

## Дослідження *in vitro* антимікробної активності нових похідних оксазолу та продуктів його перетворень

І.М. Коперник<sup>1</sup>, В.М. Благодатний<sup>2</sup>, О.В. Петренко<sup>2</sup>,  
Л.Є. Калашнікова<sup>1</sup>, В.В. Прокопенко<sup>1</sup>, К.М. Кондратюк<sup>1</sup>,  
О.І. Лукашук<sup>1</sup>, О.В. Головченко<sup>1</sup>, С.А. Чумаченко<sup>1</sup>, О.В. Шабликін<sup>1</sup>,  
Л.О. Метелиця<sup>1</sup>, В.С. Броварець<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України  
вул. Мурманська, 1, Київ, Україна, 02660

<sup>2</sup> Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика МОЗ України  
вул. Дорогожицька, 9, Київ, Україна, 04112

**Резюме.** Досліджено нові водорозчинні похідні 4-ціано- і 4-фосфорилзаміщених 1,3-оксазолів та продуктів їх перетворень. Вивчено фунгістатичну і бактеріостатичну активність отриманих сполук.

**Ключові слова:** 5-аміно-1,3-оксазоли, 5-меркапто-1,3-оксазоли, 1,3,4-тіадіазол, фосфонові кислоти, фунгістатична, бактеріостатична активність.

**Вступ.** Антимікробна терапія є важливою ланкою сучасної клінічної медицини і знаходить застосування майже у всіх її галузях. Незважаючи на достатньо високу ефективність різноманітних антифунгальних засобів, грибові інфекції залишаються однією з найбільш гострих проблем сучасної медицини, що спонукає до створення нових більш досконалих препаратів як засобів лікування системних та місцевих мікозів.

Відомими засобами для системного лікування мікозів є синтетичні азолі. Вони вирізняються високою антигрибовою активністю, в основі якої лежить гальмування однієї із стадій синтезу ергостеролу — невід'ємного компонента оболонки гриба [1-3].

Відомо, що більшість сучасних засобів на основі імідазолу і триазолу токсичні та мало-

розчинні у воді [4]. До того ж, наприклад, серед різних видів *Candida* все частіше виявляється резистентність до азолів. Особливо це характерно для *Candida albicans*. Зниження чутливості може бути викликано або зміною проникності клітинної мембрани й активації систем викиду ксенобіотиків, або ж суперпродукцією мішені — цитохрому P 45014 Dm [5].

Важливо зазначити, що темпи створення протигрибових засобів суттєво відстають від розробки антибактеріальних препаратів, що пов'язано з особливостями будови клітинних структур цих мікроорганізмів. Бактерії — прокаріоти і, отже, мають численні структурні та метаболічні відмінності від організму людини. Гриби, навпаки, є еукаріотами і, відповідно, набагато важче створити засіб, токсичний для грибів і водночас не токсичний для людини.

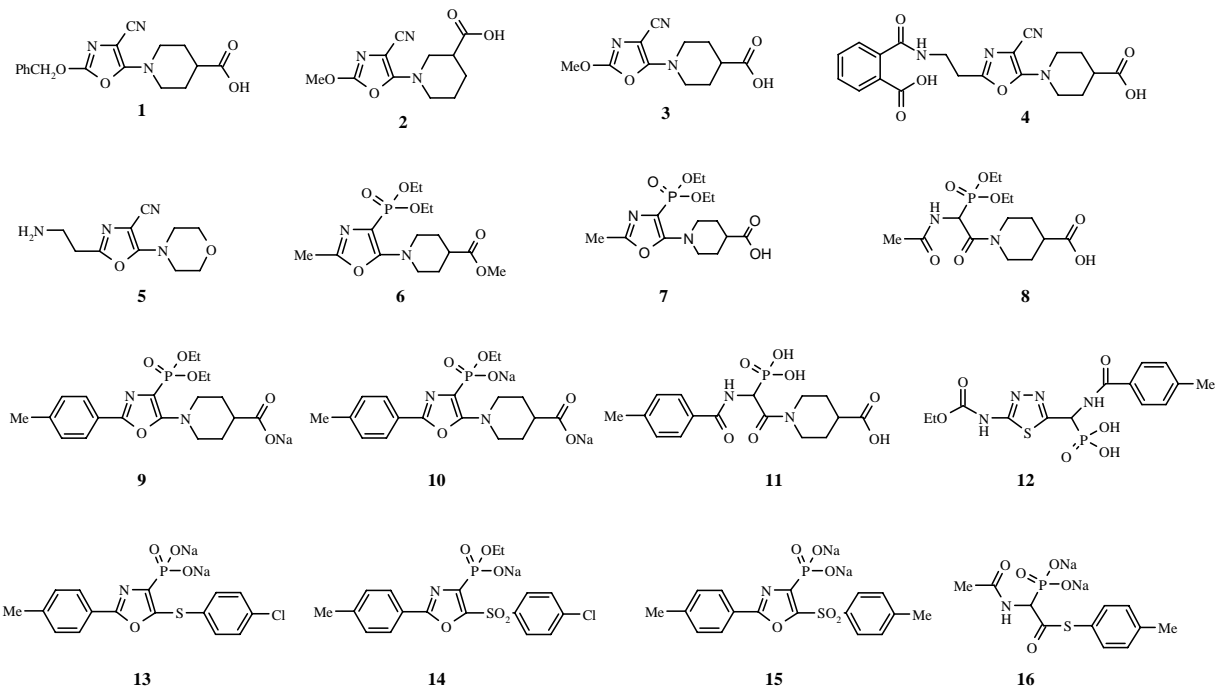
Потреби в антифунгальних засобах, що придатні для медичного застосування, випереджають реальні результати їх скринінгу та цілеспрямованої хімічної трансформації. Тому в плані пошуку нових потенційних ефективних антимікробних засобів актуальним є подальший синтез

\* Corresponding author.

Tel.: +38044-2967154 (98), fax: +38044-5732561

E-mail address: brovarets@bpci.kiev.ua

Структури досліджуваних сполук



і скринінг нових похідних азолів як однієї з найпоширеніших груп сучасних антимікотиків.

**Результати й обговорення.** Метою нашої роботи було дослідження *in vitro* фунгістатичної та бактеріостатичної активності нових водорозчинних похідних оксазолу і продуктів їх перетворень **1-16** (схема 1) у порівнянні зі стандартними референс-препаратами (схема 2).

