

**SYNTEZY WYBRANYCH ZASAD MANNICHA
O AKTYWNOŚCI PRZECIWBAKTERYJNEJ
I PRZECIWGRZYBICZEJ *IN VITRO***

SYNTHESIS AND ANTIBACTERIAL AND
ANTIFUNGAL ACTIVITY *IN VITRO* OF SELECTED
MANNICH BASES

**Anna Nowicka*, Hanna Liszkiewicz,
Wanda Paulina Nawrocka**

*Katedra i Zakład Technologii Leków
Uniwersytet Medyczny im Piastów Śląskich we Wrocławiu
ul. Borowska 211a, 50-556 Wrocław
e-mail: anna.nowicka@umed.wroc.pl

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

Zasady Mannicha o aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwgrzybiczej

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

Prof. dr hab. Wanda Paulina Nawrocka jest absolwentką Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej i pracuje na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Stopień naukowy doktora nauk farmaceutycznych i doktora habilitowanego w zakresie chemii i technologii środków leczniczych uzyskała na tutejszym Wydziale. W 2009 roku Prezydent RP Lech Kaczyński nadał jej tytuł naukowy profesora dr hab. w zakresie chemii i technologii środków leczniczych. Od 2009 jest kierownikiem Katedry i Zakładu Technologii Leków. Kierunki badań naukowych: synteza i struktura związków heterocyklicznych w tym 1,5-benzo- i 1,5-pirydodiazepin, chinazolinonu-4, 2-aminobenzimidazolu, o potencjalnej aktywności biologicznej: psychotropowej, immunotropowej i przeciwnowotworowej.

Mgr inż. Anna Nowicka ukończyła Inżynierię Materiałową na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej. Jest również absolwentką Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej we Wrocławiu. Od 2010 roku jest asystentem w Katedrze i Zakładzie Technologii Leków Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Zajmuje się syntezą nowych pochodnych 2-aminobenzimidazolu o potencjalnej aktywności biologicznej.

Dr n. farm. Hanna Liszkiewicz ukończyła Wydział Farmaceutyczny Akademii Medycznej we Wrocławiu. Pracuje w Katedrze i Zakładzie Technologii Leków Uniwersytetu Medycznego. Stopień doktora nauk farmaceutycznych uzyskała na tutejszym Wydziale. Kierunki badań naukowych: synteza i struktura związków heterocyklicznych w tym 1,5-benzo- i 1,5-pirydodiazepin, chinazolinonu-4, 2-aminobenzimidazolu, imidazo[4,5-*b*]pirydyny, o potencjalnej aktywności biologicznej: psychotropowej, immunotropowej i przeciwnowotworowej.

ABSTRACT

The Mannich reaction is a three-component condensation reaction involving an active hydrogen containing compound, formaldehyde and a primary or a secondary amine. The Mannich reaction is one of the most important basic reaction types in organic chemistry. This kind of aminoalkylation is important for the synthesis and modification of biologically active compounds.

Many studies have shown that Mannich bases possesses potent biological activities: antibacterial, antifungal, anti-inflammatory and antimalarial properties. Mannich bases – substituted products containing different heterocyclic moiety in their structures seem to be suitable candidates for further chemical modifications and might be of interest as pharmacologically active compounds.

The main goal of this article is to present synthesis and antimicrobial activity of selected Mannich bases. The Mannich reaction is known to be very useful for the synthesis of antibacterial compounds. The Mannich bases, containing various heterocyclic systems were identified as potent antimicrobial agents. Obtained in Mannich reaction derivatives of antibacterial drugs: ciprofloxacin, norfloxacin demonstrate higher antibacterial activity than used drugs, while derivatives of drugs: ibuprofen or phenytoin changed the profile of action of new synthesized compounds.

Keywords: Mannich bases, antibacterial activity, antifungal activity

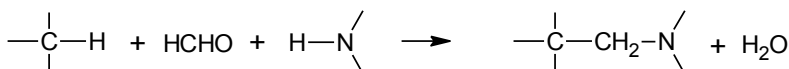
Słowa kluczowe: zasady Mannicha, aktywność przeciwbakteryjna, aktywność przeciwgrzybicza

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

MIC	- minimalne stężenie hamujące (ang. <i>minimal inhibitory concentration</i>)
Me	- metyl (ang. <i>methyl</i>)
Et	- etyl (ang. <i>ethyl</i>)
Ac	- acetyl (ang. <i>acetyl</i>)
Ph	- fenyl (ang. <i>phenyl</i>)
RNA	- kwas rybonukleinowy (ang. <i>ribonucleic acid</i>)
DNA	- kwas deoksyrybonukleinowy (ang. <i>deoxyribonucleic acid</i>)

WPROWADZENIE

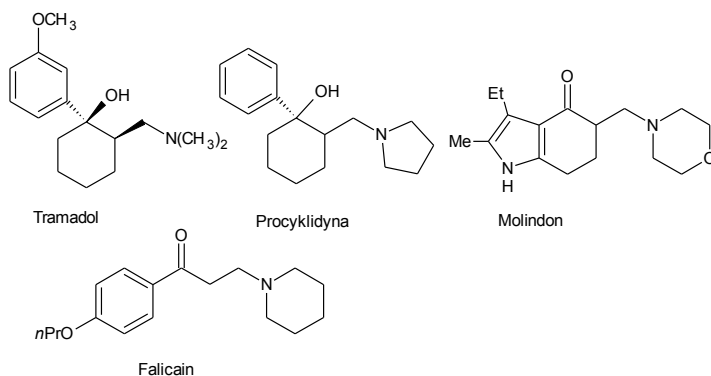
Syntezy Mannicha należą do reakcji trójskładnikowych, w których dochodzi do kondensacji trzech składników: aldehydu mrówkowego, amin (najczęściej II-rzędowych) ze związkami zawierającymi reaktywne atomy wodoru. Substratami kondensacji Mannicha mogą być np. aceton, formalina lub alifatyczny związek nitrowy, iminy, bogate w elektrony heterocykle np. tiofen, furan czy pirol. Ze względu na rodzaj wprowadzanego podstawnika reakcję można nazwać aminometylowaniem [1]. Zasady Mannicha w piśmiennictwie chemicznym są licznie reprezentowane, a w pracach przeglądowych zaprezentowano m.in. ich syntezy, mechanizm i reakcje a także syntezy substancji naturalnych m.in. toksyn, alkaloidów itp. [2, 3].



Schemat 1. Mechanizm reakcji Mannicha

Scheme 1. The mechanism of the Mannich reaction

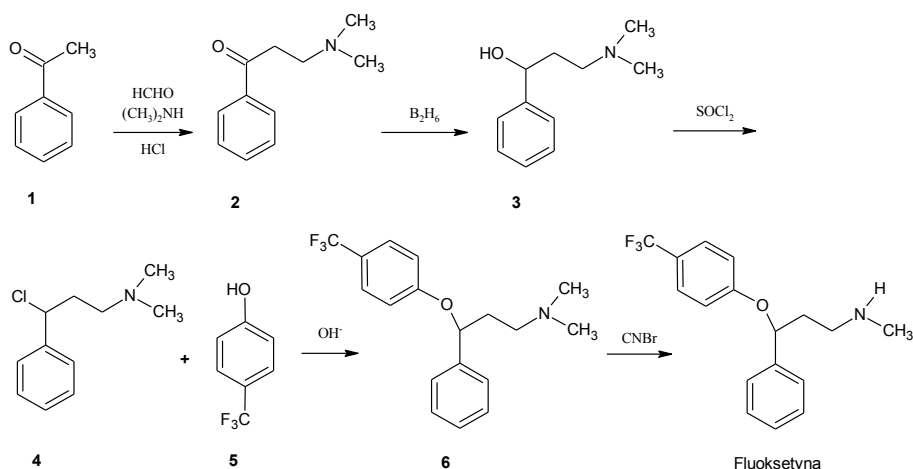
W wyniku kondensacji Mannicha otrzymuje się obecnie stosowane leki o różnorodnym działaniu farmakologicznym: Tramadol – opioidowy lek przeciwbólowy, Procyklidyna – stosowana w chorobie Parkinsona, Molindon – neuroleptyk, Falicain – stosowany do miejscowego znieczulenia w laryngologii [3].



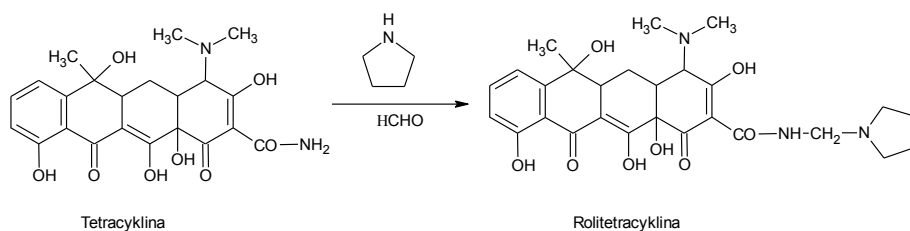
Rysunek 1. Wybrane leki – Zasady Mannicha

Figure 1. Selected drugs – Mannich bases

Poniżej przedstawiono syntezy wybranych leków (Schemat 2 i 3) – otrzymanych w wyniku kondensacji Mannicha: Fluoksetyny (*Prozac*) – leku o działaniu przeciwdepresyjnym [4] oraz Rolitetrazykliny (*Tetraverinum*) antybiotyku z grupy tetracyklin [5].



