

УДК 615.281 + 547.835

Калин Т.І.¹, Мельник М.В.², Куцик Р.В.³**Особливості гетероциклізації вторинних амінів із циклопентаном і оцтовим альдегідом та дослідження протимікробної активності синтезованих сполук**¹Кафедра хімії, Івано-Франківський національний технічний університет нафти і газу, Івано-Франківськ, Україна²Кафедра біологічної та медичної хімії, Івано-Франківський національний медичний університет, Івано-Франківськ, Україна³Кафедра мікробіології, Івано-Франківський національний медичний університет, Івано-Франківськ, Україна
e-mail: kalyn_tatyana@mail.ru

Резюме. Мета роботи - синтез похідних циклопента[с]хінолінієвих солей із вторинних ароматичних амінів, циклопентанону і оцтового альдегіду та дослідження їх протимікробної активності.

Матеріал дослідження. Похідні хіноліну, що містять анельоване циклопентанове кільце.

Методи дослідження. Органічний синтез, ЯМР ¹H-спектронетрія, елементний аналіз, хромато-мас-спектрометрія, метод дифузії в агар.

Результати дослідження. Встановлено, що гетероциклізацією жирноароматичних амінів з циклопентаном і оцтовим альдегідом утворюються похідні хіноліну з анельованим циклопентановим кільцем. При використанні вторинних ароматичних амінів, крім цільових продуктів, - циклопента[с]хінолінієвих солей - утворюються похідні хінальдину. Проведено дослідження протимікробної активності синтезованих сполук.

Висновки. Встановлено, що синтезовані сполуки мають високу протимікробну активність, що дозволяє використовувати їх як нові протикандидозні препарати.

Ключові слова: гетероциклізація, циклопента[с]хінолінієві солі, протимікробна активність.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.

Відомо, що похідні хіноліну, які містять циклопентанове кільце, виявляють широкий спектр біологічної активності, зокрема, антиканцерогенні [5] та протимікробні властивості [3]. Їх можна використовувати як імунодепресанти [9], препарати для лікування захворювань ЦНС [6]. Тому пошук та моделювання потенційно ефективних нових лікарських засобів, що містять циклопентанове кільце, є актуальною проблемою.

Циклопента[с]хіноліни одержують циклізацією хінолінкарбонових кислот, взаємодією гідроксикетонів або кетокислот та їх похідних з анілінами. При цьому утворюються похідні хінолінів, незаміщені біля атома Нітрогену, а замісники вводили алкілюванням хінолінів [7]. Встановлено [1], що при взаємодії 2-нафтиламінів з альдегідами і циклопентаном утворюються похідні циклопента[с]хінолінів, що містять ароматичний фрагмент у 4-му положенні хінолінієвого кільця. Для одержання похідних циклопента[с]хінолінів, що містять замісники в положенні 5 хінолінового циклу авторами [4] використано модифіковану реакцію Бейера для гетероциклізації вторинних ароматичних амінів з формальдегідом і циклопентаном.

Мета дослідження: завданням даної роботи є синтез циклопента[с]хінолінів, що містять замісники в положенні 5 і метильний замісник у положенні 4 та дослідження впливу замісників на протимікробну активність таких сполук.

Матеріал і метод дослідження

У реакції з ацетальдегідом і циклопентаном використано жирноароматичні (N-метиланілін, метол), ароматичні (дифеніламін, феніл-2-нафтиламін) і гетероциклічні (триазол, фенотіазин) вторинні аміни.

Реакції проводили при нагріванні аміну з циклопентаном в бутанолі з нітробензолом в присутності перхлоратної кислоти. Оцтовий альдегід додавали в реакційну суміш поступово. Після відгонки розчинників з водяною парою з водного розчину випадали кристали, які перекристалізували з етанолу. Смолисті продукти обробляли спиртом і перекристалізували з етанолу.

Будова сполук підтверджена даними мас-спектроскопії

та ЯМР¹H. Спектри ЯМР¹H реєстрували на спектрофотометрі Mercury-400 (Varian) з робочою частотою 400 МГц, розчинник ДМСО - D6. Хімічні зсуви виражено в δ-шкалі відносно тетраметилсилану як внутрішнього стандарту.