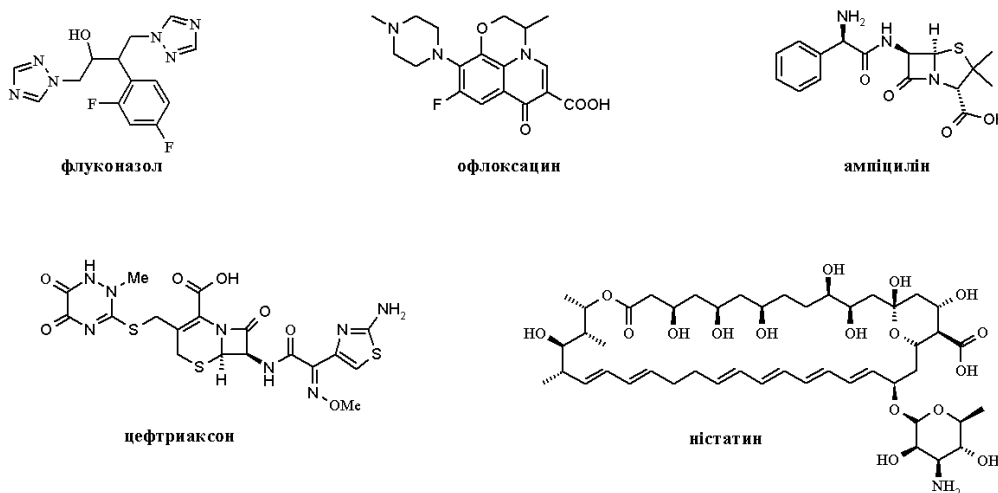
Дані таблиці 1 свідчать, що оксазоли **4, 5, 9, 14, 15** та амід **16** проявили фунгістатичний ефект, що у 4,3 рази перевищував активність ністатину — зареєстровано рівний ефект спо-

лук із вмістом  $2,0 \cdot 10^{-8}$  моль на диску й антибіотика ністатину в кількості  $8,6 \cdot 10^{-8}$  моль (стандартний диск). Фунгістатична активність сполук **1, 3, 6-8, 11-13** поступалася активності ністатину. Подібний до ністатину антигрибковий ефект тестовані сполуки проявляли в кількості  $20,0 \cdot 10^{-8}$  моль на диску, тоді як стандартна кількість референс-антибіотика була у 2,3 рази меншою ( $8,6 \cdot 10^{-8}$  моль). Інші досліджувані сполуки значно поступалися своєю активністю.

Ще одним препаратом для порівняння було

Схема 2

Референс-препарати



використано флуконазол — 1,2,4-триазол третього покоління. Флуконазол широко використовується як антимікотик системної дії при лікуванні поверхневого і глибокого кандидозу [6].

Слід звернути увагу, що активність флуконазолу ( $13,0 \cdot 10^{-8}$  моль на диску) і зафіксований фунгістатичний ефект 2-(2-аміноетил)-5-(морфолін-4-іл)-1,3-оксазол-4-карбонітрилу **5** ( $20,0 \cdot 10^{-8}$  моль на диску) при низькому мікробному навантаженні *Candida albicans* —  $10^5$  та  $10^6$  КУО (колонієутворювальні одиниці) в 1 мл посівного матеріалу — практично не відрізнялися. Однак при збільшенні мікробного навантаження до  $10^7$ - $10^9$  КУО в 1 мл посівного матеріалу фунгістатичний ефект досліджуваної сполуки знижувався і зони затримки мікробного росту становили 18, 15, 9 та 20, 20, 19 мм відповідно.

Потрібно відмітити також активність фосфорильованого оксазолу **9**. При концентрації КУО  $10^7$  в 1 мл посівного матеріалу фунгістатична активність сполуки **9** ( $20,0 \cdot 10^{-8}$  моль) практично не відрізнялася від активності флуконазолу ( $13,0 \cdot 10^{-8}$  моль). При збільшенні мікробного навантаження до  $10^8$  та  $10^9$  КУО в 1 мл посівного матеріалу її активність поступово знижувалася і майже у 2 рази поступалась активності флуконазолу.

Аналогічний фунгістатичний ефект виявила і сполука **13**. При малих мікробних концентраціях (від  $10^5$  до  $10^7$  КУО в 1 мл посівного матеріалу) активність досліджуваної сполуки проявлялася на рівні флуконазолу, а при збільшенні мікробного навантаження ( $10^8$  і  $10^9$  КУО в 1 мл) фунгістатичний ефект практично у 2 рази поступався референс-препарату.

Зважаючи на виявлений значний фунгістатичний ефект ряду досліджуваних сполук, нами було вивчено аналогічним методом і бактеріостатичну активність усіх тестованих сполук проти культур *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 та *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

У табл. 2 представлено результати дослідження бактеріостатичної активності сполук проти культури *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Наведені дані свідчать, що найбільш активними проти *Pseudomonas aeruginosa* виявилися натрієві солі **9** та **14**. Але їх активність

суттєво поступалася активності референс-препаратів як за вмістом на диску, так і в проявленому за даних умов ефекті (за зонами затримки росту бактеріальної культури).

Обидва використані референс-препарати — офлоксацин і цефтриаксон — за умов малої концентрації мікробних тіл ( $10^4$ - $10^6$  КУО в 1 мл посівного матеріалу) формували зони затримки росту культури *Pseudomonas aeruginosa* в межах 34-32 мм (із вмістом на стандартному диску  $1,4 \cdot 10^{-8}$  та  $4,5 \cdot 10^{-8}$  моль відповідно), а оксазоли **9** та **14** подібної ефективності не виявили в кількості  $200,0 \cdot 10^{-8}$  моль на диску — 24 мм для сполуки **9** і 20 мм для сполуки **14** при концентрації  $10^4$  КУО в 1 мл посівного матеріалу. Зафіксована активність фосфонових дієстерів **6** та **7** ще суттєвіше поступалася препаратам для порівняння — у кількості  $200,0 \cdot 10^{-8}$  моль сполуки **6** і **7** формували зони затримки росту культури *Pseudomonas aeruginosa* на 19 та 18 мм відповідно. Проте треба зауважити, що хоча зареєстрована бактеріостатична активність оксазолів **6**, **7**, **9** і **14** суттєво поступалася активності використаних у роботі антибіотиків з широким спектром антимікробної дії — офлоксацину та цефтриаксону. Три із цих сполук належать до одного структурного ряду похідних 1-(4-діетоксифосфорил-2-*R*-1,3-оксазол-5-іл)піперидин-4-карбонової кислоти, що вказує на перспективність подальшої структурної трансформації в цьому ряду.

Результатів тестування сполук на активність проти *E.coli* не надано, оскільки всі сполуки виявилися неактивними в жодній із використаних доз —  $200,0 \cdot 10^{-8}$ ,  $20,0 \cdot 10^{-8}$  і  $2,0 \cdot 10^{-8}$  моль. Лише натрієва сіль моноетилового естеру 2-(4-метилфеніл)-5-(4-хлорофенілсульфоніл)-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти **14** виявила незначний ефект — при мікробному навантаженні  $10^4$  та  $10^5$  КУО в 1 мл посівного матеріалу із вмістом на диску  $200,0 \cdot 10^{-8}$  моль було зафіксовано зони затримки росту культури *E.coli*, як 18 і 15 мм відповідно.