Schemat 2. Synteza Fluoksetyny
Scheme 2. Synthesis of Fluoxetine



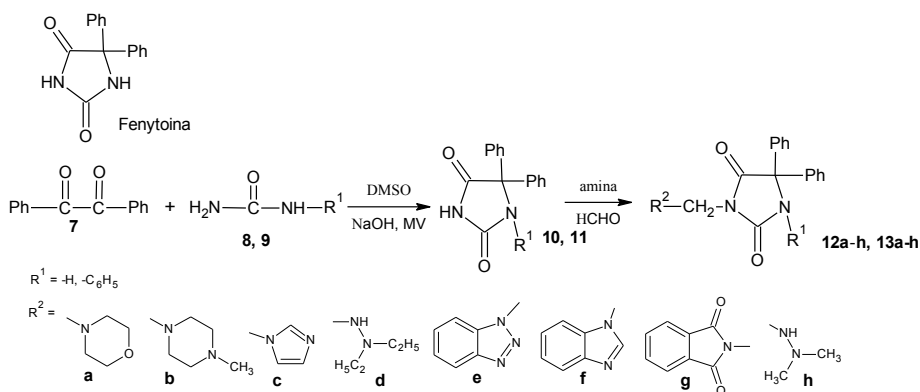
Schemat 3. Synteza Rolitetracykliny
Scheme 3. Synthesis of Rolitetracycline

Zaprezentowane w piśmiennictwie zasady Mannicha wykazują różnorodną aktywność biologiczną: przeciwbakteryjną i przeciwgrzybiczą [11–30], przeciwdrgawkową [6], przeciwwirusową [7], przeciwnowotworową [8], przeciwmalaryczną [9], przeciwbólową i przeciwzapalną [10].

W artykule opisano, ostatnio opublikowane, wybrane syntezy zasad Mannicha, pochodnych różnych układów heterocyklicznych o aktywności przeciwbakteryjnej oraz przeciwgrzybiczej. W przedstawionych syntezach Mannicha często substratami są leki o różnorodnej aktywności farmakologicznej: Fenytoina (lek przeciwpadaczkowy i przeciwarytmiczny), Ibuprofen (lek przeciwzapalny i przeciwbólowy), Ciprofloksacyna, Norfloksacyna, Kwas nalidyksowy (leki o aktywności przeciwbakteryjnej) czy pochodne adamantanu (leki przeciwwirusowe) [5]. Po modyfikacji ich struktury chemicznej, otrzymane związki zmieniły profil działania na przeciwbakteryjny i przeciwgrzybiczy, a w przypadku chinolonów działanie było silniejsze.

ZASADY MANNICHA O AKTYWNOŚCI PRZECIWBAKTERYJNEJ I PRZECIWGRZYBICZEJ

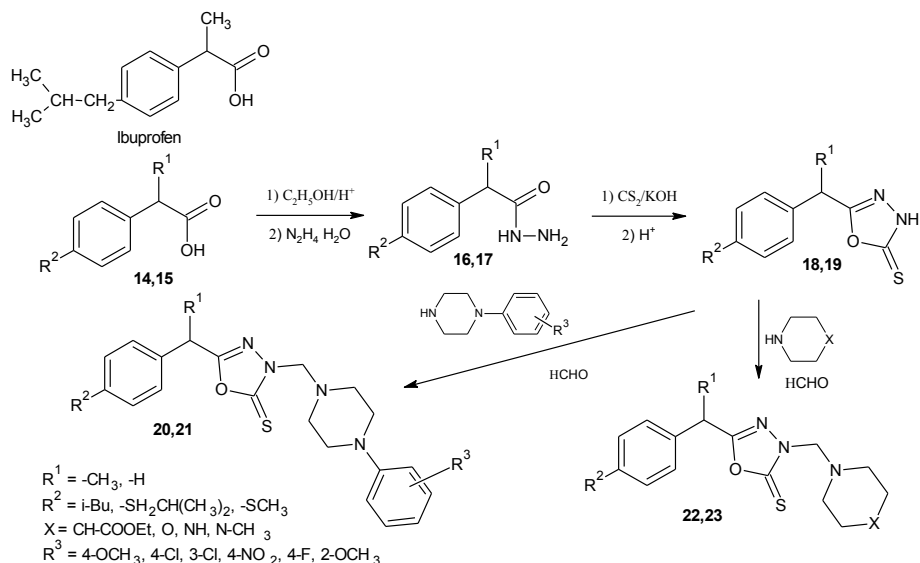
Bapna i in. [11] w reakcji 2-difenylo diketonu (difenylglioksalu) (7) z mocznikiem (8) lub fenylomocznikiem (9) otrzymali 5,5-difenyloimidazolidyno-2,4-dion (10) – Fenytoinę i 1,5,5-trifenyloimidazolidyno-2,4-dion (11). Pochodne hydantoiny 10 i 11 poddali kondensacjom Mannicha z formaliną i wybranymi aminami (Schemat 4). Reakcje były prowadzone w reaktorze mikrofalowym. Otrzymane związki 12a-h, 13a-h testowano na aktywność przeciwbakteryjną wobec czterech szczepów bakterii: Gram dodatnich *Staphylococcus aureus* i *Bacillus subtilis* oraz Gram ujemnych *Pseudomonas aeruginosa* i *Escherichia coli*. Stopień zahamowania wzrostu bakterii był porównywalny do leku referencyjnego – Ampicyliny [5]. Wykazywały one również umiarkowaną aktywność przeciwgrzybiczą przeciwko *Candida albicans* i *Aspergillus niger*. Lekiem referencyjnym w testach była Gryzeofulwina [5].



Schemat 4. Synteza pochodnych fenytoiny

Scheme 4. Synthesis of phenytoin derivatives

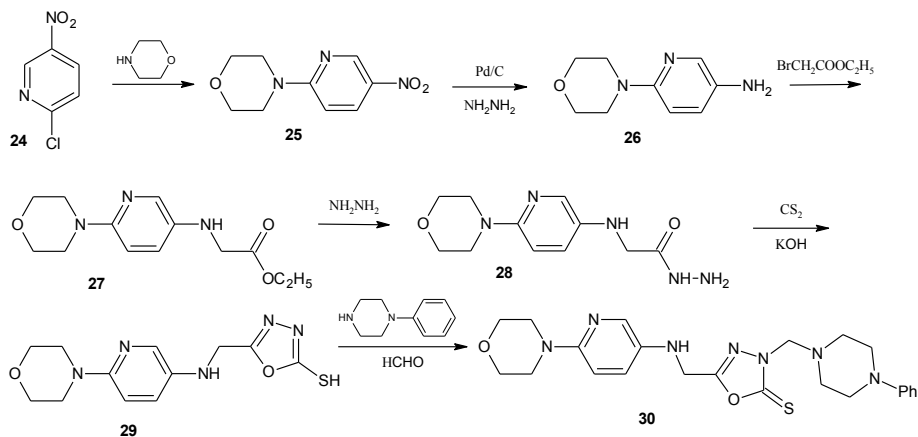
W wyniku dwuetapowej syntezy z kwasów (metylopropylo)fenylenopropionowego (14) – Ibuprofen lub 4-metylotiofenylokarboksylowego (15) otrzymano pochodne 2-tio-1,3,4-oksadiazolu 18, 19. W kolejnym etapie poddano je kondensacjom Mannicha z wybranymi aminami II-rzędowymi w obecności formaliny (Schemat 5) uzyskując związki 20–23. Były one aktywne przeciwbakteryjnie i przeciwgrzybiczo (MIC 1,56–25 $\mu\text{g/ml}$) [12]. W testach użyto przeciwbakteryjnych leków wzorcowych – Ciprofloksacyny i Cyklopirosolaminy [5]. Związki wykazały dodatkowo aktywność przeciwbólową i przeciwzapalną wyższą niż lek referencyjny – Diklofenak [5].



Schemat 5. Synteza pochodnych 5-podstawionych-2-tiokso-1,3,4-oksadiazolu

Scheme 5. Synthesis of 5-substituted-2-tioxo-1,3,4-oxadiazole derivatives

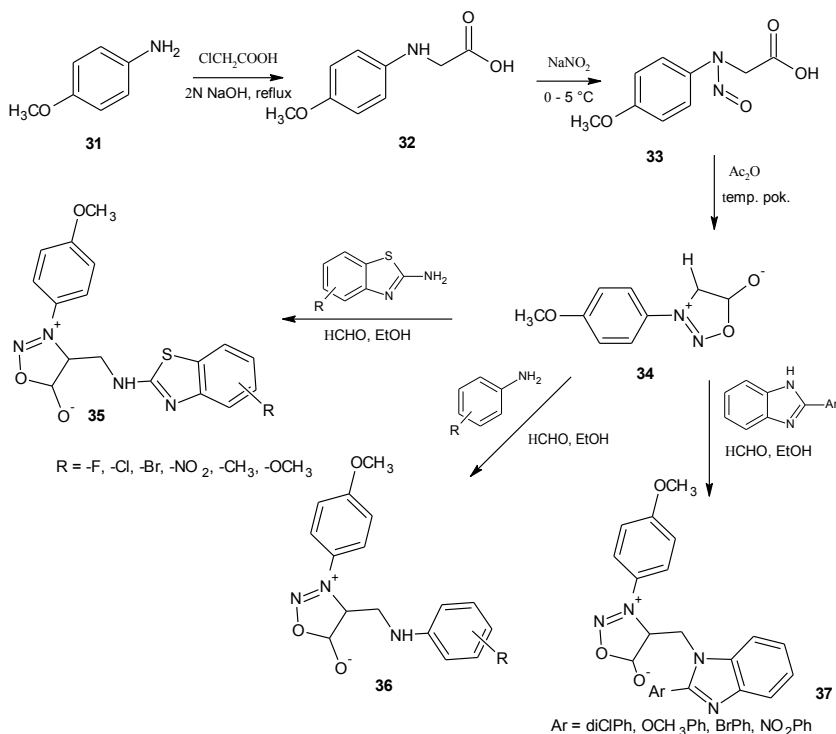
Zsyntetyzowana według schematu 6 przez tureckich naukowców [13] pochodna 1,3,4-oksadiazolu **30** wykazywała najwyższą aktywność przeciwbakteryjną wobec wszystkich testowanych szczepów bakterii Gram dodatnich i Gram ujemnych. Dodatkowe badania potwierdziły jej zdolność hamowania enzymu ureazy – produkowanego przez bakterie przy zakażeniach dróg moczowych.



