

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ  
ІНСТИТУТ ОРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ НАН УКРАЇНИ  
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ



---

---

**ЖУРНАЛ**  
ОРГАНІЧНОЇ ТА  
ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ХІМІЇ



**JOURNAL**  
OF ORGANIC AND  
PHARMACEUTICAL CHEMISTRY



**ЖУРНАЛ**  
ОРГАНИЧЕСКОЙ И  
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

2013 – том 11, выпуск 3(43)

Харків  
НФаУ

Головні редактори В.І.Кальченко (Київ)  
В.П.Черних (Харків)  
Заступники головного редактора І.С.Гриценко (Харків)  
М.В.Вовк (Київ)  
Відповідальні секретарі Т.А.Костіна (Харків)  
Т.І.Таранушина (Київ)

**Редакційна колегія:**

П.О.Безуглий (Харків), В.С.Броварець (Київ), Ж.Ф.Буйон (Руан, Франція),  
В.А.Георгіянц (Харків), О.І.Гризодуб (Харків), А.М.Демченко (Київ),  
В.Д.Дяченко (Луганськ), В.А.Загорій (Київ), А.Я.Ільченко (Київ),  
С.М.Коваленко (Харків), В.М.Ковальов (Харків), В.О.Ковтуненко (Київ),  
М.І.Короткіх (Донецьк), О.М.Костюк (Київ), В.П.Новіков (Львів),  
М.Д.Обушак (Львів), В.Д.Орлов (Харків), В.Ю.Пашинник (Київ),  
В.В.Петренко (Харків), А.Д.Синиця (Київ), О.Б.Смолій (Київ),  
В.І.Станінець (Київ), А.О.Толмачов (Київ), І.В.Українець (Харків),  
А.А.Фокін (Київ), О.П.Швайка (Донецьк), Л.А.Шемчук (Харків),  
Ю.Л.Ягупольський (Київ)

**Редакційна рада:**

С.А.Андронаті (Одеса), І.С.Антипін (Казань), О.М.Біловол (Харків),  
О.О.Варнек (Страсбург, Франція), Ю.М.Воловенко (Київ), С.М.Десенко (Харків),  
Б.С.Зіменковський (Львів), Г.Л.Камалов (Одеса), А.Катрицькі (Гайнесвіл, США),  
А.Катц (Берклі, США), В.П.Кухар (Київ), А.Хаас (Бохум, Німеччина),  
В.П.Хиля (Київ), Ю.Г.Шермолевич (Київ), О.В.Шишкін (Харків)

**У журналі розглянуті проблеми синтезу та аналізу органічних та елементоорганічних сполук, аналогів природних сполук і лікарських субстанцій, результати фізико-хімічних досліджень у вищезазначених напрямках.**

**Для працівників науково-дослідних установ, вищих навчальних закладів та фахівців хімічного, фармацевтичного, біологічного, медичного і сільськогосподарського профілю.**

“Журнал органічної та фармацевтичної хімії” за рішенням ВАК України внесено до переліку видань, рекомендованих для публікації матеріалів дисертацій зі спеціальностей: органічна хімія, елементоорганічна хімія, фармацевтична хімія і фармакогнозія (хімічні науки — постанова ВАК №1-05/1 від 10.02.2010 р.; фармацевтичні науки — постанова ВАК №1-05/2 від 10.03.2010 р.).

Затверджено до друку Вченою радою Інституту органічної хімії НАН України, протокол №13 від 09.09.2013 р.

Затверджено до друку Вченою радою Національного фармацевтичного університету, протокол №1 від 30.08.2013 р.

Адреса для листування: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, Національний фармацевтичний університет, редакція “Журналу органічної та фармацевтичної хімії”, тел./факс (57) 706-30-63. E-mail: press@ukrfa.kharkov.ua

Передплатні індекси: для індивідуальних передплатників — 08383, для підприємств — 08384

Свідоцтво про державну реєстрацію серії КВ №7392 від 05.06.2003 р.

Підписано до друку 10.09.2013 р. Формат 60x84 1/8.

Папір офсетний. Друк ризо. Умовн. друк. арк. 9,3. Обліков.-вид. арк. 10,76. Тираж 130 прим.

Літературний редактор — А.Л.Краснікова. Комп'ютерна верстка — О.М.Білинська.

