

УДК 547.241:547.789

СИНТЕЗ, АНТИОКСИДАНТНА ТА АНТИБАКТЕРІАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ФЛУОРОАЛКІЛЗАМІЩЕНИХ ТІАЗОЛІДИНОНІВ ТА ТІАЗИНАНОНІВ, ЩО МІСТЯТЬ АМІНОФОСФОНАТНИЙ АБО АМІНОКАРБОКСИЛАТНИЙ ФРАГМЕНТ

І.П.Єленіч, Ю.В.Рассукана, Я.Я.Хомутник, М.М.Корнет*, О.А.Бражко*, А.Д.Синиця, П.П.Онисько

Інститут органічної хімії НАН України
02660, м. Київ, вул. Мурманська, 5. E-mail: onysko@rambler.ru

* Запорізький національний університет

Ключові слова: тiazолідинони; тiazинанони; бензотiazинанони; флуороалкіл; амінофосфонати; амінокарбоксилати; біологічна активність

Циклоконденсацією флуороалкілзаміщених імінофосфонатів та імінокарбоксилатів, $R_FCH(R)=NH$ [$R = (EtO)_2P(O), COOMe, R_F = CF_3, CHF_2$], з тiоєгліколевою, 3-меркаптопропіоною або тiосалициловою кислотою синтезовано 2-R-2-R_F-4-оксо-тiazолідини, тiazинани та бензотiazинани, що містять фрагмент амінофосфонової або амінокарбонової кислоти та флуороалкільну групу біля С-2 атома гетероциклу. Проведено первинний скринінг сполук на антиоксидантну та антибактеріальну активність. Антиоксидантну активність визначали методом, що базується на аутоокисненні адреналіну, а антибактеріальну – методом двократних серійних розведень з використанням бульйону Хоттинґера. Вивчені сполуки проявляють тільки незначний антиоксидантний ефект та є малоактивними по відношенню до досліджених штамів бактерій *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *B. subtilis* та *St. aureus*. Сполуки з діетоксифосфонільною або метоксикарбонільною групою біля С-2 атома п'яти- або шестичленного гетероциклу загалом проявляють подібну активність. Для 2-флуороалкілзаміщених 4-тiazолідинон- або 4-бензотiazинанон фосфонатів виявлено значний приріст біомаси культур порівняно з контролем, що може знайти застосування для стимулювання росту продуцентів біологічно активних сполук. Сполуки з фрагментом тiazинанону або бензотiazинанону проявляють прооксидантний ефект, що може стати основою для прояву протипухлинної та антимікробної активності.

SYNTHESIS, THE ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF FLUOROALKYL SUBSTITUTED THIAZOLIDINONES AND THIAZINANONES INCORPORATING AN AMINOPHOSPHONATE OR AMINOCARBOXYLATE FRAGMENT

I.P.Yelenich, Yu.V.Rassukana, Ya.Ya.Khomutnyk, M.M.Kornet, O.A.Brazhko, A.D.Synytsya, P.P.Onys'ko
Key words: thiazolidinones; thiazinanones; benzothiazinanones; fluoroalkyl; aminophosphonates; aminocarboxylates; biological activity

2-R-2-R_F-4-oxo-thiazolidines, thiazinanes, and bezothiazinanes incorporating a fragment of aminophosphonic or aminocarboxylic acid and a fluoroalkyl group at C-2 atom of the heterocycle have been prepared by cyclocondensation of the corresponding iminophosphonates or iminocarboxylates, $R_FCH(R)=NH$ [$R = (EtO)_2P(O), COOMe, R_F = CF_3, CHF_2$], with mercaptoacetic, 3-mercaptopropionic or thiosalicylic acid. The primary screening of the compounds on the antioxidant and antibacterial activity has been carried out. The antioxidant activity has been determined by the method based on auto-oxidation of adrenaline; the antibacterial activity has been investigated by the method of double serial dilution with the use of Hottinger broth. The compounds investigated show only an insignificant antioxidant effect and the low activity towards the strains of such bacteria as *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *B. subtilis* and *St. aureus*. Compounds bearing diethoxyphosphonyl or methoxycarbonyl group at C-2 atom of a five- or six-member heterocycle show the similar activity in general. For 2-fluoroalkyl substituted 4-thiazolidinon- or 4-bezothiazinanones a considerable growth of the culture biomass has been revealed, and it can find application for growth stimulation of producers of biologically active compounds. Compounds incorporating the thiazinanones or bezothiazinanones fragment reveal the prooxidant effect, and it can become a basis for manifestation of the antineoplastic or antimicrobial activity.