Schemat 6. Synteza 5-[[[(4-morfolin-4-ylo-pirydyn-3-ylo)amino]metylo]-3-[[4-fenylpiperazyń-1-ylo) metylo]-2-tiokso-1,3,4-oksadiazolu

Scheme 6. Synthesis of 5-[[[(4-morpholin-4-yl)pyridin-3-yl]amino]methyl]-3-[[4-(4-phenylpiperazin-1-yl)methyl]-1,3,4-oxadiazole-2(3H)-thione

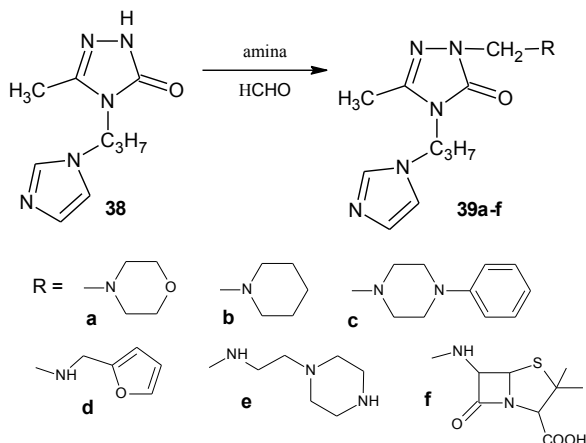
Z serii zasad Manniccha **35–37**, pochodnych 1,2,3-oksadiazolu (sydnonu) [14] przedstawionych na schemacie 7, najwyższą aktywność przeciwbakteryjną wobec *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i przeciwgrzybiczą wobec *Candida albicans* wykazał 4-(((6-fluorobenzod[tiazo]l-2-yl)amino)metylo)-3-(4-metoksyfenylo)sydnon (**35**). Substancjami referencyjnymi w testach przeciwbakteryjnych były: Ciprofloksacyna, Ampicylina, Streptomycyna, Penicylina G, natomiast w testach przeciwgrzybiczych: Flukonazol oraz Nystatyna [5].



Schemat 7. Synteza pochodnych sydnonu
 Scheme 7. Synthesis of sydnone derivatives

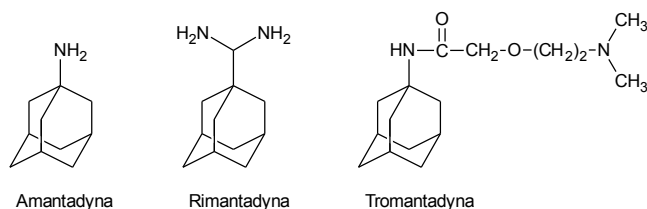
W kilku pracach, pochodzących z różnych ośrodków naukowych, zaprezentowano syntezy zasad Manniccha, zawierające w swojej strukturze 1,2,4-triazol, o aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwgrzybiczej.

Zasady Manniccha – pochodne 3-okso-5-metylo-1,2,4-triazolu **39a-f** (Schemat 8) hamowały wzrost szczepów bakterii chorobotwórczych *Mycobacterium smegmatis* i grzybów z gatunku *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*. Najwyższą aktywność w testach *in vitro* wykazały pochodne **39a-b** (MIC = 0,12–62,5 µg/ml). Lekami referencyjnym w testach przeciwbakteryjnych była Ampicylina i Streptomycyna, natomiast w testach przeciwgrzybiczych Flukonazol [15].



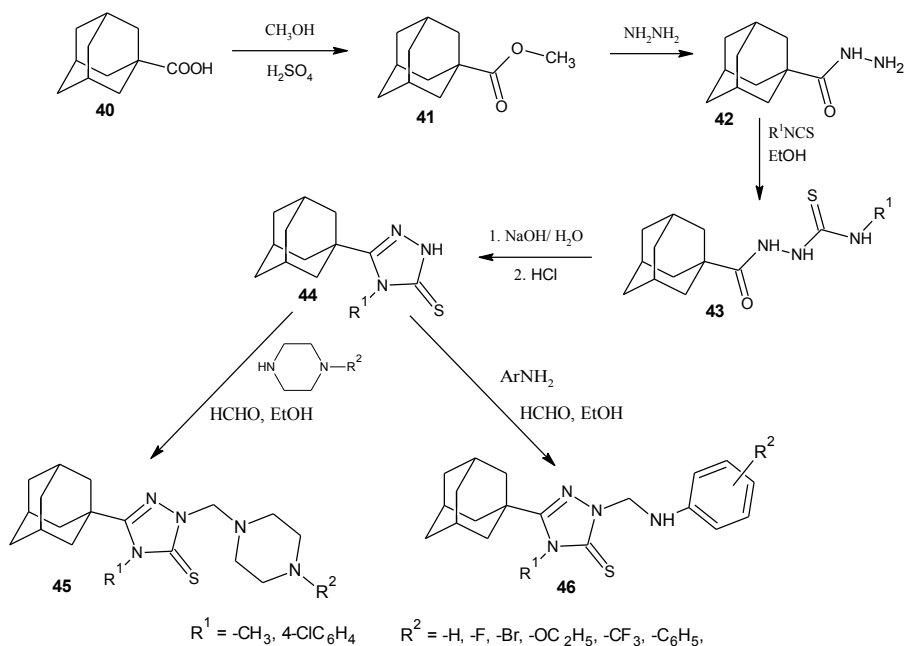
Schemat 8. Synteza pochodnych 3-okso-5-metylo-1,2,4-triazolu
 Scheme 8. Synthesis of 3-oxo-5-methyl-1,2,4-triazole derivatives

Leki – pochodne adamantanu: Amantadyna, Rimantadyna, Tromantadyna wyjązują aktywność przeciwwirusową. Są stosowane w profilaktyce, jak i leczeniu grypy typu A. Amantadyna stosowana jest również jako lek przeciwparkinsonowy [5].



Rysunek 2. Leki przeciwwirusowe, pochodne adamantanu
 Figure 2. Antiviral drugs, adamantane derivatives

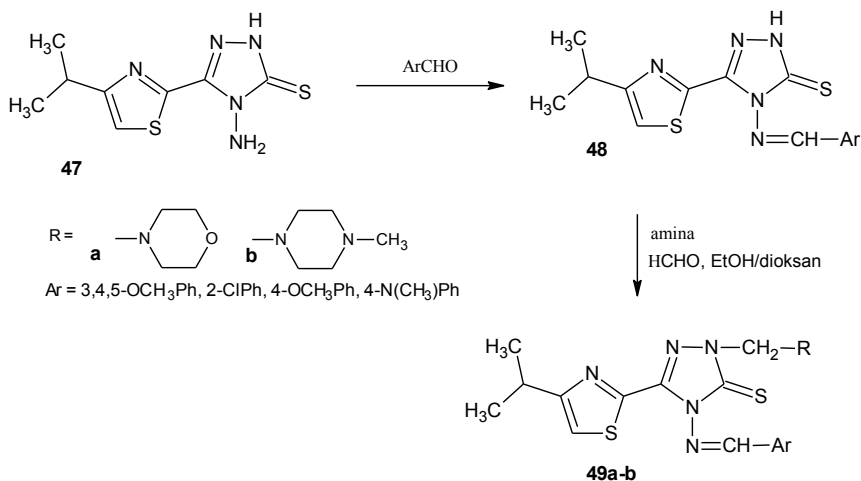
Arabscy naukowcy [16] zsyntezowali pochodne 3-tio-1,2,4-triazolu z podstawnikiem adamantylovym, które poddali kondensacjom Mannicha (Schemat 9). Otrzymane związki **45,46** wykazały aktywność przeciwko szczepom bakterii Gram dodatnich: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* oraz Gram ujemnych: *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*, porównywalną do aktywności znanych antybiotyków: Gentamycyny, Ampicyliny. Dodatkowo działały przeciwgrzybiczo wobec szczepów *Candida albicans*, a stosowanym wzorcem był Klotrimazol [5].