Видавництво Національного фармацевтичного університету

“Журнал органічної та фармацевтичної хімії”. Том 11, випуск 3 (43), 2013

ISSN 2308-8303

© Національний фармацевтичний університет, 2013

## ЗМІСТ

THE STUDY OF COMPLEXATION OF 5,17-BIS-(N-TOLYLIMINO-METHYL)-25,27-DIPROPOXYCALIX[4]ARENE WITH BENZOIC ACIDS BY RP HPLC AND MOLECULAR MODELING METHODS O.I.Kalchenko, S.O.Cherenok, V.I.Kalchenko, A.V.Solovyov, V.V.Gorbachuk .....	3
SYNTHESIS AND THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ETHYL 5-METHYL-2-(ALKYLTHIO)-4-OXO-3,4-DIHYDROTHIENO[2,3-d]PYRIMIDINE-6-CARBOXYLATES O.V.Tkachenko, S.V.Vlasov, S.M.Kovalenko, I.O.Zhuravel', V.P.Chernykh .....	9
SYNTHESIS AND DIURETIC PROPERTIES OF <i>N</i> -ARYL-6-HYDROXY-2-METHYL-4-OXO-2,4-DIHYDRO-1 <i>H</i> -PYRROLO[3,2,1- <i>ij</i> ]QUINOLINE-5-CARBOXAMIDES WITH ELECTRON-ACCEPTOR SUBSTITUENTS IN THE ANILIDE FRAGMENT I.V.Ukrainets, M.Yu.Golik, O.L.Shemchuk, V.M.Kravchenko .....	16
СИНТЕЗ НІТРИЛІВ ПІРАЗОЛ-4-КАРБОНОВИХ КИСЛОТ ТЕРМІЧНОЮ ДЕГІДРАТАЦІЄЮ ОКСИМІВ ПІРАЗОЛ-4-КАРБАЛЬДЕГІДІВ М.К.Братенко, Н.В.Панасенко, М.В.Вовк.....	22
REACTIVITY OF PHENYLANTHRANILIC ACIDS DERIVATIVES. XXIII. SYNTHESIS AND ACID-BASE PROPERTIES OF 4,5-DIMETHOXY-N-(2'-CARBOXYPHENYL)ANTHRANILIC ACIDS S.G.Isaev, O.M.Sviechnikova, A.O.Devyatkina, T.A.Kostina, T.N.Svyatska .....	26
«GREEN» SYNTHESIS OF ETHYL 4-HYDROXY-2-OXO-1,2-DIHYDROQUINOLINE-3-CARBOXYLATES I.V.Ukrainets, O.V.Gorokhova, X.V.Andreeva, N.Yu.Golik .....	32
CARBON-CARBON AND CARBON-HETEROATOM CONJUGATE ADDITION OF N-SUBSTITUTED MALEIMIDES TO 4 <i>H</i> -1,2,4-TRIAZOL-3-THIOLES, 2-AMINO-1,3-THIAZOLES, 1 <i>H</i> -IMIDAZOLE AND 2-PHENYLINDOLIZINE CATALYZED BY LEWIS ACIDS T.V.Matviuk, M.V.Gorichko, C.Lherbet, M.Baltas, Z.V.Voitenko.....	36
СИНТЕЗ І ДОСЛІДЖЕННЯ ВАЗОАКТИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НОВИХ ФОСФОРІЛЬОВАНИХ ПЕПТИДОМІМЕТИКІВ І.Н.Яковенко, О.І.Лукашук, К.М.Кондратюк, О.В.Головченко, В.В.Жирнов, В.С.Броварець .....	43
СТРОЕНИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА (4-ГИДРОКСИ-1-МЕТИЛ-2-ОКСО-1,2-ДИГИДРОХИНОЛИН-3-ИЛ)УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ СЛОЖНЫХ ЭФИРОВ И.В.Украинец, Е.В.Моспанова, Т.В.Алексеева .....	51
ГЕТЕРОЦИКЛІЗАЦІЇ НА ОСНОВІ ЕТИЛ 1-АРИЛ-4-(БРОМАЦЕТИЛ)-5-МЕТИЛ-1 <i>H</i> -ПІРАЗОЛ-3-КАРБОКСИЛАТІВ М.А.Потопник, В.С.Матійчук, М.Д.Обушак.....	56
ДОСЛІДЖЕННЯ ЗВ'ЯЗКУ МІЖ СТРУКТУРОЮ 4-ТІАЗОЛІДИНОНІВ ТА ЇХ ПРОТИПУХЛИННОЮ АКТИВНІСТЮ ЗА ДОПОМОГОЮ БАГАТОВИМІРНИХ АДАПТИВНИХ РЕГРЕСІЙНИХ СПЛАЙНІВ О.Т.Девіняк, Р.Б.Лесик.....	62
СИНТЕЗ 1-(ТРИЕТИЛСИЛІЛ)-3-[4-(ГЕТАРИЛ)ФЕНІЛ]-5-(ТРИМЕТИЛСИЛІЛ)ПЕНТА-1,4-ДІІН-3-ОЛІВ Я.В.Баглай, В.Мараваль, З.В.Войтенко, Ю.М.Воловенко, Р.Шовен .....	68
ОДНОРЕАКТОРНИЙ СИНТЕЗ ЗАМІЩЕНИХ ІМІДАЗОЛІДИН-2-ОНІВ ЗА УЧАСТЮ ТІОБАРБІТУРОВОЇ КИСЛОТИ, АРИЛГЛЮКСАЛІВ ТА СЕЧОВИН Н.М.Колос, Л.Л.Замігайло, Н.В.Чечина .....	72
НОВИЙ СТЕРОЇДНИЙ ГЛІКОЗИД СУПЛІДЬ <i>ALLIUM CYRILLII</i> Н.В.Толкачова, О.С.Шашков, В.Я.Чирва.....	78