Хромато-мас-спектри отримані на приладі PE SCIEX API 150 EX [детектори UV (254 нм) та ELSD].

Контроль за ходом реакції та індивідуальністю одержаних сполук здійснювався за допомогою тонкошарової хроматографії на пластинках Silufol UV-254, елюент: 1-бутанол-вода-оцтова кислота, 5:4:1.

Вивчення протимікробної активності синтезованих сполук виконано двома методами: дифузії в агар і серійних розведень в агарі.

Метод дифузії в агар. В поживному агарі на чашці Петрі виготовляли лунки діаметром 4,0 мм, після чого агар рівномірно засівали стандартизованими суспензіями тест-культур (концентрації 1×10^7 КУО/мл). В лунки агару на чашці Петрі вносили по 20 мкл розчину досліджуваних сполук (концентрація 1000 мкг/мл) у 12,5% водному розчині DMSO. З метою оцінки антибактеріальної активності сполук визначали діаметри зон затримки росту мікроорганізмів. Одержували цифрові зображення посівів на чашках, аналіз яких здійснювали за допомогою комп'ютерної програми UTHSCSA ImageTool 2.0 (The University of Texas Health Science Center in San Antonio, ©1995-1996) [10]. Одержані результати обробляли методами варіаційної статистики.

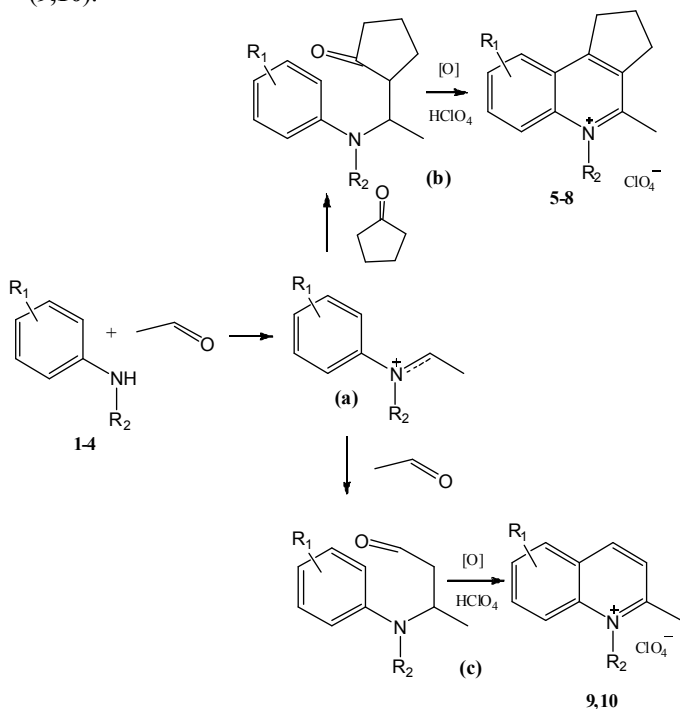
Метод серійних розведень в агарі. Попередньо виготовляли ряди двократних серійних розведень досліджуваних сполук в поживному агарі (кінцеві концентрації 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625 і 7,8 мкг/мл). Тест-штами мікроорганізмів висівали на середовища за допомогою спеціального штамп-реплікатора [2]. Після інкубації чашок в термостаті при 37°C впродовж 1 доби враховували макроскопічні ознаки росту культур, а також наявність мікроколоній при дослідженні під лупою ($\times 10$). За МПК препарату приймали його максимальне розведення, при якому спостерігалася повна відсутність росту мікробного штаму.

Використані мікробні культури. В якості тест-мікроорганізмів використано клінічні ізоляти мікроорганізмів, виділених від пацієнтів гнійно-септичними захворюваннями (*Staphylococcus aureus*, *S. haemolyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella ozaenae*, *Citrobacter freundii*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*) та дріжджоподібних грибів *Candida albicans* і *C. tropicalis* від пацієнтів з різними формами кандидозу.

