

А.В. Малішевська¹, О.М. Букачук², С.Є. Дейнека¹

СИНТЕЗ ТА АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ НОВИХ НАФТАЛЕНОВМІСНИХ ЧЕТВЕРТИННИХ ФОСФОНІЄВИХ СПОЛУК

Кафедра мікробіології та вірусології (зав. – проф. С.Є. Дейнека)
Буковинської державної медичної академії¹,
кафедра органічної та фармацевтичної хімії (зав. – доц. О.С. Лявенць)
Чернівецького національного університету ім. Ю.Федьковича²

Резюме. Синтезовано та досліджено антимікробну активність 9 нових нафталеновмісних четвертинних фосфонієвих сполук стосовно 6 тест-культур мікроорганізмів. У ряду синтезованих сполук встановлена закономірність “антимікробна активність – хімічна структура”. Проведено порівняння антимікробної активності нафталеновмісних фосфонієвих сполук з активністю нафталену та відомого антисептика етонію.

Ключові слова: четвертинні фосфонієві сполуки, синтез, антимікробна активність.

Вступ. Незважаючи на наявність значного числа високоактивних антимікробних сполук в Україні й у всьому світі проводиться інтенсивний пошук і всебічне дослідження нових антибактеріальних та антисептичних речовин [3]. Це зумовлено потребами практичної медицини в ефективних антибактеріальних, протигрибкових, протівірусних та антисептичних препаратах для лікування захворювань, збудники яких природно стійкі або набули резистентності до наявних антибіотичних речовин, у зв'язку з чим їх застосування не приносить успіху, а в ряді випадків (особливо при тривалому, нераціональному їх застосуванні) є навіть шкідливим [5].

Відомо, що деякі фосфонієві солі та їх похідні проявляють у різній мірі виражену протигрибкову та протимікробну активність [6]. Фосфонієві солі, що містять конденсовані ароматичні системи, у цьому плані досліджені мало. Описана тільки протимікробна активність нафталеновмісних фосфоніохалконів та гідразонів [1]. Вивчення протимікробної активності нових нафталеновмісних четвертинних фосфонієвих солей та їх похідних представляє також інтерес не лише в практичному, а й у теоретичному плані, оскільки дозволить встановити певні закономірності впливу будови вказаних сполук на їх антимікробну активність.

Мета дослідження. Вивчити синтез та антимікробну активність нових нафталеновмісних фосфонієвих сполук. Визначити вплив будови синтезованих органічних сполук на їх протимікробну активність, що, у кінцевому результаті, дозволить проводити цілеспрямований синтез нових високоєфективних протимікробних препаратів.

Матеріал і методи. Сполуки, що вивчалися, належать до групи четвертинних фосфонієвих солей, які містять багатоядерні ароматичні системи. Вивчено 9 нових сполук, а також для порівняння – нафтален і етоній (належать до групи четвертинних амонієвих сполук; використовуються як антисептик).

Експериментальна хімічна частина. *Нафтил-1-метилтрифеніл-фосфонійхлорид (I)* синтезовано за відомою методикою з 1-хлорметил-нафталену та трифенілфосфіну [2].

Нафтил-1-метилтрифенілфосфонійборфторид (II). До розчину 1 г фосфонієвої солі (I) у 25 мл етанолу додали насичений розчин натрійборфториду до припинення утворення осаду. Осад відфільтрували, промили водою, висушили.

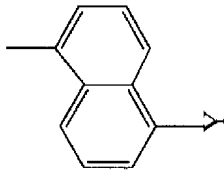
Нафтил-1-метилтрифенілфосфоніййодид (III). До розчину 1 г фосфонієвої солі (I) у 30 мл ацетону додали насичений розчин натріййодиду в ацетоні (0,6 г). Через 3 год неорганічний осад відфільтрували. З фільтрату відігнали розчинник, залишок перекристалізували з 2-пропанолу.

Нафтил-1-метилтрифенілфосфонійбромід (IV). До розчину 1 г фосфонієвої солі (I) у 25 мл етанолу додали водно-етанольний (1:2) розчин 0,5 г натрійброміду. Реакційну суміш кип'ятили протягом 1 год. Після охолодження до реакційної суміші додали 30 мл хлороформу, хлороформний розчин відділили, висушили над безводним хлоридом кальцію. До хлороформного розчину фосфонієвої солі (IV) додали 100 мл ефіру. Осад відфільтрували, промили гексаном, висушили.

Виходи, константи та аналітичні дані солей I–IV наведено в таблиці 1.

5-Ацетилнафтил-1-метилтрифенілфосфонійхлорид (V). До розчину 1 г солі (I) у 20 мл хлороформу додали 0,2 мл хлористого ацетилю і 0,305 г безводного хлориду алюмінію.

