

СИНТЕЗ ТА АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ НОВИХ ФОСФОНІЄВИХ ПОХІДНИХ НАФТАЛЕНУ

А.В.Малішевська, О.М.Букачук, С.Є.Дейнека

Буковинська державна медична академія
Чернівецький національний університет ім. Ю.Федьковича

Здійснено синтез нових фосфонієвих похідних нафталену — оксиму, семі- та тіосемікарбазону 5-ацетилнафтил-1-метилтрифенілфосфонійхлориду. На основі реакцій електрофільного заміщення в нафталіновому ядрі нафтил-1-метилтрифенілфосфонійхлориду одержано ряд нових трифенілфосфонієвих солей. Структура отриманих сполук підтверджена методами УФ, ІЧ-спектроскопії, а також лужним гідролізом. Вивчена антимікробна активність одержаних сполук стосовно 6 тестових культур мікроорганізмів. Установлені деякі закономірності впливу будови на антимікробну активність. Досліджена група речовин проявляє виражену антимікробну активність стосовно *S. aureus* ATCC 25 923 та *B. subtilis* 8236 F 800; низьку або менш виражену — стосовно інших тест-культур мікроорганізмів. Оксим та тіосемікарбазон 5-ацетилнафтил-1-метилтрифенілфосфонійхлориду проявляють меншу активність порівняно з відповідними гідразонами. Введення в нафталінове ядро атома бром практично не впливає на антимікробну активність, а наявність у молекулі 4-х атомів бром приводить до значного підвищення антимікробної активності. Введення сульфогрупи в нафталенове ядро нафтилтрифенілфосфонієвої солі приводить до підвищення антимікробної активності; мінімальні інгібуючі концентрації 5-сульфонафтил-1-метилтрифенілфосфонійбісульфату складають 3,9 мкг/мол відносно *S. aureus* ATCC 25923 і 15,6 мкг/мол відносно *B. subtilis* 8236F 800. З віддаленням трифенілфосфонієвої групи від нафталенового ядра антимікробна активність фосфонієвих солей та їх похідних зменшується.

Незважаючи на те, що відома велика кількість антимікробних, протигрибкових та антисептичних препаратів, проблема пошуку нових ефективних засобів вказаної дії залишається актуальною [5, 9, 10, 12]. При цьому зростає роль досліджень взаємного впливу “будова — біологічна активність” [2]. Проведення логіко-структурного аналізу в певних групах речовин дозволить вести

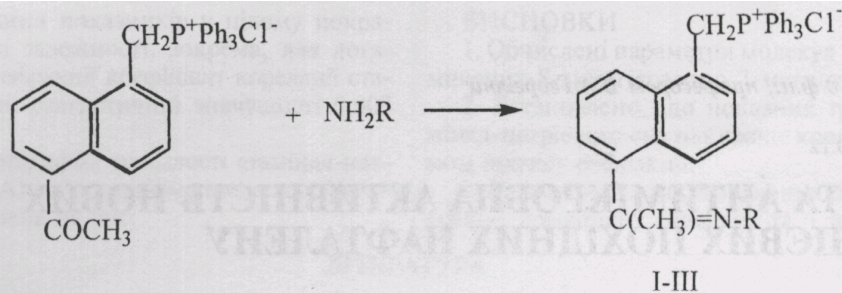
цілеспрямований синтез у цих групах, зосередити зусилля на отриманні найбільш перспективних препаратів, які володіють оптимальними показниками антимікробної активності, токсичності та широким спектром дії.

Відомо, що для ряду фосфонієвих солей та їх похідних характерний широкий спектр біологічної активності і зокрема в різній мірі виражена протигрибкова та антимікробна активність [1, 4, 8, 11, 13, 14]. Фосфонієві солі, які містять конденсовані ароматичні системи в цьому плані, досліджені мало. Попередніми дослідженнями ми встановили, що введення трифенілфосфонійметильної групи в нафталенове ядро приводить до появи у сполуки значної антимікробної активності [3]. Так, нафтил-1-метилтрифенілфосфонійхлорид та нафтил-2-метилтрифенілфосфонійбромід проявляють значну активність щодо *E. coli* ATCC 25 922, *S. aureus* ATCC 25 923, *E. faecalis* ATCC 29 213, *P. aeruginosa* ATCC 27 853, *B. subtilis* 8236 F 800 та *C. albicans* ATCC 885 — 653. Введення в молекулу нафталенфосфонієвої солі ацетильної групи викликає зниження антимікробної активності. Заміна ацетильної групи на гідразонні фрагменти приводить до підвищення антимікробної активності порівняно з нафталенфосфонієвою сіллю, що містить ацетильну групу.

