

## Prírodné a syntetické izotiokyanáty ako antibakteriálne látky

P. NEMEC, L. DROBNICA, O. ONDREJČKOVÁ

Výskumom prírodných a syntetických izotiokyanátov (ITK) sa sústavne zaoberáme na Chemickotechnologickej fakulte Slovenskej vysokej školy technickej od roku 1956. Študovali sme asi 40 prírodných a syntetizovali sme viac ako 300 väčšinou nových, dosiaľ neopísaných ITK a stanovili sme ich biologické účinky na rozličné organizmy a biologické a biochemické systémy. Zmyslom tohto výskumu bolo jednak stanovenie zákonitostí, súvislostí chemickej štruktúry skúmaných ITK s ich biologickým účinkom, jednak objavenie nových účinných látok s antimikrobným účinkom, vhodným pre použitie v boji so škodlivými mikroorganizmami.

V nasledujúcom predkladáme informáciu o antibakteriálnom účinku niektorých ITK.

Pre prehľadnosť sme rozdelili študované látky podľa ich chemickej stavby na sedem skup (tab. 1).

Prvá grupa obsahuje jednak prírodné ITK, jednak látky, ktoré možno pokladať za ich syntetické analógy. Všetky tieto látky sú alkyl- a arylalkylového typu. Antibakteriálnou aktivitou vynikajú benzylizotiokyanáty a fenyletylizotiokyanáty (tab. 2).

Z derivátov vzdialenejších prírodným izotiokyanátom je zaujímavý rad benzhydrylizotiokyanátov s význačnou aktivitou proti *G +* baktériám, ale aj *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub> Rv a niektorým atypickým mykobaktériám. Táto skupina je však málo účinná proti hubám, kvasinkám a javí nízku toxicitu proti živočíšnym bunkám v tkaňovej kultúre.

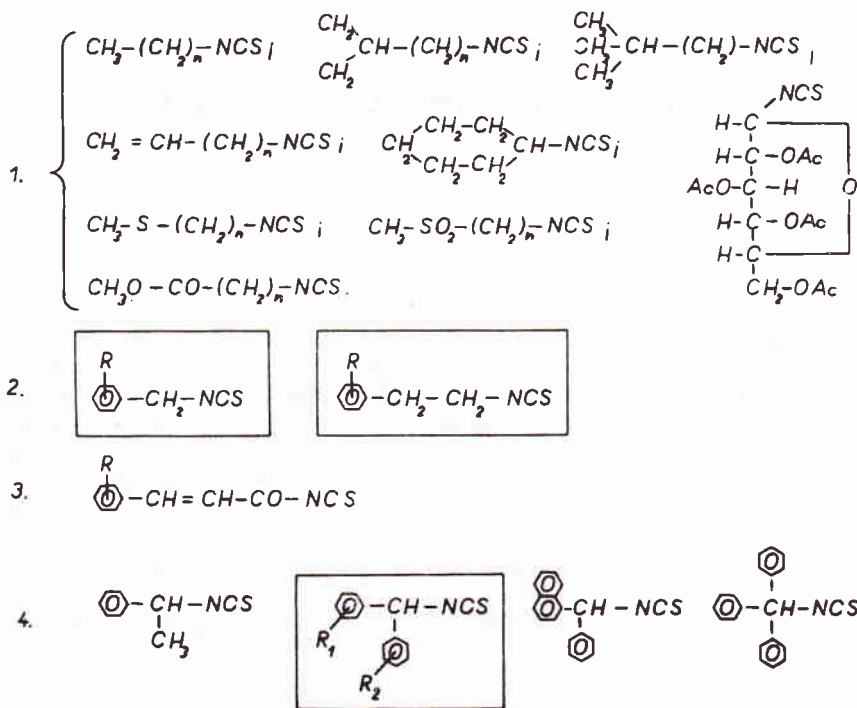
Druhá skupina predstavuje mononukleárne aromatické ITK typu fenyl-ITK. Z hľadiska účinnosti proti baktériám je táto skupina málo významná. Zato však javí značnú aktivitu proti hubám a nematódom (tab. 3).