Результати дослідження та їх обговорення

При взаємодії жирноароматичних амінів (1,2) з циклопентаном, оцтовим альдегідом в присутності перхлоратної кислоти та нітробензолу утворюються похідні 4-метилциклопента[с]хінолінію (5,6). При гетероконденсації дифеніламіну (3) та N-феніл-2-нафтиламіну (4) в умовах реакції утворюються, крім цільових 4-метилциклопента[с]хіноліній перхлоратів, похідні хінальдинів (9,10). Такий висновок зроблений за даними хромато-мас-спектрометрії та ЯМР¹H. Імовірно, реакція проходить через утворення карбокатиону (а), який у випадку N-метилпохідних взаємодіє з циклопентаном, утворюючи амінокетон (б), подальше окиснення якого призводить до утворення солей циклопента[с]хінолінію (5-8). Наявність фенільного замісника біля

атома Нітрогену впливає на проходження конкуруючої реакції і взаємодії проміжного карбокатиону (а) з оцтовим альдегідом з утворенням альдегіду (с), окиснювальна циклізація якого призводить до утворення похідних хінальдину (9,10):



де R₁=H, R₂=Me (1,5), R₁=*n*-OH, R₂=Me (2,6), R₁=H, R₂=Ph (3,7,9), R₁=benzo[*f*], R₂=Ph (4,8,10)

На жаль, використання в умовах синтезу феногіазину (циклічного вторинного аміну) призвело до утворення смолистого продукту. При використанні триазолу виділено вихідний амін.

4,5-Диметил-2,3-дигідро-1H-циклопента[с]хіноліній перхлорат (5). Одержано 5,15 г (34%) кристалів. Тпл.(з етанолу) 252-255°C. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 2,30 – 2,35 м (2H, 2-CH₂), 2,97 с (3H, 4-CH₃), 3,32 т (2H, 1-CH₂, J = 7,6 Гц), 3,59 т (2H, 3-CH₂, J = 7,6 Гц), 4,43 с (3H, NCH₃), 7,97 т (1H, 8-H, J = 7,6 Гц), 8,17 т (1H, 7-H, J = 8,4 Гц), 8,27 д (1H, 9-H, J = 8,0 Гц), 8,54 д (1H, 6-H, J = 9,0 Гц). [M⁺], m/z: 198,0. Знайдено, %N: 4,62. C₁₄H₁₆ClNO₄.

8-Гідрокси-4,5-диметил-2,3-дигідро-1H-циклопента[с]хіноліній перхлорат (6). Одержано 3,52 г (22%) кристалів. Тпл. (з етанолу) 202-204°C. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 2,20 – 2,40 м (2H, 2-CH₂), 2,89 с (3H, 4-CH₃), 3,23 т (2H, 1-CH₂, J = 7,2 Гц), 3,46 т (2H, 3-CH₂, J = 7,2 Гц), 4,37 с (3H, NCH₃), 7,32 с (1H, 9-H), 7,65 д (1H, 6-H, J = 6,0 Гц), 8,41 д (1H, 7-H, J = 6,0 Гц), 10,9 ш.с (1H, OH). [M⁺], m/z: 214,2. Знайдено, %N: 4,27. C₁₄H₁₆ClNO₅.

4-Метил-5-феніл-2,3-дигідро-1H-циклопента[с]хіноліній перхлорат(7). Одержано 1,22 г (17%) кристалів. Тпл.(з етанолу) 212-214°C. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 2,47 – 2,52 м (2H, 2-CH₂), 2,84 с (3H, 4-CH₃), 3,39 т (2H, 1-CH₂, J = 7,8 Гц), 3,71 т (2H, 3-CH₂, J = 7,8 Гц), 7,68 д (1H, Ar, J = 8,0 Гц), 7,80 – 7,92 м (5H, Ar), 8,12 – 8,14 м (2H, Ar), 8,44 д (1H, Ar, J = 8,2 Гц). [M⁺], m/z: 260,1. Знайдено, %N: 3,72. C₁₉H₁₈ClNO₄.

