

I.C. Гриценко, Т.О. Олексієнко, Л.М. Малоштан

ПОШУК НОВИХ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК СЕРЕД ПОХІДНИХ 2-АЛКОКСИ-4-МЕТИЛХІНОЛІН-6-БЕНЗИЛСУЛЬФОНУ

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: хіноліни, алкоксихіноліни, сульфоні, синтез, антимікробна активність, гемостатична активність.

Ключевые слова: хинолины, алкоксихинолины, сульфоны, синтез, антимикробная активность, гемостатическая активность.

Key words: quinoline, alkoxyquinoline, sulfone, synthesis, antimicrobial activity, gaemostatic activity.

З метою пошуку нових біологічно активних сполук шляхом нуклеофільного заміщення 4-метил-2-хлорхінолін-6-бензилсульфону синтезовано ряд похідних 2-алкокси-4-метилхінолін-6-бензилсульфону. Вивчено вплив досліджуваних сполук на систему згортання крові та встановлено деякі закономірності зв'язку «структура-активність». Крім того, за результатами мікробіологічного скринінгу встановлено, що отримані сполуки є високоактивними відносно до *C. albicans*, *B. Subtilis*, менш активними до *E. coli* та *P. aeruginosa* та неактивними до *P. vulgaris*.

С целью поиска новых биологически активных соединений путем нуклеофильного замещения 4-метил-2-хлорхинолин-6-бензилсульфона синтезирован ряд производных 2-алкокси-4-метилхинолин-6-бензилсульфона. Изучено влияние исследуемых веществ на систему свертывания крови, а также установлены некоторые закономерности связи «структура-активность». Кроме того, по результатам микробиологического скрининга установлено, что синтезированные соединения высокоактивны по отношению к *C. albicans*, *B. subtilis*, менее активны к *E. coli* и *P. aeruginosa*, неактивны к *P. vulgaris*.

Number of 2-alkoxy-4-methylquinoline-6-benzylsulfon derivatives were synthesized by nucleophilic substitution reaction of 4-methyl-2-chloroquinoline-6-benzylsulfon in order to reveal new biologically active compounds. Haemostatic and anticoagulant activity of these derivatives was studied and some mechanisms of «structure - activity» relationship were revealed. According to the results of microbiological screening it was found that obtained compounds possess high activity in relation to *P. albicans*, *B. subtilis*, less active to *E. coli* and *P. aeruginosa* and inactive in relation to *P. vulgaris*.

При вивченні синтезованих раніше на кафедрі медичної хімії Національного фармацевтичного університету похідних хінолінонів отримано ряд 4-метил-6-алкілсульфоніл-1,2-дигідрохінолін-2-онів, що досліджували на наявність антикоагулянтної/гемостатичної активності. Так, за результатами скринінгового дослідження виділено ряд потенційних сполук з гемостатичною активністю, серед яких неабиякий інтерес представляє сполука 6-бензилсульфоніл-4-метил-1,2-дигідрохінолін-2-он [1]. Тому, продовжуючи дослідження в галузі хімії сульфопохідних на основі гетероциклічної системи хіноліну, цікаво отримати ряд похідних 2-алкокси-4-метилхінолін-6-бензилсульфону. Така хімічна модифікація є доцільною не лише в аспекті пошуку нових гемостатичних засобів [2,3], але і з погляду пошуку сполук з антимікробною активністю, оскільки, як показано раніше, перетворення хінолін-2-онів у відповідні 2-заміщені хіноліни призводить до підвищення їх антимікробної активності [4,5].

МЕТА РОБОТИ

Синтез ряду нових біологічно активних речовин (БАР) 2-алкокси-4-метилхінолін-6-бензилсульфону. Фармакологічне дослідження синтезованих сполук на протимікробну активність,

вивчення їх впливу на систему згортання крові та встановлення взаємозв'язку «структура-біологічна активність».