Schemat 9. Synteza pochodnych 5-adamantyl-3-tio-1,2,4-triazolu

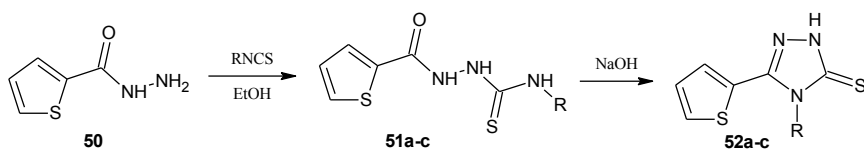
Scheme 9. Synthesis of 5-adamantyl-3-tioxo-1,2,4-triazole derivatives

Kumar i in. [17] otrzymali serię zasad Mannicha pochodnych 3-tio-1,2,4-triazolu **49a-b** (Schemat 10) o umiarkowanej aktywności przeciwbakteryjnej wobec szczepów *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*. Lekami referencyjnymi były Ciprofloksacyna i Norfloksacyna. Aktywność przeciwgrzybiczą wobec szczepów *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* i *Aspergillus niger* badano stosując Flukonazol [5] jako lek wzorcowy. Otrzymane związki wykazywały aktywność przeciwgruźliczą (*Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv) w porównaniu do Isoniazidu (MIC 4–8 µg/ml).

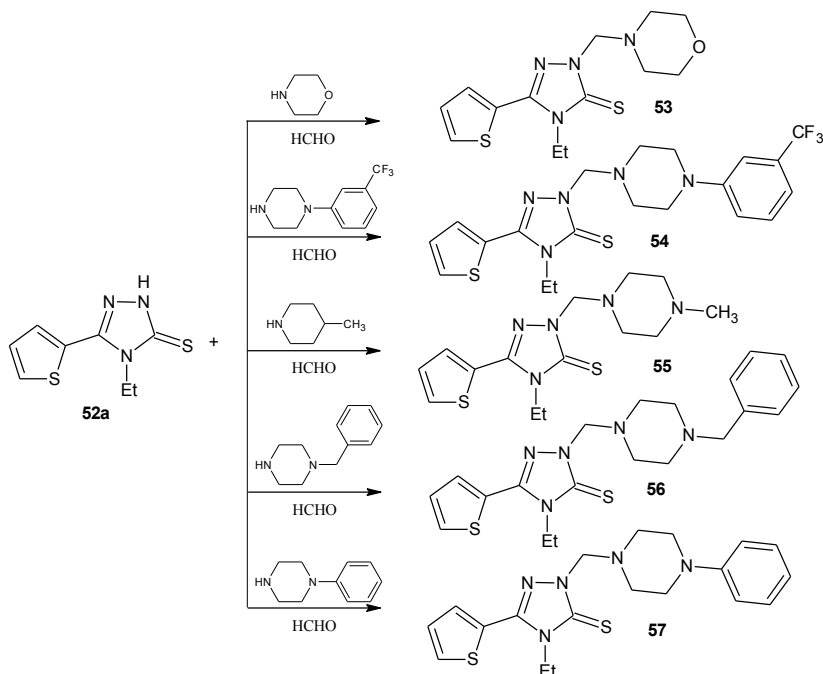


Schemat 10. Synteza pochodnych 4-arylidenoamino-5-(tiazol-2-ylo)-3-tiokso-1,2,4-triazolu
 Scheme 10. Synthesis of 4-arylideneamino-5-(triazol-2-yl)-3-tioxo-1,2,4-triazole derivatives

W wyniku zasadowej hydrolizy połączonej z cyklizacją produktów kondensacji 2-karbazoilotiofenu (**50**) z izotiocjanianami otrzymano pochodne 5-(2-tienylo)-3-tiokso-1,2,4-triazolu **52a-c**. W reakcjach Mannicha utworzyły związki **53–63** (Schematy 11-14), które wykazywały w testach *in vitro* wysoką aktywność przeciwbakteryjną oraz przeciwgrzybiczą (MIC 1,56–25 $\mu\text{g/ml}$). Badania przeprowadzono na patogennych szczepach: bakterii Gram dodatnich (*Staphylococcus aureus*), bakterii Gram ujemnych (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) i czterech szczepach grzybów (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Panicillium marneffeii*, *Trichophyton mentagrophytes*). Dodatkowe testy potwierdziły ich aktywność antyoksydacyjną [18].

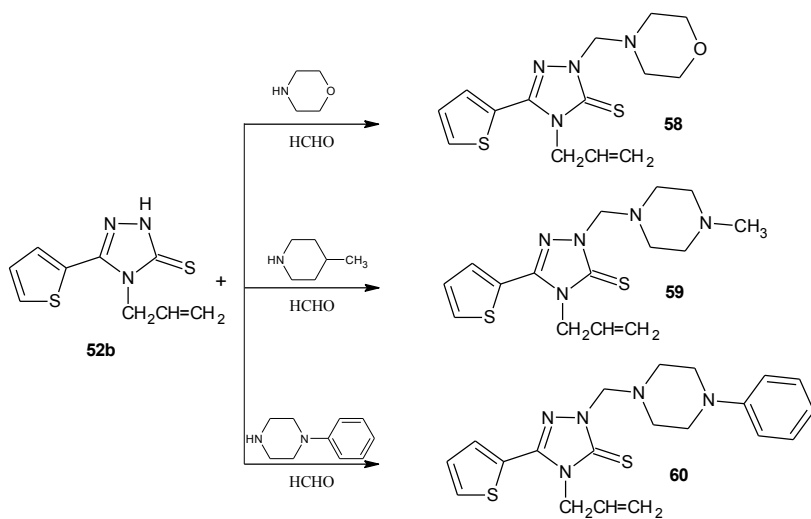


Schemat 11. Synteza ogólna pochodnych 5-(2-tienylo)-3-tiokso-1,2,4-triazolu
 Scheme 11. General synthesis of 5-(2-thienyl)-3-tioxo-1,2,4-triazole derivatives



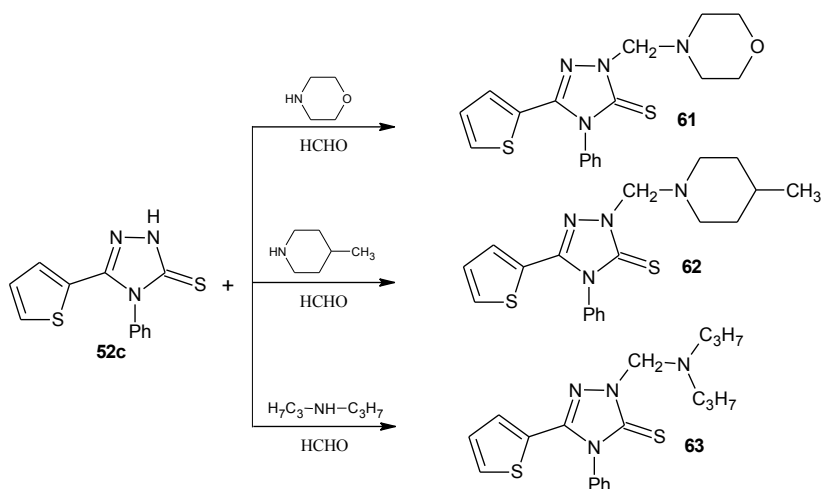
Schemat 12. Synteza pochodnych 4-etylo-5-(2-tienylo)-3-tiokso-1,2,4-triazolu

Scheme 12. Synthesis of 4-ethyl-5-(2-thienyl)-3-tioxo-1,2,4-triazole derivatives



Schemat 13. Synteza pochodnych 4-allilo-5-(2-tienylo)-3-tiokso-1,2,4-triazolu

Scheme 13. Synthesis of 4-allyl-5-(2-thienyl)-3-tioxo-1,2,4-triazole derivatives

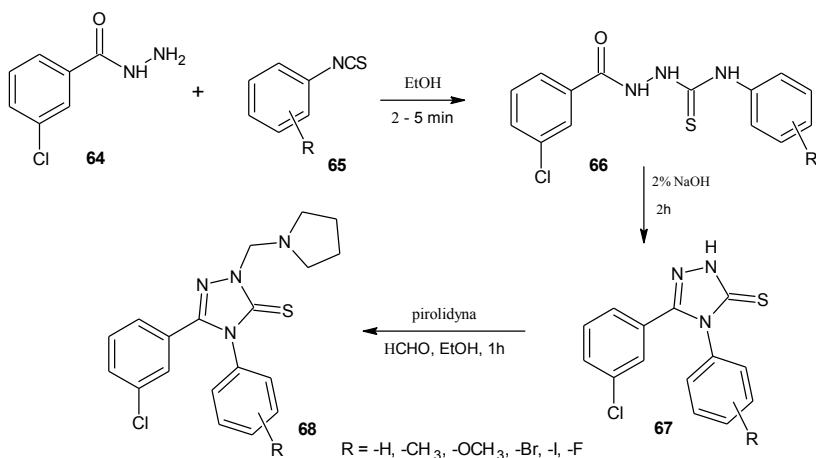


Schemat 14. Synteza pochodnych 4-fenylo-5-(2-tienylo)-3-tioksa-1,2,4-triazolu

Scheme 14. Synthesis of 4-phenyl-5-(2-thienyl)-3-tioxo-1,2,4-triazole derivatives

Polscy uczeni Plech i in. w trzech pracach [19–21] zaprezentowali syntezę zasad Mannicha, pochodnych 3-tioksa-4,5-diarylo-1,2,4-triazolu (Schematy 15–17), które następnie były testowane na aktywność przeciwbakteryjną *in vitro* wobec standardowych szczepów bakterii Gram dodatnich i Gram ujemnych.