# CONTENTS

ДОСЛІДЖЕННЯ КОМПЛЕКСОУТВОРЕННЯ 5,17-БІС-(N-ТОЛІЛІМІНОМЕТИЛ)- 25,27-ДИПРОПОКСИКАЛІКС[4]АРЕНУ З БЕНЗОЙНИМИ КИСЛОТАМИ МЕТОДАМИ ОФ ВЕРХ ТА МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛЮВАННЯ О.І.Кальченко, С.О.Черенок, В.І.Кальченко, А.В.Соловйов, В.В.Горбачук.....	3
СИНТЕЗ ТА АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ ЕТИЛ 5-МЕТИЛ-2-(АЛКІЛТІО)- 4-ОКСО-3,4-ДИ-ГІДРОТІЄНО[2,3-d]ПІРИМІДИН-6-КАРБОКСИЛАТІВ О.В.Ткаченко, С.В.Власов, С.М.Коваленко, І.О.Журавель, В.П.Черних .....	9
СИНТЕЗ ТА ДІУРЕТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ N-АРИЛ-6-ГІДРОКСИ-2-МЕТИЛ-4-ОКСО-2,4-ДИГІДРО- 1H-ПІРОЛО[3,2,1-ij]ХІНОЛІН-5-КАРБОКСАМІДІВ З ЕЛЕКТРОНО-АКЦЕПТОРНИМИ ЗАМІСНИКАМИ В АНІЛІДНОМУ ФРАГМЕНТІ І.В.Українець, М.Ю.Голік, О.Л.Шемчук, В.М.Кравченко .....	16
SYNTHESIS OF PYRAZOL-4-CARBONITRILES BY THERMAL DEHYDRATATION OF PYRAZOL-4-CARBALDEHYDE OXIMES М.К. Bratenko, N.V. Panasenko, M.V. Vovk.....	22
РЕАКЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ ПОХІДНИХ N-ФЕНІЛАНТРАНІЛОВИХ КИСЛОТ. XXIII. СИНТЕЗ ТА КИСЛОТНО-ОСНОВНІ ВЛАСТИВОСТІ 4,5-ДИМЕТОКСИ- N-(2'-КАРБОКСИФЕНІЛ)АНТРАНІЛОВИХ КИСЛОТ С.Г.Ісаєв, О.М.Свечнікова, А.О.Девяткіна, Т.А.Костіна, Т.Н.Святська.....	26
«ЗЕЛЕНИЙ» СИНТЕЗ ЕТИЛОВИХ ЕСТЕРІВ 4-ГІДРОКСИ-2-ОКСО-1,2-ДИГІДРОХІНОЛІН- 3-КАРБОНОВИХ КИСЛОТ І.В.Українець, О.В.Горохова, К.В.Андреєва, М.Ю.Голік.....	32
КАТАЛІТИЧНЕ КАРБОН-КАРБОН ТА КАРБОН-ГЕТЕРОАТОМ СПРЯЖЕНЕ ПРИЄДНАННЯ N-ЗАМІЩЕНИХ МАЛЕЇНІМІДІВ ДО 4H-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОЛІВ, 2-АМІНО-1,3-ТІАЗОЛІВ, 1H-ІМІДАЗОЛУ ТА 2-ФЕНІЛІНДОЛІЗИНУ В ПРИСУТНОСТІ КИСЛОТ ЛЬЮЇСА Т.В.Матвіюк, М.В.Горічко, К.Лербет, М.Бальтас, З.В.Войтенко .....	36
THE SYNTHESIS AND INVESTIGATION OF VASOACTIVE PROPERTIES OF NEW PHOSPHORYLATED PEPTIDOMIMETICS І.Н.Іакovenko, О.І.Лukashuk, К.М.Кondratyuk, А.В.Golovchenko, V.V.Zhyrnov, V.S.Brovarets .....	43
THE STRUCTURE AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF (4-HYDROXY-1-METHYL-2-OHO- 1,2-DIHYDROQUINOLIN-3-YL)ACETIC ACID AND ITS ESTERS І.В.Українець, О.В.Моспанова, Т.В.Алексеева.....	51
HETEROCYCLISATION ON THE BASIS OF ETHYL 1-ARYL-4-(BROMOACETYL)-5-METHYL- 1H-PYRAZOLE-3-CARBOXYLATES М.А.Потопnyk, V.S.Matiychuk, M.D.Obushak .....	56
THE STUDY OF THE STRUCTURE – ANTICANCER ACTIVITY RELATIONSHIP OF 4-THIAZOLIDINONE DERIVATIVES USING MULTIVARIATE ADAPTIVE REGRESSION SPLINES О.Т.Девинyak, R.В.Лесyk.....	62
THE SYNTHESIS OF 1-(TRIETHYLSILYL)-3-[4-(HETARYL)PHENYL]- 5-(TRIMETHYLSILYL)PENTA-1,4-DIYN-3-OLS Iaroslav Baglai, Valérie Maraval, Z.V.Voitenko, Yu.M.Volovenko, Remi Chauvin.....	68
ONE-POT SYNTHESIS OF THE SUBSTITUTED IMIDAZOLIDIN-2-ONES WITH PARTICIPATION OF THIOBARBITURIC ACID, UREAS AND ARYLGLYOXALS N.M.Kolos, L.L.Zamigaylo, N.V.Chechina .....	72
NEW STEROIDAL GLYCOSIDE OF <i>ALLIUM CYRILILII</i> RACEMES N.V.Tolkachova, O.S.Shashkov, V.Ya.Chyrva.....	78

УДК 547.03+547.562

# THE STUDY OF COMPLEXATION OF 5,17-BIS-(N-TOLYLIMINO-METHYL)-25,27-DIPROPOXYCALIX[4]ARENE WITH BENZOIC ACIDS BY RP HPLC AND MOLECULAR MODELING METHODS

O.I.Kalchenko, S.O.Cherenok, V.I.Kalchenko, A.V.Solovyov\*, V.V.Gorbachuk\*\*

Institute of Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Ukraine,  
5, Murmanska str., Kyiv-94, 02660, Ukraine. E-mail: vik@ioch.kiev.ua

\* Present address: Department of Chemical & Biomolecular Engineering University of California, Berkeley, USA

\*\* Kazan Federal University, Kremlyovskaya str., 18, 420008, Kazan, Russian Federation

*Key words: Calixarenes; benzoic acids; reversed-phase high performance liquid chromatography; inclusion complexes; binding constants*

