

SYNTEZA NOWYCH N-PODSTAWIONYCH POCHODNYCH 2,4-DICHLOROBENZENOSULFONAMIDU O SPODZIEWANEJ AKTYWNOŚCI BIOLOGICZNEJ



Anita Bułakowska¹, Jarosław Sławiński¹, Rafał Hałasa²

¹Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk

²Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk

anita.bulakowska@gumed.edu.pl

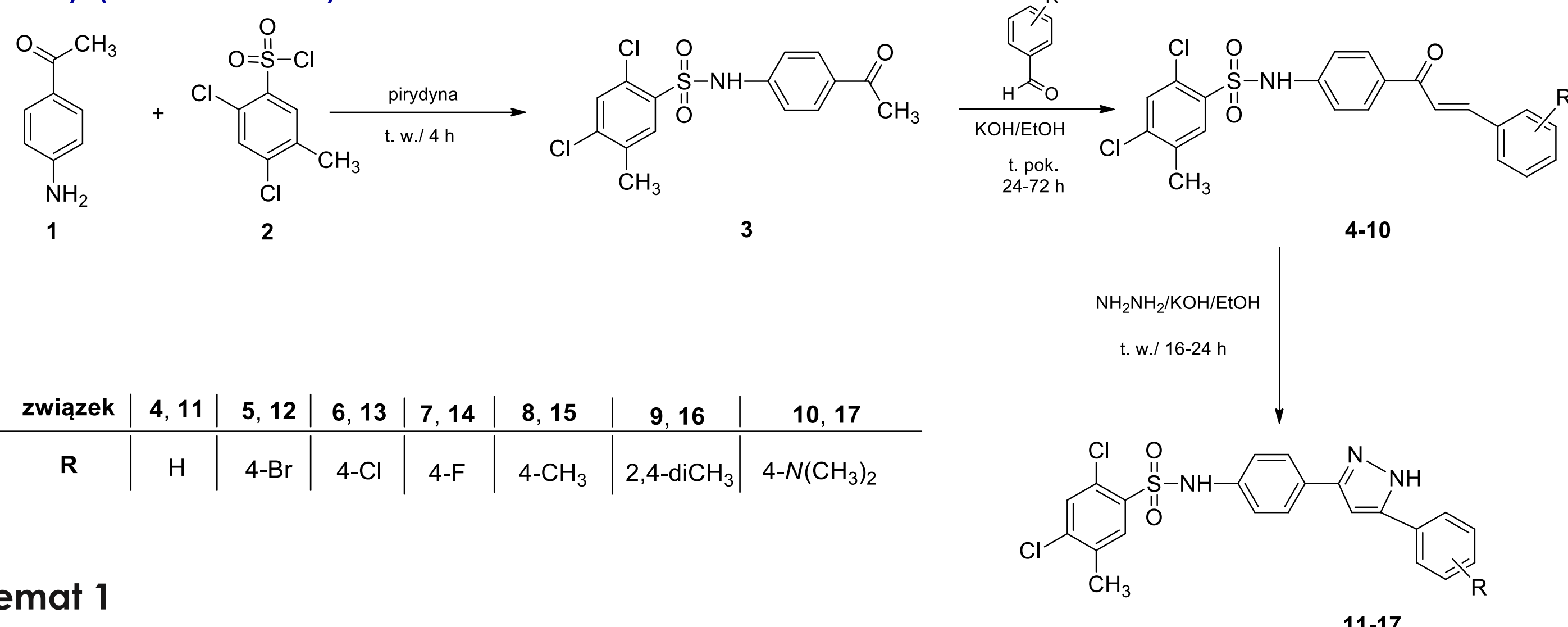
www.gumed.edu.pl

WPROWADZENIE

Stworzenie nowego leku jest długotrwałym, wieloetapowym i kosztownym procesem. Ze względu na malejącą skuteczność znanych leków przeciwbakteryjnych oraz działania niepożądane leków przeciwnowotworowych, które wynikają z braku selektywności docelowej i nabytej oporności na leki, trwają wzmożone prace w poszukiwaniu nowych cząsteczek. W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania związkami utworzonymi w wyniku kombinacji różnych grup funkcyjnych. Aktywność pochodnych, które zawierają w swoim szkielecie kilka układów farmakoforowych, stała się bodźcem do syntezy związków hybrydowych. Prezentowane badania włączają się w nurt poszukiwań takich cząsteczek [1]. Szczególną uwagę skierowano na ich aktywność przeciwbakteryjną.

SYNTEZA

Nowe związki zaprojektowano i otrzymano w oparciu o układ 2,4-dichlorobenzenosulfonamidu – farmakofor o szerokim spektrum aktywności [1]. W celu uzyskania docelowych związków hybrydowych wprowadzono drugą grupę farmakoforową – chalkon (**4–10**). Następnie kierując się doniesieniami literaturowymi [2, 3], podjęto prace nad modyfikacją uzyskanych pochodnych w celu otrzymania związków zawierających w swojej strukturze pierścień pirazolu (**11–17**) (Schemat 1).