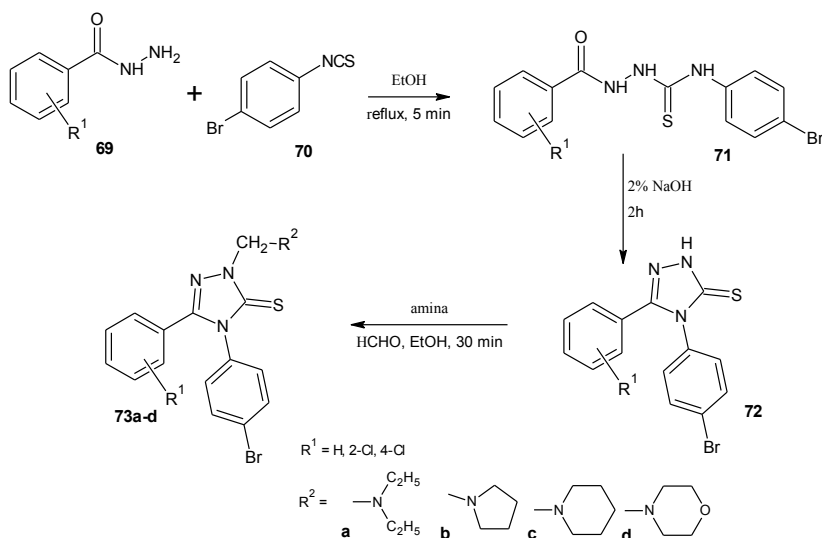
Wyselekcjonowane, najbardziej aktywne związki zostały przebadane przeciwko 12 wyizolowanym szczepom *Staphylococcus aureus*. Aktywność przeciwbakteryjna związków **68** była 4-krotnie wyższa wobec *B. cereus* niż Amipicyliny – leku referencyjnego [19].



Schemat 15. Synteza pochodnych 3-tioksa-4,5-diarylo-1,2,4-triazolu

Scheme 15. Synthesis of 3-tioxo-4,5-diaryl-1,2,4-triazole derivatives

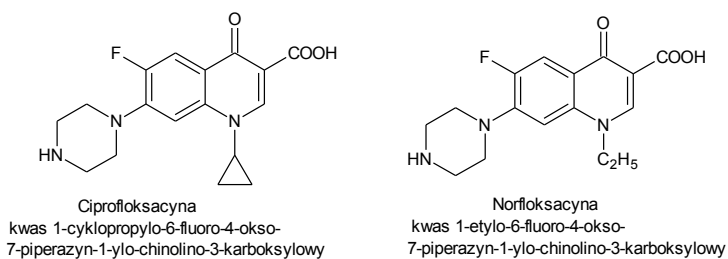
Z kolei otrzymane według Schematu 16 zasady Mannicha **73a-d** zostały przebadane na aktywność przeciwbakteryjną wobec wybranych szczepów bakterii Gram dodatnich i Gram ujemnych. Związki hamowały wzrost pięciu opornych szczepów bakterii Gram dodatnich: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* i *Micrococcus luteus*. Ich aktywność była porównywalna lub wyższa od stosowanych antybiotyków: Ampicyliny czy Cefuroksimu. W przeprowadzonych testach związki te nie były aktywne wobec szczepów bakterii Gram ujemnych [20].



Schemat 16. Synteza pochodnych 3-tioxo-4,5-diarylo-1,2,4-triazolu
 Scheme 16. Synthesis of 3-tioxo-4,5-diaryl-1,2,4-triazole derivatives

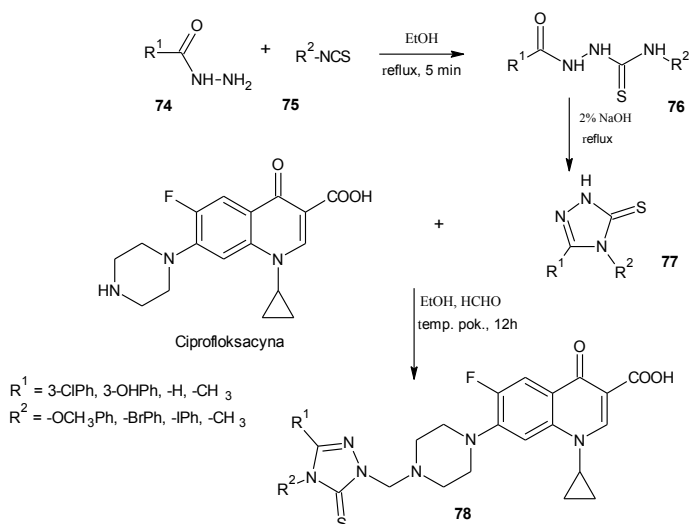
Poszukując związków aktywnych przeciwbakteryjnie, niezależnie od siebie dwa zespoły naukowców Plecha [21] i Emami [22] podjęły modyfikacje struktury stosowanych fluorochinolonów.

Fluorochinolony są stosowane powszechnie w zakażeniach bakteryjnych nerek i dróg moczowych, a także zakażeniach układu oddechowego, infekcjach jelitowych, dermatologii i okulistyce [5]. Chemioterapeutyki: Ciprofloksacyna, Norfloksacyna (Rys. 3), Ofloksacyna, Pefloksacyna, należą do drugiej generacji chinolonów. Zawierają one w swojej strukturze w pozycji 6 podstawnik fluorowy. Ich mechanizm działania polega na hamowaniu syntezy DNA w komórkach bakteryjnych, poprzez hamowanie gyrazy DNA, enzymu z grupy topoisomerazy.



Rysunek 3. Fluorochinolony
Figure 3. Fluorochinolones

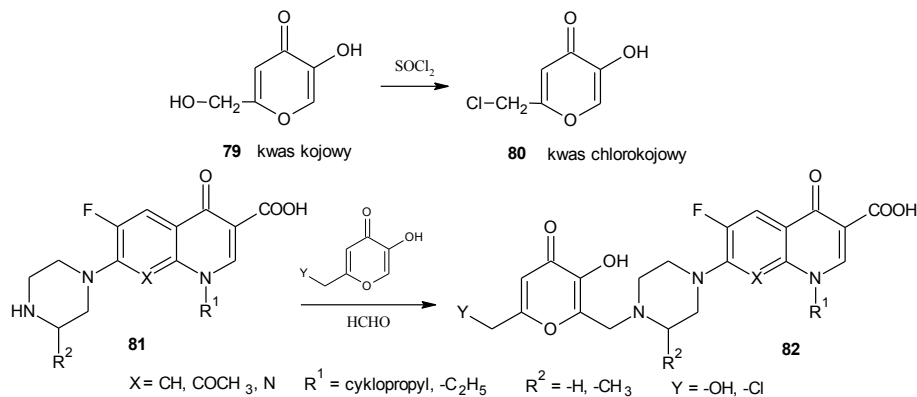
Polski zespół Plecha i in. [21] poddał modyfikacji chemicznej Ciprofloksacyne. W jej wyniku otrzymano serię nowych związków, zawierających w swej strukturze oprócz Ciprofloksacyny 3-tioksa-1,2,4-triazol **78** (Schemat 17). Były one testowane na aktywność przeciwbakteryjną wobec lekoopornych szczepów bakterii. Znaczna część tych związków wykazała wyższą aktywność przeciwbakteryjną niż Ciprofloksacyna, wobec szczepów bakterii Gram dodatnich (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* i *Micrococcus luteus*) i Gram ujemnych (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*).



Schemat 17. Modyfikacja chemiczna struktury Ciprofloksacyny
Scheme 17. Chemical modification of structure of Ciprofloxacin

Z kolei modyfikacje chemiczne struktury Norfloksacyny i jej pochodnych, przeprowadził zespół indyjskich naukowców (Schemat 18). W badaniach *in vitro* i *in silico* nowe zasady Mannicha – zawierające w swej strukturze 5-hydroksy-2-(hydroksymetylo)-4-piran-4-on (**79**) - kwas kojowy (stosowany w leczeniu przebarwień skóry) i chlorokojowy **80** wykazały znaczącą aktywność przeciwbakteryjną

wobec szczepów bakterii Gram dodatnich i Gram ujemnych. Związki **82** wykazały 4–8 razy wyższą zdolność hamowania wzrostu bakterii *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa*, w porównaniu do Norfloksacyny, standardowo używanego chemioterapeutyku [22].



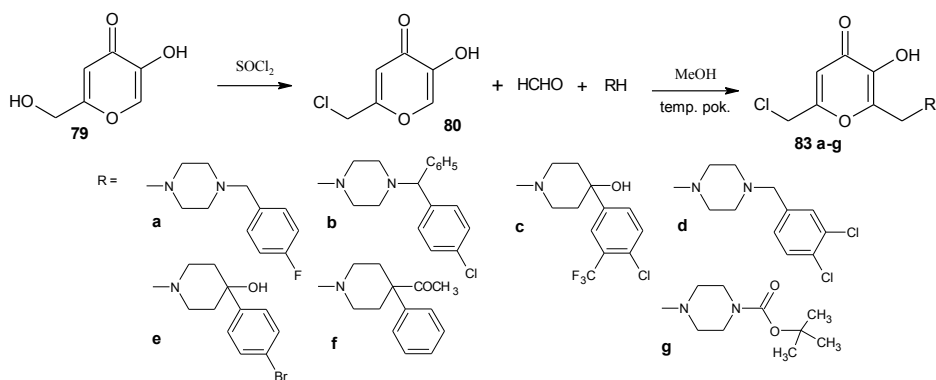
Schemat 18. Modyfikacja chemiczna struktury Norfloksacyny i jej pochodnych

Scheme 18. Chemical modification of structure of Norfloxacin and its derivatives

Uzyskane przez oba zespoły wyniki badań przeciwbakteryjnych potwierdziły celowość przeprowadzonych modyfikacji struktury chemicznej Ciprofloksacyny i Norfloksacyny.

