

Б. Д. Грищук¹, В. Н. Яцюк¹, В. С. Барановский¹, Е. В. Покрышко², С. И. Климнюк²**СИНТЕЗ И ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОДУКТОВ ТИОЦИАНАТОАРИЛИРОВАНИЯ АМИДОВ АКРИЛОВОЙ И МЕТАКРИЛОВОЙ КИСЛОТ СОЛЯМИ ДИФЕНИЛ- И ФЕНИЛЕНБИСДИАЗОНИЯ**¹ Тернопольский национальный педагогический университет им. В. Гнатюка, Украина, Тернополь² Тернопольский государственный медицинский университет им. И. Я. Горбачевского, Украина, Тернополь

2-Тиоцианато-(2-метил)-3-(4-(3-)-тиоцианатофенил)пропионамиды проявляют достаточно высокую антимикробную активность в отношении стафилококков, кишечных палочек, дрожжевых грибов и псевдомонад, которая практически отсутствует у бистиоцианатоамидов на основе бензидина и его производных.

Ключевые слова: соли бисдiazония; тиоцианатоарилрование; моно- и бистиоцианатоамиды; противомикробные свойства; синтез.

Среди синтезированных ранее продуктов анионарилирования производных акриловой и метакриловой кислот (эфиров, нитрилов, амидов) найдены вещества с эффективными противомикробными свойствами [1–4]. Так, в работе [5] показано, что 2-тиоцианато-(2-метил)-3-арилпропионамиды обладают выраженным антиканцерогенным действием, а продукты гетероциклизации этих тиоцианатоамидов — аминопроизводные тиазол-4-она проявляют достаточно высокую противогрибковую активность.

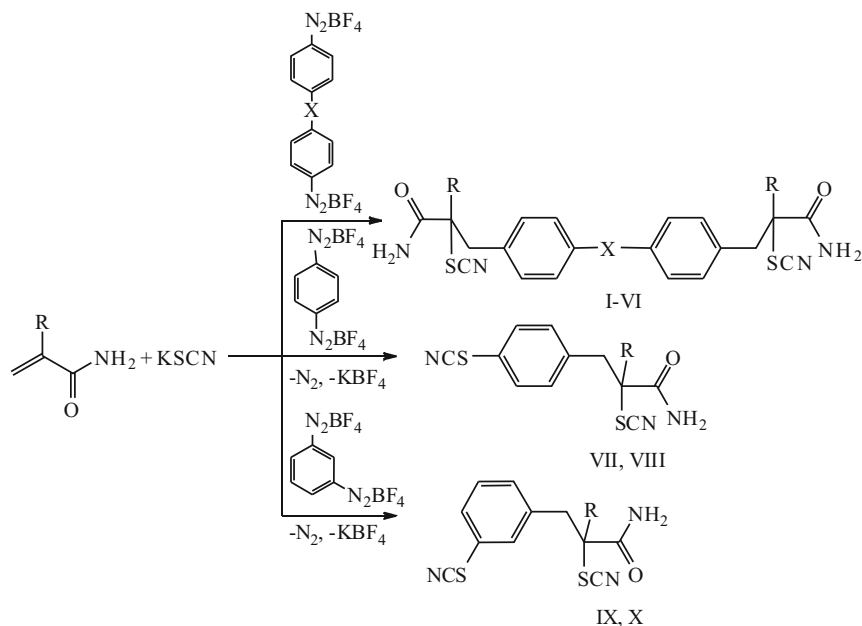
Развивая исследования в данном направлении, мы изучили взаимодействие солей бисдiazония на основе бензидина и его производных с амидами акриловой и метакриловой кислот в присутствии роданид-анионов, и получили продукты тиоцианатоарилрования по 2 диазогруппам. В случае же использования в реакции тетрафторборатов *n*- и *m*-фениленбисдiazония образовались продукты тиоцианатоарилрования по одной диазогруппе с одновременным замещением второй на

тиоцианатную группу по Зандмейеру. Синтез данных соединений можно представить следующей схемой.

