

переробки важкої в технологічному відношенні сировини, якою можна вважати жито, необхідно враховувати всі складові частини зерна, для чого і вести пошук ферментів селективної дії. Важливо також поряд з дослідженнями реологічних властивостей суслу вивчати і його біохімічні характеристики, що потребує продовження робіт з цієї актуальної тематики.

1. *Технологія спирту* / Під ред. В.О. Маринченка. – К., 2003. 2. Гулий І., Українець А., Шиян Т., Мудрак Т., Фіщенко А., Кириленко Р., Сизько В., Жолнер І., Сосницький В., Артюхов В., Михайлів А. *Технологічні особливості переробки жита в етанол* // *Харчова і переробна промисловість*, 2004. – №1. – С. 18-19. 3. Романова З., Зубченко В., Ткаченко Л., Маринченко Л. *Активність ферментних препаратів* // *Харчова і переробна промисловість*, 2005. – №5. – С. 22–23. 4. Римарева Л.В., Оверченко М.Б., Игнатова Н.И., Кадиева А.Т. *Интенсификация спиртового производства на основе использования мультиэнзимных систем* // *Производство спирта и ликероводочных изделий*, 2004. – №2. – С. 26–28. 5. Фертман Г.И., Шойхет М.И. *Химико-технологический контроль спиртового и ликеро-водочного производства.* – М., 1975.

УДК 547.543:547.26'122

С.В. Василюк, В.І. Лубенець, Д.Б. Баранович,
О.З. Комаровська-Порохнявець,
Г.М.Хоміцька, Г.Б. Шиян, Й. Рабай., Г.М. Панчишин
Національний університет “Львівська політехніка”
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології

СИНТЕЗ S-ЕСТЕРІВ 4-АМІНО- ТА 4-ТРИФЛУОРОАЦЕТИЛАМІНОБЕНЗЕНТІОСУЛЬФОКИСЛОТ, ПРОГНОЗОВАНИЙ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИЙ СКРИНІНГ ЇХНЬОЇ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ

© Василюк С.В., Лубенець В.І., Баранович Д.Б., Комаровська-Порохнявець О.З., Хоміцька Г.М., Шиян Г.Б., Рабай Й., Панчишин Г.М., 2006

Розроблено новий метод одержання S-естерів 4-амінобензентіосульфоїкислоти. Здійснено ацилювання метилового та етилового S-естерів 4-амінобензентіосульфоїкислоти ангідридом трифлуорооцтової кислоти. Виконано прогнозований скринінг біологічної активності синтезованих сполук з використанням програми PASS. Досліджено фунгібактерицидну активність нових флуоровмісних тіосульфоестерів.

The new method of obtaining S-esters of 4-aminebenzenthiosulfoacid has been elaborated. The acylation of methyl and ethyl S-esters of 4-aminebenzenthiosulfoacid by anhydride trifluoroacetic has been led. The predicted search of biological activity of synthesized compounds with using of computerized program PASS has been performed. The fungibactericidal activity of new thiosulfoesters included fluorine has been researched.

Постановка проблеми. S-естери тіосульфоїкислот відомі ще з середини минулого століття. Сьогодні серед похідних тіосульфоїкислот знайдено велику кількість біологічно активних речовин [1–5], деякі з них вже практично застосовують. Наприклад, етиловий S-естер 4-амінобензентіосульфоїкислоти є діючою субстанцією лікарського препарату [6, 7]. З огляду на це перспективним є вдосконалення методів одержання S-естерів 4-амінобензентіосульфоїкислоти, а також розширення арсеналу біологічно активних речовин з високою фізіологічною дією.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Серед відомих способів отримання алкілових S-естерів 4-амінобензентіосульфоїкислоти є спосіб, що включає взаємодію алкілових S-естерів 4-ацетиламінобензентіосульфоїкислоти з деацилювальним реагентом з подальшою нейтралізацією

його надлишку основою [8,9]. Як деацильовальний реагент у такому разі використано 15 % водний розчин хлоридної кислоти, як основу для нейтралізації – 10% водний розчин аміаку. Недоліками цього способу є велика витрата деацильовального реагента (100-кратний надлишок хлоридної кислоти) та тривале нагрівання при високій температурі, що викликає утворення продуктів осмолення і потребує спеціального обладнання. Виходи цільових продуктів одержаних вказаним способом становлять 62–78 %. Все це робить процес складним, екологічно небезпечним та підвищує його вартість.