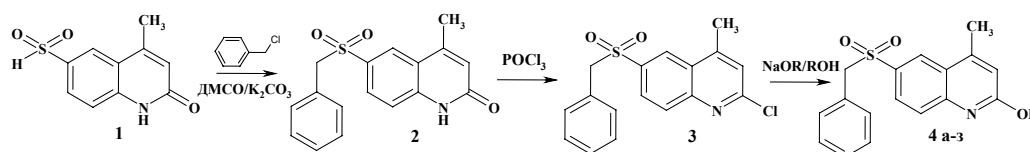
МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для синтезу цільових 2-алкокси-4-метилхінолін-6-бензилсульфону (4 а-з) у якості вихідної сполуки обрано 4-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфінову кислоту (схема 1), методику синтезу якої описано раніше [6].

Шляхом алкілування 4-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфінової кислоти (1) бензилхлоридом у системі ДМСО / K_2CO_3 здійснено синтез відповідного 6-бензилсульфоніл-4-метил-1,2-дигідрохінолін-2-ону (2), при подальшому кип'ятінні якого в середовищі $POCl_3$ отримано відповідний 2-хлорхінолін (3).

Для синтезу алкоксипохідних на сьогодні найбільш практичним методом залишається взаємодія галогенхінолінів з нагрій алкоксидом у відповідному спиртовому середовищі. Як відомо, 2- та 4-хлорхіноліни досить легко реагують та утворюють різні заміщені похідні: метокси-, етокси-, пропокси- тощо [7,8]. Саме такий метод використано для отримання цільових 2-алкокси-4-метилхінолін-6-бензилсульфону (4).

Схема 1



R=a). Me, б). Et, в). Pr,г). iPr, д). Bu, е). iBu, є). Am, ж). iAm, з). Hex

Гемостатичну активність визначають за методом Альтгаузена, що базується на визначенні часу спонтанної появи перших ниток фібрину в крові. Ретельно промивають та суше скло зігрівають на долоні до температури тіла і наносять 2–3 краплі крові. Через кожні 30 секунд перевіряють появу першої нитки фібрину. Як препарат порівняння використовують ϵ -амінокапронову кислоту.

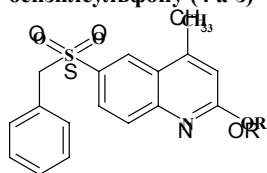
Фармакологічне дослідження синтезованих сполук на протимікробну активність проводять методом дифузії в агар «колодязями». Розчин досліджуваних сполук у димексиді вносять у лунки агару Мюллера-Хінтона на чашці Петрі. Оцінку антимікробної активності проводять шляхом вимірювання діаметру затримки росту мікроорганізмів. Як тест-мікроорганізми використовували референс-штами *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans* та *P. vulgaris*.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані сполуки **4 а-з** являють собою білі кристалічні речовини з чіткими температурами плавлення, розчинні в спиртах, ДМФА і нерозчинні у воді, чистоту яких контролювали тонкошаровою хроматографією (табл. 1). Структуру сполук підтверджено даними ПМР-спектроскопії (табл. 2).

Таблиця 1

Фізико-хімічні характеристики 2-алкокси-4-метилхінолін-6-бензилсульфону (4 а-з)



Сполука	R	Брутто-формула	T _{пл.} , °C	Вихід, %	Rf*
4 а	Me	C ₁₈ H ₁₇ NO ₃ S	161–162	67	0,57
4 б	Et	C ₁₉ H ₁₉ NO ₃ S	164–165	70	0,61
4 в	Pr	C ₂₀ H ₂₁ NO ₃ S	142–143	71	0,63
4 г	i-Pr	C ₂₀ H ₂₁ NO ₃ S	148–149	64	0,56
4 д	Bu	C ₂₁ H ₂₃ NO ₃ S	150–151	75	0,55
4 е	i-Bu	C ₂₁ H ₂₃ NO ₃ S	149–150	68	0,58
4 є	Am	C ₂₂ H ₂₅ NO ₃ S	140–141	65	0,56
4 ж	i-Am	C ₂₂ H ₂₅ NO ₃ S	128–129	73	0,48
4 з	Hex	C ₂₃ H ₂₇ NO ₃ S	130–131	75	0,60

Примітка: система розчинників гексан-ізопропанол-2 (1:1).