Виходи, константи та аналітичні дані четвертинних фосфонієвих похідних нафталену



№ сполуки	X	Y	Вихід, %	Т. топл. ОС	Знайдено, %		Формула	Обчислено, %	
					X	P		X	P
I	Cl	H	80	238-240	8,21	7,12	$\text{C}_{29}\text{H}_{24}\text{ClP}$	8,18	7,06
II	Br	H	74	271-273	-	6,28	$\text{C}_{29}\text{H}_{24}\text{BrP}$	-	6,32
III	I	H	66	251-253	23,72	5,78	$\text{C}_{29}\text{H}_{24}\text{IP}$	23,92	5,83
IV	Br	H	60	244-246	16,44	6,18	$\text{C}_{29}\text{H}_{24}\text{BrP}$	16,52	6,41
V	Cl	COCH_3	71	215-217	7,61	6,10	$\text{C}_{31}\text{H}_{26}\text{ClOP}$	7,30	6,43
VI	Cl	$\text{C}(\text{CH}_3)=\text{NNHC}_6\text{H}_5$	45	146-148	6,42	5,65	$\text{C}_{37}\text{H}_{32}\text{ClN}_2\text{P}^*$	6,20	5,42
VII	Cl	$\text{C}(\text{CH}_3)=\text{NNHC}_6\text{H}_4\text{NO}_2$	66	176-177	5,84	4,92	$\text{C}_{37}\text{H}_{31}\text{ClN}_2\text{O}_2\text{P}^{**}$	5,75	5,02

Примітка. * – % N обчислено – 4,9, знайдено – 5,12; ** – % N обчислено – 6,82, знайдено – 6,76

Реакційну суміш кип'ятили протягом 1,5 год. Після охолодження реакційної суміші неорганічний осад відфільтрували, з фільтрату невеликими порціями ефіру (по 7-10 мл) осадили кристалічну речовину жовтого кольору. Осад відділили, промили гексаном і висушили над безводним CaCl_2 . Вихід, константи та аналітичні дані наведені в табл. 1.

Фенілгідразон 5-ацетилнафтил-1-метилтрифенілфосфоній-хлориду (VI). До розчину солі (V) у 20 мл хлороформу додали 0,22 мл фенілгідразину. Одержану суміш кип'ятили протягом 3 год. Після охолодження до розчину додали 100 мл ефіру. Осад відділили, промили гексаном. Аналогічно одержали п-нітрофенілгідразон солі (V). Виходи, константи та аналітичні дані гідразонів (VI) та (VII) наведені в табл. 1.

Нафтил-2-метилтрифенілфосфонійбромід (VIII). Суміш 1 г 2-бром-метилнафталену та 1,5 г трифенілфосфіну розчинили в 30 мл толуолу та кип'ятили протягом 3 год. Осад відфільтрували, промили ефіром. Вихід 75%. Т.топл. 242-245°С (з стилацетату). Знайдено%: P 6,7; Br 17,13. $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{BrP}$. Обчислено%: P 6,41; Br 16,53.

Нафтил-1-метилтрибутилфосфонійхлорид (IX). Суміш 1 г 1-хлорметилнафталену і 1,6 г трибутилфосфіну кип'ятили в 50 мл бензолу протягом 2 год. Осад відфільтрували, промили гексаном і висушили у вакуумі. Вихід 56%. Т.топл. 154-156°С. (з 2-пропанолу). Знайдено%: Cl 9,67; P 8,33. $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{ClP}$. Обчислено%: Cl 9,35; P 8,17.

Експериментальна біологічна частина. Антимікробну активність дослідних речовин вивчали за допомогою мікрометоду з використанням одноразових полістиролових планшет та мікротитраторів Такачі [4].

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

Платиновою корзинкою об'ємом 0,05 мл пабирався 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 планшетах з наступними тест-культурами мікроорганізмів. Після цього планшети поміщали у вологу камеру в термостат при температурі 37°С, інкубували 24 год (для грибів – відповідно 28°С, 48 год).

Результати дослідження та їх обговорення. Нафтил-1-метилтрифенілфосфонійхлорид (I) синтезовано реакцією 1-хлорметилнафталену з трифенілфосфіном у сухому толуолі. Обробкою спиртового розчину хлориду (I) насиченим розчином натрійборфториду при кімнатній температурі одержано борфторид (II). Обробкою ацетонового розчину фосфонієвої солі (I) за тих же умов водно-ацетоновим розчином натрій-йодиду синтезовано йодид (III). Бромід (IV) одержано заміною хлорид-йону у фосфонієвій солі (I) кип'ятінням її спиртового розчину з водно-спиртовим розчином натрійброміду.

