



УДК 547.26.057

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОГО РЯДА ТРЕТИЧНЫХ СПИРТОВ

© 2005 г. М. Рут да Кошта*, М. Жоао М. Курто*, Оливия Р. Фуртадо**,
Соня Сальвучински Фейу*, Жозе К. Розейру**

Национальный институт инженерии, технологии и инноваций,
1649-038, Лиссабон, ул. дворца Люмбер, Португалия

*Департамент промышленной химической технологии;

**Лаборатория промышленной микробиологии

Поступила в редакцию 01.12.2004 г. Принята к печати 27.01.2005 г.

Появление различных устойчивых к лекарствам микроорганизмов и известная эффективность фторсодержащих препаратов, включающая их полезные для клиники свойства, сделали обоснованным исследование *in vitro* антимикробной активности нового ряда фторзамещенных триарильных спиртов против человеческих патогенов *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Candida albicans*. Наличие заместителей в ароматических кольцах, так же как их положение, электроотрицательность и размер могут, по-видимому, влиять на преимущественную конформацию молекул и, следовательно, на связывание с соответствующими клеточными рецепторами.

Ключевые слова: спирты; антимикробная активность; лекарственные препараты.

ВВЕДЕНИЕ

Появление обладающих множественной лекарственной устойчивостью микроорганизмов, таких, как устойчивый к метициллину *Staphylococcus aureus* и устойчивые к ванкомицину *Enterococci*, прибавило медицине забот и вызвало спрос на новые антибактериальные препараты [1].

Известно, что гидроксид- и аминоксигруппы, а также ароматические кольца являются структурными элементами многих биологически активных соединений [2]. Можно ожидать, что третичные спирты с ароматическими кольцами у четвертичного атома углерода будут проявлять биологическую активность, так как эти важные функциональные группы должны способствовать взаимодействию с соответствующей молекулой рецептора [2]. Также известно, что фтор придает лекарственным средствам ценные свойства, корректируя их фармакокинетические и фармакодинамические характеристики [2]. Недавно было показано, что замена атома водорода на фтор оказалась очень действенной при построении ингибиторов ферментов; такие ингибиторы показали свою эффективность в борьбе с инфекциями [2]. Фторсодержащие препараты обладают также благоприятными свойствами для клинического использования (см. недавний обзор [3]). Кроме того, сообщалось об эффективной, широкого спектра действия, противогрибковой активности двух новых энантиомерных

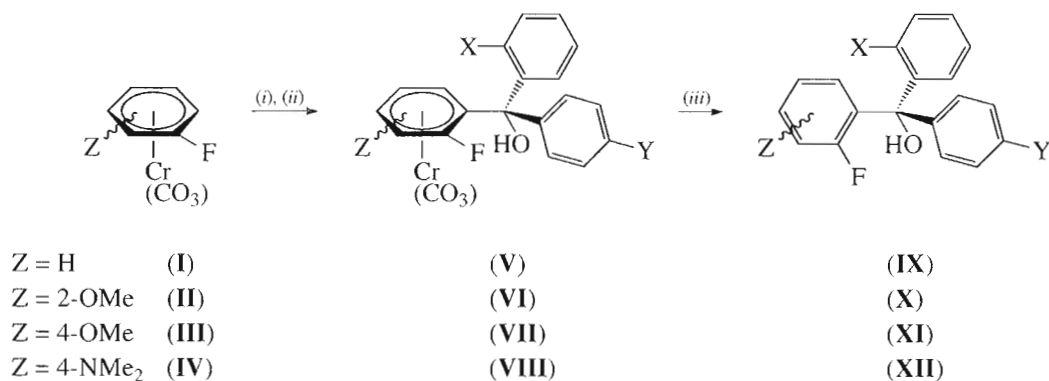
третичных спиртов, содержащих фтор в одном из ароматических колец [4].