Tretia skupina sú polynukleárne aromatické nekondenzované ITK. Chemicky je to skupina dosť heterogénna a táto heterogenita sa odráža aj v rozmanitosti jej účinku. Obsahuje látky s antiprotozoálnym a antivermálnym účinkom. Symetrický sulfón je aktívny proti *Plasmodium berghei*, azoderiváty sú vysokoúčinné nematocidy (tab. 4).

Z hľadiska antibakteriálnej účinnosti sú veľmi zaujímavé deriváty stilbénu a azobenzénu. Niektoré z nich sú in vitro silne aktívne proti *Mycobacterium*

Group I. Natural Isothiocyanates and Their Synthetic Analogues.

Subgroup



Tab. 1.

tuberculosis H<sub>37</sub>Rv s minimálnou inhibičnou koncentráciou 1 µg v 1 ml Šulovej pôdy. Sú však prakticky neúčinné proti iným mikroorganizmom a málo toxické proti živočíšnym tkaniam (tab. 5).

Štvrtá a piata skupina obsahuje polynukleárne kondenzované aromatické a rôzne heterocyklické ITK, ako napr. deriváty akridinov, purinov, pyrimidínov a fluoresceínu. Z nich sú proti baktériám účinné deriváty akridínu.

V šiestej skupine sú zahrnuté izoselenokyanáty, selenoanalógy vybraných ITK predchádzajúcich skupín. V siedmej skupine sú syntetické potenciálne producenty izotiokyanátov. Sú to najmä 3,5-disubstituované tiadiazíny.

U veľkej väčšiny derivátov bola skúmaná účinnosť na veľmi rozdielne biologické a biochemické objekty, menovite na vírusy a fagy, baktérie, huby, kvasinky, riasy, prvoky a nematódy. Popritom sa sledoval účinok na živočíšne bunky v tkaňovej kultúre a na experimentálne maligne nádory a na nádorové ascitové bunky. Z biochemických systémov sa sledovala aktivita na rozličné izolované enzýmy a enzymatické systémy. Sledovaním inkorporácie <sup>14</sup>C značených zlúčenín, napr. leucínu a adenínu sa sledoval vplyv ITK na proteosyntézu a nukleosyntézu.

# Antibacterial Activity of Benzylisothiocyanate Analogues.

Structure	STAPH. <i>aureus</i>	STREPT. <i>faecal.</i>	BAC. <i>subt.</i>	ESCHE. <i>coli</i>	PROT. <i>vulg.</i>
	MIC* (µg/ml)				
<chem>c1ccccc1CCN=C=S</chem>	5	1	25	5	1
<chem>Clc1ccccc1CCN=C=S</chem>	1	1	5	5	1
<chem>c1ccccc1CCCN=C=S</chem>	5	25	100	5	5
<chem>Clc1ccccc1CCCN=C=S</chem>	1	1	25	10	5
<chem>c1ccccc1C(c2ccccc2)N=C=S</chem>	5	5	25	>100	25
<chem>Brc1ccccc1C(c2ccccc2)N=C=S</chem>	1	1	25	10	5

Tab. 2.

Na základe poznatkov, ktoré sme na tomto poli získali, chceli by sme zdôrazniť, že rozličné ITK vykazujú veľmi význačné rozdiely v aktivite na rôzne objekty a sčasti aj rozličné mechanizmy účinku. Rozhodujúci vplyv na biologickú činnosť ITK, t. j. v podstate na kvalitu a kvantitu metabolickej poruchy, vyvolanej určitým ITK, ako aj rôzny účinok na rôzne objekty, má chemická štruktúra radikálnej ITK. Štruktúra podmieňuje nielen reaktivitu izotiokyanátovej skupiny, ale aj jej uplatnenie v rámci topografie bunky. U vyšších organizmov je veľmi dôležitá ich stabilita a orgánová distribúcia podaných ITK.