Дані табл. 3 свідчать, що жодна із тестованих сполук не виявила бактеріостатичного ефекту, подібного до ефекту референс-препаратів — офлоксацину, ампіциліну й цефтриаксону. Референс-препарати формували зони затримки росту культури *Staphylococcus aureus* на рівні від 31 до 35 мм за концентрації

Фунгістатичний ефект сполук за зонами затримки росту (мм) культури  
*Candida albicans* M 885 ATCC 10231

Сполука	Вміст на диску		Діаметри зон затримки росту (мм) культури за умов різного мікробного навантаження*				
	мкг	10 <sup>-8</sup> моль	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>9</sup>
<b>1</b>	654	200,0	25	22	18	21	14
	65,4	20,0	19	16	13	9	0
	6,5	2,0	14	10	0	0	0
<b>2</b>	502	200,0	22	18	13	9	0
	50,2	20,0	17	13	0	0	0
	5,0	2,0	13	9	0	0	0
<b>3</b>	502	200,0	32	24	20	14	9
	50,2	20,0	24	17	15	0	0
	5,0	2,0	12	0	0	0	0
<b>4</b>	824	200,0	28	25	22	20	16
	82,4	20,0	22	19	15	9	0
	8,2	2,0	18	14	11	8	0
<b>5</b>	444	200,0	33	30	22	18	14
	44,4	20,0	25	21	18	15	9
	4,4	2,0	18	14	11	9	0
<b>6</b>	721	200,0	23	19	15	11	0
	72,1	20,0	18	15	10	0	0
	7,2	2,0	12	10	0	0	0
<b>7</b>	692	200,0	29	25	22	14	11
	69,2	20,0	23	16	11	0	0
	6,9	2,0	16	0	0	0	0
<b>8</b>	729	200,0	26	21	18	15	0
	72,9	20,0	18	15	12	8	0
	7,3	2,0	9	7	0	0	0
<b>9</b>	889	200,0	33	29	26	22	19
	88,9	20,0	27	22	20	17	13
	8,9	2,0	21	19	16	9	0
<b>10</b>	877	200,0	29	26	22	18	14
	87,7	20,0	24	19	16	10	8
	8,8	2,0	18	13	10	0	0
<b>11</b>	769	200,0	26	23	19	16	13
	76,9	20,0	19	16	13	10	8
	7,7	2,0	13	9	0	0	0
<b>12</b>	801	200,0	26	21	18	16	9
	80,1	20,0	19	16	14	11	0
	8,0	2,0	11	0	0	0	0
<b>13</b>	851	200,0	27	23	20	18	16
	85,1	20,0	18	15	12	10	0
	8,5	2,0	11	8	0	0	0
<b>14</b>	864	200,0	29	25	20	16	12
	86,4	20,0	23	18	14	8	0
	8,6	2,0	17	12	9	0	0
<b>15</b>	851	200,0	33	28	23	17	14
	85,1	20,0	26	21	19	12	8
	8,5	2,0	19	15	11	0	0
<b>16</b>	694	200,0	25	19	17	14	11
	69,4	20,0	20	16	13	8	0
	6,9	2,0	16	12	10	0	0
<b>Флуконазол**</b>	40	13,0	21	21	20	20	19
<b>Ністатин**</b>	80	8,6	17	17	14	9	0

Примітки: \* — указано вміст мікробних тіл в 1 мл посівного матеріалу, КУО в 1 мл посівного матеріалу; \*\* — для референс-препаратів указано вміст стандартного диску.

Бактеріостатична активність сполук за зонами затримки росту (мм) культури *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Сполука	Вміст на диску		Діаметри зон затримки росту (мм) культури за умов різного мікробного навантаження*		
	мкг	10 <sup>-8</sup> моль	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
<b>1</b>	654	200,0	14	0	0
	65,4	20,0	0	0	0
	6,5	2,0	0	0	0
<b>2</b>	502	200,0	10	0	0
	50,2	20,0	0	0	0
	5,0	2,0	0	0	0
<b>3</b>	502	200,0	18	9	0
	50,2	20,0	0	0	0
	5,0	2,0	0	0	0
<b>4</b>	824	200,0	16	0	0
	82,4	20,0	0	0	0
	8,2	2,0	0	0	0
<b>5</b>	444	200,0	0	0	0
	44,4	20,0	0	0	0
	4,4	2,0	0	0	0
<b>6</b>	721	200,0	19	16	0
	72,1	20,0	12	10	0
	7,2	2,0	0	0	0
<b>7</b>	692	200,0	18	15	14
	69,2	20,0	13	10	8
	6,9	2,0	9	0	0
<b>8</b>	729	200,0	15	12	0
	72,9	20,0	10	8	0
	7,3	2,0	0	0	0
<b>9</b>	889	200,0	24	20	14
	88,9	20,0	18	14	8
	8,9	2,0	11	0	0
<b>10</b>	877	200,0	16	13	0
	87,7	20,0	11	8	0
	8,8	2,0	0	0	0
<b>11</b>	769	200,0	13	10	0
	76,9	20,0	9	7	0
	7,7	2,0	0	0	0
<b>12</b>	801	200,0	14	11	0
	80,1	20,0	10	7	0
	8,0	2,0	8	0	0
<b>13</b>	851	200,0	14	11	0
	85,1	20,0	9	0	0
	8,5	2,0	0	0	0
<b>14</b>	864	200,0	20	17	11
	86,4	20,0	14	13	0
	8,6	2,0	8	0	0
<b>15</b>	851	200,0	9	0	0
	85,1	20,0	0	0	0
	8,5	2,0	0	0	0
<b>16</b>	694	200,0	11	0	0
	69,4	20	0	0	0
	6,9	2	0	0	0
<b>Офлоксацин**</b>	5	1,4	34	33	33
<b>Цефтриаксон**</b>	30	4,5	33	32	32

Примітки: \* — вказано вміст мікробних тіл в 1 мл посівного матеріалу, КУО в 1 мл посівного матеріалу; \*\* — для референс-препаратів вказано вміст стандартного диску.