Тиоцианатоарилрование протекает в водно-ацетонной (1:2–2,5) среде в присутствии каталитических количеств тетрафторбората меди(II) при –30...–10 °С. Оптимальное соотношение реагентов соль бисдiazония — амид — роданид калия — катализатор составляет 1,0:2,2:2,2:0,03. Выходы моно- и бистиоцианатоамидов составляют 40 и 63 % соответственно. Реакции также сопровождаются образованием соответственно *n,n'*-дителиоцианатодифенилов (метанов, сульфонов) и *n*-(*m*-)дителиоцианатобензолов в количестве 15–25 %.

Выходы, константы и данные ЯМР ¹H спектров синтезированных моно- и бистиоцианатоамидов (I–X) представлены в табл. 1.

Спектры ЯМР ¹H соединений I–X содержат сигналы протонов ароматических ядер в области 7,95–7,05 м.д. Протоны метиленовых групп продук-



R = H (I–III, VII, IX); X = –(I, IV), CH₂ (II, V), SO₂ (III, VI)

тов тиоцианатоарилрования акриламида и метакриламида проявляются 2 дублетами дублетов или 2 дублетами с химическими сдвигами соответственно в областях 3,36–3,12, 3,16–2,92 и 3,50–2,93 м.д. Протоны же метиновых групп, связанных с тиоцианатной группой, образуют триплеты в области 4,27–4,19 м.д., а метильные протоны метакрилового фрагмента проявляются синглетами 1,86–1,80 м.д.

Экспериментальная химическая часть

Спектры ЯМР ^1H получены в ДМСО- d_6 или CDCl_3 на приборе Varian Mercury (400 МГц), внешний стандарт ТМС. Индивидуальность синтезированных со-

единений устанавливали методом ТСХ на пластинках Silufol UV-254 (элюенты бензол — метанол, 3–4:1; метанол — бензол — ацетон, 1:2–3:1). Данные элементного анализа соответствуют вычисленным значениям.

3,3'-(4,4'-Дифенил)бис(2-тиоцианатопропионамид) (I). К 2,8 г (40 ммоль) акриламида, 1,4 г (4 ммоль) гексагидрата тетрафторбората меди(II) и 4,0 г (41 ммоль) роданида калия в 100 мл водно-ацетоновой смеси (1:3) прибавляют в течение 1 ч 7,5 г (19,5 ммоль) тетрафторбората *n,n'*-дифенилбисдиазония. Азот выделяется при –15...–20 °С в течение 1,5 ч. После прекращения выделения азота в реакционную смесь прибавляют 30 мл воды и экстрагируют

Таблица 1
Выходы, константы и данные ЯМР ^1H спектров 3,3'-[4,4'-дифенил(метан, сульфон)бис(2-тиоцианато-(2-метил)пропионамидов)] (I–VI) и 2-тиоцианато-(2-метил)-3-(4-(3-тиоцианатофенил)пропионамидов) (VII–X)