СИНТЕЗ, АНТИОКСИДАНТНАЯ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ФТОРАЛКИЛЗАМЕЩЕННЫХ ТИАЗОЛИДИНОНОВ И ТИАЗИНАНОНОВ, СОДЕРЖАЩИХ АМИНОФОСФОНАТНЫЙ ИЛИ АМИНОКАРБОКСИЛАТНЫЙ ФРАГМЕНТ

И.П.Еленич, Ю.В.Рассуканая, Я.Я.Хомутник, М.М.Корнет, А.А.Бражко, А.Д.Синиця, П.П.Онисько
Ключевые слова: тiazолідиноны; тiazинаноны; бензотiazинаноны; фторалкіл; амінофосфонаты; амінокарбоксилаты; біологіческая активність

Циклоконденсацией фторалкілзамещенных иминофосфонатов и иминокарбоксилатов, $R_FCH(R)=NH$ [$R = (EtO)_2P(O), COOMe, R_F = CF_3, CHF_2$], с тiоєгліколевой, 3-меркаптопропіоновою или тiосалициловою кислотой синтезированы 2-R-2-R_F-4-оксо-тiazолідини, тiazинаны и бензотiazинаны, содержащие фрагмент амінофосфонової или амінокарбонової кислоти и фторалкільную группу возле С-2 атома гетероцикла. Проведен первичный скрининг соединений на антиоксидантную и антибактеріальную активність. Антиоксидантную активність определяли методом, базирующимся на ауто-

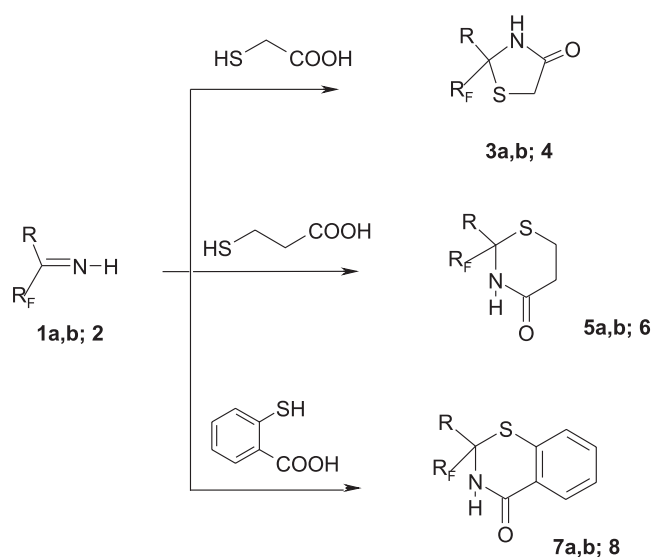
окислени адреналина, а антибактеріальну – методом двукратних серійних розбавлень з використанням бульйона Хоттингера. Изученные соединения проявляют только незначительный антиоксидантный эффект и являются малоактивными в отношении исследованных штаммов бактерий *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *B. subtilis* и *St. aureus*. Соединения с диэтоксифосфонильной или метоксикарбонильной группой возле С-2 атома пяти- или шестичленного гетероцикла в общем проявляют близкую активность. Для 2-фторалкилзамещенных 4-тиазолидинон- или 4-бензотиазинанон фосфонатов выявлен значительный прирост биомассы культур в сравнении с контролем, что может найти применение для стимулирования роста продуцентов биологически активных соединений. Соединения с фрагментом тиазинанона или бензотиазинанона проявляют прооксидантный эффект, что может стать основой для проявления противоопухолевой и противомикробной активности.