В сучасних дослідженнях біологічної активності речовин особливо цікавим напрямком є підвищення фізіологічної дії лікарських засобів, а також дослідження повного спектра біологічної дії відомих і вперше синтезованих потенційно біологічно активних сполук.

Підвищити фізіологічну дію речовин можна за рахунок введення в їхню молекулу активних замісників. Так, відомо, що введення флуоровмісних замісників в молекули діючих субстанцій багатьох лікарських препаратів підвищує їхню активність в декілька разів [10].

Біологічна активність – одна з найважливіших характеристик хімічних сполук. Вона може стати основою для практичного використання речовин як лікарських препаратів, засобів захисту рослин, харчових добавок, косметичних засобів. З іншого боку, біологічна активність може бути причиною токсичності речовини, що значно обмежить можливості її практичного використання. Відбір речовин, які проявляють необхідний набір корисних властивостей та не мають виражених побічних ефектів, найчастіше здійснюють емпірично за допомогою синтезу і випробовування великої кількості сполук. Ефективність процесу невисока: для введення в медичну практику одного лікарського засобу необхідно синтезувати і протестувати в середньому 10000 речовин. Підвищити ефективність такого пошуку можна, відбираючи найперспективніших “кандидатів”, використовуючи дані комп’ютерного прогнозу біологічної активності речовин на ранніх стадіях досліджень.

Комп’ютерна програма PASS дає змогу за структурною формулою сполуки передбачити понад 700 ефектів і механізмів дії з точністю приблизно 85 % при ковзному контролі з виключенням по одному. Прогноз здійснюється на основі аналізу взаємозв’язків “структура–активність”, який виконано для більш ніж 43000 речовин навчальної вибірки з відомою біологічною активністю [11,12].

Мета роботи – вдосконалити спосіб одержання S-естерів 4-амінобензентіосульфокислоти, отримати нові S-естери тіосульфокислот з флуоровмісними замісниками та здійснити скринінг біологічної активності синтезованих сполук.

Експериментальна частина.

Матеріали. Для отримання алкілових S-естерів 4-аміно- та 4-трифлуороацетиламінобензентіосульфокислоти використовували метиловий, етиловий, пропіловий S-естери 4-ацетиламінобензентіосульфокислоти та метиловий і етиловий S-естери 4-амінобензентіосульфокислоти, які одержано за відомими методиками [9].

ІЧ спектри знімали на спектрофотометрі “SPECORD M 80” (суспензія у вазеліновому маслі та запресовка в таблетках з KBr); чистоту синтезованих речовин контролювали за допомогою ТШХ і елементним аналізом, виконаним на стандартній апаратурі для мікроаналізу.

Фунгібактерицидна активність синтезованих сполук була досліджена методом дифузії речовини в агар (методом паперових дисків) [13,14].

Комп’ютерне пргнозування біологічної активності синтезованих сполук здійснене за допомогою програми PASS [11,12].

Метиловий S-естер 4-амінобензентіосульфокислоти. До 11 мл (0,04 моль) 30% сульфатної кислоти додавали 2 г (0,008 моль) метилового S-естеру 4-ацетиламінобензентіосульфокислоти. Реакційну масу нагрівали до температури 54°C і витримували протягом 3 год. До реакційної маси додавали 1 г активованого вугілля. Гарячу реакційну масу фільтрували. Фільтрат охолоджували. Надлишок кислоти нейтралізували розчином натрію гідрокарбонату до рН 6-7. Осад метилового S-естеру 4-амінобензентіосульфокислоти, який випав, фільтрували, промивали водою.

Вихід 1,24 г (75 %).

T_{топл.} 65–67 °C.

Знайдено, %: N 5,78; S 32,01; . C₇H₉O₂S₂N

Розраховано, %: N 6,90; S 31,53;

ІЧ спектр (ν, см⁻¹): 1132, 1328 (SO₂); 1572, 1588, 1602 (Ar); 1636 (NH); 3376, 3472 (NH₂).