Синтезовані похідні 2-алкокси-4-метилхінолін-6-бензилсульфон (**4 а-з**) проявили гемостатичну активність і виявились активнішими відносно до контролю на 19–42% (табл. 3).

Як видно з таблиці 3, сполуки з аліфатичним ланцюгом проявляють виражену гемостатичну дію відносно до контролю. При цьому у ряді похідних з і-пропільним (**4-г**), і-бутильним (**4-е**), і-пентильним (**4-ж**) спостережено зменшення часу згортання крові відносно до контролю, виявлено незначне збільшення часу згортання крові порівняно зі сполуками **4-в**, **4-д**, **4-є** з нерозгалуженими замісниками. Разом з тим, усі досліджувані речовини поступаються за

гемостатичною активністю ϵ -амінокапроновій кислоті. Отже, клас сульфонілпохідних 4-метил-2-алкоксихінолінів є цікавим для подальшого пошуку нових БАР з гемостатичною активністю.

Синтезовані 2-алкокси-4-метилхінолін-6-бензилсульфони (**4 а-з**) вивчено на наявність антимікробних властивостей відносно до стандартних референс-штамів мікроорганізмів (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans* та *P. Vulgaris*). Результати зон затримки росту наведено в таблиці 4.

За результатами попередніх досліджень показано, що більшість мікроорганізмів мають слабку чутливість до 6-бензилсульфоніл-4-метил-1,2-дигідрохінолін-2-ону. Винятком став штам *B. subtilis*, відносно до якого досліджувана сполука виявила помірний рівень антибактеріальної активності [6]. Продовжуючи дослідження в цьому напрямку, вивчено антимікробну дію синтезованих похідних 2-алкокси-4-метилхінолін-6-бензилсульфону.

З отриманих результатів видно, що всі досліджувані сполуки (**4 а-з**) виявились неактивними відносно до *P. vulgaris*, а сполуки **4-б**, **4-в**, **4-г**, **4-є**, **4-ж** та **4-з** виявились також неактивними відносно до *S. aureus*. Разом з тим, сполуки **4-д**, **4-е** проявили достатньо високу активність відносно до *S. aureus* та *E. coli*, а сполуки **4-в**, **4-г**, **4-д**, **4-е** – до *P. Aeruginosa*.

Проте найактивнішими сполуками, що проявили протимікробну активність в одному діапазоні з препаратом порівняння норфлоксацином, виявились сполуки **4-в** та **4-г** відносно до *P. aeruginosa*. Сполуки **4-д** та **4-е** виявили подібну до фурациліну активність відносно до *S. aureus*, *E. coli*, **4-а**, **4-д** та **4-е** – відносно до *B. subtilis*, а **4-в**, **4-г**, **4-д**, **4-е** перевищили активність фурациліну відносно до *P. aeruginosa*. Усі досліджувані сполуки виявились високоактивними відносно до *C. albicans* та показали діаметр затримки росту на рівні фурациліну.

Отже, при порівнянні отриманих результатів з активністю 6-бензилсульфоніл-4-метил-1,2-дигідрохінолін-2-ону можна констатувати, що перехід від хінолін-2-онової структури до 2-алкоксихінолінової призводить до помітного посилення антимікробної активності, особливо відносно до *C. albicans*. Слід зазначити, що 2-алкоксихіноліни проявляють активність на рівні 1,2-дигідрохінолін-2-ону відносно до *E. coli* та є менш активними відносно до *S. aureus*. Так, серед усіх досліджених сполук найперспективнішими є сполуки з бутоксильним та ізобутоксильним замісником (**4-д** та **4-е**) по С-2 положенню хінолінового гетероциклу, що виявили виражену активність відносно до *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans*.