Бактеріостатична активність сполук за зонами затримки росту (мм) культури *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Сполука	Вміст на диску		Діаметри зон затримки росту (мм) культури за умов різного мікробного навантаження*		
	мкг	10 <sup>8</sup> моль	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
1	654	200,0	11	0	0
	65,4	20,0	0	0	0
	6,5	2,0	0	0	0
2	502	200,0	10	0	0
	50,2	20,0	0	0	0
	5,0	2,0	0	0	0
3	502	200,0	18	15	9
	50,2	20,0	14	10	0
	5,0	2,0	0	0	0
4	824	200,0	16	11	0
	82,4	20,0	12	0	0
	8,2	2,0	0	0	0
5	444	200,0	17	12	0
	44,4	20,0	14	0	0
	4,4	2,0	10	0	0
6	721	200,0	18	16	11
	72,1	20,0	15	10	0
	7,2	2,0	9	0	0
7	692	200,0	9	0	0
	69,2	20,0	0	0	0
	6,9	2,0	0	0	0
8	729	200,0	12	8	0
	72,9	20,0	0	0	0
	7,3	2,0	0	0	0
9	889	200,0	0	0	0
	88,9	20,0	0	0	0
	8,9	2,0	0	0	0
10	877	200,0	0	0	0
	87,7	20,0	0	0	0
	8,8	2,0	0	0	0
11	769	200,0	14	8	0
	76,9	20,0	10	0	0
	7,7	2,0	0	0	0
12	801	200,0	19	15	9
	80,1	20,0	14	11	0
	8,0	2,0	9	0	0
13	851	200,0	9	0	0
	85,1	20,0	0	0	0
	8,5	2,0	0	0	0
14	864	200,0	13	8	0
	86,4	20,0	0	0	0
	8,6	2,0	0	0	0
15	851	200,0	19	14	9
	85,1	20,0	15	11	0
	8,5	2,0	10	0	0
16	694	200,0	16	10	0
	69,4	20,0	11	0	0
	6,9	2,0	8	0	0
<b>Офлоксацин**</b>	5	1,4	35	34	34
<b>Цефтриаксон**</b>	30	4,5	31	25	23
<b>Ампіцилін**</b>	10	2,9	32	30	30

Примітки: \* — указано вміст мікробних тіл в 1 мл посівного матеріалу, КУО в 1 мл посівного матеріалу; \*\* — для референс-препаратів указано вміст стандартного диску.

мікробів 10<sup>4</sup> КУО в 1 мл посівного матеріалу та від 23 до 34 мм при концентрації мікробів 10<sup>6</sup>

КУО в 1 мл посівного матеріалу. За даними експерименту, максимальний ефект при концен-

трації мікробів  $10^5$  КУО в 1 мл посівного матеріалу було виявлено для сполук **3**, **6**, **12** та **15** лише у випадку, коли кількість їх на диску становила  $200,0 \cdot 10^{-8}$  моль.

**Висновки.** Отримані нами дані свідчать, що всі тестовані сполуки, за винятком оксазолів **2** і **10**, виявили фунгістатичну активність проти культури *Candida albicans* ATCC M 885 ATCC 10231.

Відомо, що *Candida albicans* викликає майже 90 % випадків поверхневого та 50–70 % глибокого кандидозу. За своєю патогенністю *Candida albicans* переважає всі інші види *Candida* та посідає друге місце за частотою виділення від хворих із кандидоз-інфекцією [7, 8]. Тому на особливу увагу заслуговують сполуки **4**, **5**, **9**, **14–16**, що виявилися більш ефективними проти *Candida albicans*, ніж референс-препарат ністатин. При рівних зонах затримки росту чинні кількісні співвідношення вказаних сполук та ністатину відрізнялися у 4,3 рази —  $2,0 \cdot 10^{-8}$  і  $8,6 \cdot 10^{-8}$  моль відповідно. Сполуки **1**, **3**, **6–8**, **11–13** виявили активність на рівні ністатину при максимальному використаному мікробному навантаженні в дозі, що лише у 2,3 рази перевищувала чинну дозу референс-препарату.

У порівнянні з активністю антимікотичного препарату флуконазолу, оксазоли **5**, **9** та **13** формували подібні зони затримки росту дослідженої культури гриба лише за умов малого мікробного навантаження культури *Candida albicans* —  $10^5$  і  $10^6$  КУО в 1 мл посівного матеріалу. При збільшенні концентрації мікробів фунгістатичний ефект сполук знижувався і значно поступався ефекту референс-препарату флуконазолу.

Бактеріостатичний ефект досліджуваних сполук проти грамнегативних культур *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 та *Escherichia coli* ATCC 25922 виявився значно слабшим. Так, найбільш активними проти *Pseudomonas aeruginosa* виявилися солі **9** і **14**, однак їх ефективність суттєво поступалася ефективності референс-препаратів офлоксацину та цефтриаксону як за величиною вмісту на диску, так і за розмірами зон затримки росту мікробного шару. Однак слід зазначити, що 4-фосфорильовані оксазоли із залишком піперидин-4-карбонової кислоти (**6**, **7** та **9**), хоча і проявили бактеріостатичну активність, нижчу ніж у ре-

ференс-препаратів, належать до одного структурного ряду і можуть бути перспективними для подальшого синтезу нових аналогів ряду з метою поліпшення антибактеріальних властивостей.

Натрієвою сіллю моноетилового естеру 2-(4-метилфеніл)-5-(4-хлорофенілсульфоніл)-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти **14** із вмістом на диску  $200,0 \cdot 10^{-8}$  моль і при малому мікробному навантаженні ( $10^4$  та  $10^5$  КУО в 1 мл посівного матеріалу) було сформовано зони затримки росту культури *Escherichia coli* на рівні 18 і 15 мм відповідно. Усі інші тестовані сполуки не виявили бактеріостатичного ефекту проти культури *Escherichia coli*.

Дослідження структурних особливостей оксазолу **14** можуть бути перспективними для подальшого проведення на його основі синтезу біологічно активних сполук з метою поліпшення бактеріостатичного ефекту проти грамнегативних бактерій.

Біотестування сполук на моделі культури інфузорії *Paramecium caudatum* засвідчило, що всі тестовані сполуки у концентраціях  $10^{-2}$ – $10^{-8}$  моль/л не є токсичними. За критерій токсичності брали кількість парамецій (%), які вижили впродовж експозиційного часу контакту з відповідною сполукою. У наших експериментах досліджуваний показник знаходився в межах 85–100 %.

**Експериментальна частина. Хімічна частина.** ІЧ-спектри речовин записували на спектрометрі Vertex 70 у KBr або  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Спектри ЯМР отримували на приладі Bruker AVANCE DRX-500:  $^1\text{H}$  (500 МГц),  $^{31}\text{P}$  (202 МГц) у розчині  $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\text{CDCl}_3$  або  $\text{D}_2\text{O}$ . Хімічні зсуви наведено відносно ТМС (внутрішній стандарт) або 85 % фосфорної кислоти (зовнішній стандарт) для спектрів ЯМР  $^{31}\text{P}$ . Температуру плавлення вимірювали на приладі Fisher-Johns. Хід реакцій і чистоту синтезованих сполук контролювали методом ТПХ на пластинах «Merck 60 F<sub>254</sub>».

**Синтез N-заміщених амінокислот 1–4.** До 20 мл 50%-го водно-етанольного розчину 0,033 моль гідроксиду калію додавали 0,033 моль піперидин-3- або піперидин-4-карбонової кислоти та 0,01 моль відповідного дихлороакрилонітрилу [9–11]. Реакційну суміш перемішували 24 год при 20–25 °С, розчинник видаляли

у вакуумі до половини об'єму, підкислювали концентрованою соляною кислотою до рН~4-5, осад відфільтровували, сполуки **1-4** очищували переосадженням концентрованою соляною кислотою з водного розчину гідроксиду натрію.