Етиловий S-естер 4-амінобензентіосульфоїкислоти. До 4 мл (0,0195 моль) 40% сульфатної кислоти додавали 1 г (0,0039 моль) етилового S-естеру 4-ацетиламінобензентіосульфоїкислоти. Реакційну масу нагрівали до температури 78°C і витримували протягом 3 год. До реакційної маси додавали 1 г активованого вугілля. Гарячу реакційну масу фільтрували. Фільтрат охолоджували. Надлишок кислоти нейтралізували розчином натрію гідрокарбонату до рН 6-7. Осад етилового S-естеру 4-амінобензентіосульфоїкислоти, який випав, фільтрували, промивали водою.

Вихід 0,69 г (82%).

T_{топл.} 77-79 °C.

Знайдено, %: N 6,37; S 29,62; . C₈H₁₁O₂S₂N

Розраховано, %: N 6,45; S 29,49;

ІЧ спектр (ν, см⁻¹): 1132, 1328 (SO₂); 1572, 1588, 1602 (Ar); 1636 (NH); 3376, 3472 (NH₂).

Пропіловий S-естер 4-амінобензентіосульфоїкислоти. До 7 мл (0,0183 моль) 40% сульфатної кислоти додавали 2 г (0,0037 моль) пропілового S-естеру 4-ацетиламінобензентіосульфоїкислоти. Реакційну масу нагрівали до температури 68°C і витримували протягом 4 год. До реакційної маси додавали 1 г активованого вугілля. Гарячу реакційну масу фільтрували. Фільтрат охолоджували. Надлишок кислоти нейтралізували розчином натрію гідрокарбонату до рН 6–7. Осад пропілового S-естеру 4-амінобензентіосульфоїкислоти, який випав, фільтрували, промивали водою.

Вихід 1,35 г (80%).

Знайдено, %: N 6,68; S 31,09. C₉H₁₃NS₂O₂.

Розраховано, %: N 6,90; S 31,53.

ІЧ спектр (ν, см⁻¹): 1128, 1292 (SO₂); 1586, 1596 1600 (Ar); 1628 (NH); 3248, 3384 (NH₂).

Етиловий S-естер 4-трифлуороацетиламінобензентіосульфоїкислоти. До розчину 0,5 г (0,0023 моль) S-етил-4-амінобензентосульфонату в 10 мл абсолютного бензолу додавали 0,32 мл (0,0023 моль) трифлуорооцтового ангідриду. Реакційну масу витримували 3,5 год. Бензол відганяли у вакуумі, осад, що випав, промивали водою і сушили.

Вихід 0,5г (70%).

T_{топл.} 108-109 °C.

Знайдено, %: N 4,29; S 20.68; . C₁₀H₁₀O₃S₂NF₃

Розраховано, %: N 4,47; S 20,45;

ІЧ спектр (ν, см⁻¹): 1152, 1312 (SO₂); 1592, 1600, 1608 (Ar); 1740 (CO);

Метилловий S-естер 4-трифлуороацетиламінобензентіосульфоїкислоти. До розчину 0,5 г (0,0025 моль) S-метил-4-амінобензентосульфонату в 10 мл абсолютного бензолу додавали 0,35 мл (0,0025 моль) трифлуорооцтового ангідриду. Реакційну масу витримували 3,5 год. Бензол відганяли у вакуумі, осад, що випав, промивали водою і сушили.

Вихід 0,53 г (72%).

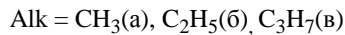
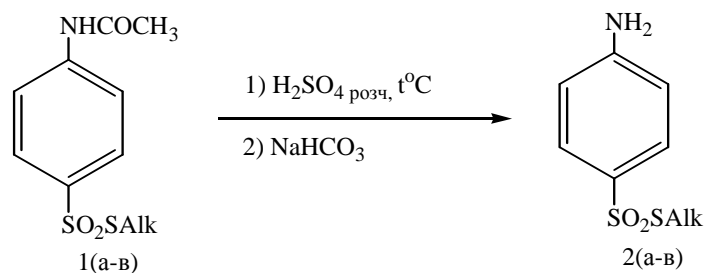
T_{топл.} 98-100 °C.