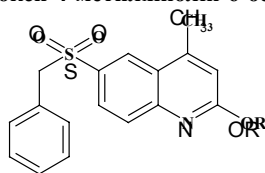
Експериментальна частина

Спектри ¹H ПМР синтезованих речовин записано в розчині ДМСО-d₆ на приладі Varian Mercury VX-200, робоча частота 200 МГц, внутрішній стандарт – ТМС.

4-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфінову кислоту (**1**) та 6-бензилсульфоніл-4-метил-1,2-дигідрохінолін-2-он (**2**) синтезовано за раніше описаною методикою [6].

Загальна методика синтезу 6-бензилсульфоніл-4-метил-2-хлорхінолін (**3**). 3,125 г (0,01 моль) 6-бензилсульфоніл-4-

Спектри ПМР 2-алкокси-4-метилхінолін-6-бензилсульфону (4 а-з)



Сполука	Хімічний зсув, δ, м.ч.						
	H _{хінол.}			4-CH ₃ (3H, c)	-CH ₂ - (2H, c)	H _{аром.} (5H, м)	R
	5-H (1H, c)	7-H, 8-H (2H, м)	3-H (1H, c)				
4-а	8,12	7,91...7,78	7,03	2,54	4,72	7,35...7,08	3,99, с, 3H(-CH ₃)
4-б	8,11	7,89...7,86	7,00	2,52	4,72	7,36...7,07	4,46, кв., 2H, J=6,96×(3) (-CH ₂ -) 1,36, т, 3H, J=7,1×(2) (-CH ₃)
4-в	8,11	7,88...7,77	7,01	2,52	4,72	7,31...7,08	4,36, т, 2H, J=6,6×(2) (-CH ₂ -) 1,77, скст, 2H, J=6,96×(5) (-CH ₂ -) 0,98, т, 3H, J=7,32×(2) (-CH ₃)
4-г	8,1	7,88...7,75	6,95	2,51	4,72	7,32...7,08	1,34, д, 6H, J=6,2 (-CH ₃) ₂ 5,56...5,40, 1H, м (-CH-)
4-д	8,11	7,88...7,77	7,01	2,52	4,72	7,31...7,08	4,41, т, 2H, J=6,59×(2) (-CH ₂ -) 1,74, квінт, 2H, J=7,7×(4) (-CH ₂ -) 1,43, скст, 2H, J=7,7×(5) (-CH ₂ -) 0,93, т, 3H, J=7,1×(2) (-CH ₃)
4-е	8,11	7,88...7,75	7,03	2,52	4,72	7,32...7,07	4,19, д, 2H, J=6,6 (-CH ₂ -) 0,98, д, 6H, J=6,96 (-CH ₃) ₂ 2,19...1,95, м, 1H (-CH-)
4-є	8,11	7,88...7,76	7,01	2,52	4,72	7,34...7,09	4,40, т, 2H, J=6,59×(2) (-CH ₂ -) 1,75, квінт, 2H, J=6,8×(4) (-CH ₂ -) 1,45...1,26, м, 4H (-CH ₂ -) 0,88, т, 3H, J=6,96×(2) (-CH ₃)
4-ж	8,11	7,88...7,77	7,01	2,52	4,72	7,31...7,08	4,45, т, 2H, J=6,4×(2) (-CH ₂ -) 3,16...3,28, 2H, м (-CH ₂ -)* 1,87...1,57, м, 1H (-CH-) 0,93, д, 6H, J=6,22 (-CH ₃) ₂
4-з	8,11	7,88...7,76	7,01	2,52	4,72	7,33...7,07	4,40, т, 2H, J=6,62×(2) (-CH ₂ -) 1,74, квінт, 2H, J=6,6×(4) (-CH ₂ -) 1,50...1,21, м, 6H (-CH ₂ -) ₃ 0,86, т, 3H, J=6,96×(2) (-CH ₃)

Примітка: * – сигнал алкільних протонів перекривається сигналом води розчинника.