Похідні α -амінокислот та їх фосфорних аналогів викликають неослабний інтерес, що обумовлено перш за все широким спектром їх біологічної активності. Особливо важливими в цьому відношенні є сполуки, що містять також один або декілька атомів Флуору оскільки добре відомо, що заміна атома Гідрогену на Флуор або введення трифлуорометильної групи замість метильної може покращити фармакодинамічні та фармакокінетичні характеристики з одночасною зміною електронних, ліпофільних та стеричних параметрів, а також стійкості до метаболізму [1, 2]. Через це синтез селективно флуорованих аналогів біологічно активних сполук є одним із перспективних сучасних підходів до пошуку ефективних біомедичних препаратів. З іншого боку, похідні тіазолідинонів та тіазинонів виявляють широкий спектр біологічної активності, серед яких, зокрема, виявлені ефективні антиоксиданти, інгібітори ВІЛ-транскриптази, сполуки з протипухлинною, антивірусною, антигістамінною, антиконвульсантною, антигельмінтною, серцево-судинною, протитуберкульозною та іншими типами біоактивності [3, 4], а структурний фрагмент цих гетероциклів використовується при розробці нових біоактивних сполук. Похідні 4-тіазолідонону, зокрема, є перспективними для пошуку протипаразитар-

них агентів [5]. Незважаючи на значну кількість робіт у даній області, тіазолідонони або тіазинони, що містять фосфонатну або карбоксилатну групу біля С-2 атома, до наших досліджень залишались невідомими. Метою даної роботи є синтез та дослідження антиоксидантної та антибактеріальної активності сполук, які поєднують в одній молекулі флуороалкілзаміщені структурні фрагменти тіазолідонону або тіазинону та фармакофорні амінофосфонатні або амінокарбоксилатні залишки.

Недавно нами були розроблені методи синтезу невідомих раніше флуороалкілзаміщених NH-імінофосфонатів (**1**) та імінокарбоксилатів (**2**) і показано, що вони є зручними попередниками для одержання різноманітних ациклічних та гетероциклічних похідних з фармакофорними залишками амінокарбонової або амінофосфонової кислот та флуороалкільними групами [6]. Циклоконденсацією NH-імінів **1, 2** з тіогліколевою кислотою синтезовані відповідні 4-оксо-2-флуороалкіл-тіазолідин-2-фосфонати (**3**) або карбоксилати (**4**), взаємодія з 3-меркаптопропіоновою кислотою приводить до 1,3-тіазинан-4-онів (**5, 6**), а реакція з 2-меркаптобензойною кислотою – до їх бензоаналогів (**7, 8**) (схема) [6].

Антиоксидантну та прооксидантну активність синтезованих сполук визначали методом, що базується на аутоокисненні адреналіну [7, 8]. Дослідження антибактеріальної активності проводили *in vitro* за методикою серійних двократних розведень у рідкому поживному середовищі (бульйон Хоттингера) [9]. Результати визначення антиоксидантної активності наведені в табл. 1, а антибактеріальної активності – в табл. 2. Аналіз одержаних даних свідчить, що досліджені сполуки не проявляють значної антирадикальної активності (% інгібування більше 10) (табл. 1). Разом з тим виявлені сполуки, що мають протилежний ефект – додатково стимулюють утворення вільних радикалів (сполуки з негативним % інгібування) у межах 3-21%. Відомо, що прооксидантний ефект може стати основою для протипухлинної та антимікробної активності. Аналіз результатів експерименту (табл. 1) показав, що прооксидантний ефект є найвищим для сполук, які містять фрагмент бензотіазинанону (**7a,b, 8**) або тіазинанону (фосфонат **5b**). В той же час для тіазолідино-



1a, 3a, 5a, 7a: R = P(O)(OEt)₂, R_F = CF₃
1b, 3b, 5b, 7b: R = P(O)(OEt)₂, R_F = CHF₂
2, 4, 6, 8: R = COOMe, R_F = CF₃

Схема

Таблиця 1

Антиоксидантна активність
синтезованих сполук

Сполука	Концентрація, мкмоль/л	ΔD	Інгібування, %
3a	125	0,424±0,008**	2,5
	25	0,460±0,007**	-5,8
	5	0,483±0,010**	-11
3b	125	0,511±0,005*	1
	25	0,503±0,002*	2,5
	5	0,493±0,012*	4,5
4	125	0,490±0,005*	5
	25	0,506±0,010*	2
	5	0,488±0,010*	5,4
5a	125	0,516±0,003*	0
	25	0,494±0,005*	4,3
	5	0,487±0,007*	5,6
5b	125	0,603±0,008*	-16,9
	25	0,528±0,009*	-2,3
	5	0,496±0,003*	3,9
6	125	0,533±0,009*	-3,3
	25	0,515±0,007*	0
	5	0,514±0,002*	0
7a	125	0,506±0,012**	-16,3
	25	0,488±0,007**	-12,2
	5	0,499±0,009**	-14,7
7b	125	0,442±0,007**	-1,6
	25	0,485±0,008**	-11,5
	5	0,495±0,010**	-13,8
8	125	0,509±0,007**	-17
	25	0,522±0,006**	-20
	5	0,527±0,008**	-21,1
Ацетил- цистейн	125	0,063±0,001**	85,5
	25	0,337±0,011**	22,5
	5	0,437±0,009**	0
Контроль	–	0,516±0,012* 0,435±0,010**	–