The Host-Guest complexation of 5,17-bis-(N-tolyliminomethyl)-25,27-dipropoxycalix[4]arene with benzoic acids has been studied by reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP HPLC) method (the mobile phase – MeCN/H<sub>2</sub>O, 86/14 v/v, the column support – LiChrosorb RP 18, UV detector,  $\lambda = 254$  nm). The study of the chromatographic behaviour of 5,17-bis-(N-tolyliminomethyl)-25,27-dipropoxycalix[4]arene and benzoic acids, as well as determination of their main chromatographic characteristics – the retention times  $t_r$  and capacity factors  $k'$  have been performed. On the basis of the data obtained the lipophilicity  $\log P$ , as well as the binding constants and Gibbs free energies of the complexes of 5,17-bis-(N-tolyliminomethyl)-25,27-dipropoxycalix[4]arene with benzoic acids have been calculated. The binding constants and Gibbs free energies of the complexes of 5,17-bis-(N-tolyliminomethyl)-25,27-dipropoxycalix[4]arene with benzoic acids are in the range of 335-910 M<sup>-1</sup> or -14.38 – -16.85 kJ/mol, respectively. The influence of the benzoic acids lipophilicity  $\log P$  and pKa values on the binding constants  $K_A$  of the complexes has been examined. It has been found that decrease of the  $\log P$  and pKa values increases the binding constants  $K_A$  of the complexes. Molecular modeling of the complexes revealed the presence of hydrogen bonds between carboxylic groups of the acids and nitrogen atoms of imino-groups at the upper rim or oxygen atoms of the hydroxyl groups at the lower rim of the calixarene macrocycle. A linear dependence of the binding constants from the acid lipophilicity  $\log P$  indicates a significant role of solvophobic interactions during the complexation process.

## ДОСЛІДЖЕННЯ КОМПЛЕКСОУТВОРЕННЯ 5,17-БІС-(N-ТОЛІЛІМІНОМЕТИЛ)-25,27-ДИПРОПОКСИКАЛІКС[4]АРЕНУ З БЕНЗОЙНИМИ КИСЛОТАМИ МЕТОДАМИ ОФ ВЕРХ ТА МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛЮВАННЯ

O.I.Кальченко, С.О.Черенок, В.І.Кальченко, А.В.Соловійов, В.В.Горбачук

**Ключові слова:** каліксарени; бензойні кислоти; метод обернено-фазної високоефективної рідинної хроматографії; комплекси включення; константи зв'язування

Комплексоутворення типу Гість-Господар 5,17-біс-(N-толілімінометил)-25,27-дипропоксикалікс[4]арену з бензойними кислотами досліджено методом обернено-фазної високоефективної рідинної хроматографії (ОФ ВЕРХ) (рухома фаза - MeCN/H<sub>2</sub>O, 86/14 за об'ємом, колоночна насадка марки LiChrosorb RP 18, УФ-детектор,  $\lambda = 254$  нм). Проведено дослідження хроматографічної поведінки та визначені основні хроматографічні характеристики 5,17-біс-(N-толілімінометил)-25,27-дипропоксикалікс[4]арену та бензойних кислот-субстратів – час утримання  $t_r$  та коефіцієнти ємності  $k'$ . На підставі отриманих даних розраховано значення ліпофільності  $\log P$  бензойних кислот, а також констант зв'язування та вільних енергій Гіббса комплексів каліксарену з бензойними кислотами. Розраховані значення констант зв'язування та вільних енергій Гіббса комплексів 5,17-біс-(N-толілімінометил)-25,27-дипропоксикалікс[4]арену з бензойними кислотами знаходяться в межах 335-910 М<sup>-1</sup> та -14.38 – -16.85 кДж/моль, відповідно. Досліджено вплив ліпофільності  $\log P$  та рKa заміщених бензойних кислот на константи зв'язування  $K_A$  їх комплексів з каліксареном. Встановлено, що константи зв'язування  $K_A$  збільшуються по мірі зниження значень ліпофільності  $\log P$  та рKa бензойних кислот. Проведено молекулярне моделювання комплексів включення, яке вказує на наявність водневих зв'язків між карбоксильними групами бензойних кислот та атомами водню іміногруп верхнього вінця або атомами кисню гідроксильних груп нижнього вінця каліксаренового макроциклу. Лінійна залежність констант зв'язування від ліпофільності  $\log P$  кислот вказує на помітну роль сольватобних взаємодій при їх комплексоутворенні з 5,17-біс-(N-толілімінометил)-25,27-дипропоксикалікс[4]ареном.

## ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ 5,17-БИС-(N-ТОЛИЛИМИНОМЕТИЛ)-25,27-ДИПРОПОКСИКАЛІКС[4]АРЕНА С БЕНЗОЙНЫМИ КИСЛОТАМИ МЕТОДАМИ ОФ ВЭЖХ И МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

O.I.Кальченко, С.А.Черенок, В.И.Кальченко, А.В.Соловійов, В.В.Горбачук

**Ключевые слова:** каліксарени; бензойные кислоты; метод обращеннофазной высокоэффективной жидкостной хроматографии; комплексы включения; константы связывания

Комплексообразование типа Гость-Хозяин 5,17-бис-(N-толилиминометил)-25,27-дипропоксикалікс[4]арена с бензойными кислотами исследовано методом обращеннофазной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ) (подвижная фаза – MeCN/H<sub>2</sub>O, 86/14, колоночная насадка марки LiChrosorb RP 18, УФ-детектор,  $\lambda = 254$  нм). Проведено исследование хроматографического поведения и опре-

делены основные хроматографические характеристики 5,17-бис-(*N*-толилиминометил)-25,27-дипропоксикаликс[4]арена-рецептора и бензойных кислот-субстратов – времена удерживания  $t_R$  и коэффициенты емкости  $k'$ . На основе полученных данных рассчитаны значения липофильности  $\log P$  бензойных кислот, а также констант связывания и свободных энергий Гиббса комплексов 5,17-бис-(*N*-толилиминометил)-25,27-дипропоксикаликс[4]арена с бензойными кислотами. Рассчитанные значения констант связывания и свободных энергий Гиббса находятся в пределах  $335-910 \text{ M}^{-1}$  и  $-14.38 - -16.85 \text{ кДж/моль}$ , соответственно. Исследовано влияние липофильности  $\log P$  и  $pK_a$  замещенных бензойных кислот на константы связывания  $K_A$  их комплексов с каликсареном. Установлено, что константы связывания  $K_A$  возрастают по мере снижения значений липофильности  $\log P$  и  $pK_a$  бензойных кислот. Проведенное молекулярное моделирование комплексов показало наличие водородных связей между карбоксильными группами бензойных кислот и атомами водорода иминогрупп верхнего обода или атомами кислорода гидроксильных групп нижнего обода каликсаренового макроцикла. Линейная зависимость констант связывания от липофильности  $\log P$  кислот указывает на заметную роль сольватобонных взаимодействий при комплексообразовании с 5,17-бис-(*N*-толилиминометил)-25,27-дипропоксикаликс[4]ареном.