Соединение	Ar	R	Выход, %	T. пл., °C *	Брутто-формула	Спектр ЯМР ^1H , δ, м.д.
I	-C ₆ H ₄ -C ₆ H ₄ -	H	58	138	C ₂₀ H ₁₈ N ₄ O ₂ S ₂	7,75, 7,48 (с, 4H, NH ₂), 7,53, 7,23 (д, 8H, -C ₆ H ₄ -C ₆ H ₄ -), 4,23 (т, 2H, CH(SCN)), 3,25, 3,07 (дд, 4H, CH ₂)
II	-C ₆ H ₄ -CH ₂ -C ₆ H ₄ -	H	55	141	C ₂₁ H ₂₀ N ₄ O ₂ S ₂	7,77, 7,45 (с, 4H, NH ₂), 7,08 (с, 8H, -C ₆ H ₄ -CH ₂ -C ₆ H ₄ -), 4,21 (т, 2H, CH(SCN)), 3,92 (с, 2H, -C ₆ H ₄ -CH ₂ -C ₆ H ₄ -), 3,12, 2,92 (дд, 4H, CH ₂)
III	-C ₆ H ₄ -SO ₂ -C ₆ H ₄ -	H	63	179	C ₂₀ H ₁₈ N ₄ O ₄ S ₃	7,78, 7,44 (с, 4H, NH ₂), 7,95, 7,53 (д, 8H, -C ₆ H ₄ -SO ₂ -C ₆ H ₄ -), 4,27 (т, 2H, CH(SCN)), 3,36, 3,16 (дд, 4H, CH ₂)
IV	-C ₆ H ₄ -C ₆ H ₄ -	CH ₃	61	155	C ₂₂ H ₂₂ N ₄ O ₂ S ₂	8,06, 7,78 (с, 4H, NH ₂), 7,44, 7,19 (д, 8H, -C ₆ H ₄ -C ₆ H ₄ -), 3,43, 3,07 (д, 4H, CH ₂), 1,85 (с, 6H, CH ₃)
V	-C ₆ H ₄ -CH ₂ -C ₆ H ₄ -	CH ₃	49	164	C ₂₃ H ₂₄ N ₄ O ₂ S ₂	7,84, 7,53 (с, 4H, NH ₂), 7,05 (с, 8H, -C ₆ H ₄ -CH ₂ -C ₆ H ₄ -), 3,89 (с, 2H, -C ₆ H ₄ -CH ₂ -C ₆ H ₄ -), 3,17, 2,93 (д, 4H, CH ₂), 1,85 (с, 6H, CH ₃)
VI	-C ₆ H ₄ -SO ₂ -C ₆ H ₄ -	CH ₃	58	196	C ₂₂ H ₂₂ N ₄ O ₄ S ₃	7,94, 7,67 (с, 4H, NH ₂), 7,83, 7,39 (д, 8H, -C ₆ H ₄ -SO ₂ -C ₆ H ₄ -), 3,34, 3,01 (д, 4H, CH ₂), 1,86 (с, 6H, CH ₃)
VII	<i>n</i> -C ₆ H ₄	H	51	148	C ₁₁ H ₉ N ₃ OS ₂	8,00, 7,76 (с, 2H, NH ₂), 7,59, 7,35 (д, 4H, -C ₆ H ₄ -), 4,25 (т, 1H, CH(SCN)), 3,39, 3,07 (дд, 2H, CH ₂)
VIII	<i>n</i> -C ₆ H ₄	CH ₃	63	151	C ₁₂ H ₁₁ N ₃ OS ₂	8,18, 7,93 (с, 2H, NH ₂), 7,63, 7,38 (д, 4H, -C ₆ H ₄ -), 3,50, 3,16 (д, 2H, CH ₂), 1,84 (с, 3H, CH ₃)
IX	<i>m</i> -C ₆ H ₄	H	40	119	C ₁₁ H ₉ N ₃ OS ₂	6,01, 5,78 (с, 2H, NH ₂)*; 7,44, 7,39–7,34, 7,27 (д, м, д, 4H, -C ₆ H ₄ -), 4,19 (т, 1H, CH(SCN)), 3,23, 2,99 (дд, 2H, CH ₂)
X	<i>m</i> -C ₆ H ₄	CH ₃	44	128	C ₁₂ H ₁₁ N ₃ OS ₂	6,07, 5,88 (с, 2H, NH ₂)*; 7,48, 7,44–7,38, 7,32 (д, м, д, 4H, -C ₆ H ₄ -), 3,38, 3,31 (д, 2H, CH ₂), 1,80 (с, 3H, CH ₃)

* Вещества перекристаллизованы из метанола.