*1-(2-Бензилокси-4-ціано-1,3-оксазол-5-іл)піперидин-4-карбонова кислота (1)*. Вихід 50 %.  $T_{\text{пл}}$  65-67 °С. ІЧ (KBr),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 2209 (C≡N). ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 1,61 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,94 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 2,51 (м, 1H, CH), 3,14 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,68 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 5,35 (с, 2H, CH<sub>2</sub>), 7,36-7,51 (м, 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 12,38 (ш.с, 1H, OH). Знайдено, %: N 12,99. C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. Обчислено, %: N 12,84.

*1-(2-Метокси-4-ціано-1,3-оксазол-5-іл)піперидин-3-карбонова кислота (2)*. Вихід 62 %.  $T_{\text{пл}}$  154-156 °С. ІЧ (KBr),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 2212 (C≡N). ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 1,62 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,70 (м, 1H, CH<sub>2</sub>), 1,93 (м, 1H, CH<sub>2</sub>), 2,60 (м, 1H, CH), 3,17 (м, 1H, CH<sub>2</sub>), 3,31 (м, 1H, CH<sub>2</sub>), 3,53 (м, 1H, CH<sub>2</sub>), 3,70 (м, 1H, CH<sub>2</sub>), 3,96 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 12,52 (ш.с, 1H, OH). Знайдено, %: N 16,90. C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. Обчислено, %: N 16,72.

*1-(2-Метокси-4-ціано-1,3-оксазол-5-іл)піперидин-4-карбонова кислота (3)*. Вихід 64 %.  $T_{\text{пл}}$  172-174 °С. ІЧ (KBr),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 2214 (C≡N). ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 1,61 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,91 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 2,53 (м, 1H, CH), 3,14 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,67 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,96 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 12,46 (ш.с, 1H, OH). Знайдено, %: N 16,87. C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. Обчислено, %: N 16,72.

*1-[2-(2-Карбоксибензоїламіноетил)-4-ціано-1,3-оксазол-5-іл]піперидин-4-карбонова кислота (4)*. Вихід 57 %.  $T_{\text{пл}}$  150-152 °С. ІЧ (KBr),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 2220 (C≡N). ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 1,62 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,93 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 2,52 (м, 1H, CH), 2,84 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,20 (т, 2H, CH<sub>2</sub>, J=11,4 Hz), 3,50 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,80 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 7,38-7,78 (м, 4H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 8,46 (ш.с, 1H, NH), 12,68 (ш.с, 2H, OH). Знайдено, %: N 13,74. C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>. Обчислено, %: N 13,59.

*2-(2-Аміноетил)-5-(морфолін-4-іл)-1,3-оксазол-4-карбонітрил (5)* отримано як описано раніше [11].

*Метиловий естер 1-(4-діетоксифосфорил-2-метил-1,3-оксазол-5-іл)піперидин-4-карбонової кислоти (6)*. До розчину 0,01 моль діетилового естеру 1-ацетиламіно-2,2-дихлоротенілфосфонової кислоти [12] у 50 мл етанолу додавали 0,03 моль триетиламіну і 0,011 моль метилового естеру піперидин-4-карбонової

кислоти. Суміш кип'ятили 4 год, випарювали при пониженому тиску досуха, залишок розчиняли в 100 мл етилацетату, промивали послідовно по 25 мл водою, 10% водним розчином оцтової кислоти, водою, концентрованим водним розчином карбонату калію, висушували над безводним сульфатом магнію, розчинник видаляли у вакуумі. Залишок обробляли киплячим петролейним етером (80-100 °С) (3x50 мл) із декантацією, об'єднані екстракти випарювали при пониженому тиску досуха. Вихід 88 %. Світло-жовта в'язка рідина. ІЧ (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 1732 (C=O), 1231 (P=O), 1026 (P-O-C), 969 (P-O-C-C). ЯМР  $^1\text{H}$  (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ , м.ч.: 1,33 (т, 6H, 2CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 1,78 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,94 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 2,30 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,48 (м, 1H, CH), 3,10 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,68 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 3,96 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 4,10 (м, 4H, 2CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O). ЯМР  $^{31}\text{P}$  (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ , м.ч.: 12,5. Знайдено, %: N 7,59, P 8,81. C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>P. Обчислено, %: N 7,77, P 8,60.

*1-(4-Діетоксифосфорил-2-метил-1,3-оксазол-5-іл)піперидин-4-карбонова кислота (7)*. До розчину 0,01 моль естеру **6** у 5 мл етанолу додавали розчин 0,01 моль гідроксиду натрію в 100 мл води. Суміш перемішували 24-30 год при 20-25 °С (контроль ТШХ), промивали 25 мл етилацетату, підкисляли 10 мл 20% водного розчину оцтової кислоти, продукт екстрагували етилацетатом (4x25 мл), об'єднані екстракти промивали насиченим водним розчином хлориду натрію (2x25 мл), висушували над сульфатом магнію, упарювали при пониженому тиску за температури не вище 25 °С досуха, досушували при 1 мм рт. ст. Вихід 38 %. Світло-жовта в'язка рідина, яка при стоянні кристалізується.  $T_{\text{пл}}$  62-70 °С. ІЧ (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 1712 (C=O), 1174 (P=O), 1026 (P-O-C), 972 (P-O-C-C). ЯМР  $^1\text{H}$  (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ , м.ч.: 1,34 (т, 6H, 2CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 1,84 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,98 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 2,32 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,50 (м, 1H, CH), 3,11 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,93 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 4,13 (м, 4H, 2CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O). ЯМР  $^{31}\text{P}$  (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ , м.ч.: 12,3. Знайдено, %: N 8,01; P 9,14. C<sub>14</sub>H<sub>23</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>P. Обчислено, %: N 8,09; P 8,94.

*1-[(2-Ацетиламіно-2-діетоксифосфорил)ацетил]піперидин-4-карбонова кислота (8)*. Розчин 0,01 моль сполуки **7** у 50 мл суміші оцтова кислота — вода (5:1) нагрівали 7 год при 75 °С на водяній бані, реакційну суміш випарювали при пониженому тиску досуха. За-



лишок розтирали в сухому ацетоні, осад фільтрували, висушували при 75 °С. Вихід 95 %.  $T_{\text{пл}}$  131-132 °С. ІЧ ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3411 (N-H), 1713 (C=O), 1681 (C=O), 1646 (C=O), 1206 (P=O), 1024 (P-O-C), 957 (P-O-C-C). ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.ч.: 1,22 (м, 6H,  $2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ ), 1,31-1,70 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1,83 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1,91 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,80, 3,15, 3,44, 3,88, 4,21 (м, 5H,  $2\text{CH}_2$ , CH), 4,04 (м, 4H,  $2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ ), 5,46 (м, 1H, CHP), 8,45 (м, 1H, NH). ЯМР  $^{31}\text{P}$  ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.ч.: 17,7. Знайдено, %: N 7,51; P 8,72.  $\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_7\text{P}$ . Обчислено, %: N 7,69; P 8,50.