Molecular recognition, separation, membrane transport and analytical sensing of biorelevant molecules by artificial receptors constitute an important problem in chemistry and biology [1-7]. Calixarenes – «macrocyclic vases», which are easily available through the cyclocondensation of *para*-substituted phenols with formaldehyde, are widely used as molecular platforms for construction of specific receptors capable of highly selective recognition between fairly similar substrates [8, 9, 10]. Apparently, the outstanding receptor properties of functionalized calixarenes toward the biorelevant molecules make them highly promising materials for sensor technologies [11], as well as Host molecules for drug delivery systems in pharmaceutical science [5, 6, 8, 12-17].

In this paper we report about the Host-Guest complexation study of 5,17-bis-(*N*-tolyliminomethyl)-25,27-dipropoxycalix[4]arene Host (**CA**) with a series of *o*-, *m*-, *p*-substituted benzoic acids as the Guests (Chart).

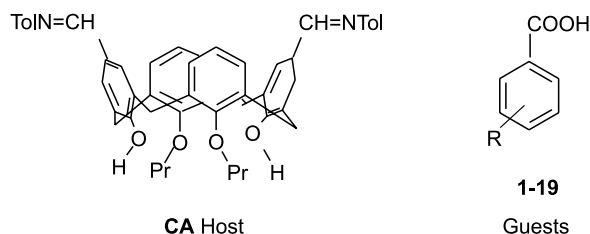
Benzoic acids are widely used as drugs, and their salts as carriers of specific anions. In medical practice benzoic acid is used as an antibacterial and antifungal medicine for skin diseases and mycosis. Benzoic acid is a constituent of Whitfield's ointment, which is used for treating fungal skin diseases such as tinea, ringworm, and athlete's foot [18]. Its esters (from methyl to amyl) are used in the perfume industry. Hydrochloride of  $\beta$ -diethylaminoethyl ester of *p*-aminobenzoic acid is known as Novocain drug with a moderate anesthetic activity and a wide spectrum of

the therapeutic action. *p*-Aminobenzoic acid (PABA) is the growth factor of microorganisms and its derivatives are used as effective antibacterial agents. PABA has been referred to as Vitamin B<sub>10</sub>. Some bacteria in the human intestinal tract such as *E. coli* generate PABA from chorismate [19].

Information on the supramolecular Host-Guest interaction of **CA** with benzoic acids will be useful in design of calixarene based sensors or drug delivery systems for the biorelevant acids.

### Experimental Part

The RP HPLC study was performed on a Hitachi chromatograph (Hitachi, Ltd., Tokyo, Japan) consisting of a high-pressure pump connected to a Rheodyne sample 7120 injector with a 20  $\mu\text{L}$  loop (Rheodyne, Berkeley) and an ultraviolet-visible detector. The column (250 $\times$ 4.6 mm i.d.) was packed with LiChrosorb RP-18 (Merck, Germany). Acetonitrile was obtained from Acros Organics. Carboxylic acids were purchased from Sigma-Aldrich. **CA** was synthesized by the method [20]. The acetonitrile-water (86:14, v/v) mixture was used as a blank mobile phase. The calixarene based mobile phases were prepared by dissolving **CA** in the acetonitrile-water (86:14, v/v) mixture to obtain the **CA** concentration of 0.05-0.6 mM. The analytes for injections were dissolved in the same acetonitrile-water (86:14, v/v) mixture ( $C = 0.01 \text{ mM}$ ). The amount of the sample injected was 20  $\mu\text{L}$ . All chromatograms were recorded at 22°C. The UV detector was operated at 254 nm. The mobile phase contain-



R = H (1), *o*-Cl (2), *m*-Cl (3), *p*-Cl (4), *o*-CH<sub>3</sub> (5), *m*-CH<sub>3</sub> (6), *p*-CH<sub>3</sub> (7), *o*-NH<sub>2</sub> (8), *m*-NH<sub>2</sub> (9), *p*-NH<sub>2</sub> (10), *o*-NO<sub>2</sub> (11), *m*-NO<sub>2</sub> (12), *p*-NO<sub>2</sub> (13), *o*-OH (14), *m*-OH (15), *p*-OH (16), *o*-COOH (17), *m*-COOH (18), *p*-COOH (19)

Table

Retention times  $t_R$ , capacity factors  $k'$ , log P of benzoic acids **1-19**,  $K_A$  and DG values of their complexes with **CA**