Метою даної роботи є спрямований синтез нових потенційних антимікробних препаратів у ряду нафталену та встановлення закономірностей впливу будови речовин на їх антимікробну активність.

Нами синтезовані оксим (I), семікарбазон (II) та тіосемікарбазон (III) на основі взаємодії 5-ацетилнафтил-1-метилтрифенілфосфонійхлориду з гідроксиламіном, семікарбазидом та тіосемікарбазидом відповідно (схема 1).

Нафтил-1-метилтрифенілфосфонійхлорид [7] вступає в реакції електрофільного заміщення в нафталінове ядро. При нагріванні хлороформного розчину вказаної фосфонієвої солі з еквімолярною кількістю бром нами одержана бромзаміщена фосфонієва сіль (IV). Знаходження атома бром у 5-му положенні нафталенового ядра під-



R = OH (I), NHCONH₂ (II), NHCSNH₂ (III)

Схема 1

тверджено реакцією лужного гідролізу фосфонієвої солі (IV), який проходить при обробці спиртового розчину солі надлишком етилату натрію і приводить до утворення 1-бром-5-метилнафталену та трифенілфосфіноксиду. При застосуванні надлишку бромиду в цій реакції відбувається введення в ядро тільки одного атома бромиду, поряд з цим проходить утворення трибромід-аніона за рахунок адсорбції молекули бромиду бромід-аніоном (схема 2).

При нагріванні розчину нафтил-1-метилтрифенілфосфонійхлориду з двократним надлишком концентрованої сульфатної кислоти нами одержаний 5-сульфонафтил-1-метилтрифенілфосфонійбісульфат (VI). Розчинність солі (VI) значно краща порівняно з розчинністю вихідної та бромфосфонієвих солей (IV) та (V), що зумовлено наявністю сульфогрупи та заміщенням хлор-аніона на бісульфат-іон. При обробці надлишком етилату натрію в спиртовому розчині сульфозаміщеної нафтилфосфонієвої солі (VI) утворюється трифенілфосфіноксид і 1-метил-5-нафтилсульфокислота, які були виділені та ідентифіковані при порівнянні з відомими речовинами за константами та методом ТШХ.

З метою дослідження впливу хімічної будови на антимікробну активність у ряду похідних нафталену нами за відомими методиками [7] були синтезовані трифенілфосфонієві солі на основі 1- та

2-бромацетилнафталену (VII) та (VIII). У вказаних сполуках нафталенове ядро і трифенілфосфонійметиленові групи розділені оксогрупами. На основі одержаних солей синтезовані відповідні п-нітрофенілгідрозони (IX) та (X) та семікарбазон (XI).

Будову всіх синтезованих сполук підтверджено даними елементного аналізу, УФ- та ІЧ-спектрів, їх індивідуальність — методом хроматографування в тонкому шарі. Так, в УФ-спектрах оксиму (I), семікарбазону (II), тіосемікарбазону (III) спостерігаються максимуми поглинання в області 230, 285 нм, характерні для трифенілфосфонієвих солей і максимум спряженого C=N зв'язку при 370 нм (I), 385 нм (II) і 400 нм (III). В ІЧ-спектрах сполук (I) — (VI) ідентифіковані смуги поглинання при 1420-1400, 1150-1105, 960-940, 750-700 см⁻¹, які характеризують трифенілфосфонієві солі. Крім того, ІЧ-спектри сполук (I-III) містять смуги при 1600-1560 см⁻¹, зумовлені наявністю спряженого C=N зв'язку, сполук (IV) та (V) — 650 см⁻¹ (C-Br). В ІЧ-спектрі сульфозаміщеної нафталенфосфонієвої солі (VI) крім смуг поглинання трифенілфосфонієвих солей містяться смуги при 1260-1150, 1080-1020, 700-695, які характеризують наявність в ароматичному ядрі сульфогрупи.