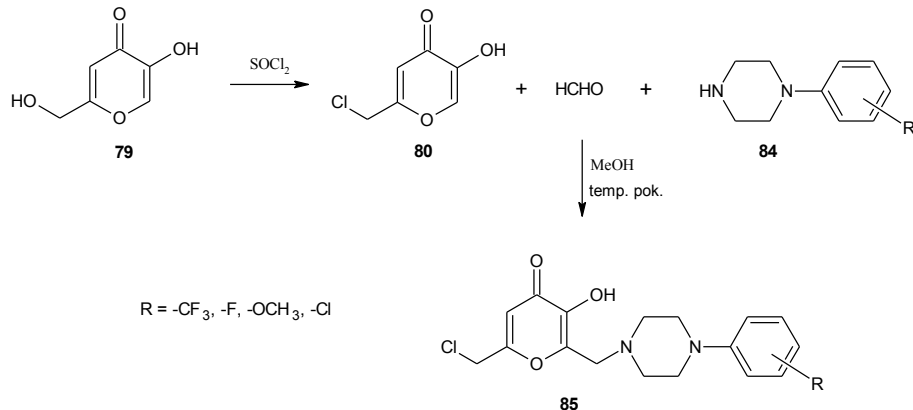
Zasady Mannicha pochodne kwasów: kojowego **79** i chlorokojowego **80** zaprezentowali w dwóch kolejnych pracach [23, 24] tureccy naukowcy (Schematy 19 i 20). Związki te w badaniach *in vitro* wykazały aktywność przeciwbakteryjną, przeciwgrzybiczą oraz przeciwwirusową.

Pochodne **83a-g** (MIC 1–2 µg/ml) były najbardziej aktywne wobec szczepów *Bacillus subtilis* i *Staphylococcus aureus*. Dodatkowo pochodne **83b,c,e** znacząco hamowały wzrost bakterii *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* i *Acinetobacter baumannii*. Wykazywały one również aktywność przeciwgrzybiczą wobec grzybów z rodzaju *Candida* (MIC 4–8 µg/ml), natomiast aktywność przeciwwirusową wobec wirusa RNA PI-3 wykazywała pochodna **83d** [23].



Schemat 19. Synteza pochodnych kwasu kojowego
Scheme 19. Synthesis of kojic acid derivatives

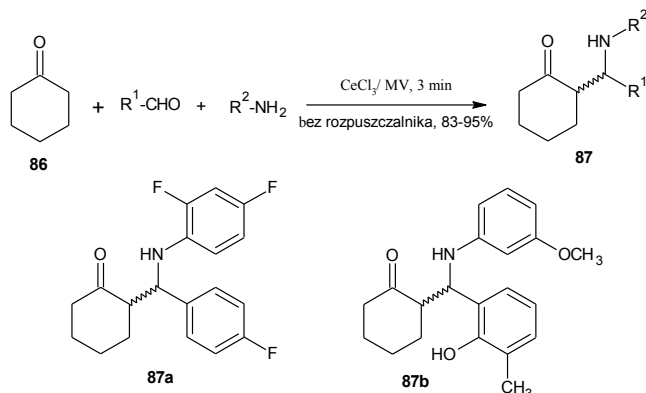
Związki **85** wykazywały dominującą zdolność hamowania wzrostu szczepów bakterii Gram dodatnich *Staphylococcus aureus* i *Enterococcus faecalis* niż bakterii Gram ujemnych (MIC 8 $\mu\text{g/ml}$). Dodatkowo działały silniej przeciwgrzybiczo, w porównywalną do Flukonazolu, wobec grzybów *Candida albicans* i *Candida parapsilosis* przy MIC równym 8 $\mu\text{g/ml}$. Z kolei działanie przeciwwirusowe wobec wirusa RNA P1-3 wykazał związek **85**, zawierający w swojej strukturze podstawnik 3-chlorofenylowy, a lekiem referencyjnym użytym w badaniach był Acyklowir [24].



Schemat 20. Synteza pochodnych kwasu kojowego
Scheme 20. Synthesis of kojic acid derivatives

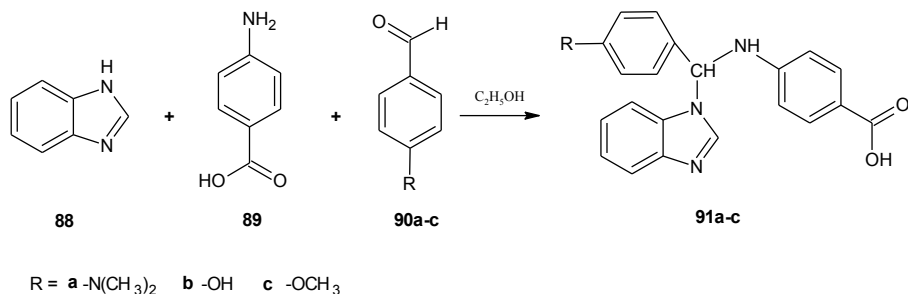
Syntezy zasad Mannicha w reaktorze mikrofalowym, bez użycia rozpuszczalników przeprowadził zespół Sankappa Rai [25]. Substratami tych reakcji były: cykloheksanon (**86**), benzaldehyd i jego podstawione pochodne oraz anilina i jej podstawione pochodne (Schemat 21). Reakcje katalizował CeCl_3 . Otrzymane związki **87** wykazały znaczącą aktywność przeciwbakteryjną wobec szczepów *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa* w porównaniu

do Ceftriaksону [5] – wzorcowego antybiotyku, w tym samym stężeniu. Najsilniej działały związki **87a** i **b**.



Schemat 21. Synteza pochodnych cykloheksanonu
 Scheme 21. Synthesis of cyclohexanone derivatives

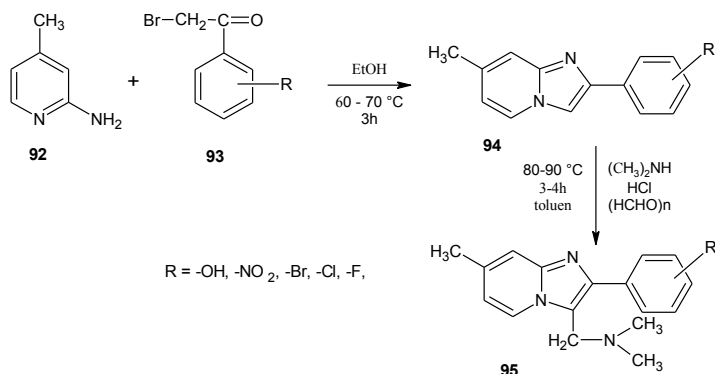
Indyjscy naukowcy [26] w reakcjach benzimidazolu (**88**) z kwasem 4-aminobenzoesowym (**89**) i aromatycznymi aldehydami **90a-c** uzyskali związki **91a-c** (Schemat 22). W badaniach *in vitro* wykazały one wyższą aktywność przeciwbakteryjną wobec *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi* i *Escherichia coli* w porównaniu z Ciprofloksacyną, stosowaną jako wzorzec. Kwas 4-[(1*H*-benzimidazolo-*p*-dimetyloamino)fenylo]metyloamino]benzoesowy (**91a**) działał przeciwgrzybiczo wobec szczepów *Aspergillus niger* i *Candida albicans*. W badaniach Ketokonazol był związkiem referencyjnym.



Schemat 22. Synteza 1-podstawionych pochodnych benzimidazolu
 Scheme 22. Synthesis of 1-substituted benzimidazole derivatives

W wyniku cykloalkilowania 2-amino-4-metylopirydyny (**92**) bromometylofenyloketonem i jego pochodnymi **93** uzyskano pochodne imidazo[1,2-*a*]pirydyny **94** [27]. Stanowiły one substraty do kondensacji Mannicha (Schemat 23). Otrzymane związki **95** zostały poddane testom *in vitro* na aktywność przeciwbakteryjną (MIC 50–250 µg/ml) i przeciwgrzybiczą (MIC 50–500 µg/ml). Związki, zawierające

w swej strukturze podstawnik halogenowyfenylowy, wykazały porównywalną lub wyższą zdolność hamowania wzrostu szczepów bakterii Gram ujemnych: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, Gram dodatnich: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* oraz grzybów: *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus clavatus* w porównaniu ze stosowanymi lekami Ampicyliną i Gryzeofulwiną [5].



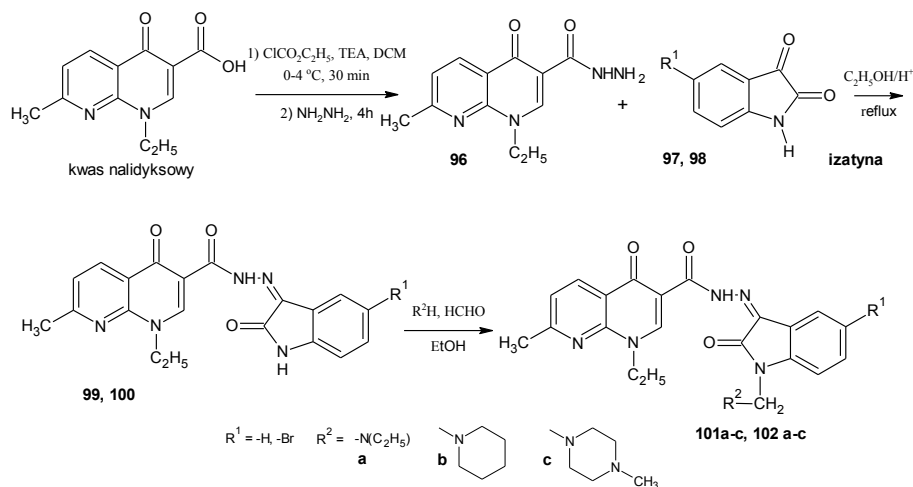
Schemat 23. Synteza pochodnych imidazo[1,2-a]pirydyny

Scheme 23. Synthesis of imidazo[1,2-a]pyridine derivatives

Aboul-Fadl i in. [28] zastosowali do syntez znany lek przeciwbakteryjny Kwas naldyksowy oraz izatynę **97** (indolo-2,3-dion) lub jej bromopochodną **98**.