Tabuľka demonštruje rozdiely účinnosti rôznych ITK na štyri druhy baktérií. Pri štyroch rôznych radikáloch je ITK, v ktorom sa účinná skupina viaže priamo na jadro, nie je prakticky žiadna účinnosť na baktérie. Tieto zlúčeniny sú však silne účinné na huby a kvasinky. Predĺženie radikálu o metylovú skupinu vedie k nastúpeniu intenzívnej antibakteriálnej účinnosti a súčasne k poklesu antifungálnej aktivity. Prvý typ zlúčeniny reprezentuje aromatické ITK, zatiaľ čo druhý typ je odpovedajúci arylalkyl ITK. Pokusy o vysvetlenie tohto javu vedú nás k problému mechanizmu účinku týchto látok. Štúdium mechanizmu účinku je náročné, avšak pri prácach tohto druhu je nie len nutné, ale aj najzaujímavejšie. Už poznanie rozdielnych účinkov prírodných ITK viedlo nás pred rokmi k hypotéze, že vhodne modifikovaným radikálom bolo by snáď možné účinnú izotiokyanátovú skupinu dirigovať k rôznej biologickej aktivite. Tieto úvahy viedli v prvom rade k štúdiu mechanizmu účinku izotiokyanatej skupiny, teda k jej reakciám v živých orga-

Tab. 3.

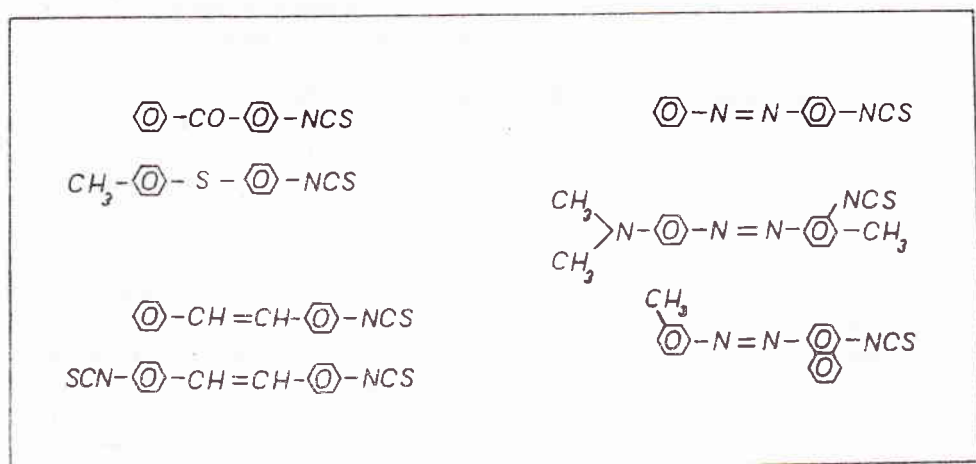
Group III. Polynuclear Aromatic ITC  
(Noncondensed)

Subgroup	X =
1.	$\emptyset$
2.	$-\text{C}_6\text{H}_4-$
3.	$-\text{CH}_2-$
4.	$-\text{O}-$
5.	$-\text{NH}-$
6.	$-\text{S}-, -\text{SO}-, -\text{SO}_2-$
7.	$-\text{CH}_2-\text{S}-, -\text{CH}_2-\text{SO}_2-$
8.	$-\text{CO}-$
9.	$-\text{CO}-\text{O}-$
10.	$-\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}-, -\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}-$
11.	$-\text{CH}=\text{CH}-$
12.	$-\text{N}=\text{N}-$