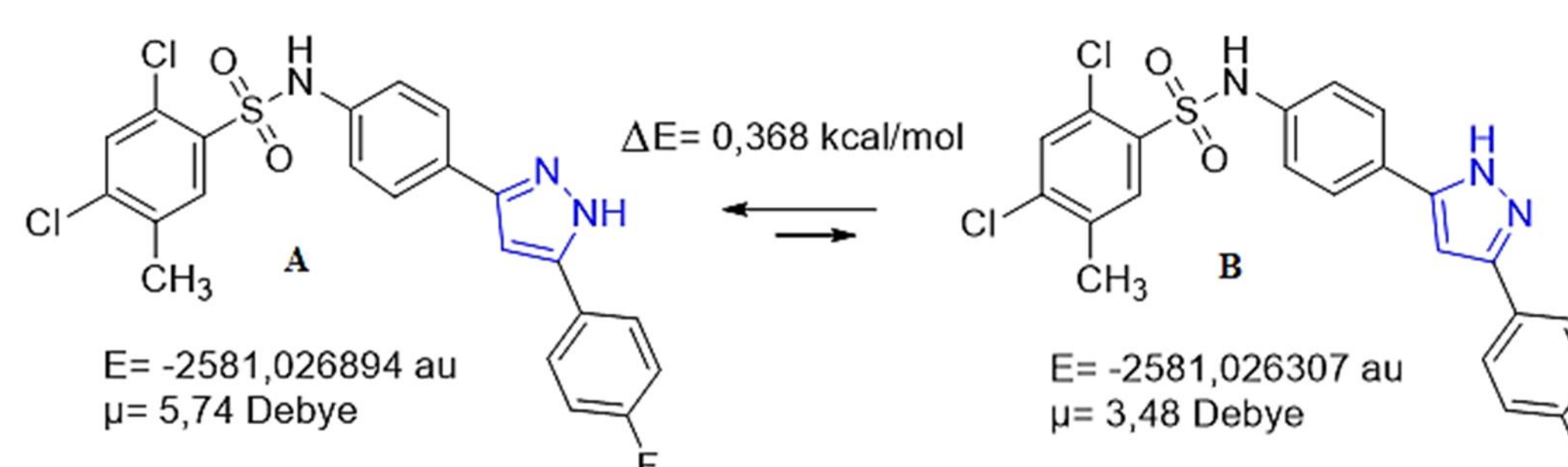
Schemat 1

Pierwszym etapem zaplanowanych syntez było otrzymanie N-(4-acetylofenylo)-2,4-dichloro-5-metylobenzenosulfonamidu (**3**), który stanowił substrat niezbędny do uzyskania zaplanowanych pochodnych. Otrzymano go na drodze reakcji 4-aminoacetofenonu (**1**) z chlorkiem 2,4-dichloro-5-metylobenzenosulfonylu (**2**) w pirydynie. Syntezę prowadzono w temperaturze wrzenia przez 4 godz. z wydajnością 95%. Kolejny etap stanowiła kondensacja Claisena - Schmidta otrzymanego acetofenonu z odpowiednimi pochodnymi benzaldehydu w środowisku zasadowym. Syntezę tę prowadzono w temp. pokojowej, w różnym przedziale czasowym (24–72 godz.). Otrzymano szereg pochodnych 2,4-dichloro-N-(4-cynamoilofenylo)-5-metylobenzenosulfonamidu (**4–10**) z wydajnością 40–70%. Kolejnym etapem syntez były cyklizacje otrzymanych pochodnych chalkonu, w wyniku których powstał pierścień pirazolu. W tym celu postanowiono przeprowadzić reakcje z wodzianem hydrazyny, w temperaturze wrzenia (6–24 godz.), uzyskując szereg pochodnych 2,4-dichloro-5-metylo-N-[4-(5-fenylo-1H-pirazol-3-yl)fenylo]benzenosulfonamidu (**11–17**) z wydajnością 40–70%. Strukturę otrzymanych związków potwierdzono metodami spektroskopowymi IR i ¹H NMR.

TAUTOMERIA

W obrazie widma ¹H NMR związku **14** zaobserwowano podwojenie sygnałów pochodzących od protonu na atomie azotu pierścienia pirazolu oraz od protonu grupy NHSO₂. Na podstawie tych obserwacji oraz doniesień literaturowych założono, że pochodne **11–17** mogą ulegać tautomerii anularnej polegającej na migracji protonu pomiędzy atomami azotu pierścienia pirazolu, jak pokazano na Rysunku 1. W celu potwierdzenia tej hipotezy wykonano widma temperaturowe ¹H NMR w temp. 21°, 60°, 100° i 140° C. Wraz ze wzrostem temperatury w widmach zaobserwowano ujednoczenie sygnałów pochodzących od protonu grupy NHSO₂, protonu na atomie azotu pierścienia pirazolu oraz w części, gdzie obserwuje się sygnały protonów pierścienia aromatycznych, co potwierdziło wcześniejsze

przypuszczenia. W celu potwierdzenia obserwacji spektroskopowych wykonano obliczenia kwantowo-chemiczne. Niewielka różnica energii całkowitej między tautomerami ($\Delta E = 0,368$ kcal/mol) wskazuje, iż struktura **14A** (Rys.1) posiada niższą energię. Zarówno w fazie gazowej, jak i w roztworze będzie formą przeważającą w stosunku 1:0,75.