2-Метил-1-фенілхіноліній перхлорат (9). Одержано 1,25 г (19%) кристалів. Тпл.(з етанолу)155-157°C. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 2,72 с (3H, 2-CH₃), 7,25 д (1H, 3-H, J = 11 Гц), 7,73-7,84 м (5H, Ar), 7,99 т (1H, 7-H, J = 8,0 Гц), 8,05 т (1H, 6-H, J = 8,0 Гц), 8,32 д (1H, 5-H, J = 9,0 Гц), 8,50 д (1H, 8-H, J = 9,0 Гц), 9,32 д (1H, 1-H, J = 11,2 Гц). [M⁺], m/z: 220,2. Знайдено, %N: 4,38. C₁₆H₁₄ClNO₄.

4-Метил-5-феніл-2,3-дигідро-1H-бензо[*f*]цикло-

Таблиця 1. Дослідження протимікробної активності похідних 4-метилциклопента[с]хінолінію і хінальдину методом дифузії в агар (діаметри зон затримки росту, мм)

Сполука	<i>Staphylococcus aureus</i> (BSSA)	<i>E. coli</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida tropicalis</i>
Контроль (12,5% DMSO)	6,32±0,42	0	6,42±0,41	5,92±0,74
5	12,13±0,40*	0	20,67±1,52*	12,26±0,66*
6	9,75±0,67*	0	14,67±0,76*	12,63±0,37*
8	17,45±1,20*	0	17,88±1,23*	10,33±0,94*
9	8,29±1,46	0	11,59±0,94*	0
10	21,11±1,07*	0	21,25±2,56*	16,29±0,75*

Примітка: * – p < 0,05 при порівнянні з контролем

пента[с]хіноліній перхлорат (8). Одержано 1,1 г (12%) кристалів. Тпл.(з етанолу) 215-217°C. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 2,50 – 2,56 м (2H, 2-CH₂), 2,96 с (3H, 4-CH₃), 3,49 т (2H, 3-CH₂, J = 7,2 Гц), 4,30 т (2H, 1-CH₂, J = 7,2 Гц), 7,52 д (1H, Ar, J = 7,8 Гц), 7,80 – 7,92 м (5H, Ar), 7,99 т (1H, Ar, J = 7,6 Гц), 8,06 т (1H, Ar, J = 7,6 Гц), 8,32 д (1H, Ar, J = 8,0 Гц), 8,47 д (1H, Ar, J = 8,0 Гц), 8,74 д (1H, Ar, J = 8,2 Гц). [M⁺], m/z: 310,2. Знайдено, %N 3,49. C₂₃H₂₀ClNO₄.

3-Метил-4-фенілбензо[*f*]хіноліній перхлорат (10). Одержано 0,81 г (11%) кристалів. Тпл.(з етанолу) 180-182°C. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 2,65 с (3H, 3-CH₃), 7,20 д (1H, 2-H, J = 9,0 Гц), 7,75-7,88 м (5H, Ar), 7,95 т (1H, 9-H, J = 7,2 Гц), 8,05 т (1H, 8-H, J = 8,0 Гц), 8,27 д (1H, 7-H, J = 7,2 Гц), 8,47-8,51 м (2H, 5-H, 6-H), 9,17 д (1H, 10-H, J = 8,4 Гц), 10,18 д (1H, 1-H, J = 8,4 Гц). [M⁺], m/z: 270,1. Знайдено, %N 3,82. C₂₀H₁₆ClNO₄.

При проведенні мікробіологічних досліджень у першій серії дослідів окремі штами, що репрезентують різні таксономічні групи мікроорганізмів, було протестовано на чутливість до синтезованих сполук методом дифузії в агар (табл. 1). Тестування показало, що вони проявляють помітну протимікробну активність відносно Грам-позитивних мікроорганізмів – стафілококів і дріжджоподібних грибів роду *Candida*. За величиною зон пригнічення росту тест-штамів виразно виділялася сполука **10**. Водночас здатності пригнічувати ріст *E. coli* (антибіотикочутливий штам) у жодній сполуки нами не виявлено.

Методом серійних розведень в агарі встановлено ефективні протимікробні концентрації синтезованих сполук (табл. 2).