Фосфонієві солі (I-IV) – стійкі кристалічні речовини, розчинні в полярних органічних розчинниках й обмежено розчинні у воді. Їх будову підтверджено хімічним та спектральним аналізом, індивідуальність – методом хроматографування в тонкому шарі.

Фосфонієва сіль (I) легко вступає в реакції електрофільного заміщення. В умовах реакції Фриделя Крафтса [7] відбувається ацилювання нафталенового ядра. При цьому незалежно від кількості ацилюючого агента, температури реакції утворюється 5-монозаміщена ацетилнафталенова сіль (V). В УФ спектрі ацетилфосфонієвої солі (V) другий максимум солі (I) – 270 нм зміщений в ділянці 280 нм, що зумовлено появою ацетильної групи в другому ароматичному ядрі. В ІЧ-спектрі фосфонієвої солі (V) смуги поглинання в ділянці 1450-1500, 1100, 100, 780-750 cm^{-1} дещо уширюються під дією ацетильної групи. Поглинання ацетильної групи накладається з поглинанням нафталенового ядра і в ділянці 1550 cm^{-1} з'являється нова смуга поглинання порівняно зі смугами поглинання фосфонієвої солі (I).

При нагріванні еквімолярних кількостей ацетилфосфонієвої солі (V) і фенілгідразину в розчині хлороформу протягом 3 годин при температурі 60°С утворюється фенілгідразон (VI). У тих же умовах реакція фосфонієвої солі (V) з п-нітрофенілгідрaziном призвела до утворення відповідного гідразону (VII). Одержані нафталеновімісні фосфонієгідразони (VI, VII) – стійкі кристалічні речовини. В їх УФ-спектрах крім максимумів, характерних для вихідної ацетилфосфонієвої солі (V), міститься максимум в ділянці 360-380 нм, що вказує на видовження спряженої системи.

Для порівняння біологічної активності нами синтезована трибутилфосфонієва сіль на основі 1-хлорметилнафталену – сполука (VIII) і трифенілфосфонієва сіль на основі 2-бромметилнафталену – сполука (IX).

У табл. 2 представлені результати вивчення мінімальної інгібуючої концентрації нафталіновмісних фосфонієвих сполук стосовно 6 тест-культур мікроорганізмів. Результати, наведені в табл. 2, свідчать про те, що введення трифеніл-

Антимікробна активність нових нафталеновмісних четвертинних фосфонієвих сполук (мкг/мл)

Код речовини	S.aureus ATCC 25 923	E.coli ATCC 25 922	E.faecalis ATCC 29 213	P.aeruginosa ATCC 27 853	B. subtilis 8236 F 800	C. albicans ATCC 885 – 653
Нафтален	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500
I (13)	7,8	250	62,5	250	7,8	31,2
II (14)	7,8	250	62,5	250	7,8	31,2
III (60)	7,8	500	125	500	31,2	62,5
IV (59)	7,8	500	125	500	31,2	62,5
V (41)	7,8	500	62,5	500	15,6	125
VI (42)	7,8	250	62,5	250	7,8	31,2
VII (43)	7,8	250	62,5	250	7,8	31,2
VIII (24)	7,8	250	62,5	500	15,6	62,5
IX (57)	15,6	500	125	≥ 500	31,2	125
Етоній	15,6	31,2	31,2	62,5	15,6	7,8

фосфонійметильної групи в 1-положення нафталенового ядра призводить порівняно з нафталеном до появи протибактеріальної та протигрибкової активності. При цьому структура аніона практично не впливає на порядок активності, про що свідчать сполуки (I-IV), які проявляють практично однакову протимікробну активність стосовно 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.

Таким чином, трифенілфосфонійметильна група є відповідальною за появу протимікробної активності.

Введення ацетильної групи в 5-положення нафталенового ядра фосфонієвої солі (I) викликає зниження протимікробної активності стосовно E.coli ATCC 25 922, E.coli ATCC 25 922, S.aureus ATCC 25 923, E.faecalis ATCC 29 213, що видно на прикладі сполуки (V). Вказане спостерігається, можливо, за рахунок зменшення розчинності речовини.

Заміна ацетильної групи на гідразонні фрагменти (сполуки VI і VII) викликає підвищення протимікробної активності у відношенні E.coli ATCC 25 922, P.aeruginosa ATCC 27 853, B.subtilis 8236 F 800 та C. albicans ATCC 885 – 653.

Нами встановлено, що положення трифенілфосфонійметильної групи в ядрі нафталену мало впливає на протимікробну активність фосфонієвої солі (сполука IX, яка містить трифенілфосфонійметильну групу в 2-му положенні нафталенового ядра). У відношенні E.coli ATCC 25 922, S.aureus ATCC 25 923, E.faecalis ATCC 29 213 вона проявляє антимікробну активність у таких же концентраціях, відносно P.aeruginosa ATCC 27 853, B.subtilis 8236 F 800 та C. albicans ATCC 885 – 653 – дещо нижчу антимікробну активність.