Таблиця 3

Вплив 2-алкокси-4-метилхінолін-6-бензилсульфону на час згортання крові

Дані експерименту	Час згортання, хв			
	Сполука	Контроль	Амінокапронова кислота	Гепарин
4а	3,203±0,026	4,200±0,225	1,33±0,035	6,44±0,052
% відносно контролю	-23,7	-	-68,3	53,3
4 б	2,473±0,058	3,447±0,044	1,353±0,034	6,38±0,044
% відносно контролю	-28,3	-	-60,8	85,1
4 в	2,557±0,018	3,653±0,199	1,343±0,07	6,79±0,13
% відносно контролю	-30,0	-	-63,2	85,9
4 г	2,967±0,03	3,987±0,27	1,247±0,038	7,22±0,061
% відносно контролю	-25,6	-	-68,7	81,1
4 д	2,667±0,023	4,260±0,026	1,207±0,035	7,39±0,051
% відносно контролю	-37,4	-	-71,7	73,5
4 е	2,963±0,024	4,160±0,059	1,277±0,02	6,73±0,20
% відносно контролю	-28,8	-	-69,3	61,8
4 є	2,387±0,020	4,163±0,049	1,10 ±0,032	7,33±0,062
% відносно контролю	-42,7	-	-73,6	76,1
4 ж	2,45±0,036	4,167±0,093	1,173±0,019	7,6±0,2
% відносно контролю	-41,2	-	-71,9	82,4
4 з	2,963±0,033	3,67±0,176	1,137±0,039	7,58±0,21
% відносно контролю	-19,3	-	-69,0	106,5

Примітка: «-» – зменшення часу згортання крові порівняно з контролем.

Антибактеріальна активність 2-алкокси-4-метилхінолін-6-бензилсульфону

Сполука	Діаметри зон затримки росту, мм					
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Candida albicans</i> 885/653
4 а	14,14,14	14,14,13	15,14,14	Ріст	17,18,19	22,23,23
4 б	Ріст	15,15,15	14,13,14	Ріст	15,16,16	22,21,21
4 в	Ріст	14,15,14	20,19,20	Ріст	14,15,16	22,22,22
4 г	Ріст	15,16,16	20,19,19	Ріст	16,15,16	22,23,21
4 д	17,18,19	18,19,18	18,18,17	Ріст	18,19,19	22,22,23
4 е	20,18,18	17,18,17	19,18,17	Ріст	18,18,18	21,20,22
4 є	Ріст	15,15,15	14,14,15	Ріст	16,16,17	19,20,20
4 ж	Ріст	15,16,16	15,14,14	Ріст	17,16,16	20,19,20
4 з	Ріст	14,14,15	14,13,13	Ріст	14,15,16	20,21,20
Норфлуксацин	30,31,31	30,29,30	21,20,19	21,20,20	33,32,33	11,12,11
Фурацилін	19,18,18	18,16,17	16,15,16	17,18,18	18,19,19	23,24,24

метил-1,2-дигідрохінолін-2-он (**2**) та 13 мл POCl_3 кип'ять зворотним холодильником протягом 30 хв. Надлишок POCl_3 відганяють під зниженим тиском, реакційну суміш розбавляють водою та додають гідрокарбонат натрію до слабко-лужного середовища. Осад, що утворився, відфільтровують. Кристалізують з етанолу. Вихід 3,05 г (92%).

Загальна методика синтезу 4-метил-2-метоксихінолін-6-бензилсульфону (**4-а**). До 15 мл розчину метанолу та 0,575 г (0,025 моль) натрію металічного додають 3,33 г (0,01 моль) 6-бензилсульфоніл-4-метил-2-хлорхіноліну (**3**), кип'ять зворотним холодильником протягом 2 годин. Відганяють надлишок метанолу під зниженим тиском. Реакційну суміш розбавляють водою та підкислюють кислотою хлористоводневою до $\text{pH}=5$. Осад, що утворився, відфільтровують. Кристалізують з метанолу.