Acid	Retention time, $t_R$ , min	Capacity factor, $k'$	log P	$K_A$ , $M^{-1}$	$\Delta G$ , kJ/mol
1	4.50	3.50	1.87	650±72	-16.02
2	3.72	2.72	1.05	832±110	-16.63
3	3.74	2.74	1.51	798±89	-16.53
4	3.83	2.83	1.55	560±73	-15.65
5	5.50	4.50	2.25	401±42	-14.83
6	4.67	3.67	1.94	448±42	-15.10
7	3.83	2.83	1.55	439±53	-15.05
8	4.50	3.50	1.87	417±52	-14.92
9	3.90	2.90	1.59	510±61	-15.42
10	3.75	2.75	1.51	783±99	-16.48
11	3.65	2.65	1.46	623±93	-15.92
12	3.50	2.50	1.37	910±127	-16.85
13	3.91	2.91	1.60	608±63	-15.86
14	4.23	3.23	1.75	403±38	-14.84
15	3.33	2.33	1.26	335±35	-14.38
16	3.12	2.12	1.12	353±42	-14.51
17	4.27	3.27	1.77	749±75	-16.37
18	4.00	3.00	1.64	534±58	-15.53
19	3.80	2.80	1.54	450±38	-15.11

ing the **CA** additive was equilibrated for 3 h before the analysis. Under these conditions the column was saturated with the **CA** additive. The dead time  $t_0$  was measured with  $NaNO_2$ .

Lipophilicity log P of acids **1-19** (Table) was calculated from equation  $\log P = 3.438 (\log k')$ . The coefficient 3.438 is the ratio of log P value of benzoic acid **1** (1.87) [21] to its log  $k'$  (0.544) determined by RP HPLC in this work (Table). Free Gibbs energy DG is determined by the equation  $DG = -RT \ln K_A$ .

Molecular modelling of the **CA** complexes with acids **1-19** were carried out using Hyper Chem, 8.0 program [<http://www.hyper.com/Download/AllDownloads/tabid/470/Default.aspx>]. The structures were opti-

mized by the semi-empirical PM3 method. The RMS gradient was equal to 0.01 kcal/A mol.

## Results and Discussion

Calixarene **CA** and benzoic acids **1-19** in the given analysis conditions were registered on the chromatograms as sharp peaks. Calixarene **CA** retention time  $t_R$  and capacity factor  $k'$  were 5.67 min and 0.89, respectively. A linear isotherm character (Fig. 1) reflects reversible adsorption of calixarene **CA** on the LiChrosorb-RP18 support.

The chromatographic characteristics of acids **1-19** – retention times  $t_R$ , retention volumes  $V_R$ , capacity factors  $k'$ , their log P, as well as binding constants  $K_A$

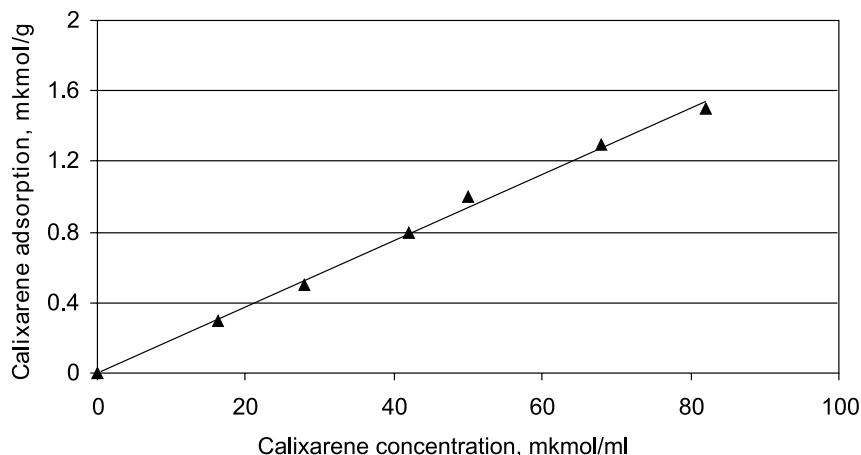


Fig. 1. The adsorption isotherm of calixarene ( $R^2=0.99$ ).

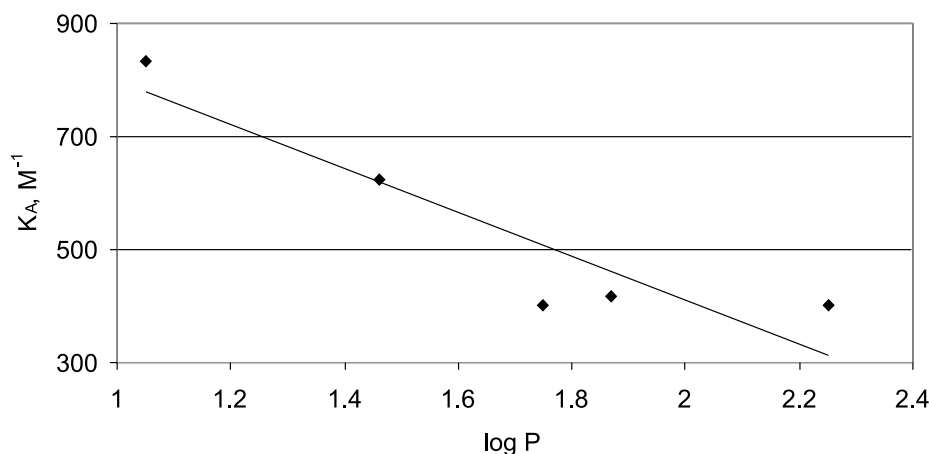


Fig. 2. Plots  $K_A$  vs log P for *o*-chlorobenzoic, *o*-nitrobenzoic, *o*-hydroxybenzoic, *o*-aminobenzoic, *o*-toluic acids ( $R^2=0.84$ ).