Натрієва сіль 1-[4-діетоксифосфорил-2-(4-метилфеніл)-1,3-оксазол-5-іл]піперидин-4-карбонової кислоти (**9**). Метилловий естер 1-[4-діетоксифосфорил-2-(4-метилфеніл)-1,3-оксазол-5-іл]піперидин-4-карбонової кислоти, синтезований із діетилового естеру 1-(4-метилбензоїламіно)-2,2-дихлороетенілфосфонової кислоти [13] та метилового естеру піперидин-4-карбонової кислоти згідно з методикою синтезу сполуки **6**, гідролізували подібно до отримання кислоти **7**. Вихід 46 %.  $T_{\text{пл}}$  162-163 °С. ІЧ (KBr),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 1715 (C=O), 1194 (P=O), 1014 (P-O-C), 961 (P-O-C-C). ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.ч.: 1,37 (т, 6H,  $2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ ), 1,92 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2,06 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2,38 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,55 (м, 1H, CH), 3,23 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4,07 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4,20 (м, 4H,  $2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ ), 7,21, 7,78 (д, 4H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ). ЯМР  $^{31}\text{P}$  ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.ч.: 12,5. Знайдено, %: N 6,55; P 7,60.  $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_6\text{P}$ . Обчислено, %: N 6,63; P 7,33. Натрієву сіль **9** отримували шляхом випарювання досуха при пониженому тиску водного розчину суміші 0,001 моль кислоти та 0,001 моль гідрокарбонату натрію і без додаткової очистки використовували для біологічних випробувань.

Динатрієва сіль 1-{4-[гідрокси(етокси)фосфорил]-2-(4-метилфеніл)-1,3-оксазол-5-іл]піперидин-4-карбонової кислоти (**10**). Перемішували суміш 0,01 моль метилового естеру N-[4-діетоксифосфорил-2-(4-метилфеніл)-1,3-оксазол-5-іл]піперидин-4-карбонової кислоти (отримання див. вище) та 0,05 моль гідроксиду натрію в 100 мл абсолютного етанолу 10 діб при 20-25 °С (контроль ТПХ, ЯМР  $^{31}\text{P}$ ). Реакційну суміш випарювали при пониженому тиску і температурі не вище 30 °С досуха, залишок розтирали в абсолютному діоксані, осад фільтрували, промивали на фільтрі абсолютним діоксаном, потім розчиняли в міні-

мальній кількості льодяної води та при охолодженні обережно підкислювали 10% водним розчином соляної кислоти до рН~1-2. Продукт випадає у вигляді масла, яке легко затирається. Осад фільтрували, промивали на фільтрі холодною водою, висушували, кристалізували з 2-пропанолу. Вихід 1-{4-[гідрокси(етокси)фосфорил]-2-(4-метилфеніл)-1,3-оксазол-5-іл]піперидин-4-карбонової кислоти 50 %.  $T_{\text{пл}}$  133-134 °С. ІЧ (KBr),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 1720 (C=O), 1239 (P=O), 1040 (P-O-C), 957 (P-O-C-C). ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 1,23 (т, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ ), 1,63 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1,90 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2,35 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,15 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3,78 (м, 1H, CH), 3,95 (м, 2H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ ), 4,03 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7,29, 7,73 (д, 4H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ). ЯМР  $^{31}\text{P}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 8,5. Знайдено, %: N 6,97; P 8,12.  $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_6\text{P}$ . Обчислено, %: N 7,10; P 7,85. Динатрієву сіль **10** отримували шляхом випарювання досуха при пониженому тиску водного розчину суміші 0,001 моль кислоти та 0,002 моль гідрокарбонату натрію і без додаткової очистки використовували для біологічних випробувань.

1-{2-Дигідроксифосфорил-2-[(4-метилбензоїл)аміно]ацетил}піперидин-4-карбонова кислота (**11**). Розчин 0,01 моль 1-{4-[гідрокси(етокси)фосфорил]-2-(4-метилфеніл)-1,3-оксазол-5-іл]піперидин-4-карбонової кислоти (одержання див. вище) нагрівали в 50 мл суміші оцтова кислота — вода (5:1) 30 год при 75 °С на водяній бані, реакційну суміш випарювали при пониженому тиску досуха. Залишок швидко розтирали в сухому ацетоні, осад фільтрували, висушували у вакуумі при 75 °С. Вихід 79 %.  $T_{\text{пл}}$  106-107 °С. Білий гігроскопічний порошок. ІЧ (KBr),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 2500-3500 (N-H, O-H), 1716 (C=O), 1613 (2C=O), 1190 (P=O). ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ),  $\delta$ , м.ч.: 1,71 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2,07 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2,31 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,65 (м, 1H, CH), 2,98 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3,33 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4,81 (д, 1H, CHP,  $^2J_{\text{HP}}=21,3$  Гц), 7,28, 7,67 (д, 4H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ). ЯМР  $^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ),  $\delta$ , м.ч.: 9,3. Знайдено, %: N 7,05; P 8,24.  $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_7\text{P}$ . Обчислено, %: N 7,29; P 8,06.

(5-Етоксикарбоніламіно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)[(4-метилбензоїл)аміно]метилфосфонова кислота (**12**). До розчину 0,01 моль діетилового естеру 5-гідразино-2-(4-метилфеніл)-1,3-оксазол-4-фосфонової кислоти [14] у 20 мл абсолютного ацетонітрилу додавали 0,01 моль етоксикарбонілізотіоціанату при 20-25 °С, за-

лишали на 15 хв при 20–25 °С, потім кип'ятили 2 год, охолоджували, осад фільтрували, промивали на фільтрі ацетонітрилом. Після висушування напівпродукт розчиняли при перемішуванні в 30 мл льодяної оцтової кислоти, насиченої бромоводнем, витримували 6 год при 20–25 °С, випарювали при пониженому тиску за температури не вище 30 °С досуха, залишок кристалізували з мінімальної кількості води. Вихід 62 %.  $T_{\text{пл}}$  234–235 °С. ІЧ (KBr),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3500–2500 (N–H, O–H ас.), 1697 (C=O), 1646 (C=O), 1208 (P=O). ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 2,17 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,35 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 5,88 (дд, 1H, СНР,  $^3J_{\text{HH}}$  8,8 Гц,  $^2J_{\text{HP}}$  21,0 Гц), 7,28 (д, 2H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ,  $^3J_{\text{HH}}$  7,6 Гц), 7,83 (д, 2H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ,  $^3J_{\text{HH}}$  7,6 Гц), 8,89 (д, 1H,  $\text{NHCH}$ ,  $^3J_{\text{HH}}$  8,8 Гц), 12,47 (ш. с, 1H, NH). ЯМР  $^{31}\text{P}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 12,8. Знайдено, %: N 14,99; P 8,25; S 8,75.  $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{O}_5\text{PS}$ . Обчислено, %: N 15,13; P 8,36; S 8,66.

