

Г. О. Торосян (д.х.н., проф., зав. каф.), Н. Р. Оганесян (к.х.н., доц.)

СИНТЕЗ И ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ N,N-ДИЭТИЛАМИДОВ С-АЛКИЛАЦЕТОУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ

Национальный политехнический университет Армении,
кафедра химико-биологических и экологических технологий,
0009, г. Ереван, ул. Теряна, 105, тел. (37493)998830, gagiktorosyan@seua.am

G. O. Torosyan, N. R. Oganessian

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF N,N-DIETHYL AMIDES ALKYLACETOACETIC ACID

National polytechnic university of Armenia
0009, Yerevan, Teryan 105, ph. (37493)998830, e-mail: gagiktorosyan@seua.am

Исследовано алкилирование N,N-диэтиламида ацетоуксусной кислоты в условиях межфазного катализа с использованием 1,3-дихлорбутена-2, бензилхлорида и децилхлорида. Установлено, что селективное моно-С-алкилирование изучаемого амида следует осуществлять в двухфазной каталитической системе «жидкость—жидкость», используя в качестве межфазного катализатора промышленное поверхностное активное вещество из ряда четвертичных аммониевых солей — катамин АБ. С целью получения продукта ди-С,С-алкилирования исходного амида реакцию необходимо проводить в суперосновной среде. Показано, что при введении в структуру амида децильного радикала образующееся соединение проявляет выраженные противомикробные свойства.

Ключевые слова: алкилирование; бензилхлорид; децилхлорид; С,С-диалкилирование; 1,3-дихлорбутен-2; длинноцепочечный углеводородный радикал; N,N-диэтиламид ацетоуксусной кислоты; катамин АБ; межфазный катализ; межфазный катализатор; промышленное поверхностное активное вещество; противомикробная активность; селективное моно-С-алкилирование; система «жидкость—жидкость»; суперосновная среда.

Известно, что амиды ацетоуксусной кислоты (ААУК) обладают широким спектром полезных свойств, в частности, биологической активностью ¹. Известно также, что N,N-диэтиламид ацетоуксусной кислоты в результате четырехкомпонентной реакции по Ганчу превращается в соединение с выраженной биоло-

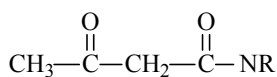
The results on the alkylation of N,N-diethylamide of acetoacetic acid in phase transfer catalysis condition are presented. Here used as the alkyl halides 1,3-dichlorobutene-2, benzyl chloride and, decyl chloride. It was found that selective mono-C-alkylation of the studied amide should be carried out in a two-phase «liquid—liquid» catalytic system. As an phase transfer catalyst was used an industrial surface active substance from a series of quaternary ammonium salts, catamine AB. In order to obtain the product of the di-C-alkylation of the starting amide, the reaction must be carried out in a super basic medium. It was shown that the introduction of a decyl radical into the amide structure gives the compound pronounced antimicrobial properties.

Key words: alkylation; antimicrobial activity; benzyl chloride; catamine AB; C,C-dialkylation; 1,3-dichlorobutene-2; decyl chloride; N,N-diethylamide of acetoacetic acid; industrial surface active compound; long-chain hydrocarbon radical; phase transfer catalysis, phase transfer catalyst; selective mono-C-alkylation; system «liquid—liquid»; super-basic system.

гической активностью ². На наш взгляд, это связано с насыщением структуры исходного амида арил-алкильными группами.

Ранее нами был разработан метод синтеза ААУК, с помощью которого синтезированы соединения 1–4 ³, не обладающие, однако, выраженными противомикробными свойствами.

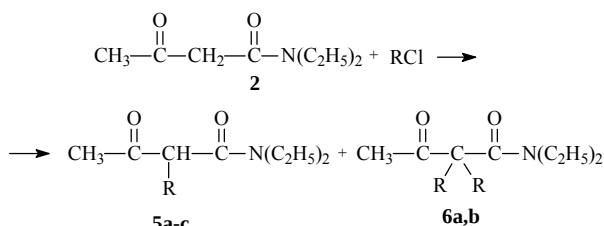
Дата поступления 21.03.10



1–4

R = 1 (CH₃)₂; 2 (C₂H₅)₂; 3 (CH₂)₅; 4 [(CH₂)₂]₂O.

В надежде, что введение в структуру ААУК бензильных и длинноцепочечных углеводородных групп придаст соединениям данного класса выраженные противомикробные свойства, был осуществлен синтез N,N-диэтиламидов алкилпроизводных ААУК. Алкилирование осуществлено ранее разработанным в нашей группе методом межфазного катализа (МФК), а также в суперосновной среде.