Вихід 2,29 г (70%).

Аналогічно синтезовано сполуки **4 б-з**.

ВИСНОВКИ

1. З метою пошуку біологічно активних речовин синтезовано ряд нових похідних 2-алкокси-4-метилхінолін-6-бензилсульфон шляхом нуклеофільного заміщення 4-метил-2-хлорхінолін-6-бензилсульфону.

2. Вивчено вплив 2-алкокси-4-метилхінолін-6-бензилсульфону на систему згортання крові. Встановлено, що синтезовані сполуки виявляють не високу гемостатичну активність.

3. Первинний мікробіологічний скринінг синтезованих похідних показав, що всі досліджувані сполуки є високо-активними відносно до *C. albicans*. Найперспективнішими виявились сполуки з бутоксильним та ізо-бутоксильним

замісником, що виявили виражену активність відносно до *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* і *C. albicans*.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Синтез 6-алкілсульфоніл-4-метил-1,2-дигідро-2-хінолінонів як потенційних біологічно активних речовин // Т.О. Цанко, В.О. Зубков // X Конф. Молодих учених та студентів-хіміків південного регіону України: тези доп., 16-17 жовт. 2007 р., м. Одеса. – Одеса: Вид-во «Внешрекламсервис», 2007. – С. 59.
2. Chuang H.Y. 2-Amino-3,4,5-trimethoxybenzophenones as potent tubulin polymerization inhibitors / H.Y. Chuang, J.Y. Chang, M.J. Lai et al. // Chem. Med. Chem. – 2011. – Vol. 6, №3. – P. 450–456.
3. Nien C.Y. 5-Amino-2-aryloxyquinolines as highly potent tubulin polymerization inhibitors / Nien C.Y., Chen Y.C., Kuo C.C. et al. // J. Med. Chem. – 2010. – Vol. 53, №5. – P. 2309–2313.
4. Синтез біологічно активних речовин з антимікробною активністю в ряду 4-метил-2-хлорхінолін-6-алкілсульфамідів / І.С. Гриценко, Т.О. Олексієнко, В.О. Зубков, Т.О. Цанко // Вісник фармації. – 2011. – №2 (66). – С. 24–28.
5. Синтез та антимікробна активність сульфаніламідоподібних 2,4,6-тризаміщених хінолінів / І.С. Гриценко, Т.О. Олексієнко, Т.О. Цанко, С.О. Цанко // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2012. – №1 (8). – С. 31–35.
6. Зубков В.О. Синтез та деякі особливості реакційної здатності 6-алкілсульфоніл-4-метил-1,2-дигідрохінолін-2-онів / В.О. Зубков, І.С. Гриценко, Т.О. Цанко // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2009. – Т. 7, вип. 3 (27). – С. 30–34.
7. Mphahlele M.J. 2-Aryl-4-chloro-3-iodoquinolines as substrates for the synthesis of 2,3-diaryl-4-methoxyquinolines / M.J. Mphahlele, V. Mtshemla // J. Chem. Res. – 2008. – Vol. 13, №14. – P. 437–440.
8. Ramasamu A.K. Synthesis and Characterization of Substituted 4-Methoxy-1H-quinolin-2-ones / A.K. Ramasamu, V. Balasubramaniam, K. Mohan // E-Journal of Chemistry. – 2010. – Vol. 7, №3. – P. 1066–1070.

Відомості про авторів:

Гриценко І.С., д. хім. н., професор, зав. кафедри медичної хімії НФаУ.

Олексієнко Т.О., аспірант каф. медичної хімії НФаУ.

Малоштан Л.М., д. біол. н., професор, зав. каф. біології, фізіології та анатомії людини НФаУ.

Поступила в редакцію 11.07.2012 г.