Знайдено, %: N 4,59; S 21.85; . C₉H₈O₃S₂NF₃

Розраховано, %: N 4,68; S 21,40;

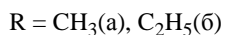
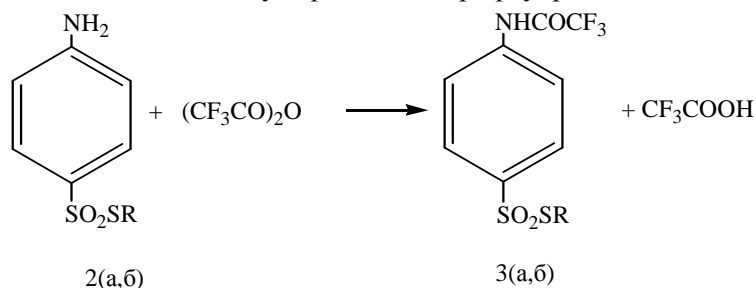
ІЧ спектр (ν, см⁻¹): 1144, 1304 (SO₂); 1592, 1600, 1608 (Ar); 1744 (CO);

Обговорення результатів. Продовжуючи синтез і вивчення біологічної активності S-естерів тіосульфоїкислот, у роботі ми вдосконалили спосіб одержання алкілових S-естерів 4-амінобензентіосульфоїкислоти деацилюванням алкілових S-естерів 4-ацетиламінобензентіосульфоїкислоти. Було досліджено, що деацилювання можна виконувати в значно м'якших умовах:



Як деацильовальний реагент доцільно використати 30–40 % розчин сульфатної кислоти, деацильовання здійснювати за співвідношення кислоти та вихідного естеру 5:1 при температурі 54–78⁰С. Надлишок сульфатної кислоти у такому разі треба нейтралізувати розчином натрію гідрокарбонату при кімнатній температурі. В такий спосіб ми синтезували цільові продукти з 75–82 % виходами. Одержані експериментальні результати свідчать, що збільшення довжини алкільного замісника в S-естерах 4-ацетиламінобензентіосульфокислоти потребує підвищення концентрації деацильовального реагента.

Для одержання нових біологічно активних речовин та встановлення залежності їхньої біологічної дії від структури ацильного замісника 4-ацетиламінобензентіосульфокислоти ми здійснили синтез алкільових S-естерів 4-трифлуороацетиламінобензентіосульфокислоти ацилюванням S-естерів 4-амінобензентіосульфокислоти трифлуорооцтовим ангідридом:



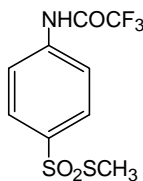
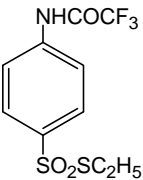
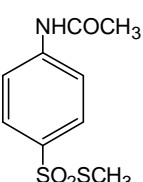
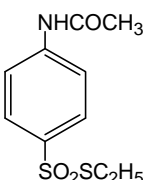
Ацилювання S-естерів 4-амінобензентіосульфокислоти при кімнатній температурі в абсолютному бензолі за 3,5 год відбувається на 70%. Будова та індивідуальність синтезованих S-естерів підтверджена даними ІЧ-спектроскопії, елементним аналізом та методом ТШХ.

Синтезовані S-естери 4-трифлуороацетиламінобензентіосульфокислоти були досліджені на фунгібактерицидну активність методом дифузії речовини в агар (метод паперових дисків). Паралельно на цей вид активності були досліджені відповідні S-естери 4-ацетиламінобензентіосульфокислоти. Результати визначення фунгібактерицидної активності подано в табл.1.

Аналіз отриманих даних на фунгіцидну активність свідчить, що для флуоровмісних сполук цей вид активності є вищим, зокрема при дії метилового S-естеру 4-трифлуороацетиламінобензентіосульфокислоти на тест-культури затримка росту спостерігається вже у концентрації 20 мкг/диск, тоді як затримка росту тест-культур при дії відповідним S-естером 4-ацетиламінобензентіосульфокислоти у цій концентрації повністю відсутня.