нів прооксидантна активність не проявляється (сполуки **3b**, **4**) або є незначною (фосфонат **3a**). Сполуки з діетоксифосфонільною або метоксикарбонільною групою біля С-2 атома п'яти- або шестичленного гетероциклу загалом проявляють подібну активність. В той же час заміна трифлуорометильної групи в тіазинаноні **5a** на дифлуорометильну (сполука **5b**) приводить до появи прооксидантної активності.

Отримані результати антимікробної активності свідчать про те, що синтезовані сполуки у переважній більшості є малоактивними по відношенню до досліджених бактерій (табл. 2). Шта-

Таблиця 2

Антибактеріальна активність
синтезованих сполук

Сполука	Години	Штами бактерій			
		<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>St. aureus</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>
3a	24	+	±	±	+*
	48	+	+	+	+*
3b	24	+	±	±	+
	48	+	+	+	+
4	24	+	±	«250»	+
	48	+	+	+	+
5a	24	+	«250»	«250»	+
	48	+	+	+	+
5b	24	+	±	«250»	+
	48	+	+	+	+
6	24	+	«250»	«250»	+
	48	+	+	+	+
7a	24	+	±	«250»	+
	48	+	+	+	+
7b	24	+	+	±	+*
	48	+	+	+	+*
8	24	+	+	±	+
	48	+	+	+	+
Еталон: Нітроксолін	24	15,6	1,9	31,25	62,5
	48	15,6	1,9	31,25	62,5

Примітки: «+» – сполука в концентрації 250 мкг/мл не пригнічує ріст культури, що вивчалась; «±» – спостерігається пригнічення росту культури; «250» – концентрація, при якій ріст культури відсутній; * – спостерігається збільшення біомаси культури порівняно з контролем.

ми бактерій *E. coli* та *Ps. aeruginosa* виявили резистентність до всіх досліджуваних сполук у діапазоні концентрацій 250-15.625 мкг/мл. Штами *B. subtilis* та *St. aureus* виявилися більш чутливими до дії сполук, але цей вплив поширювався тільки на найвищу концентрацію – 250 мкг/мл, а сполуки переважно пригнічували ріст культур тільки у першу добу, на другу добу ріст культур відновлювався до рівня контролю. Синтезовані сполуки у переважній більшості є малоактивними по відношенню до досліджених штамів. Також слід зазначити, що у деяких випадках спостерігався значний приріст біомаси культур порівняно з контролем (зокрема сполука **3a** та **7b**). При проведенні додаткових досліджень в майбутньому цей ефект може знайти своє застосування для стимулювання росту продуцентів біологічно активних сполук та ін.

Експериментальна частина

Синтез та фізико-хімічні властивості сполук **3a** [10], **3b** [6], **4**, **6** [11], **5a,b**, **7a,b**, **8** [6] описані нами раніше.

Дослідження антиоксидантної активності

Визначення антиоксидантної активності проводили з використанням моделі аутоокиснення адреналіну [8, 9]. У роботі використано 0,1%-ний розчин адреналіну, 0,2 М бікарбонатний буфер рН=10,65. Розчини готувалися на бідистильованій воді. Величина оптичної густини розчинів реєструвалася на спектрофотометрі (НАСН LANGE DR 2800). Контрольні (бікарбонатний буфер + 0,1%-ний розчин адреналіну) та досліджені проби (бікарбонатний буфер + 0,1%-ний розчин адреналіну + розчин речовини) ставились в один і той же день і в однакових умовах. Концентрація речовини в розчині складала 125, 25, 5 мкмоль/л. До 2 мл бікарбонатного буфера додавали 100 мкл 0,1%-ний розчин адреналіну, щільно та швидко перемішували. В подальшому зразки поміщали в спектрофотометр і вимірювали величину оптичної густини (довжина хвилі 347 нм) через кожні 15 секунд упродовж 3-5 хвилин. Дослідження проводилися у п'ятикратній повторюваності. Реакція перебігає при температурі 35-36°C. У якості еталону було використано відомий антиоксидант – ацетилцистеїн.