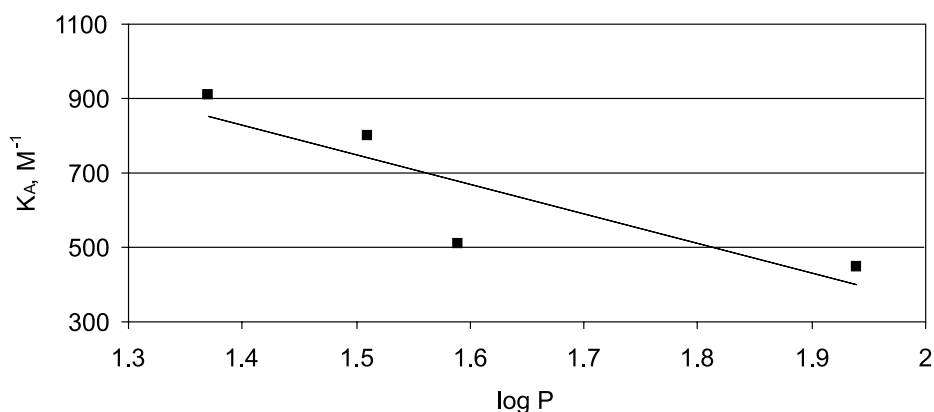


Fig. 3. Plots  $K_A$  vs log P for *m*-nitrobenzoic, *m*-chlorobenzoic, *m*-aminobenzoic, *m*-toluic acids ( $R^2=0.80$ ).

and free Gibbs energies  $\Delta G$  of their complexes with **CA** are presented in Table.

Binding constants of the supramolecular Host-Guest complexes of calixarene with benzoic acids **1-19** were determined by RP HPLC method in accordance with [20]. The method consists of the choice of analysis conditions of the Host and Guest, determination of the retention time  $t_R$  and the capacity factor  $k'$  of the Host, determination of the retention time  $t_R$  and the capacity factor  $k'$  of the Guest before and after Host addition to the mobile phase. Addition of calixarene to the mobile phase decreases the capacity factor  $k'$

values of benzoic acids. The linear character plots of  $k'$  vs the calixarene concentration ( $R^2 = 0.95-0.99$ ) testifies formation of Host-Guest supramolecular complexes with 1:1 stoichiometry [20].

The binding constant  $K_A$  of the calixarene complex with the Guest molecule (the ratio of 1:1) can be calculated by equation (1):

$$1/k' = 1/k'_0 + K_A' [CA]/k'_0 \quad (1)$$

where  $k'_0$  i  $k'$  – are capacity factors of the Guest molecule determined in the absence and the presence of **CA** in the mobile phase.

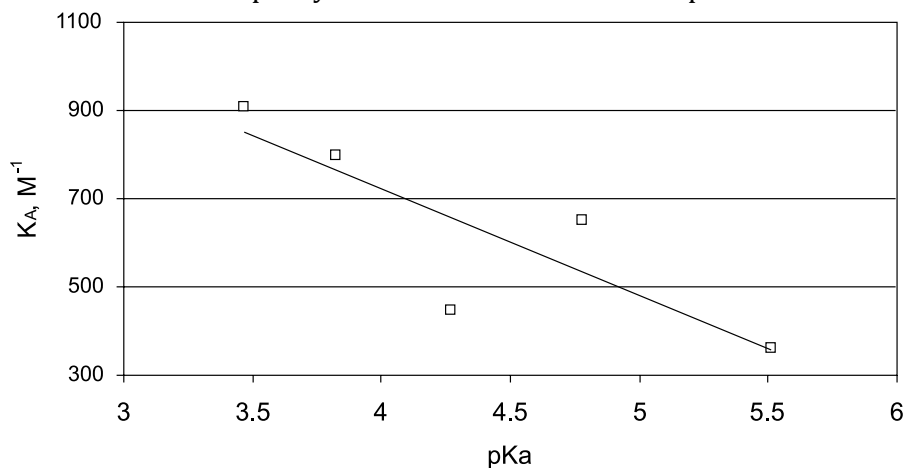


Fig. 4. Plots  $K_A$  vs pKa for *m*-nitrobenzoic, *m*-chlorobenzoic, *m*-aminobenzoic, *m*-phthalic acids ( $R^2=0.96$ ).



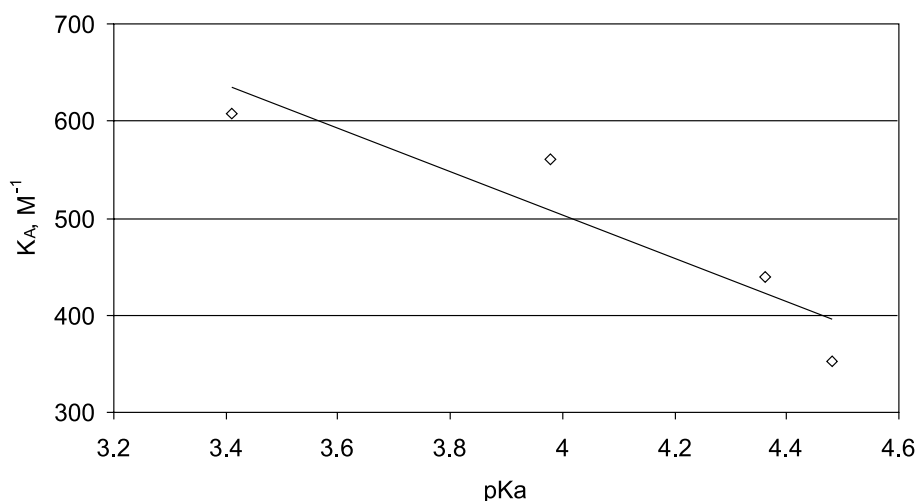


Fig. 5. Plots  $K_A$  vs pKa for *p*-nitrobenzoic, *p*-chlorobenzoic, *p*-toluic, *p*-hydroxybenzoic acids ( $R^2=0.94$ ).