Встановлено, що найвищою протимікробною активністю характеризувалася сполука **10**, дія якої поширюється поліантибіотикорезистентні штами стафілококів (МПК 32-64 мкг/мл) і кандід (МПК 16 мкг/мл). Проте вона не виявила помітної активності відносно штамів *E. faecalis*. Антифун-

Таблиця 2. МПК похідних 4-метилциклопента[с]хінолінію і хінальдину (мкг/мл)

Сполуки	MRS A	MRS H	MSSE	<i>E. faecalis</i>	Грам-негативні бактерії *	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida tropicalis</i>
5	>250	>250	>250	>250	>250	125	250
8	250	>250	250	64	>250	250	250
9	500	250	>250	>250	>250	250	500
10	64	32	>250	>250	>250	16	16

Примітки: 1. MRSA – метіцилінрезистентний *S. aureus*, MRS H – метіцилінрезистентний *S. haemolyticus*, MSSE – метіцилінчутливий *S. epidermidis*. 2. *E. coli*, *Klebsiella ozaena*, *Citrobacter freundii*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*

гальні властивості сполук **5**, **8** і **9** були порівняно слабшими. Сполука **8** відрізнялася істотною активністю відносно ентерокока (МПК 64 мкг/мл). До неї також виявив слабку чутливість антибіотикочутливий *S. epidermidis* (МПК 250 мкг/мл). Досліджувані сполуки не виявили протимікробної активності відносно більшості використаних у дослідженнях антибіотикочутливих і антибіотикорезистентних штамів Грам-негативних бактерій. Слабку бактеріостатичну дію в концентрації 250 мкг/мл зареєстровано лише для сполуки **10** відносно *Citrobacter freundii* і для сполуки **8** – відносно *Acinetobacter baumannii*.

Слід відзначити, що в цілому введення у базу структуру хінолінію конденсованого [с]циклопентану здійснює негативний вплив на протимікробні властивості, а [f]бензильного циклу – навпаки, є позитивним. Для прояву даного комбінаційного ряду протимікробних властивостей сполуками N-фенільний залишок принципового значення не має.

Висновки

Гетероциклізацією вторинних амінів з циклопентаном, оцтовим альдегідом в присутності перхлоратної кислоти та нітробензолу одержано N-заміщені 4-метилциклопента[с]хіноліній перхлорати. Замісники у вторинних амінів впливають на регіоселективність реакції. При використанні чисто ароматичних амінів реакція супроводжується утворенням похідних хінальдинію. Дослідження протимікробної активності синтезованих сполук свідчить про їх помітну протистафілококову і антикандидозну активність.

Перспективи подальших досліджень

Синтезовані похідні 4-метилциклопента[с]хінолінію володіють цінними фармакологічними властивостями і можуть бути використані у фармацевтичній промисловості для виробництва фармацевтичних композицій, призначених для використання в медицині.

Література

1. Козлов Н.Г. Синтез 4-арилбензо[ф]циклопента[с]хінолінон / Н.Г. Козлов, Л.А. Попова // Журн. орг. хим. – 1999. – № 4. – С. 628–630.
2. Красильников А.П. Справочник по антисептике / Красильников А.П. - Минск: Выш. шк., 1995. – С.183-187.
3. Протистафілококова активність четвертинних солей циклопента[с]-хінолінію та їхніх стирилів / О.В. Боднарчук, Р.В. Куцик, М.В. Мельник [та ін.]. Фарм. Журнал. – 2011. – №6. – С. 56-60.
4. Циклізація вторинних ароматических амінів с формальдегідом и циклопентаном / Мельник М.В., Туров А.В., Новицкий З.Л. [и др.]. // Журн. общ.химии. – 2006. – Т. 76. – Вып. 4. – С. 668–671.
5. A review on anticancer potential of bioactive heterocycle quinoline/ Obaid Afzal, Suresh Kumar, Md Rafi Haider [et. all.] // European Journal of Med. Chem. – 2014. – Режим доступу.-http://www.sciencedirect.com/science/. – Заголовок з екрану.
6. Distinct Profiles of ± 7 nAChR Positive Allosteric Modulation Revealed by Structurally Diverse Chemotypes. / J.H. Gronlien, M. Hakerud, H. Ween [et all.] // Mol.Pharmacol. – 2007. – Vol. 72. – P. 715–724.
7. Eisch J.J. Studies on nonpyridinoid azaaromatic systems. 7. Synthesis and tautomeric character of cyclopenta[c]quinoline (benzo[c][2]pyridine) / J.J. Eisch, H. Gopal, C.T. Kuo // J. Org. Chem. – 1978. – V. 43. – P. 2190–2196.
8. Lee H. Synthesis and in vitro cytotoxicity of 4-alkyl- or 4-aryl-lamino-substituted cyclopenta[c]quinoline derivatives. / Lee H., Lee J., Yang S. // Arch. Pharm. Res. – 2001. – Vol. 24. – P. 385–389.
9. Synthetic study on novel immunosuppressant KF20444. / Chujo I., Masuda Y., Fujino K., Kato S. [et all.] // Bioorg. Med. Chem. – 2001. – Vol. 9. – P. 3273–3286.