Таблица 2
Антимикробные свойства 3,3'-[4,4'-дифенил(метан, сульфон)бис(2-тиоцианато-(2-метил)пропионамидов)] (I–VI) и 2-тиоцианато-(2-метил)-3-(4-(3-тиоцианатофенил)пропионамидов) (VII–X)

Соединение	Ar	R	МИК, мкг/мл				
			<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>
I	-C ₆ H ₄ -C ₆ H ₄ -	H	250,0	250,0	125,0	н/а	250,0
II	-C ₆ H ₄ -CH ₂ -C ₆ H ₄ -	H	250,0	500,0	125,0	н/а	250,0
III	-C ₆ H ₄ -SO ₂ -C ₆ H ₄ -	H	62,5	125,0	62,5	н/а	125,0
IV	-C ₆ H ₄ -C ₆ H ₄ -	CH ₃	125,0	250,0	250,0	н/а	250,0
V	-C ₆ H ₄ -CH ₂ -C ₆ H ₄ -	CH ₃	250,0	500,0	125,0	н/а	250,0
VI	-C ₆ H ₄ -SO ₂ -C ₆ H ₄ -	CH ₃	125,0	250,0	62,5	500,0	125,0
VII	<i>n</i> -C ₆ H ₄	H	15,6	7,8	31,2	н/а	15,6
VIII	<i>n</i> -C ₆ H ₄	CH ₃	15,6	15,6	15,6	н/а	15,6
IX	<i>m</i> -C ₆ H ₄	H	31,2	7,8	31,2	н/а	15,6
X	<i>m</i> -C ₆ H ₄	CH ₃	15,6	7,8	31,2	н/а	31,2
Контроль (диметилформамид)		н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а

н/а — не активно.

50 мл диэтилового эфира. Вытяжки промывают водой, сушат безводным хлоридом кальция. После упаривания эфира твердый остаток выдерживают при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ до полной кристаллизации. Полученную твердую фазу перекристаллизуют из метанола. Получают 4,7 г (58 %) соединения I с т. пл. $138\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Аналогично получают соответствующие бистиоцианатоамиды (II – VI) с использованием тетрафтороборатов бисдiazония на основе диаминодифенилметана и диаминодифенилсульфона.

2-Тиоцианато-3-(4-тиоцианатофенил)пропионамид (VII). К 2,8 г (40 ммоль) акриламида, 0,2 г (0,5 ммоль) гексагидрата тетрафторобората меди(II) и 3,9 г (40 ммоль) роданида калия в 100 мл водно-ацетонной (1:2,5) смеси прибавляют в течение 1,5 ч 5,6 г (18 ммоль) тетрафторобората *n*-фенилбисдiazония. Азот выделяют при $-20\text{...}-23\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 1 ч. Выделение целевого продукта проводят аналогично соединению I. Получают 2,4 г (51 %) соединения VII с т. пл. $148\text{ }^{\circ}\text{C}$. Таким же образом получают тиоцианатоамиды VIII – X.

Экспериментальная биологическая часть

Антимикробную активность соединений I – X изучали методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде — мясоептонном бульоне (МПБ) с pH 7,2 – 7,4, по отношению к следующим штаммам: грамположительным коккам (*S. aureus* ATCC 6538), спорообразующим палочкам (*B. subtilis* ATCC 6633), грамотрицательным палочкам (*E. coli* ATCC 25922 и *P. aeruginosa* ATCC 9027), бактериям и дрожжевым грибам (*C. albicans* ATCC 885 – 653). Для приготовления исходного разведения 10 мг исследуемого соединения растворяли в 0,1 мл диметилформамида (ДМФА) и к полученному раствору прибавляли 0,9 мл дистиллированной воды. Непосредственно перед опытом маточные растворы соединений разводили в 2 мл МПБ. В каждую пробирку вносили 0,2 мл взвеси тест-культур с концентрацией микробных тел 10^5 в 1 мл по Мак Фарленду. Посевы подвергали инкубации при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 18 – 24 ч после чего визуально оценивали наличие роста для определения минимальной ингибирующей концентрации исследуемых соединений. Каждый опыт повторяли 10 раз. В качестве контроля использовали диметилформамид.