Имея в виду доказанную эффективность таких соединений, мы синтезировали галогензамещенные триарильные спирты новых типов (всегда содержащие атом фтора). Цель настоящей работы – определить влияние заместителей в ароматических кольцах, их положения, электроотрицательности и размера на антимикробную активность изучаемых соединений. Результаты применения предложенной нами ранее методики [5, 6] дают полезную информацию об антимикробной активности этих спиртов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Мы изучили антимикробную активность нового ряда третичных спиртов. Исследованные в этой работе третичные спирты (схема) были синтезированы с использованием в качестве субстрата комплексов $(\eta^6\text{-фторарен})\text{Cr}(\text{CO})_3$ [7], так как трикарбонилхром(0) делает возможным полное региоселективное *орто*-депротонирование по отношению к фтору, а это сложная задача в химии свободных аренов [8, 9]. Генерирование карбанионов из замещенных $(\eta^6\text{-фторарен})\text{Cr}(\text{CO})_3$ -комплексов [$(\eta^6\text{-фторбензол})\text{Cr}(\text{CO})_3$, (I); $(\eta^6\text{-2-фторанизол})\text{Cr}(\text{CO})_3$, (II); $(\eta^6\text{-4-фторанизол})\text{Cr}(\text{CO})_3$, (III); $(\eta^6\text{-4-фторанилин})\text{Cr}(\text{CO})_3$, (IV)] с последующим присоединением различных дигалогензамещенных бензофенонов [10] в качестве электрофилов позволило получить необходимые спирты.

Автор для переписки (Dr. Olivia Furtado, INETI/DTIQ (Ed. F), эл. почта: olivia.furtado@ineti.pt; факс: 00 351 21 716 81 00).



(a) X = Cl, Y = Cl; (b) X = Cl, Y = F; (c) X = Br, Y = Cl

Реагенты и условия: *i* – литийдиизопропиламид или алкиллитий/(тетраметилэтилендиамин);
ii – X, Y'-дигалогенбензофенон; *iii* – *hν*, O₂.

Схема. Синтез фторированных третичных спиртов.

Антимикробная активность этих спиртов (соединения (V)–(VIII) и (IX)–(XII)) по отношению к патогенным для человека микроорганизмам *S. aureus*, *Escherichia coli* и *Candida albicans* была исследована в соответствии с известной методикой [5]. Рост микроорганизмов в присутствии ацетона был нормальным. Из-за использования в качестве культуральной среды агара и гидрофобности препаратов они тестировались в больших концентрациях. Соединения, проявившие антимикробную активность, представлены в таблице. Изучение антимикробного действия тестированных соединений показало зависимость между их структурой и активностью. Некомплексные соединения обладают большей активностью по отношению к протестированным микроорганизмам, чем комплексные. Можно предположить, что хромсодержащие

фрагменты могут стерически затруднять доступ к молекуле, в ряду же некомплексных соединений молекулы могут принимать конформации, предпочтительные для связывания с реакционными участками клетки. Предположительно, координированное ароматическое кольцо комплексов может быть заблокировано в одной конформации, как это происходит в некоторых л-комплексах, что мешает эффективному взаимодействию с клеткой.

За исключением вещества (IXa), фторпроизводные спиртов, полученные из соединения (I), оказались неэффективными ингибиторами роста *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans*. 2-Фторанизолильные производные спиртов (VIc), (Xa) и (Xb) (полученные из соединения (II)) оказались более эффективными ингибиторами роста этих микроорганизмов. Это указывает на то, что метоксигруппа в *орто*-положении по отношению к фтору аренового кольца играет важную роль во взаимодействии с соответствующей молекулой рецептора микроорганизма. Это понятно с химической точки зрения, так как известно, что кислород метоксигруппы обладает частичным положительным зарядом вследствие делокализации неподеленной пары электронов кислорода в небольшом ароматическом кольце. После комплексообразования длина связи C–O уменьшается, указывая на приближение ее по характеру к двойной связи, атом кислорода при этом становится более электроположительным. Уменьшение электронной плотности на кислороде приводит к меньшей индуктивно наведенной кислотности его *орто*-протонов [11]. Следовательно, атом фтора в *орто*-положении освобождается для дальнейших взаимодействий.