*Динатрієва сіль 2-(4-метилфеніл)-5-(4-хлорофенілсульфаніл)-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти (13)*. Розчин 0,01 моль діетилового естеру 2-(4-метилфеніл)-5-(4-хлорофенілсульфаніл)-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти [15] у 30 мл льодяної оцтової кислоти, насиченої бромоводнем, витримували 6 год при 20–25 °С, випарювали при пониженому тиску за температури не вище 30 °С досуха, залишок кристалізували з етанолу. Вихід 2-(4-метилфеніл)-5-(4-хлорофенілсульфаніл)-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти 84 %.  $T_{\text{пл}}$  209–210 °С. ІЧ (KBr),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 1240 (P=O). ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 2,37 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7,35, 7,44, 7,83 (м, 8H,  $2\text{C}_6\text{H}_4$ ). ЯМР  $^{31}\text{P}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 0,6. Знайдено, %: N 3,58; P 8,28; S 8,29.  $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{ClNO}_4\text{PS}$ . Обчислено, %: N 3,67; P 8,11; S 8,40. Динатрієву сіль **13** отримували шляхом випарювання досуха при пониженому тиску водного розчину суміші 0,001 моль кислоти та 0,002 моль гідрокарбонату натрію і без додаткової очистки використовували для біологічних випробувань.

*Натрієва сіль моноетилового естеру 2-(4-метилфеніл)-5-(4-хлорофенілсульфоніл)-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти (14)*. Перемішували суміш 0,01 моль діетилового естеру 2-(4-метилфеніл)-5-(4-хлорофенілсульфаніл)-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти [15] та 0,03 моль гідроксиду натрію в 100 мл абсолютного етанолу 8 год при 20–25 °С (контроль

ТШХ). Реакційну суміш випарювали при пониженому тиску і температурі не вище 30 °С досуха, залишок розчиняли в мінімальній кількості льодяної води та при охолодженні обережно підкислювали концентрованою соляною кислотою до рН–1–2. Осад фільтрували, промивали на фільтрі льодяною водою, сушили, кристалізували з етанолу, розчиняли в 15 мл безводної оцтової кислоти, нагрівали до 90–100 °С та додавали по краплинах 3,5 мл 35% водного розчину пероксиду водню, суміш кип'ятили 2 год, випарювали у вакуумі досуха, залишок розтирали у воді, осад фільтрували, перекристалізували з етанолу. Вихід моноетилового естеру 2-(4-метилфеніл)-5-(4-хлорофенілсульфоніл)-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти 76 %.  $T_{\text{пл}}$  197–199 °С. ІЧ (KBr),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 1312 ( $\text{SO}_2$ ), 1150 ( $\text{SO}_2$ ), 1208 (P=O). ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 1,23 (т, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,39 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4,04 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7,42, 7,78, 7,91, 8,23 (м, 8H,  $2\text{C}_6\text{H}_4$ ). ЯМР  $^{31}\text{P}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 4,9. Знайдено, %: Cl 8,22, N 3,01; P 7,28; S 7,35.  $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{ClNO}_6\text{PS}$ . Обчислено, %: Cl 8,02, N 3,17; P 7,01; S 7,26. Натрієву сіль **14** отримували шляхом випарювання досуха при пониженому тиску водного розчину суміші 0,001 моль кислоти та 0,001 моль гідрокарбонату натрію і без додаткової очистки використовували для біологічних випробувань.

*Динатрієва сіль 2-(4-метилфеніл)-5-(4-метилфенілсульфоніл)-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти (15)*. Діетиловий естер 2-(4-метилфеніл)-5-(4-метилфенілсульфаніл)-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти [15] гідролізували до 2-(4-метилфеніл)-5-(4-метилфенілсульфаніл)-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти подібно до одержання сполуки **12**. Синтезовану фосфонову кислоту окисляли за описаним вище методом для отримання сполуки **14**. Вихід 2-(4-метилфеніл)-5-(4-метилфенілсульфоніл)-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти 83 %.  $T_{\text{пл}}$  246–248 °С. ІЧ (KBr),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 1344 ( $\text{SO}_2$ ), 1177 ( $\text{SO}_2$ ), 1227 (P=O). ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 2,38 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,40 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7,38, 7,48, 7,86, 8,08 (м, 8H,  $2\text{C}_6\text{H}_4$ ). ЯМР  $^{31}\text{P}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: –2,5. Знайдено, %: N 3,43; P 7,91; S 8,27.  $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{NO}_6\text{PS}$ . Обчислено, %: N 3,56; P 7,78; S 8,15. Динатрієву сіль **15** отримували шляхом випарювання досуха при пониженому тиску водного розчину суміші 0,001 моль кис-

логи та 0,002 моль гідрокарбонату натрію і без додаткової очистки використовували для біологічних випробувань.

**Динатрієва сіль [1-ацетиламіно-2-(4-метилфенілсульфаніл)-2-оксоетил]фосфонової кислоти (16).** Перемішували суміш 0,01 моль діетилового естеру 2-метил-5-(4-хлорофенілсульфаніл)-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти [15] та 0,03 моль гідроксиду натрію в 100 мл абсолютного етанолу 8 год при 20-25 °С (контроль ТШХ). Реакційну суміш випарювали при пониженому тиску і температурі не вище 30 °С досуха, залишок розчиняли в 10 мл холодної води та при охолодженні обережно підкислювали концентрованою соляною кислотою до рН-1-2, суміш витримували 24 год при 5-10 °С, осад фільтрували, висушували, суспендували в 10 мл дихлорметану, кип'ятили 2 хв, охолоджували, осад фільтрували, сушили в вакуумі. Вихід [1-ацетиламіно-2-(4-метилфенілсульфаніл)-2-оксоетил]фосфонової кислоти 56 %.  $T_{пл}$  191-192 °С (EtOH). ІЧ (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3309 (N-H), 1678 (C=O), 1212 (P=O). ЯМР  $^1H$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 2,00 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,34 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 4,87 (дд, 1H, СНР,  $^2J_{HP}$  22,5 Гц,  $^3J_{HH}$  6,0 Гц), 7,24-7,26 (м, 4H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 8,80 (ш. с, 1H, NH). ЯМР  $^{31}P$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.ч.: 9,5. Знайдено, %: N 4,30; P 10,01; S 10,03. C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>NO<sub>4</sub>PS. Обчислено, %: N 4,47; P 9,89; S 10,23. Динатрієву сіль **16** отримували шляхом випарювання досуха при пониженому тиску водного розчину суміші 0,001 моль кислоти та 0,002 моль гідрокарбонату натрію і без додаткової очистки використовували для біологічних випробувань.

**Біологічна частина.** Для оцінки антимікробної активності нових синтезованих сполук використовували референс-штами з American type culture collection (ATCC): *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та *Candida albicans* ATCC M 885 ATCC 10231.

Для культивування бактеріальної культури використовували поживне середовище Мюллера-Хінтона (рН 7,2-7,4), а для грибів — поживне середовище Сабуро (рН 6,0-6,8).