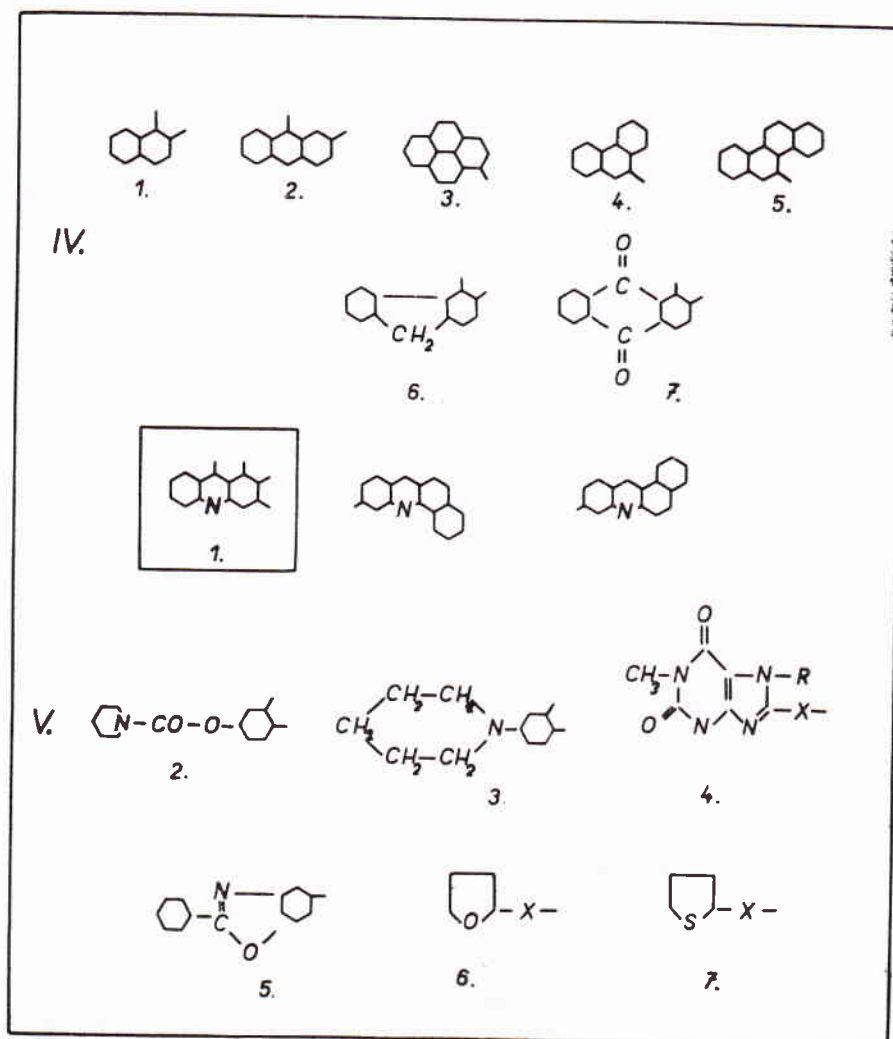
nizmoch. Ukázalo sa, že najdôležitejšie reakcie ITC z hľadiska ich bezprostredného účinku sú adičné reakcie s aminoskupinami a sulfhydrylovými skupinami. Teda ide o reakcie, ktoré sa uplatňujú najmä pri bielkovinách, enzýmoch, po prípade s peptidmi a aminokyselinami. Adícia ITC skupiny s aminoskupinami aminokyselín, peptidov a bielkovín vedie k vzniku príslušnej N- $\alpha$ -tioureidokarboxylovej kyseliny a v kyslom prostredí k cyklizácii na príslušný tiohydantoín. Adícia na SH skupinu tiolových zlúčenín prebieha vo forme ionizovanej tiolovej skupiny a vedie k vzniku príslušného karboxylmetylesteru-N-arylditiokarbamovej kyseliny a v kyslom prostredí k cyklizácii na N-substituovaný rodanín. Aktivita ITC sa realizuje hlavne inaktivačným pôsobením na enzýmy a získané výsledky umožnili vysloviť záver, že inhibícia rozmnožovania, proteosyntézy a syntézy nukleových kyselín

Isothiocyanates (group III.) with remarkable  
Anti MYCOBACTERIAL Activity.