Таким образом, метоксигруппа, кажется, необходима для эффективного связывания этого ряда соединений с соответствующими клеточными

Антимикробная активность ряда третичных спиртов против *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans*

Соединение	Минимальная концентрация ингибирования, мкмоль мл ⁻¹		
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
(VIc) X=Br, Y=Cl	±	–	–
(VIIb) X=Cl, Y=F	±	–	–
(IXa) X=Cl, Y=Cl	4.5	–	–
(Xa) X=Cl, Y=Cl	±	–	–
(Xb) X=Cl, Y=F	17.3	±	±
(XIb) X=Cl, Y=F	4.3	–	–
(XIIb) X=Cl, Y=F	4.1	–	4.1

“±” – замедление роста микроорганизмов начиная с 17.3 мкмоль мл⁻¹; “–” – отсутствие ингибирования роста.

ми компонентами. С другой стороны, показано, что введение метоксигруппы в *пара*-положение относительно фтора (соединения (VII) и (XI)) приводит к уменьшению активности соответствующих спиртов по сравнению со спиртами 2-фторанизолинового ряда (ср. соединения (Xb) и (XIb)).

Исследование трех различных комбинаций галогенов в бензофеноновых электрофилах показало, что, в общем, спирты с заместителями (2'-Cl, 4"-F) обладают наибольшей активностью. Было показано, что некомплексное соединение (Xb) ингибирует в определенной степени рост трех испытанных микроорганизмов. Это соединение, так же как и соединения (VIIb), (XIb) и (XIb), проявило активность против *S. aureus*. Все эти соединения содержат по два атома фтора. По-видимому, тип заместителей, их размер и положение в ароматическом кольце, так же как и их электроотрицательность, влияют на предпочтительные конформации молекул и их взаимодействие с соответствующими клеточными рецепторами.

Таким образом, при исследовании антимикробной активности нового ряда спиртов было показано, что некоторые соединения из этой серии ингибируют рост *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans*. Все соединения, показавшие антимикробную активность, наиболее активны в отношении *S. aureus*. Строение стенки у этой грамположительной бактерии и у двух других протестированных микроорганизмов, грамотрицательной бактерии *E. coli* и дрожжей *C. albicans*, различно [12].

Известно, что во многих случаях выделяемые из рацемических смесей энантиомеры в отсутствие возможности рацемизации могут обладать высокой и различающейся биологической активностью. Учитывая сказанное выше, следует признать, что применение хиральных трикарбонильных комплексов хрома может быть удобным для получения разнообразных полупродуктов для синтеза энантиомерно чистых третичных спиртов.

В настоящее время мы продолжаем работу с энантиомерно чистыми соединениями этого класса с целью исследовать их биологическую активность против названных и других микроорганизмов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Синтез триарилкарбинолов, описанный в работе [7], показан на схеме. Разрушение комплексов проводили, перемешивая эфирные растворы соответствующих соединений при солнечном освещении на воздухе [13].

Все использовавшиеся микроорганизмы были получены из Коллекции культур промышленных микроорганизмов (LMI-INETI, Лиссабон, Португалия): дрожжи *C. albicans* ССМ 209, грамположительные бактерии *S. aureus* ССМ

335, грамотрицательные бактерии *E. coli* ССМ 270. Культуральная среда: *C. albicans* выращивали на агаре с экстрактом солода (Difco); *S. aureus* и *E. coli* инокулировали в питательном агаре (Difco). Антимикробную активность определяли в соответствии с методикой, описанной С. Фейо и др. [5]. Суспензию микроорганизмов (грибы или бактерии) (1 мл) добавляли к 10 мл жидкой культуральной среды и перемешивали; в каждую лунку плашки вносили по 0.2 мл этой суспензии, а затем по 0.02 мл растворов тестируемых соединений (растворы в ацетоне; концентрация от 0.01 до 17.3 мкмоль мл⁻¹). Такой же объем растворителя добавляли в контрольные лунки. Каждое определение дублировали и проводили в двух повторностях.