R: a – CH₂CH=CClCH₃; b – CH₂C₆H₅; c – C₁₀H₂₁

Таблица 1
Алкилирование N,N-диэтиламида
ацетоуксусной кислоты алкилгалогенидами*

№	Алкилгалогенид	Выход продуктов алкилирования, %	
		моно-С-	ди-С,С-
1	1,3-ДХБ (а)	76.7 (5a)	6.5 (6a)
2	БХ (б)	63.0 (5b)	4.5 (6b)
3	ДХ (с)	14.0 (5c)	-
4	БХ **	31.5 (5b)	-
5	БХ ***	11.0 (5b)	43.0 (6b)

* – в ДФКС «жидкость–жидкость»;

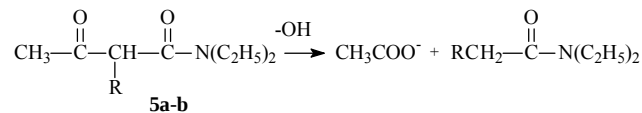
** – в ДФКС в отсутствие катамина АБ;

*** – в суперосновной среде.

Из полученных данных следует, что ДФКС «жидкость–жидкость» обеспечивает селективное С-алкилирование амида с высоким выходом (опыты 1 и 2). Однако алкилирование исследуемого амида децилхлоридом проходит с очень низким выходом продукта 5c – 14%. Выход продуктов реакции алкилирования, как типичной реакции нуклеофильного замещения, зависит от электрофильности, а также стерических затруднений алкилгалогенидов. Здесь же слабым по электрофильности, а также наиболее пространственно затрудненным является децилхлорид, что и приводит к соответствующему низкому выходу алкилированного продукта 5c. Необходимо отметить, что выход амида 5c не повышался после 2 часов перемешивания, в дальнейшем же наблю-

дался только щелочной гидролиз исходного и полученного амидов.

Наряду с образованием продукта алкилирования наблюдалось также образование незначительного количества (4–6 %) продуктов кислотного расщепления исходного и алкилированных амидов.



R: a – CH₂CH=CClCH₃; b – CH₂C₆H₅

В системе ДМСО/порошок КОН (суперосновная среда) при температуре 80 °С в течение 1ч получен в основном продукт диалкилирования (табл. 1). Из вышеизложенного следует, что селективное моноалкилирование N,N-диэтиламида АУК необходимо осуществлять в системе ДФКС «жидкость–жидкость».

Введение в структуру амида длинноцепочечного углеводородного радикала (C₁₀H₂₁) придает соединению выраженные противомикробные свойства в отношении грамположительных микроорганизмов (табл. 3).

Из полученных результатов следует, что N,N-диэтиламиды алкил-ацетоуксусной кислоты (5a, 5b, 5c) проявляют противомикробную активность при минимальной подавляющей концентрации (МПК) по отношению к *Staphylococcus aureus*. Эти соединения, по всей вероятности, представляют значительный интерес для синтеза лекарственных средств с узким спектром противомикробного действия. Хотя соединение 5c – N,N-диэтиламид децилацетоуксусной кислоты синтезируется с очень низким выходом (табл. 2), очень низкое значение МПК делает перспективными дальнейшие исследования по оптимизации его синтеза с целью повышения выхода продукта.

Таблица 2
Противомикробная активность образцов
(мкг/мл)

Амид	Химическое название	МПК, мкг/мл	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
2	N,N-диэтиламид ацетоуксусной кислоты	-	-
5a	N,N-диэтиламид (3-хлор-2-бутенил) ацетоуксусной кислоты	15.6	250
5b	N,N-диэтиламид бензилацетоуксусной кислоты	15.6	-
5c	N,N-диэтиламид децилацетоуксусной кислоты	0.12	-

Следует отметить, что соединение **5a** — N,N-диэтиламид(3-хлор-2-бутенил)ацетоуксусной кислоты, весьма активно также и по отношению к *Escherichia coli*, что свидетельствует о возможности его более многоцелевого использования.

Экспериментальная часть

Структуру полученных соединений подтверждали данными ЯМР ^1H и ИК спектроскопии, а также данными ВЭЖХ-МС. Спектры ЯМР ^1H регистрировали на ЯМР-спектрометре Varian MERCURY-300 (300 МГц), в $\text{DMSO}-d_6$, внутренний стандарт — HMDS. ИК спектры регистрировали на ИК спектрометре SPECORD M-80. Ход реакции и чистоту соединений контролировали с помощью ТСХ на пластинках Silufol UV-254 в системе бутанол : уксусная кислота : вода (8 : 1 : 1).

Анализ N,N-диэтиламида децилацетоуксусной кислоты проводили с использованием также ВЭЖХ/МС (высокоэффективная жидкостная хроматография/масс-спектрометрия) с применением системы растворителей — метанол, ацетонитрил и деионизированная вода, поставляемой Carl Roth (Германия). Исследование проводилось с использованием ВЭЖХ, Shimadzu Nexera X2, оснащенного контроллером CBM-20A, двумя бинарными насосами LC-30AD, соединенными с дегазатором DGU-20A5R, автосамплером SIL-30ACMP и блоком температуры колонки CTO-30A (Sciex, Германия). В X Bridge C8 использовали колонки (1.0 мм × 100 мм) с размером адсорбентов 3.5 мкм и диаметром пор 136 (Waters, США). LC, что с помощью источника ионов Turbo V[™] (Sciex, США) соединен с масс-спектрометром Sciex Triple Quad[™] 4500 (Sciex, США). Обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения Analyst 1.6.3 (Sciex, Германия).