Результати досліджень антимікробної активності синтезованих сполук наведені в таблиці. Встановлено, що оксим (I) та тіосемікарбазон

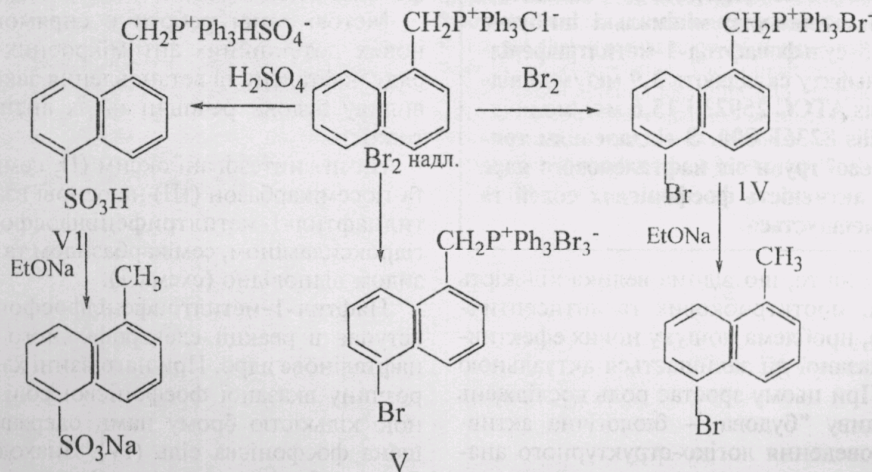


Схема 2

Мінімальні інгібуючі концентрації четвертинних фосфонієвих сполук (мкг/мл)

№	S. aureus	E. coli	E. faecalis	P. aeruginosa	B. subtilis	C.albicans
I	7,8	250	125	500	62,5	125
II	3,9	125	62,5	500	7,8	125
III	7,8	250	125	500	31,2	62,5
IV	7,8	250	62,5	> 500	7,8	125
V	≤3,9	250	31,2	250	≤3,9	125
VI	3,9	125	62,5	500	15,6	125
VII	15,6	>500	500	>500	500	62,5
VIII	15,6	>500	>500	>500	62,5	>500
IX	15,6	≥500	125	>500	7,8	125
X	15,6	500	500	>500	62,5	250
XI	15,6	500	125	500	15,6	125

(III) проявляють меншу активність порівняно з відповідними п-нітрофеніл- та 2,4-динітрофенілгідрозонами [3]. Семікарбазон (II) більш активний щодо E. coli ATCC 25 922, S. aureus ATCC 25 923. Введення в нафталенове ядро атома бром практично не впливає на антимікробну активність, а наявність у молекулі 4-х атомів бром (сполука V) приводить до значного підвищення антимікробної активності. Наявність у нафталеновому ядрі сульфогрупи викликає підвищення антимікробної активності. Ацетилфосфонієві солі (VII та VIII), які містять оксогрупу між нафталеновим ядром та метилтрифенілфосфонієвою групою, а також їх 4-нітрофенілгідрозони (IX та X) та семікарбазон (XI) менш активні порівняно з 5-ацетилафтил-1-метилтрифенілфосфонійхлоридом. Це свідчить про те, що з віддаленням трифенілфосфонієвої групи від нафталенового ядра антимікробна активність фосфонієвих солей та їх похідних зменшується.

Експериментальна хімічна частина

ІЧ-спектри знімали на спектрофотометрі UR-20 у таблетках калію броміду (концентрація 1%). УФ-спектри — на спектрофотометрі СФ-46 для спиртових розчинів концентрації 10^{-5} моль. Хромографування в тонкому шарі проводили на пластинках "Silufol UV-254", проявлення — парами йоду або УФ-світлом.

Оксим 5-ацетилафтил-1-метилтрифенілфосфонійхлориду (I) Суміш 4,8 г (0,01 Моль) 5-ацетилафтил-1-метилтрифенілфосфонійхлориду, 0,7 г (0,01 Моль) гідрохлориду гідроксиламіну та 1,2 г (0,015 Моль) безводного натрію ацетату в 50 мл етанолу кип'ятили протягом 2 год. Після охолодження осад відфільтрували, до фільтрату додавали 100 мл води. Осад світло-коричневого кольору відділяли, промили водою, висушували на повітрі. Очищали переосадженням ефіром з хлороформу. Вихід — 3 г (60%). Т.пл. — 105-107°C. Знайдено,

%, Cl — 7,03; N — 2,56; P — 6,12. $C_{31}H_{27}ClN_3OP$. Обчислено, %: Cl — 7,15; N — 2,82; P — 6,24.