Rysunek 1. Formy tautomeryczne **14A** oraz **14B**. E [au]: obliczona wartość energii całkowitej; ΔE [kcal/mol]: wartość energii względnej, μ [Debye]: obliczona wartość momentu dipolowego.

AKTYWNOŚĆ PRZECIWBAKTERYJNA

Spodziewaną aktywność przeciwbakteryjną **14** otrzymanych pochodnych potwierdzono w testach *in vitro* wobec wybranych bakterii Gram-dodatnich: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus hirae*, *Enterococcus faecalis*, *Corynebacterium diphtheriae* i *Bacillus subtilis* (Tabela 1). Jako preparat referencyjny posłużyła ampicylina.

Otrzymane wyniki wstępne wyłoniły trzy związki (**12–14**), które wykazały aktywność wobec *Staphylococcus aureus*. Wartości MIC dla związków **12** i **13** wynosiły 3,90 μ g/ml, natomiast 2,4-dichloro-N-[4-[5-(4-fluoro-fenylo)-1H-pirazol-3-yl]fenylo]-5-metylobenzenosulfonamid (**14**) okazał się związkiem o najwyższej aktywności, którego MIC wynosił 0,98 μ g/ml. Panel badań poszerzono o kolejne szczepy wybranych bakterii Gram-dodatnich w związku z wysoką aktywnością mikrobiologiczną powyższych pochodnych. Przeprowadzone badania dowiodły, że są one również aktywne w zakresach niskich stężeń wobec bakterii rodzaju *S. epidermidis* (MIC = 3,90-15,63 μ g/ml) oraz *C. diphtheriae* (MIC = 7,80 μ g/ml). Ponadto pochodne **12** i **13** wykazały aktywność przeciwbakteryjną wobec większości wielolekoopornych szczepów *S. aureus*. Zbadano także wrażliwość szczepów *E. faecalis* oraz *E. hirae* na związki **12–14**, jednakże uzyskane wyniki wykazały brak działania na wymienione gatunki bakterii. Z kolei w wyniku przeprowadzonych badań nad aktywnością wobec lasetek *B. subtilis* jedynie związek **14** wykazał aktywność, dla którego MIC wynosił 7,8 μ g/ml.

Tabela 1. Aktywność przeciwbakteryjna związków **12–14**. Wyniki badań przedstawione zostały w tabeli jako minimalne stężenia hamujące wzrost szczepów bakteryjnych MIC [μ g/ml].

Gram(+)	12	13	14	ampicylina
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,90	3,90	0,98	0,08
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	15,63	7,80	3,90	0,3125
<i>Enterococcus faecalis</i>	BA	BA	BA	2,5
<i>Enterococcus hirae</i>	BA	BA	BA	-
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	7,80	7,80	7,80	0,16
<i>Bacillus subtilis</i>	BA	BA	7,80	0,04
Wielolekooporny <i>Staphylococcus aureus</i>				
MRSA				
MRSA 21824	15,63	3,90	BA	-
MRSA 18532	BA	BA	BA	-
MRSA 2021	7,80	3,90	BA	-
MRSA 21791/1	15,63	3,90	BA	-
MRSA 21791/2	15,63	1,90	BA	-
MRSA 21791/3	62,50	3,90	BA	-
MRSA 13251	1,98	1,98	BA	-
MRSA 15732	3,90	1,95	BA	-
MRSA 12677	1,95	3,90	BA	-
MRSA 12673	BA	31,25	BA	-
MRSA 21804	0,98	1,95	BA	-
MRSA 12753	7,80	1,95	BA	-
MRSA 13318	3,90	3,90	BA	-

BA – brak aktywności
MIC = minimalne stężenie hamujące wzrost bakterii
MRSA – metycylinooporne *Staphylococcus aureus*

PIŚMIENNICTWO

[1] Sławiński J., Żolnowska B., Pirska D., Kędzia A., Kwapisz E., *J. Enz. Inhib. Med. Chem.* (2013) 28, 41-51. [2] Mert S., Yaglioglu A.S., Demirtas I., Kasimogullari R., *Med. Chem.Res.* (2014) 23, 1278-1289. [3] Badgujar J.R., More D.H., Mersham J.S., *Indian J. Microbiol.* (2018) 58, 93-99.