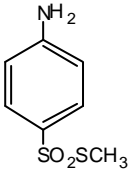
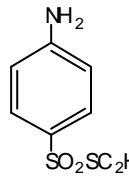
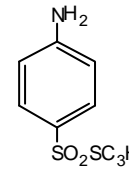
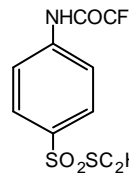
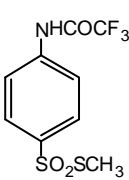
Аналізуючи одержані результати щодо прояву бактерицидної активності досліджуваних сполук (табл. 1), встановлено, що флуоровмісні S-естери, на відміну від S-естерів 4-ацетиламінобензентіосульфокислоти, проявляють вибірковість дії на окремі штами бактерій. Загалом, найменший пригнічувальний вплив тіосульфонатів (3а,б) спостерігається на ріст грам-негативного бактеріального штаму *Escherichia coli*, а найбільший пригнічувальний ефект – на штам грам-позитивних бактерій *Мус. luteum*.

Фунгібактерицидна активність тіосульфатів

№ сполуки	Структурна формула сполуки	Концентрація, мкг/диск	Зона пригнічення росту грибів, мм			Зона пригнічення росту бактерій, мм			
			<i>Candida tenuis</i>	<i>Asp. niger</i>	<i>Pen. chrysogenum</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. mesentericus</i>	<i>St. aureus</i>	<i>Myc. luteum</i>
3a		100	16	19	18	13	15	15	24
		60	10	15	13	12	13	14	16
		20	7	8	7	9	9	7	10
3б		100	12	13	12	8	11	14	21
		60	10	12	10	6	10	12	16
		20	8	10	8	0	8	8	10
1a		100	8	10	10	14	15	16	16
		60	6	9	9	13	14	11	13
		20	0	0	0	8	10	10	12
1б		100	16	17	14	12	13	13	18
		60	9	15	13	11	12	10	16
		20	7	8	0	9	9	9	12

У роботі нами також здійснено скринінг біологічної активності синтезованих сполук (2a-в, 3a,б) з використанням комп'ютерної програми PASS. Результати скринінгу (табл. 2.) дають змогу визначити напрямки подальших експериментальних досліджень і можливі шляхи практичного застосування синтезованих сполук. Так, наприклад, в етилового S-естеру 4-амінобензентіосульфокислоти наявність фунгібактерицидної активності й можливість проявляти дерматологічні ефекти сьогодні вже підтверджена експериментальними даними [6], а результати комп'ютерного скринінгу його біологічної активності вказують на перспективність експериментальних біологічних досліджень цього S-естеру (2б) у напрямку пошуку нових спазмолітичних (*Calcium channel antagonist*), антитромботичних (*Calcium channel antagonist*), кардіотонічних (*Calcium channel antagonist*), нейропротекторних (*Calcium channel antagonist*), антигіпертензивних (*Antihypertensive*) лікарських субстанцій.

Прогноз спектра біологічної активності з Pa>50% тіосульфатів

Сполука	Ймовірність наявності певного виду біологічної активності Pa,%													
	<i>Antifungal</i>	<i>Antiprotozoal (Toxoplasma)</i>	<i>Antiviral (picornavirus)</i>	<i>Calcium channel antagonist</i>	<i>Cardiovascular analeptic</i>	<i>Lysase inhibitor</i>	<i>Antihypertensive</i>	<i>Antiseborrheic</i>	<i>Neurotransmitter antagonist</i>	<i>Antitoxic</i>	<i>Hypertensive</i>	<i>Antinephritic</i>	<i>Tyrosine phosphatase inhibitor</i>	<i>Angiogenesis inhibitor</i>
	78,6	73,8	55,1	50,8	54,3	54,8	-	-	-	-	-	-	-	-
	exclude	69,6	61,7	98,5	53,5	59,4	91,4	67,6	51,3	-	-	-	-	-
	76,2	64,1	55,4	-	-	52,2	-	59,8	-	60,8	54,2	54,0	-	-
	76,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	65,8	55,2
	66,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	71,9	58,0

Висновки. 1. Розроблено спосіб одержання алкілових S-естерів 4-амінобензентіосульфокислоти деацилюванням S-естерів 4-ацетиламінобензентіосульфокислоти розчином сульфатної кислоти, що дало змогу зменшити витрати деацилювального реагента, температуру взаємодії та витрату теплоносіїв, збільшити кінцевий вихід цільових продуктів, використовувати апаратуру

менших об'ємів, створити сприятливі санітарно-гігієнічні умови праці, знизити ступінь забруднення довкілля, здешевити процес. Крім цього, використання сульфатної кислоти розширяє асортимент деацильовальних реагентів для похідних тіосульфокислот.