Семікарбазон 5-ацетилафтил-1-метилтрифенілфосфонійхлориду (II). До розчину 4,8 г (0,01 Моль) 5-ацетилафтил-1-метилтрифенілфосфонійхлориду в 50 мл етилового спирту додали 1,1 г (0,01 Моль) гідрохлориду семікарбазиду та 1,2 г (0,015 Моль) безводного натрію ацетату. Реакційну суміш кип'ятили протягом 2-х год. Після охолодження осад відфільтрували. До фільтрату додали 100 мл води. Через 5-6 год. дрібний осад відфільтрували, промили і висушили на повітрі. Очищали перекристалізацією з водного етанолу (1:1). Вихід — 4,1 г (76%). Т.пл. — 164-166°C. Знайдено, %: Cl — 6,45; N — 7,66; P — 5,34. $C_{32}H_{29}ClN_3OP$. Обчислено, %: Cl — 6,59; N — 7,81; P — 5,76.

Тіосемікарбазон 5-ацетилафтил-1-метилтрифенілфосфонійхлориду (III). Суміш 4,8 г (0,01 Моль) 5-ацетилафтил-1-метилтрифенілфосфонійхлориду і 1,3 г (0,01 Моль) тіосемікарбазиду в 50 мл оцтового ангідриду кип'ятили протягом 1 год. Після охолодження до реакційної суміші додали 100 мл ефіру. Через 3-4 год. осад відфільтрували, промили гексаном. Очищали переосадженням ефіром з хлороформу. Вихід — 3,1 г (56%). Т.пл. — 188-190°C. Знайдено, %: Cl — 6,40; N — 7,58; P — 5,59. $C_{32}H_{29}ClN_3SP$. Обчислено, %: Cl — 6,40; N — 7,58; P — 5,59.

5-Бромнафтил-1-метилтрифенілфосфонійбромід (IV). До розчину 4,3 г (0,01 Моль) нафтил-1-метилтрифенілфосфонійхлориду в 40 мл хлороформу додали 1,6 г (0,01 Моль) бром. Реакційну суміш кип'ятили протягом 2-х год. Після охолодження до реакційної суміші додали 100 мл ефіру. Осад відфільтрували, промили гексаном, висушили над безводним кальцієм хлоридом. Вихід — 3,9 г (69%). Т.пл. — 164-166°C. Знайдено, %: Br — 28,12; Br (іон) — 14,42; P — 5,12. $C_{29}H_{32}Br_2P$. Обчислено, %: Br — 28,42; Br (іон) — 14,21; P — 5,51.

5-Бромнафтил-1-метилтрифенілфосфонійтрибромід (V). Одержали аналогічно попередній сполуці з 4,3 г (0,01 Моль) нафтил-1-метилтрифенілфосфонійхлориду і 4 г (0,025 Моль) бромиду. Вихід — 3,2 г (44%). Т.пл. — 184-186°C. Знайдено, %: Br — 44,23; Br (іон) — 32,67; P — 4,12. $C_{29}H_{23}Br_4P$. Обчислено, %: Br — 44,39; Br (іон) — 33,01; P — 4,30.

5-Сульфонафтил-1-метилтрифенілфосфонійбісульфат (VI). До розчину 4,3 г (0,01 Моль) нафтил-1-метилтрифенілфосфонійхлориду в 40 мл хлороформу додали 1,5 мл концентрованої сульфатної кислоти. Реакційну масу кип'ятили протягом 3-х год. Після охолодження до реакційної суміші додали 100 мл ефіру. Олістий осад відділили, розчинили в 25 мл хлороформу, розчин витримали над безводним кальцієм хлоридом протягом 6 год. Додаванням ефіру з невеликих порцій хлороформного розчину осадили фосфонієву сіль (У1). Вихід — 2,15 г (37%). Т.пл. — 203-204°C. Знайдено, %: S — 11,12; P — 5,80. $C_{29}H_{25}S_2O_7P$. Обчислено, %: S — 11,05; P — 5,33.