Определение противогрибковой активности. Суспензию, содержащую 10⁸ клеток в 1 мл (клетки считали в гематоцитометре), получали в культуре, выращенной на агаре с экстрактом солода в течение 24 ч. Многолуночные плашки инкубировали при 25°C в течение 20–24 ч, затем под микроскопом определяли ингибирование роста колоний.

Определение антибактериальной активности. Суспензию с концентрацией 10⁸ клеток мл⁻¹ получали из микроорганизмов, выращенных на соответствующей культуральной среде. Концентрацию клеток определяли на спектрофотометре UNICAM 8700 при длине волны 620 нм. Концентрацию 10⁵ клеток мл⁻¹ получали при соответствующем разбавлении. Инкубирование проводили при 37°C. Антибактериальную активность определяли, наблюдая ингибирование развития колоний под микроскопом. Критерием ингибирования при определении антимикробной активности было отсутствие роста микробов при наблюдении под световым микроскопом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hong-Xi X., Song F.L. // *Phytother Res.* 2001. V. 15. P. 39–43.
2. Patrick G.L. *An Introduction to Medicinal Chemistry.* Oxford: Oxford University Press, 2001.
3. Ismail F.M.D. // *J. Fluorine Chem.* 2002. V. 118. P. 27–33.
4. Yasohara Y., Miyamoto K., Kizaki N., Hasegawa J. // *Tetrahedron Lett.* 2001. V. 42. P. 3331–3333.
5. Savluchinske Feio S., Roseiro J.C., Gigante B., Marcelo-Curto M.J. // *J. Microbiol. Meth.* 1997. V. 28. P. 201–206.
6. Savluchinske Feio S., Gigante B., Roseiro J.C., Marcelo-Curto M.J. // *J. Microbiol. Meth.* 1999. V. 35. P. 201–206.
7. Costa R.G., Curto M.J., Furtado O.R. // *Synth. Commun.* 2000. V. 30. P. 1115–1137.
8. Jaouen G., Meyer A., Simonneaux G. // *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1975. P. 813–814.
9. Uemura M., Nishikawa N., Hayashi Y. // *Tetrahedron Lett.* 1980. V. 21. P. 2069–2072.
10. Hamazaki Y., Kawabata S., Yamamoto T., Shiraishi Y., Ueno A., Amemiya K., Saga K. US Patent 78/4124726.

11. Slocum D.W., Coffey D.S. // *Tetrahedron Lett.* 1994. V. 35. P. 389–392.
12. Madigan M., Martinko J., Parker J. *Brock Biology of Microorganisms*. Upper Saddle River: Prentice-Hall-International, 2000. P. 69.
13. Davis R., Kane-Maguire L.A. // *Chromium Compounds with η^6 - η^8 Carbon Ligands*. *Comprehensive Organometallic Chemistry* / Eds Wilkinson G., Stone F.G.A., Abel E.W. Oxford: Pergamon Press, 1982. V. III. P. 1001.

Antimicrobial Activity of a New Series of Fluorine-Containing Tertiary Alcohols

M. Rute G. da Costa*, M. João M. Curto*, Olívia R. Furtado*#, Sonia Savluchinske Feio*, and José C. Roseiro**

Fax: 003512171681 00; e-mail: olivia.furtado@ineti.pt

* *Departamento de Tecnologia de Indústrias Químicas, Instituto Nacional de Engenharia, Tecnologia e Inovação, Estrada do Paço do Lumiar, Lisbon, 1649-038 Portugal*

** *Laboratório de Microbiologia Industrial, Instituto Nacional de Engenharia, Tecnologia e Inovação, Estrada do Paço do Lumiar, Lisbon, 1649-038 Portugal*

The *in vitro* antimicrobial activity of a new series of synthetic fluorine-substituted triaryl alcohols against the human pathogens *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Candida albicans* was studied with the aim of overcoming multiple drug resistance and improving the clinical usefulness of antimicrobial drugs. The nature and positions of substituents attached to aromatic rings, as well as their electronegativities and sizes, seem to affect the preferred molecular conformations and, hence, the binding of the compounds to the corresponding cell receptors. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2005, vol. 31, no. 4; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: alcohols, antimicrobial activity, drug research