Izatyna stanowi produkt utleniania indygo jest m.in. naturalnie wytwarzana przez *Altermones* i wykazuje właściwości przeciwgrzybicze [29], służy również do wykrywania tioletu oraz identyfikacji aminokwasów.

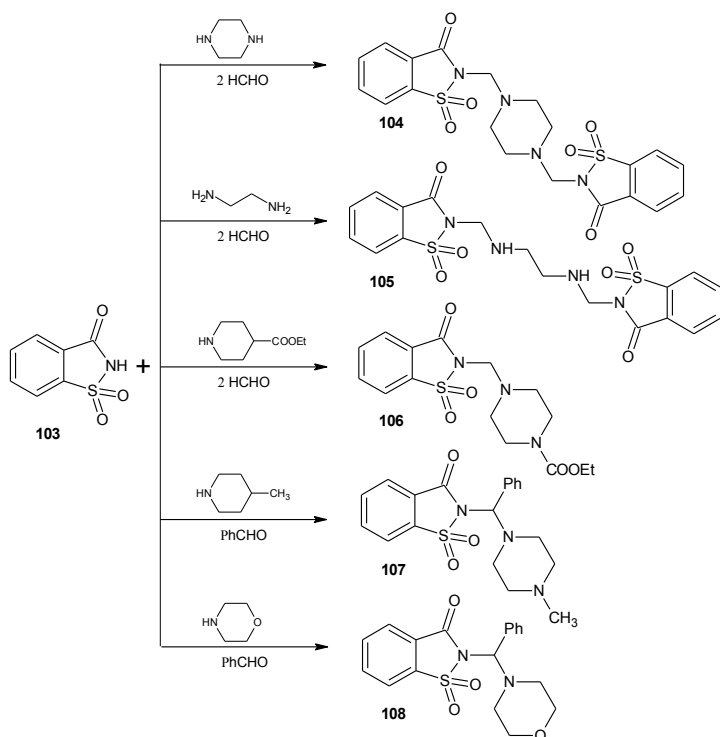
Kwas naldyksowy w wyniku dwuetapowej syntezy został przeprowadzony w hydrazyd **96**, który w reakcji z izatyną **97** lub jej bromopochodną **98** utworzył odpowiednio związki **99** i **100**. Stanowiły one substraty do kondensacji Mannicha (Schemat 24). Słabą aktywność tuberkulostatyczną wobec prątków: *Mycobacterium intercellulari*, *Mycobacterium xenopi*, *Mycobacterium cheleneo* i *Mycobacterium smegmatis* wykazywały związki **101a-c**, **102a-c**.



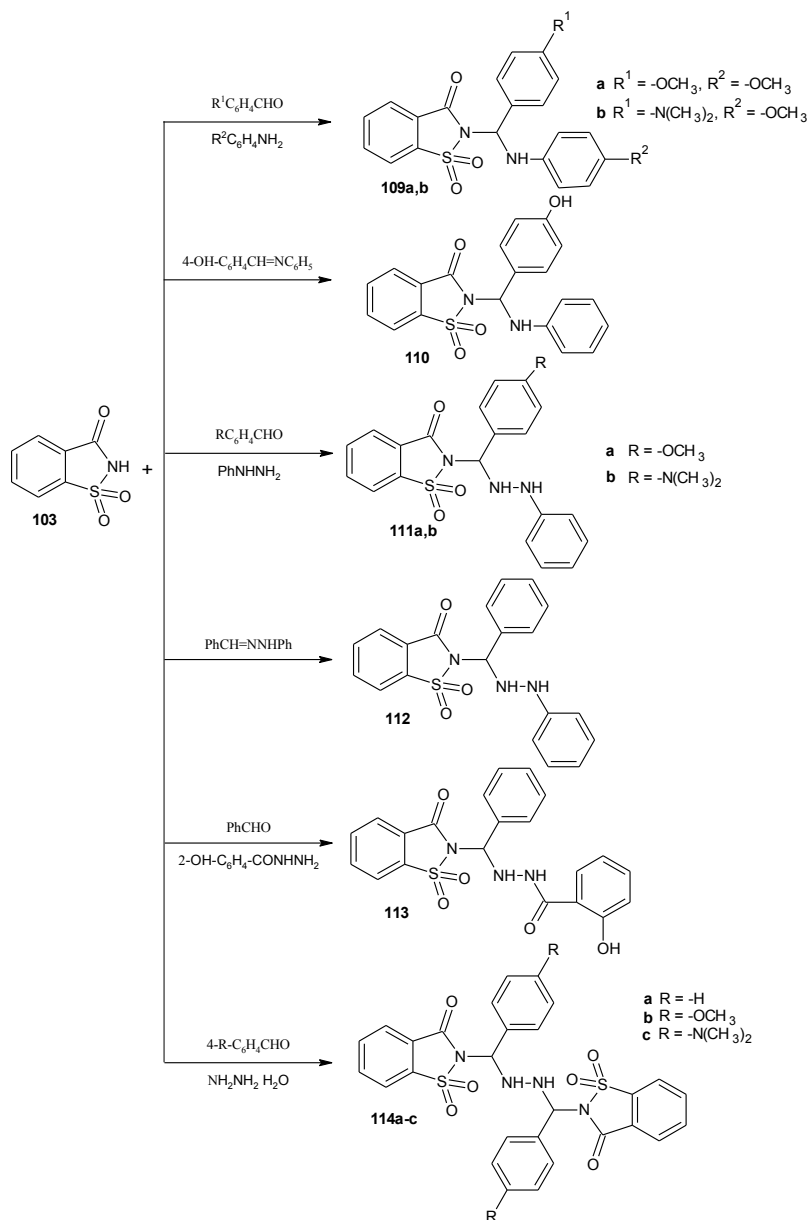
Schemat 24. Modyfikacja chemiczna struktury kwasu nalidyksowego

Scheme 24. Chemical modification of structure of nalidixic acid

Zespół Hamama i in. [30] użył jako substratu do syntezy zasad Mannicha (Schematy 25 i 26), 1,1-dioksa-1,2-benzotiazol-3-onu (**103**) – sacharynę, znaną substancję słodzącą. W reakcjach zastosowano formalinę lub podstawione aldehydy benzoesowe oraz aminy I- i II-rzędowe. Pochodne **104**, **110** i **114a** wykazały działanie przeciwbakteryjne wobec szczepów *Fusarium oxysporium* i *Staphylococcus aureus*. Testy potwierdziły także aktywność antyoksydacyjną związków **110a,b** i **111a,b** porównywalną z Kwasem askorbowym. Pochodne te wykazały najsilniejszy efekt ochronny na uszkodzenie DNA indukowane lekiem przeciwnowotworowym – Bleomycyną.



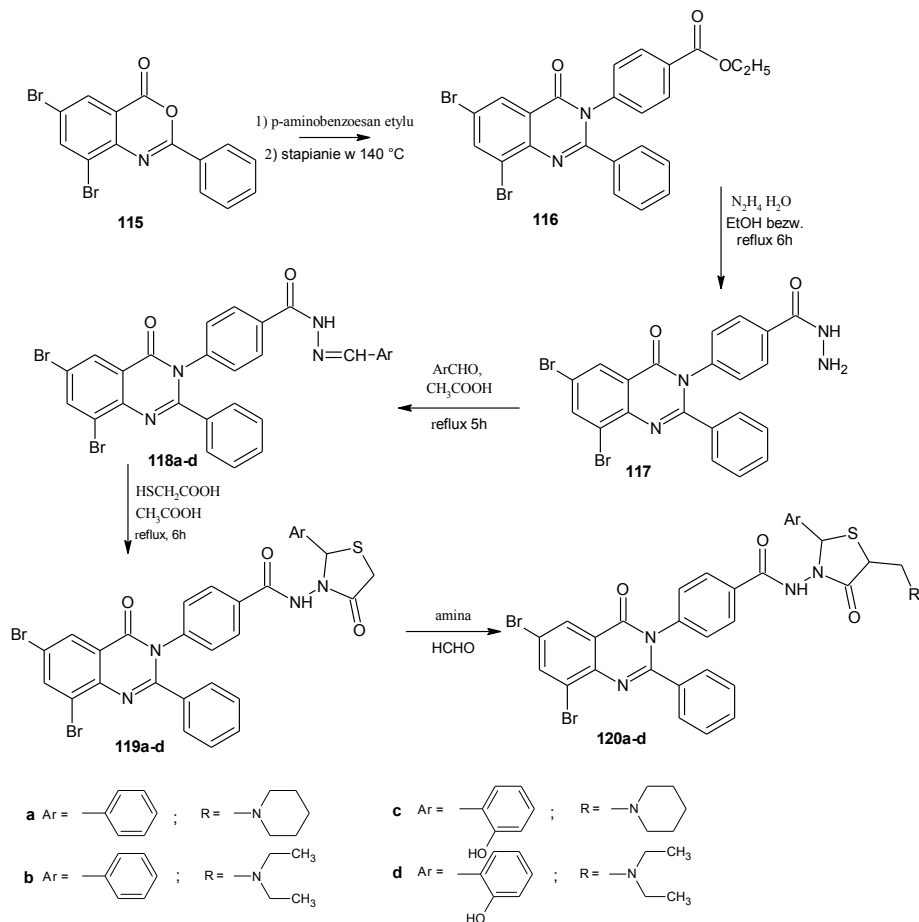
Schemat 25. Synteza pochodnych sacharyny
Scheme 25. Synthesis of saccharin derivatives