Нафтил-1-карбометилтрифенілфосфонійбромід (VII) та нафтил-2-карбометилтрифенілфосфонійбромід (VIII) синтезовані за відомою методикою з константами, які відповідають літературним даним [7].

4-Нітрофенілгідрозон нафтил-1-карбометилтрифенілфосфонійброміду (IX) та 4-нітрофенілгідрозон нафтил-2-карбометилтрифенілфосфонійброміду (X) синтезовані при кип'ятінні протягом 3 год. хлороформного розчину 0,01 Моль фосфонієвих солей (VII) та (VIII) і 0,01 Моль 4-нітрофенілгідрозину.

Гідрозон (IX). Вихід — 71%. Т.пл. — 212-214°C. Знайдено, %: N — 6,23; P — 4,45. $C_{36}H_{29}BrN_3O_2P$. Обчислено, %: N — 6,50; P — 4,80.

Гідрозон (X). Вихід — 64%. Т.пл. — 188-190°C. Знайдено, %: N — 6,14; P — 4,19. $C_{36}H_{29}BrN_3O_2P$. Обчислено, %: N — 6,50; P — 4,80.

Семікарбазон нафтил-1-карбометилтрифенілфосфонійброміду (XI). Синтезовано аналогічно сполуці (II) з 0,01 Моль фосфонієвої солі (VII). Вихід — 55%. Т.пл. — 177-179°C. Знайдено, %: Br — 13,66; N — 7,12; P — 5,05. $C_{31}H_{27}BrN_3OP$. Обчислено, %: Br — 14,06; N — 7,34; P — 5,45.

Експериментальна біологічна частина

Антимікробну активність синтезованих речовин вивчали за допомогою мікрометоду з використанням одноразових полістиролових планшеток та мікротитраторів Такачі [6].

У 96 лункові полістиролові планшети вносили по 0,05 мл 4-годинної культури мікроорганізмів (1 мл середовища містив 10^5 КУО; для *S. albicans* використовували розведення мікроорганізмів 1:100 у рідкому середовищі Сабуро).

Платиновою корзинкою об'ємом 0,05 мл набирався матричний розчин дослідної речовини, концентрація якого дорівнювала 1000 мкг/мл і вносилися в першу лунку. В інші лунки першого ряду вносили наступні дослідні речовини таким же чином. Послідовно повертаючи корзинки, отримували розведення у всіх лунках від 500 мкг/мл до 3,9 мкг/мл. Аналогічно проводили експеримент на інших планшетках з наступними тест-культурами мікроорганізмів. Після цього планшети поміщали у вологу камеру в термостат при температурі 37°C, інкубували протягом 24 год (для грибів — відповідно 28°C, 48 год). Результати досліджень наведені у таблиці.

ВИСНОВКИ

- Здійснено синтез нових фосфонієвих похідних нафталену.
- Знайдено, що деякі з отриманих сполук проявляють антимікробну активність стосовно *S. aureus* ATCC 25923 та *B. subtilis* 8236F 800.

ЛІТЕРАТУРА

- Броварець В.С., Борейко В.К., Виджак К.М. та ін. // *Фізіологічно активні речовини*. — 1999. — №1. — С. 33-37.
- Дрожжина Н.А., Гурова А.И. // *Гигиена и санитария*. — 1999. — №3. — С. 61-63.
- Малішевська А.В., Букачук О.М., Дейнека С.Є. // *Бук. мед. вісник*. — 2003. — Т. 7, №3. — С. 123-127.
- Мальшева С.Ф., Кузнецова Э.Э., Белогорова М.А. // *Хим.-фарм. журн.* — 1998. — Т. 32, №11. — С. 24-25.
- Мороз В.М., Палій Г.К., Волянський Ю.Л. // *Вісник Вінницького державного медичного університету*. — 2000. — Т. 4, №2. — С. 260-264.
- Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / Под ред. В.В.Теца*. — М.: Медицина, 2002. — 352 с.
- Шевчук М.И. *Синтез, изучение и синтетическое использование трифенилфосфоранов: Дис. ... докт. хим. наук*. — Черновцы, 1971. — 562 с.
- Ягодинец П.И., Скрипская О.В., Проданчук Н.Г. и др. // *Хим.-фарм. журн.* — 1995. — Т. 29, №1. — С. 49-51.
- Пат. 5925616 США, МКИ⁶ А 61 К 38/00, А 61 К 31/535. — Опубл.: 20.07.99; НКИ 514/2.
- Chen C., Cooper S. // *Abstract for the MAROO Meeting of The American Physical Society*. — 1999. — P. 103.
- Kolodiazhnyi O.I. *Phosphorus Ylides: Chemistry and Application in Organic Synthesis*. — N. I.: John Wiley, 1999. — 555 p.
- Multisource (generic) pharmaceutical products: (1996) WHO Technical Report Series 863*. — P. 114-154.
- Russel M. G., Warren S. // *J. Chem. Soc. Perkin Trans I*. — 2000. — №4. — P. 505-513.
- Sergiev I., Alexieva V., Karanov E. // *Dokl. Bulg. Acad. Nauk*. — 1998. — Vol. 51. — P. 67-70.