Заміщення трифенілфосфонієвої групи на трибутилфосфонієву (VIII) призводить до зниження активності стосовно всіх тест-культур мікроорганізмів.

При порівнянні антимікробної активності досліджуваних четвертинних фосфонієвих сполук з відомим антисептиком етонієм видно, що сполуки I-VIII проявляють вищу антимікробну активність стосовно S.aureus ATCC 25 923, а IX – однакову з етонієм. Стосовно B.subtilis 8236 F 800 сполуки I, II, V-VII – проявляли вищу антимікробну активність, а VIII – за антимікробною активністю відповідає етонію. Нижчою антимікробною активністю володіли синтезовані сполуки у відношенні E.coli ATCC 25 922, E.faecalis ATCC 29 213, P.aeruginosa ATCC 27 853 та C. albicans ATCC 885 – 653, якщо порівнювати з етонієм.

При порівнянні нафталену із синтезованими сполуками видно (табл. 2), що він не проявляє антимікробної дії, оскільки його мінімальна інгібуюча концентрація становить більше 500 мкг/мл.

Висновки. 1. З метою розширення арсеналу потенційних біологічно активних речовин синтезовані нові похідні нафталеновмісних фосфонієвих солей.

2. Нафталеновмісні четвертинні фосфонієві сполуки проявляють виражену антимікробну активність стосовно S.aureus ATCC 25 923 та B.subtilis 8236 F 800, менш виражену – стосовно інших тест-культур мікроорганізмів.

3. Встановлено, що антимікробна активність нових нафталеновмісних четвертинних фосфонієвих сполук залежить від хімічної структури.

Перспективи подальших досліджень. Пошук нових антимікробних засобів серед нафталеновмісних четвертинних фосфонієвих сполук залишається актуальним щодо подальшого їх дослідження, як можливих високоефективних антисептичних речовин.

Література. 1. А.с. №1415742 СССР, МКИ С 07 9/54. Азотпро-изводные нафталенфосфониевых солей, проявляющие противомикробную и противогрибковую активность / Патрагий В.К., Шевчук М.И., Проданчук Н.Г. и др.– №4218200.– 1987. 2. Букачук О.М., Рожок О.М., Баранова Л.Я. Синтез та роторегулююча активність нових похідних трифеніл- фосфонієвих солей // Наук. вісн. Чернівецьк. ун-ту.– 1997.– вип. 16.– С.137 – 147. 3. Мороз В.М., Палій Г.К., Волянський Ю.Л. Досягнення та стратегія дослідження нових вітчизняних лікарських антисептичних препаратів // Вісн. Вінницьк. нац. мед. ун-ту.– 2000.– Т4, №2.– С.260 – 264. 4. Орлова Г.М., Гивенталь Н.И., Богданова Л.Ф. Определение чувствительности псевдомонад к химиотерапевтическим препаратам микрометодом в жидкой синтетической среде // Антибиотики и химиотерапия.– 1989.– Т 34, №10.– С.736 – 739. 5. Палій Г.К., Геслен Шуаеб Бен Мохамед Салах, Чеснокова А.А. и др. Микробиологическая характеристика антисептиков / / Вісн. Вінницьк. нац. мед. ун-ту.– 2002.– №2.– С.332 – 333. 6. Тарасова Р.И., Воскресенская О.В., Семина И.И. и др. Синтез и фармакологические свойства фосфорилациетогидразонов и фосфорил-ацетогидразинов // Хим.фармац. ж.– 2002.– Т 36, №6.– С.17–20. 7. Титце Л., Лихер Т. Preparativnaya organicheskaya khimiya.– М.: Мир, 1999.– 704 с.

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF NEW NAPHTHALENE – CONTAINING QUATERNARY PHOSPHONIUM COMPOUNDS

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

Abstract. The authors have synthesized and investigated the antimicrobial activity of 9 new naphthalene – containing phosphonium compounds pertaining to 6 test cultures of microorganisms. A consistent pattern “antimicrobial activity – chemical structure” has been established in the series of synthesized compounds. A comparison of the antimicrobial naphthalene – containing phosphonium compounds with the activity of naphthalene and a known antiseptic – ethonium has been carried out.

Key words: quaternary phosphonium compounds, synthesis, antimicrobial activity.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivsi)
Ye. Fed'kovich National University (Chernivsi)

Buk. Med. Herald.– 2003.– Vol. 7, №3.– P.123–127.

Надійшла до редакції 12.03.2003 року