2. Синтезовано нові флуоровмісні тіосульфоестери і досліджено їхню фунгібактерицидну активність.

3. Здійснено прогнозований скринінг біологічної активності синтезованих сполук з використанням програми PASS, показано перспективні напрямки експериментальних досліджень та способи можливого практичного застосування синтезованих алкілових S-естерів тіосульфокислот.

1. Парацян Ж. Д., Лубенець В.И., Новиков В.П. // *ЖОХ*. – 1998. – Т. 68. – С. 280. 2. Песин В.Г., Халецкий А.М., Лоцманенко И.А. // *ЖОХ*. – 1963. – Т. 33. – С.1096. 3. Лубенець В.І., Лужецька-Швед О.В., Комаровська О.З. та ін. // *Фізіологічно активні речовини*. – 1999. – №2(28). – С.101. 4. Мельников Н.Н. *Пестициды*. – М., 1987. 5. Песин В.Г., Беленькая-Лоцманенко И.А. // *ХГС*. – 1965. – № 3. – С. 354. 6. Болдырев Б.Г., Колмакова Л.Е., Першин Г.Н., Милованова С.Н., Пожарская А.М., Королева Н.А., Микерина А.Л., Данилов Н.Н., Билетченко Т.П. // *Хим. фарм. журн.* – 1968. – Т. 2, № 4. – С.12-16. 7. А.с. №198538 СССР. *Способ лечения грибковых заболеваний кожи "Эсуланом"* / Болдырев Б.Г., Першин Г.М., Милованова С.Н., Пожарская Л.М., Королева М.А., Колмакова Л.Е. (СССР) // *Б.И.*, 1967. – № 14. 8. А.с. №178387 СССР. / Болдырев Б.Г. (СССР) // *Изобр. пром. образцы. Товарные знаки*, 1966. – № 3; 9. Болдырев Б.Г., Стояновская Я.И., Ванчак Л.А. // *Журн. орг. хим.* – 1967. – Т.3. – С. 1073-1075. 10. . Машиковский М.Д. *Лекарственные средства*. – Харьков, 1997. – Т. 1,2. – 543, 592 с. 11. Поройков В.В., Филимонов Д.А. // *Азотистые гетероциклы и алкалоиды*. М., 2001.- Т.1- С.123- 129. 12. Поройков В.В. // *Химия в России*. – 1999. – № 2. – С.8-12. 13. Егоров Н.С. *Микробы-антагонисты и биохимические методы определения антибиотической активности*. – М., 1965. 14. Лабинская А.С. *Микробиология с техникой микробиологических исследований*. – М., 1972.

УДК 573.6.086.83:577.112.3

Ю.І. Сидоров, М.В. Русин

Національний університет “Львівська політехніка”
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології

ПРОЕКТНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ВИРОБНИЦТВА ТРЕОНІНУ З ВИКОРИСТАННЯМ МУТАНТНОГО ШТАМУ *E.COLI* VL2055 CSC

© Сидоров Ю.І., Русин М.В., 2006

Для визначення основних техніко-економічних показників розроблена модель виробництва кормового треоніну за участю мутантного штаму *E.coli* VL2055 Csc потужністю 2700 тонн на рік. Розраховано, що при використанні традиційної періодичної ферментації можна одержувати продукт з відпускною ціною 44,62 грн/кг, а при використанні від'ємно-доливної – 28,44 грн/кг. Зроблений висновок про необхідність подальших досліджень з пошуку ефективніших продуцентів треоніну.

With the purpose of definition of the basic technical and economic parameters the model of manufacture fodder threonine with use mutante stamme *E.coli* VL2055 Csc by capacity of 2700 tons for one year. Is developed, that with traditional periodic fermentation it is possible to receive a product with price 44,62 grn/kgs, and with use of a method "to take away-to add" – 28,44 grn/kgs. The conclusion about necessity of the further researches on search more effective producents of threonine is made.

Постановка проблеми. L-треонін є однією з незамінних амінокислот, яку, як і лізін та деякі інші амінокислоти, використовують як добавку до кормового раціону свійської худоби і птахів. В