10. UTHSCSA ImageTool 2.0, The University of Texas Health Science Center in San Antonio, ¹1995-1996.-Режим доступу: http://ddsdx.uthscsa.edu/. – Заголовок з екрану.

Калын Т.И.¹, Мельник М.В.², Куцык Р.В.³

Особенности гетероциклизации вторичных аминов с циклопентаном и искусным альдегидом и исследование противомикробной активности синтезированных соединений

¹Кафедра химии, Ивано-Франковский национальный технический университет нефти и газа, Ивано-Франковск, Украина

²Кафедра биологической та медицинской химии, Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Ивано-Франковск, Украина

³Кафедра микробиологии, Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Ивано-Франковск, Украина

e-mail: kalyn_tatyana@mail.ru

Резюме. Цель работы - синтез производных циклопента[с]хинолиниевых солей из вторичных ароматических аминов, циклопентанона и искусного альдегида и исследования их противомикробной активности.

Материал исследования. Производные хинолина, содержащие аннелированное циклопентановое кольцо.

Методы исследования. Органический синтез, ЯМР ¹H-спектрометрия, элементный анализ, хромато-масс-спектрометрия, метод диффузии в агар.

Результаты исследования. Установлено, что при гетероциклизации жирноароматических аминав с циклопентаном и искусным альдегидом образуются производные хинолина с аннелированным циклопентановым кольцом. При использовании вторичных ароматических аминав, кроме целевых продуктов - циклопента[с]хинолиниевых солей - образуются производные хинальдина. Проведено исследование противомикробной активности синтезированных соединений.

Выводы. Установлено, что синтезированные соединения обладают высокой противомикробной активностью, что позволяет использовать их как новые антикандиозные препараты.

Ключевые слова: гетероциклизация, циклопента[с]хинолиниевые соли, противомикробная активность.

T.I. Kalyn ¹, M.V. Melnyk ², R.V. Kutsyk ³

Features of Heterocyclization of Secondary Amines with Cyclopentanone and Acetaldehyde and Researching Antimicrobial Activity of the Synthesized Compounds

¹Department of Chemistry, Ivano-Frankivsk National Technical University of Oil and Gas, Ivano-Frankivsk, Ukraine

²Department of Biological and Medicinal Chemistry, Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

³Department of Microbiology, Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

Abstract. The objective of the research was the synthesis of derivatives of cyclopenta[c]quinolinium salts with secondary aromatic amines, cyclopentanone and acetaldehyde and their antimicrobial activity.

Materials. Quinoline derivatives containing annulated cyclopentane ring.

Methods. Organic synthesis, ¹H-NMR spectrometry, elemental analysis, chromatography-mass spectrometry, agar diffusion method.

Results. Quinoline derivative with annulated cyclopentane ring were formed as a result of heterocyclization of alkylarylamines with cyclopentanone and acetaldehyde. When using secondary aromatic amines the derivatives of quinaldine were also formed in addition to target products - cyclopenta[c]quinolinium salts. An investigation of antimicrobial activity of the synthesized compounds was conducted.

Conclusions. Synthesized compounds were found to have high antimicrobial activity. It allows us to use them as new anticandidal medications.

Keywords: heterocyclization, cyclopenta[c]quinolinium salts, antimicrobial activity.

Надійшла 25.05.2015 року.