Tab. 4.



Basic structural formulae of isothiocyanates Group IV and V.

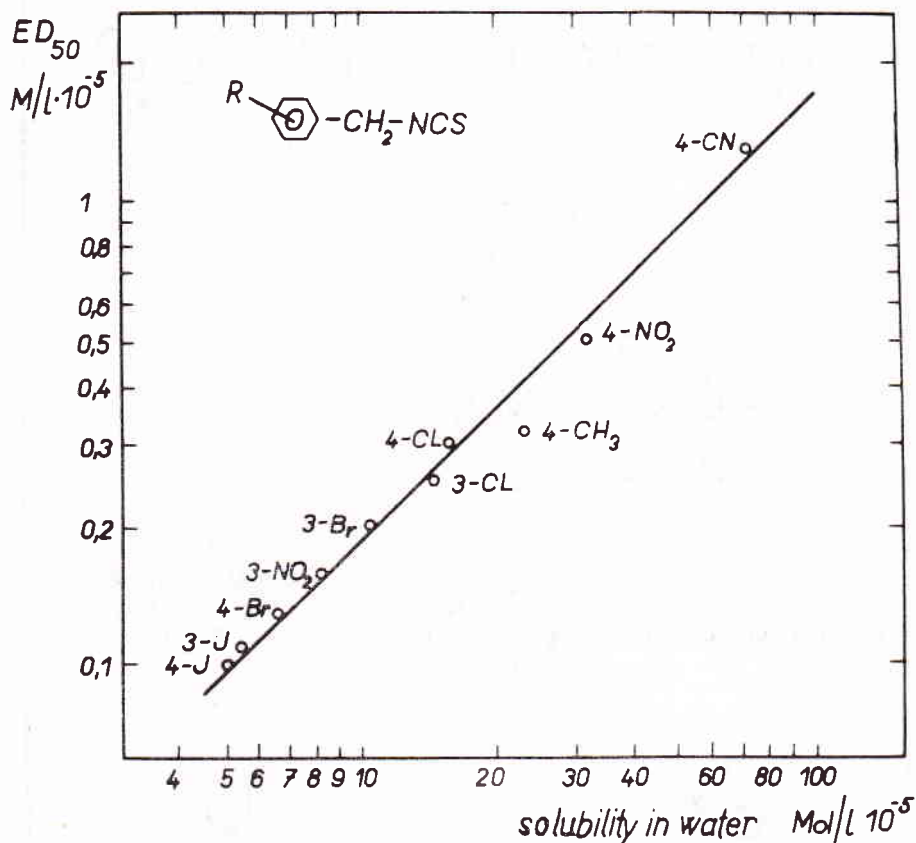


Tab. 5.

subletálnymi koncentráciami p-Br-benzyl,  $\beta$ -fenyletyl a  $\alpha$ -naftylmetyl – ITK u *Escherichia coli* a *Proteus vulgaris* je dôsledkom primárneho zásahu týchto látok do energetického metabolizmu, resp. do funkcie niektorých enzýmov energetického metabolizmu. (Tab. 7).

Vplyv radikálu na aktivitu príslušného ITK možno vysvetľovať niekoľkými faktormi. Radikál predovšetkým význačne ovplyvňuje reaktivitu izotiokyanatej skupiny. A potom ovplyvňuje jej rozpustnosť a rozdeľovací koeficient medzi vodou a lipidnými zložkami bunky. V skupine benzylizotiokyanátov sa

# Correlation between antibacterial activity and water solubility in the group of benzyl isothiocyanates


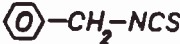
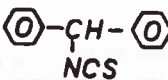


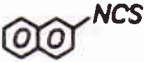
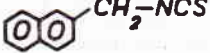
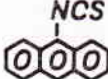
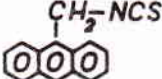


Tab. 6.