UDC 457:546.18:579.22

СИНТЕЗ И АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ
ФОСФОНИЕВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НАФТАЛЕНА

А.В.Малишевская, О.М.Букачук, С.Е.Дейнека

Осуществлен синтез новых фосфониевых производных нафтадена — оксима, семи- и тиосемикарбазона 5-ацетил-1-метилтрифенил-фосфонийхлорида. На основе реакций электрофильного замещения в нафтаденовом ядре нафтил-1-метилтрифенилфосфонийхлорида получены новые трифенилфосфониевые соли. Структура полученных соединений подтверждена методами УФ, ИК-спектроскопии, а также щелочным гидролизом. Изучена антимикробная активность синтезированных соединений относительно 6 тестовых культур микроорганизмов. Установлены некоторые закономерности влияния строения на антимикробную активность. Исследованная группа соединений проявляет выраженную активность относительно *S. aureus* ATCC 25923 и *B. subtilis* 8236F 800, низкую или менее выраженную — относительно других тест-культур микроорганизмов. Оксим и тиосемикарбазон 5-ацетилнафтил-1-метилтрифенилфосфонийхлорида проявляют меньшую активность сравнительно с соответствующими гидразонами. Введение сульфогруппы в нафтаденовое ядро нафтилфосфониевой соли приводит к повышению антимикробной активности; минимальные ингибирующие концентрации 5-сульфонафтил-1-метилтрифенилфосфонийбисульфата составляют 3,9 мкг/мл относительно *S. aureus* ATCC 25923 и 15,6 мкг/мл относительно *B. subtilis* 8236F 800. С удалением трифенилфосфониевой группы от нафтаденового ядра антимикробная активность фосфониевых солей и их производных уменьшается.

UDC 457:546.18:579.22

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF NEW
NAPHTHALENE PHOSPHONIUM DERIVATIVES

A.V.Malishevskaya, O.M.Bukachuk, S.Ye.Deineka

The synthesis of new phosphonium derivatives of naphthalene-oxim, semi- and thiosemicarbazone of 5-acetylnaphthyl-1-methyltriphenyl-phosphonium chloride has been carried out. The new triphenylphosphonium salts have been obtained on the basis of the electrophilic substitution reactions in naphthalene nucleus of naphthyl-1-methyltriphenylphosphonium chloride. The structure of the compounds obtained has been confirmed by the methods of UV, IR-spectroscopy as well as by alkaline hydrolysis. The antimicrobial activity of the compounds synthesized to 6 test cultures of microorganism has been investigated. A consistent pattern "antimicrobial activity — chemical structure" has been established in the series of the compounds synthesized. The substances under research reveal the marked antimicrobial activity to *S. aureus* ATCC 25923 and *B. subtilis* 8236F 800; low or less marked activity to other test cultures of microorganisms. Oxim and thiosemicarbazone of 5-acetylnaphthyl-1-methyltriphenylphosphonium chloride shows the lower activity as compared to the corresponding hydrazones. Introduction of sulphogroup into the naphthalene molecule leads to increase of the antimicrobial activity; the minimal inhibiting concentrations of 5-sulphonaphthyl-1-methyltriphenyl-phosphoniumbisulphate are 3,9 mg per ml for *S. aureus* ATCC 25923 and 15,6 mg per ml for *B. subtilis* 8236F 800. The antimicrobial activity of phosphonium salts and their derivatives decreases with the removal of the triphenylphosphonium group from the naphthalene nucleus.