Результаты обрабатывались методом вариационной статистики.

Антимикробные свойства синтезированных соединений I – X, которые изучены в диапазоне концентраций 500 – 3,9 мкг/мл, представлены в табл. 2. Анализ этих данных свидетельствует об существенном различии чувствительности микроорганизмов к синтезированным моно- и бистиоцианатоамидам, а также отсутствию у последних эффективных противомикробных свойств.

Выполненные исследования показали, что наиболее чувствительными к действию веществ VII – X были кишечные палочки *E. coli*, рост которых подавлялся в разведениях 7,8 – 15,6 мкг/мл. По отношению к стафилококкам, псевдомонадам и дрожжеподобным грибам рода *Candida* эти соединения также проявляли достаточно высокую антимикробную активность (МИК = 15,6 – 31,2 мкг/мл). Все синтезированные соединения полностью индифферентны к культурам *B. subtilis*.

Таким образом, модификация ароматического ядра 2-тиоцианато-3-арилпропионамидов за счёт введения тиоцианатной группы способствует существенному усилению противомикробных свойств. Наличие в структуре соединений I – VI второго тиоцианатоамидного фрагмента приводит к существенному снижению и фактической потере противомикробной активности. Возможно, это связано с увеличением молекулярных масс данных соединений, что отрицательно влияет на их растворимость в питательных средах и снижает способность к проникновению сквозь клеточные мембраны микроорганизмов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Б. Д. Гришук, Н. Г. Проданчук, П. М. Горбовой и др., *Хим.-фарм. журн.*, **24**(2), 139 – 140 (1990); *Pharm. Chem. J.*, **24**(2), 143 – 145 (1990).
2. Б. Д. Гришук, С. И. Климнюк, Г. Я. Загричук и др., *Хим.-фарм. журн.*, **33**(3), 30, 31 (1999); *Pharm. Chem. J.*, **33**(3), 143 – 144 (1999).
3. Б. Д. Гришук, Л. И. Власик, В. С. Барановский и др., *Хим.-фарм. журн.*, **36**(2), 30 – 32 (2002); *Pharm. Chem. J.*, **36**(2), 29 – 31 (2002).
4. Б. Д. Гришук, В. С. Барановский, С. И. Климнюк, *Фармацевтический часопис*, **4**(20), 117 – 126 (2011).
5. Б. Д. Гришук, В. С. Барановский, С. И. Климнюк, *Хим.-фарм. журн.*, **45**(9), 96 – 99 (2011); *Pharm. Chem. J.*, **45**(9), 532 – 535 (2011).

Поступила 10.12.13

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE PRODUCTS OF THIOCYANATOARYLATION OF ACRYLIC AND METHACRYLIC ACID AMIDES BY DIPHENYL- AND PHENYLENEBISDIAZONIUM SALTS

B. D. Grishchuk¹, V. N. Yatsyuk¹, V. S. Baranovskii¹, E. V. Pokryshko², and S. I. Klimnyuk²

¹ V. Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University, 46027 Ternopil, Ukraine

² I. Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University, 46001 Ternopil, Ukraine

2-Thiocyanato-(2-methyl)-3-(4-(3-)-thiocyanatophenyl) propanamides possess relatively high antimicrobial activity with respect to strains of staphylococci, *E. coli*, yeast fungi, and pseudomonades. At the same time, this activity is virtually absent for bistiocyanatoamides based on benzidine and its derivatives.

Keywords: bisdiazonium salts; thiocyanatoarylation; monothiocyanatoamides; bistiocyanatoamides; synthesis; antimicrobial properties.