zistila úzka závislosť antibakteriálnej účinnosti týchto látok od rozpustnosti vo vode. Teda čím je benzyl -ITK rozpustnejší, tým je menej účinný. Rozhodujúci význam rozpustnosti ako vlastnosti určujúcej účinnosť je zdôvodnený väčším rozdielom, ktorý je daný v rozpustnosti skúmaných benzylizotiokyanátov, než rozdielom v ich reaktivite. Zdá sa, že metylový mostík benzyl-ITK tlmi vplyv substituenta na izotiokyanátovú skupinu v porovnaní s ITK, kde účinná skupina je viazaná priamo na jadro. U väčších molekúl sa uplatňujú sterické vplyvy, čo je pri účinkovaní na aminoskupiny a -SH skupiny aktívnych proteínov ľahko predstaviteľné.

Niektoré z izotiokyanátov svojou účinnosťou dosahujú účinnosť najznámejších antibiotík. Benzyl-, benzhydryl- a aryl alkylizotiokyanáty sú svojimi hodnotami minimálnej účinnej koncentrácie porovnateľné s penicilínom. V po-

*Differences in the Activity of Aryl- and related Arylalkyl isothiocyanates.*

Structure	STAPH. <i>aureus</i>	STREPT. <i>faecalis</i> MIC* (μg/ml)	ESCHER. <i>coli</i> B	PROT. <i>vulgaris</i>
 -NCS	100	>100	>100	>100
 -CH <sub>2</sub> -NCS	5	5	5	1
	5	1	100	25
	10	>100	>100	>100
	1	2	>100	>100
	50	100	100	>100
	10	5	50	100
	>100	>100	>100	>100
	25	5	>100	>100

Tab. 7.

rovnani s účinkom penicilínu na *Streptococcus aureus* je účinnejší ako toto antibiotikum. U benzylizotiokyanátov je ďalej pozoruhodná ich účinnosť na *Proteus vulgaris* a *Salmonella typhimurium* (MIC = 1–5 μg/ml). Chloramfenikol, streptomycín a erytromycín potlačujú rast *Proteus vulgaris* až v koncentrácii 12,5 μg/ml.

Význačná antimikrobiálna schopnosť ITK a možnosť jej modifikácie voľbou radikálu, podstatne vyššia aktivita niektorých syntetických ITK v porovnaní s ich prírodnými analógmi, ako aj ich špecificita, a nie v poslednom rade ich relatívne nízka toxicita proti vyšším živočíchom poukazuje na potenciálnu možnosť ich využitia aj v potravinárskom priemysle.

## S ú h r n

Skúmal sa biologický a najmä antimikróbný účinok 350 prírodných a syntetických izotiokyanátov. Pri niektorých syntetických derivátoch sa našla významná antibakteriálna účinnosť porovnateľná s účinnosťou známych antibiotík. Dokázala sa možnosť modifikovať biologickú účinnosť izotiokyanátov voľbou vhodného radikálu. Objasnil sa mechanizmus účinku skúmaných izotiokyanátov.

## Натуральные и синтетические изотиокианаты-антибактериальные вещества

### Выводы

Мы изучали биологическое и главным образом антимикробное влияние 350 натуральных и синтетических изотиокианатов. В некоторых синтетических дериватах было обнаружено знаменательное антибактериальное действие, которое можно сравнивать с действием общеизвестных антибиотиков. Доказалась возможность модифицировать действие изотиокианатов при выборе подходящего остатка. Был объяснен механизм действия изотиокианатов.

## Natural and synthetic isothiocyanates as antibacterial agents

### Summary

Biological and especially antimicrobial effect of 350 natural and synthetic isothiocyanates was studied. Significant antibacterial effect, comparable with effect of some known antibiotics was found by some synthetic derivatives. The possibility of modifying the biological effectivity of some isothiocyanates by selection of a suitable radical was proved. Mechanism of the effect of the studied isothiocyanates was explained.