Про величину антирадикальної активності сполук робили висновок за відсотком інгібування. Відсоток інгібування обчислювали за формулою: $\% \text{інгібування} = [1 - (\Delta D_d / \Delta D_k)] \times 100\%$, де ΔD_d і ΔD_k – різниця оптичної густини швидкості реакції аутоокиснення адреналіну в присутності (дослід) та у відсутності сполуки (контроль), відповідно.

Література

1. Smart B. E. *Journal of Fluorine Chemistry*, 2001, Vol. 109, pp.3-11.
2. Ismail F. M. D. *Journal of Fluorine Chemistry*, 2002, Vol. 118, pp.27-33, and references therein.
3. Amit V., Shailendra K. S. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2008, Vol. 43, pp.897-905.
4. Hua Chen, Le Hao, Mo Zhu, Tianyu Yang, Sinan Wei, Zhanbin Qin, Pingzhu Zhang, Xiaoliu Li *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2014, Vol. 24, No.15, pp.3426-3429.
5. Kryshchshyn A. P., Kamenskyi D. V., Zelisko N. I., Khyliuk D. V., Hrelie F., Lesyk R. B. *Zhurnal organichnoi ta farmatsevtichnoi khimii – Journal of organic and pharmaceutical chemistry*, 2013, Vol. 11, 2(42), pp.57-62.
6. Rassukana Yu. V., Yelenich I. P., Synytsya A. D., Onys'ko P. P. *Tetrahedron*, 2014, Vol. 70, No.18, pp.2928-2937.
7. Hubs'kyi Yu. I., Dunaiev V. V., Bielenichev I. F. *Metody otsinky antyoksydantnykh vlastyvostei fiziologichno aktyvnykh spolyuk pry initsiiuvanni vilno radykalnykh protsesiv u doslidakh in vitro (Methods of estimation of antioxidant activity of physiologically active compounds by initiation of free radical processes in experiments in vitro)*. Kyiv, 2002, 26 p.
8. Syrota T. V. *Voprosy meditsinskoi khimii – Problems of medicinal chemistry*, 1999, No.3, pp.20-29.
9. Briher M. O. *Spravochnik po mikrobiolohicheskim i virusolohicheskim metodam (Handbook on microbiological and virologic methods)*. Moscow, Medicine, 1982, 462 p.
10. Rassukana Yu. V., Kolotylo M. V., Sinitsa O. A., Pirozhenko V. V., Onys'ko P. P., Mikolajczyk M. *Synthesis*, 2007, No.17, pp.2627-2630.
11. Rassukana Yu. V. *Synthesis*, 2011, No.21, pp.3426-3428.

Надійшла до редакції 22.07.2014 р.

Дослідження антибактеріальної активності сполук проводили *in vitro* за методикою серійних двократних розведень у рідкому поживному середовищі (бульйон Хоттингера) [9]. Як тест-культури були використані колекційні штами бактерій: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* – грам позитивні культури, *Escherichia coli* (штам 1257), *Pseudomonas aeruginosa* – грамнегативні культури. Мікробне навантаження готувалось відповідно до оптичного стандарту мутності та складало 500 тисяч мікробних клітин в 1 мл добової культури бактерій. Пробірки із сумішшю ставили в термостат при $t=37^\circ\text{C}$ на 24 год. Облік проводили двічі (через 24 та 48 год). Антимікробну активність оцінювали за мінімальною концентрацією, що пригнічувала ріст бактерій.

Висновки

Синтезовано тіазолідин-4-они, тіазинан-4-они та бензотіазинан-4-они, що містять флуороалкільну та діетоксифосфонільну або метоксикарбонільну групу біля С-2 атома гетероциклу і вивчена їх антиоксидантна та антибактеріальна активність. Встановлено, що вивчені сполуки проявляють тільки незначний антиоксидантний ефект та є малоактивними по відношенню до досліджених штамів бактерій *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *B. Subtilis* та *St. aureus*. Для 2-флуороалкілзаміщених 4-тіазолідинон- або 4-бензотіазинанон фосфонатів виявлено значний приріст біомаси культур порівняно з контролем, що може знайти застосування для стимулювання росту продуцентів біологічно активних сполук. Сполуки з фрагментом тіазинанону або бензотіазинанону проявляють прооксидантний ефект, що може стати основою для прояву протипухлинної та антимікробної активності.