Schemat 26. Synteza pochodnych sacharyny
 Scheme 26. Synthesis of saccharin derivatives

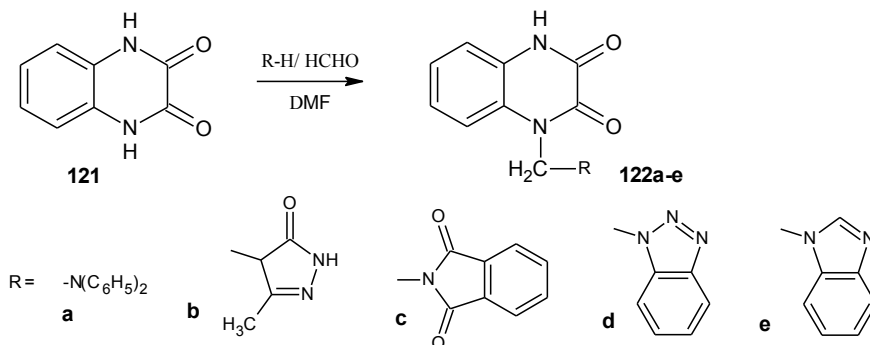
Zasady Manniccha – pochodne 6,8-dibromo-4(3*H*)-chinazolinonu **120a-d** (Schemat 27) otrzymane przez egipskich naukowców [31] wykazywały aktywność przeciwbakteryjną (MIC 0,78–12,5 $\mu\text{g/ml}$) wobec sześciu szczepów bakterii: Gram dodatnich (*Staphylococcus aureus*, *Legionella monocytogenes*, *Bacillus cereus*) i Gram

ujemnych (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*). Aktywność przeciwwgrzybiczą (MIC 1,56–12,5 µg/ml) otrzymanych związków testowano na dwóch szczepach grzybów chorobotwórczych *Candida albicans* i *Aspergillus flavus*.



Schemat 27. Synteza 6,8-dibromo-2-fenyl-3-podstawionych pochodnych chinazolin-4-onu
 Scheme 27. Synthesis of 6,8-dibromo-2-phenyl-3-substituted quinazolin-4-one derivatives

W wyniku kondensacji Mannicha (Schemat 28) [33], z otrzymanego wcześniej chinokaslin-2,3-onu (**121**) [32] uzyskano pochodne **122a-e**, które wykazały w testach *in vitro* aktywność przeciwgrzybiczą, przeciwbakteryjną wobec szczepów bakterii Gram dodatnich i Gram ujemnych. Lekami wzorcowymi użytymi w testach były: Kwas nalidyksowy [5] i Klotrimazol [5]. 1-((3-Metylo-5-okso-4,5-dihydro-1H-pirazol-4-yl)-metylochinokaslin-2,3-dion (**122b**) wykazał najwyższą aktywność przeciwgrzybiczą przy wartości MIC 8,012 µg/ml.



Schemat 28. Synteza pochodnych chinokaslin-2,3-dionu

Scheme 28. Synthesis of chinoxalin-2,3-dione derivatives

PODSUMOWANIE

W pracy zaprezentowano syntezy wybranych zasad Mannicha pochodnych różnych układów heterocyklicznych o aktywności przeciwbakteryjnej, w tym przeciwprątkowej oraz przeciwgrzybiczej.

Autorzy prac jako substratów do kondensacji użyli m.in. stosowane leki o różnorodnej aktywności farmakologicznej: Fenytoinę, Ibuprofen, pochodne adamantanu, Ciprofloksacyne, Norfloksacyne i Kwas nalidyksowy. Wyniki uzyskanych badań potwierdziły wysoką aktywność przeciwbakteryjną i przeciwgrzybiczą otrzymanych zasad Mannicha w porównaniu do stosowanych leków referencyjnych, a także celowość przeprowadzonych modyfikacji struktury leków.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] P. Mastalerz, *Chemia organiczna*, PWN, Warszawa 1986.
- [2] M. Tramontini, L. Angiolini, *Tetrahedron*, 1990, **46**, 1791.
- [3] M. Arend, B. Westermann, N. Risch, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1998, **37**, 1044.
- [4] D.M. Perrine, N.R. Sabanayagam, J.K. Reynolds, *J. Chem. Educ.*, 1998, **75**, 1266.
- [5] *The Merck Index*, 14th edition, Whitehouse Station, USA, 2006.
- [6] A.S. Raja, S.N. Pandeya, S.S. Panda, J.P. Stables, *Pharm. Chem. J.*, 2007, **41**, 15.
- [7] O.M Abdelhafez, N.A. Abedelatif, F.A. Badria, *Arch. Pharm. Res.*, 2011, **34**, 1623.
- [8] A.T. Taher, N.A. Khalil, E.M. Ahmed, *Arch. Pharm. Res.*, 2011, **34**, 1615.
- [9] B. Singh, D. Chetia, S.K. Puri, K. Srivastava, A. Prakash, *Med. Chem. Res.*, 2011, **20**, 1523.
- [10] R. Babbar, D.P. Pathak, N. Jain, S. Jain, *Der. Phar. Chem.*, 2012, **4**, 2024.
- [11] M. Bapna, B. Parashar, V. K. Sharma, L.S. Chouhan, *Med. Chem. Res.*, 2012, **21**, 1098.
- [12] K. Manjunatha, B. Poojary, P.L. Lobo, J. Fernandes, N.S. Kumari, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**, 5225.
- [13] H. Bektas, S. Ceylan, N. Demirbas, S.A. Karaoglu, B.B. Sokmen, *Med Chem Res*, 2013, **22**, 3629.
- [14] P.P. Savaliya, V.K. Akbari, J.A. Modi, K.C. Patel, *Med. Chem. Res.*, 2013, **22**, 5789.

- [15] S. Demirci, S. Basoglu, A. Bozdereci, N. Demirbas, *Med. Chem. Res.*, 2013, **22**, 4930.
- [16] A.A. El-Emam, A.M.S. Al-Tamimi, M.A. Al-Omar, K.A. Alrashood, E.E. Habib, *Eur. J. Med. Chem.*, 2013, **68**, 96.
- [17] G.V.S. Kumar, Y.R. Prasad, B.P. Mallikarjuna, S.M. Chandrashekar, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**, 5120.
- [18] M. Koparir, C. Orek, A.E. Parlak, A. Söylemez, P. Koparir, M. Karatepe, S.D. Dastan, *Eur. J. Med. Chem.*, 2013, **63**, 340.
- [19] T. Plech, M. Wujec, A. Siwek, U. Kosikowska, A. Malm, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, **46**, 241.
- [20] T. Plech, M. Wujec, M. Majewska, U. Kosikowska, A. Malm, *Med. Chem. Res.*, 2013, **22**, 2531.
- [21] T. Plech, M. Wujec, U. Kosikowska, A. Malm, B. Rajtar, M. Polz-Dacewicz, *Eur. J. Med. Chem.*, 2013, **60**, 128.
- [22] S. Emami, E. Ghafouri, M.A. Faramarzi, N. Samadi, H. Irannejad, A. Foroumadi, *Eur. J. Med. Chem.*, 2013, **68**, 185.
- [23] M.D. Aytimir, B. Özçelik, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**, 4089.
- [24] M.D. Aytimir, B. Özçelik, *Med. Chem. Res.*, 2011, **20**, 443.
- [25] U.S. Rai, A.M. Isloor, P. Shetty, N. Isloor, S. Malladi, H.K. Fun, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**, 6090.
- [26] M.V. Aanandhi, A.K. Verma, R. Sujatha, R.K. Raj, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 2013, **5**, 295.
- [27] N.C. Desai, M.R. Pandya, K.M. Rajpara, V.V. Joshi, H.V. Vaghani, H.M. Satodiya, *Med. Chem. Res.*, 2012, **21**, 4437.
- [28] T. Aboul-Fadl, F.A.S. Bin-Jubair, O. Aboul-Wafa, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**, 4578.
- [29] M.S. Gil-Turners, M.E. Hay, W. Fenical, *Science*, 1989, 116.
- [30] W.S. Hamama, H.H. Zoorob, M.A. Gouda, E.M. Afsah, *Pharm. Chem. J.*, 2011, **45**, 118.
- [31] M.S. Mohamed, M.M. Kamel, E.M.M. Kassem, N. Abotaleb, S.I. Abd El-moez, M.F. Ahmeda, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**, 3311.
- [32] V.S.H. Krishnan, K.S. Chowdary, *Ind. J. Chem.* 1999, **38B**, 45.
- [33] P. Ramalingam, S. Ganapaty, Ch. Babu Rao, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, **20**, 406.

Praca wpłynęła do Redakcji 29 stycznia 2014