Общая методика алкилирования N,N-диэтиламида ацетоуксусной кислоты в двухфазной каталитической системе (ДФКС) «жидкость—жидкость».

Опыты проводили при мольном соотношении амида, алкилгалогенида, щелочи и катамина АБ, равном 1 : 1.2 : 2 : 0.1. Смесь амида, алкилгалогенида и катамина АБ интенсивно перемешивали в трехгорлой колбе с обратным холодильником и капельной воронкой, которую нагревали на кипящей водяной бане. Водный раствор щелочи добавляли по каплям в течение 20 мин. Нагревание и перемешивание продолжали еще 40 мин, реакционную смесь

экстрагировали хлороформом, хлороформный экстракт сушили над сульфатом магния, хлороформ отгоняли, а остаток перегоняли в вакууме. Результаты алкилирования амида **2** 1,3-дихлорбутеном-2, бензилхлоридом и децилхлоридом в условиях МФК приведены в табл. 1.

Алкилирование осуществляли также в системе DMSO /порошок КОН (суперосновная среда) при мольном соотношении амида, алкилгалогенида, щелочи, равном 1 : 1.2 : 2, при 80 °С в течение 1 ч.

Полученные соединения (табл. 3) представляют собой жидкости светло-желтого цвета, растворимые в бутаноле, этаноле, ДМФА, DMSO , нерастворимые в воде.

Таблица 3

Характеристики N,N-диэтиламида алкил-ацетоуксусной кислоты

Соединение	Выход, %	R_f^*	$T_{\text{кип}}$ °С
5a	77.0	0.80	142-143
5b	68.0	0.77	189-190
5c	14.0	0.91	185-186
6a	6.5	0.82	163-165
6b	4.5	0.90	200-201

Примечание. R_f^* — в системе бутанол : уксусная кислота : вода (8 : 1 : 1).

В их ИК-спектрах присутствуют полосы валентных колебаний карбонильной группы при 1660-1670 cm^{-1} , CON группы при 1720-1730 cm^{-1} , а также 1500, 1590, 1640 cm^{-1} при **5a, 6a** и 1470, 1590, 1610, 1630 cm^{-1} в случае **5b, 6b**.

В спектрах ЯМР ^1H **5b** и **6b** соединений имеются мультиплет группы $\text{CON}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ при 0.51-0.86 и синглеты двух метильных групп амида при 0.87 и 1.06 м.д., а также 2.56 (2H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$) и 4.32 (1H, CHCH_2) для **5b** и 2.55-2.60 (4H, $2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$) для **6b**.

Масс-спектр N,N-диэтиламида децилацетоуксусной кислоты дает преимущественно однозарядные протонированные ионы-предшественники $[\text{M}+\text{H}]^+$ при m/z 297.8. В масс-спектре ионов продукта наиболее распространенные и согласованные ионы наблюдались при m/z 197.9.

Изучение противомикробной активности производных N,N-диэтиламида ацетоуксусной кислоты.

Противомикробная активность соединений **2**, **5a-c** изучена серийным разведением в жидкой питательной среде по отношению к тест-штаммам:

а) *Staphylococcus aureus*, как наиболее устойчивый вид из кокковой группы бактерий;

б) *Escherichia coli*, как наиболее устойчивый вид из грамотрицательных микроорганизмов семейства кишечных бактерий.

Исходная концентрация соединений — 1000 мкг/мл. Микробная нагрузка составляла 250 000 микробных тел/мл при температуре 37 °С. Была определена минимальная подавляющая концентрация (МПК), при которой подавляется рост микроорганизмов.

Литература

1. Courturier P., Blanc P., Frajdenrajch S. Derives de lamorpholideacetylacetique // Bull. Soc. Chim. Fr.— 1962.— №3.— Pp.594-595.
2. Гейн В.Л., Казанцева М.И., Курбатова А.А. Синтез 2,6-диметил-N³,N⁵,4-триарил-1,4-дигидропиридин-3,5-дикарбоксаминов // ЖОрХ.— 2011.— Т.47, №7.— С.1103-1104.
3. Торосян Г.О., Гекчян Г.Г., Паносян Г.А., Григорян Р.Т., Бабаян А.Т. Амиды ацетоуксусной кислоты // ЖОрХ.— 1982.— Т.18, №7.— С.1413-1416.

References

1. Courturier P., Blanc P., Frajdenrajch S. [Derives de lamorpholideacetylacetique]. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1962, no.3, pp.594-595.
2. Gein V.L., Kazantseva M.I., Kurbatova A.A. [Synthesis of N³,N⁵,4-triaryl-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxamides]. *Russian Journal of Organic Chemistry*, 2011, vol.47, no.7, pp.1123-1124.
3. Torosyan G.O., Gekchyan G.G., Panosyan G.A., Grigoryan R.T., Babayan A.T. *Amidy atsetouk-susnoi kisloty* [Amides of acetoacetic acid]. *Zhurnal organicheskoi khimii* [Journal of Organic Chemistry], 1982, vol.18, no.7, pp.1413-1416.