 мл, снабженную магнитной мешалкой, помещают 30 мл абсолютного бензола, 2,12 г (10 ммоль) диола I и 1,25 г (10,5 ммоль) фенилизоцианата. Полученную смесь при перемешивании оставляют на ночь, затем реакционную смесь отфильтровывают, промывают бензолом, сушат. Выход продукта 2,58 г (78 %). Хроматографическую очистку проводят на колонке, элюент этилацетат — циклогексан, 9:1, затем этилацетат — этанол, 8:2.

Остальные мочевины получили аналогичным образом.

(1S,2S)-1-[2-Гидрокси-1-гидроксиметил-2-(4-нитрофенил)этил]-3-(2-метоксифенил)мочевина (IIIb). Очистку проводят на колонке, элюент этилацетат — хлористый метилен, 7:3.

(1S,2S)-1-[2-Гидрокси-1-гидроксиметил-2-(4-нитрофенил)этил]-3-(2-хлорфенил)мочевина (IIIc). Очистку проводят на колонке, элюент этилацетат — циклогексан 7:3.

(1S,2S)-1-[2-Гидрокси-1-гидроксиметил-2-(4-нитрофенил)этил]-3-(2-трифторметилфенил)мочевина (IIIд). Очистку проводят на колонке, элюент этилацетат — циклогексан, 7:3, затем этилацетат — этанол, 8:2.

(1S,2S)-1-[2-Гидрокси-1-гидроксиметил-2-(4-нитрофенил)этил]-3-(3-хлорфенил)мочевина (IIIe). Очистку проводят на колонке, элюент этилацетат — циклогексан, 9:1, затем этилацетат — этанол, 8:2.

(1S,2S)-1-[2-Гидрокси-1-гидроксиметил-2-(4-нитрофенил)этил]-3-(4-метоксифенил)мочевина (IIIf). Очистку проводят на колонке, элюент этилацетат — циклогексан, 7:3, затем этилацетат — этанол, 7:3.

(1S,2S)-1-[2-Гидрокси-1-гидроксиметил-2-(4-нитрофенил)этил]-3-(4-метилфенил)мочевина (IIIg). Перекристаллизовывают из смеси спирт — этилацетат.

(1S,2S)-1-[2-Гидрокси-1-гидроксиметил-2-(4-нитрофенил)этил]-3-(1-нафтил)мочевина (IIIh). Очистку проводят на колонке, элюент этилацетат — циклогексан, 7:3, затем этилацетат — этанол, 8:2.

Экспериментальная биологическая часть

В качестве тестовых культур микроорганизмов использовали референтные штаммы из американской коллекции типовых культур и штаммы, выделенные из

клинического материала: *S. aureus*, *Ps. aeruginosa*, *E. coli*, *B. cereus*, *Candida spp.*, *Stenotrophomonas maltophilia*. Контроль качества тестируемых микроорганизмов проводили в соответствии с методическими указаниями [7].

Определение спектра антибактериального действия проводили методом двукратных серийных микроразведений в бульоне. В качестве инокулюма использовали бактериальную суспензию, плотность которой соответствовала рекомендациям для каждого вида тестовых культур микроорганизмов при визуальном контроле стандарта мутности до необходимой величины с использованием денситометра [6]. Для приготовления инокулюма использовали чистую суточную культуру микроорганизмов, выросшую на плотной питательной среде. Отбирали однотипные, четко изолированные колонии, с верхушек которых незначительное количество материала переносили в пробирки с физиологическим раствором, доводя плотность инокулюма точно до 0,5 единиц по МакФарленду [7].

Растворы исследуемых веществ для определения чувствительности микроорганизмов к полученным соединениям готовили в соответствии с методическими указаниями [6]. Основные растворы готовили в концентрации 1000 мкг/мл, растворяя первоначально навеску вещества в 2 мл ДМСО с последующим доведением объема водой до 25 мл. В 96-луночные планшеты вносили по 0,1 мкл рабочих растворов исследуемых веществ, после чего прибавляли суспензию тестируемого микроорганизма. Учет результатов проводили визуально, сравнивая рост микрооргани-

мов в присутствии испытываемых веществ с ростом культуры в ячейке, их не содержащей. Для сравнения антимикробного действия использовали левомицетин.

Установлено, что мочевины IIIa – g при концентрации 250 мкг/мл не проявили антимикробную активность в отношении тестируемых культур. У соединения IIIh выявлен слабый антимикробный эффект в отношении *B. cereus* при концентрации 125 мкг/мл и *Candida spp.* при концентрации 250 мкг/мл.

Авторы выражают благодарность господину Леаль Фернанду, Франция (Fernand Leal, France) за помощь в работе и участие в обсуждении результатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. I. Vatsouro, V. Rudzevich and V. Bohmer, *Org. Let.*, **9**(7), 1375 – 1377 (2007).
2. E. Qvinlan, S. E. Matthews and T. Gunnlaugsson, *J. Org. Chem.*, **72**(20), 7497 – 7503 (2007).
3. С. Х. Шарипова, В. П. Зайцев, *Хим.-фарм. журн.*, **20**(7), 858 – 862 (1986); *Pharm. Chem. J.*, **20**(7), (1986).
4. В. П. Зайцев, С. Х. Шарипова, И. И. Журавлёва, *Хим.-фарм. журн.*, **32**(3), 44 – 46 (1998); *Pharm. Chem. J.*, **32**(3), (1998).
5. М. Мадесклер, С. Х. Шарипова, А. В. Лямин и др., *Хим.-фарм. журн.*, **45**(11), 20 – 22 (2011); *Pharm. Chem. J.*, **45**(11), (2011).
6. А. Н. Миронов (ред.), *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Гриф и К, Москва (2012).
7. Методические указания МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам.

Поступила 02.08.13

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF NEW URINE DERIVATIVES OF (1S,2S)-2-AMINO-1-(4-NITROPHENYL)-1,3-PROPANEDIOL

M. Madesclaire¹, P. Coudert¹, A. V. Lyamin², S. Kh. Sharipova², Yu. V. Zaitseva², and V. P. Zaitsev^{3*}

¹ University d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France;

² Samara State Medical University, Samara, 443099 Russia;

³ Samara State University, Samara, 443011 Russia;

* e-mail: zvaleri.47@mail.ru

A series of new urea derivatives of (1S,2S)-2-amino-1-(4-nitrophenyl)-1,3-propanediol have been synthesized and their antimicrobial activity has been studied. Among eight ureas synthesized, only one compound exhibited weak antimicrobial activity with respect to *B. cereus* and *Candida* species.

Keywords: (1S,2S)-2-amino-1-(4-nitrophenyl)-1,3-propanediol; ureas; antimicrobial activity.