Антимікробний ефект оцінювали диско-дифузійним методом на твердому поживному середовищі [16]. Мікробне навантаження на 1 мл посівного матеріалу становило від 10<sup>4</sup> до 10<sup>10</sup> КУО в залежності від ступеня активності сполук і контролювалось оптичним стандартом мутності (СОС 42-28-85-01 П).

Оцінку активності тестованих сполук проводили шляхом порівняння з активністю відповідних референс-препаратів (стандартні диски з відомим вмістом).

Усі тестовані сполуки досліджували в дозах на диску 200,0·10<sup>-8</sup>, 20,0·10<sup>-8</sup> та 2,0·10<sup>-8</sup> моль.

Оцінку біологічної безпеки досліджуваних сполук проводили на біомоделі монокультури *Paramecium caudatum* [17]. Модель інфузорії роду *Paramecium caudatum* широко використовується в токсикологічній практиці і дає змогу визначити дозозалежні ефекти фармакологічних препаратів, що різняться як за своєю природою, так і за механізмом дії [18, 19].

Надійшла в редакцію 27.10.2011 р.

#### Study *in vitro* for antimicrobial activity of new oxazole derivatives and products of its transformations

I.M. Kopernik<sup>1</sup>, V.M. Blagodatnyj<sup>2</sup>, O.V. Petrenko<sup>2</sup>, L.E. Kalashnikova<sup>1</sup>, V.V. Prokopenko<sup>1</sup>, K.M. Kondratyuk<sup>1</sup>, O.I. Lukashuk<sup>1</sup>, O.V. Golovchenko<sup>1</sup>, S.A. Chumachenko<sup>1</sup>, O.V. Shablykin<sup>1</sup>, L.O. Metelitsa<sup>1</sup>, V.S. Brovarets<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Bioorganic and Petroleum Chemistry, NAS of Ukraine  
1, Murmanska Str., Kyiv, Ukraine, 02660

<sup>2</sup> P.L. Shupik National Medical Academy of Post-Graduate Education  
9, Dorogozhytska Str., Kyiv, Ukraine, 04112

**Summary.** New water soluble derivatives of 4-cyano- and 4-phosphorylsubstituted 1,3-oxazoles and products of its transformations fungistatic and bacteriostatic activity was studied.

**Keywords:** 5-amino-1,3-oxazoles, 5-mercapto-1,3-oxazoles, 1,3,4-thiadiazole, phosphonic acids, fungistatic, bacteriostatic activity.

## Перелік літератури

1. *Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В.* Грибковые инфекции. Руководство для врачей. — М.: ООО «Бином-пресс», 2003. — 440 с.
2. *Graybill J.R.* Azole therapy in systemic fungal infections // *Diagnosis and therapy of systemic fungal infection*, 1989. — P. 133-144.
3. *Гурьянова М.Н., Данилова В.К., Казанцева М.И.* Маркетинговые исследования фармацевтического рынка противогрибковых препаратов производных азола // *Вестник Пермской государственной фармацевтической академии*. — 2007. — № 3. — С. 32-35.
4. *Lewis R.E., Kontoyiannis D.P.* Rationale for combination antifungal therapy // *Pharmacotherapy*. — 2001. — No. 8. — P. 149-164.
5. *Mares D., Romagnoli, C.B. Tosi, Benvegnu R., Brunni A., Vicentini C.B.* Mannan changes induced by 3-methyl-5-aminoisoxazole-4-thiocyanate, a new azole derivative, on *Epidermophyton floccosum* // *Fungal Genetics and Biology*. — 2002. — Vol. 36, No. 1. — P. 47-57.
6. *Cha R., Sobel J.D.* Fluconazole for the treatment of candidiasis: 15 years experience // *Expert Rev Anti Infect Ther.* — 2004. — Vol. 2, No. 3. — P. 357-366.
7. *Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В.* Кандидоз. Природа инфекции, механизмы агрессии и защиты, лабораторная диагностика, клиника и лечение. — М.: Триада, 2000. — 472 с.
8. *Багирова Н.С., Дмитриева Н.В.* Дрожжевые грибы: идентификация и резистентность к противогрибковым препаратам в онкогематологическом стационаре // *Инфекции и антимикробная терапия*. — 2001. — Т. 3, № 6. — С. 178-182.
9. *Драч Б.С., Свиридов Э.П., Кисиленко А.А., Кирсанов А.В.* Взаимодействие вторичных аминов с N-ацил-2,2-дихлорвиниламинами и N-ацил-1-циано-2,2-дихлорвиниламинами // *Журн. орг. химии*. — 1973. — Т. 9, № 9. — С. 1818-1824.
10. *Броварец В.С., Пильо С.Г., Чернега А.Н., Романенко Е.А., Драч Б.С.* Взаимодействие N-ацильных и N-сульфонильных производных 2-амино-3,3-дихлор-акрилонитрила с фенилгидразином // *Журн. общ. химии*. — 1999. — Т. 69, № 10. — С. 1646-1651.
11. *Чумаченко С.А., Шаблыккин О.В., Василенко А.Н., Броварец В.С.* Синтез и некоторые свойства 5-алкиламино-2-(фталимидоалкил)-1,3-оксазол-4-карбонитрилов // *Химия гетероцикл. соединений*. — 2011. — № 8. — С. 1238-1248.
12. *Драч Б.С., Свиридов Э.П., Шатурский Я.П.* Взаимодействие диэтиловых эфиров 1-ациламино-2,2-дихлорвинилфосфоновых кислот с первичными и вторичными аминами // *Журн. общ. химии*. — 1974. — Т. 44, № 8. — С. 1712-1715.
13. *Головченко О.В.* Синтези нових біорегуляторів азольного ряду на основі 4,5-дифункціональнозаміщених оксазолів: дис. ... канд. хім. наук. — Київ, 2004. — 145 с.
14. *Головченко А.В., Соломянный Р.Н., Броварец В.С.* Синтез производных C-гетерилзамещенных аминотилфосфоновых кислот // *Журн. общ. химии*. — 2010. — Т. 80, № 4. — С. 563-567.
15. *Пильо С.Г.* Синтези нових похідних азолів на основі 2-ациламіно-3,3-дихлороакрилонітрилів та їх аналогів : дис. ... канд. хім. наук. — Київ, 2002. — 137 с.
16. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей ред. чл.-корр. РАМН, проф. Р.У. Хабриева.* — М.: Медицина, 2005. — С. 515-531.
17. *Виноходов Д.О., Пожаров А.В.* Методологические особенности токсикологических тестов с инфузориями // *Известия СПбГЭТУ «ЛЭТИ». Серия «Биотехнические системы в медицине и экологии».* — 2006. — Вып. 3. — С. 60-67.
18. *Бойкова Э.Е.* Применение простейших в токсикологических исследованиях // *Экспериментальная водная токсикология*. — 1991. — Вып. 15. — С. 155-164.
19. *Виноходов Д.О.* Научные основы биотестирования с использованием инфузорий : дис. ... д-ра биол. наук. — Санкт-Петербург, 2007. — 353 с.