As shown in Table 1, the binding constants  $K_A$  of the complexes are in the range of 335-910  $M^{-1}$ . The lowest  $K_A$  values were observed for hydroxybenzoic acids (335-403  $M^{-1}$ ) and toluic acids (401-448  $M^{-1}$ ). The highest  $K_A$  values were observed for phthalic (534-749  $M^{-1}$ ) and nitrobenzoic (608-910  $M^{-1}$ ) acids. It should be noted that the binding constants of **CA** with benzoic acid **1** is higher compared to its complex with  $\beta$ -cyclodextrin modified by three MeO-groups [22] ( $K_A = 650 M^{-1}$  and  $550 M^{-1}$ , respectively).

Calixarene Host-Guest complexes are stabilized by various non-valence interactions – hydrogen bonds, Van der Waals,  $\pi$ - $\pi$ , C-H... $\pi$ , solvophobic interactions [8]. It has been found that there are the linear dependence of the binding constants  $K_A$  from the lipophilicity  $\log P$  of *o*-chlorobenzoic, *o*-nitrobenzoic, *o*-hydroxybenzoic, *o*-aminobenzoic, *o*-toluic acids (Fig. 2), as well as *m*-nitrobenzoic, *m*-chlorobenzoic, *m*-aminobenzoic, *m*-toluic acids (Fig. 3). It is interesting to note that increase of  $\log P$  of the acids decreases  $K_A$  values of the complexes.

The binding constants  $K_A$  are strongly depended on pKa values of benzoic acids. These dependences for the Host-Guest complexes of *meta* and *para* substituted benzoic acids are demonstrated by Fig. 4 and Fig. 5, respectively. Unfortunately, for *p*-substituted acids such correlation has not been observed.

As it is shown in Fig. 4, 5, the increase of pKa values of the acids decreases  $K_A$  of their complexes with **CA**. Unfortunately, for *o*-substituted acids such correlation was not observed.

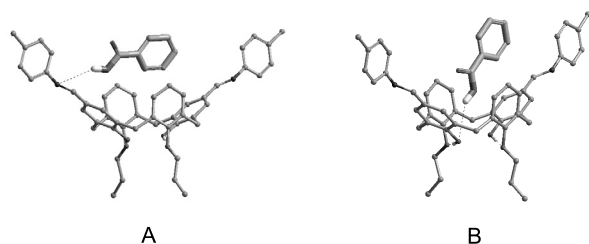


Fig. 6. Energy minimized structures of **CA** complexes with benzoic acid.

To clarify the nature of the supramolecular Host-Guest interactions the molecular modeling of **CA** complex with benzoic acid and *o*-, *m*-, *p*-phthalic acids was carried out. The inclusion complex of benzoic acid **1** shows two approximately energy equal structures **A** ( $\Delta E = -29.38$  kcal/mol) and **B** ( $\Delta E = -31.15$  kcal/mol) with one hydrogen bond between the Host and Guest molecules (Fig. 6).

In the structure **A** the hydrogen bond of the OH group of benzoic acid **1** with basic nitrogen of the imino group of **CA** is observed. In the structure **B** the OH group of the acid forms a hydrogen bond with the oxygen atom at the lower rim of the macrocycle.

Energy minimized structures of **CA** complexes with *o*-phthalic (**C**), *m*-phthalic – (**D**) and *p*-phthalic (**E**) acids are presented in Fig. 7.

Calixarene complexes with *o*-phthalic **C** and *m*-phthalic **D** acids are stabilized by two hydrogen bonds. Thus, one carboxyl group forms a hydrogen bond with the imino nitrogen atom, and another with the oxygen atom of the hydroxyl groups at the lower rim of the macrocycle. Complex **E** with *p*-phthalic acid having the most distant carboxyl groups is stabilized by two hydrogen bonds with the distal imino nitrogen atoms.

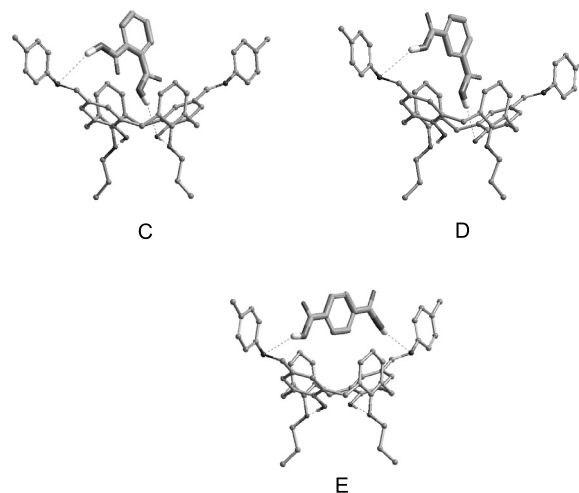


Fig. 7. Energy minimized structures of **CA** complexes with *o*-phthalic **C**, *m*-phthalic **D** and *p*-phthalic acid **E**.

It should be noted that the Host-Guest complexation does not change the *flattened-cone* conformation of calixarene confirming complementarity of benzoic acids to the molecular architecture of the calixarene macrocycle.

### Conclusions

5,17-bis-(N-tolyliminomethyl)-25,27-dipropoxy-calix[4]arene containing two imino groups on the up-

per rim of the macrocycle forms the Host-Guest inclusion complexes with benzoic acids, which are characterized by binding constants  $335\text{-}910\text{ M}^{-1}$  in acetonitrile-water solution. The data obtained provide the basis for creating a highly sensitive sensor for recognition and binding of biologically active benzoic acids in the biological media. Calixarene is a promising compound in design of the sensor devices or drug delivery systems for biorelevant acids.

### References

1. Ludwig R. // *Microchim. Acta.* – 2005. – Vol. 152. – P. 1-19.
2. Menon K., Sewani M. // *Rev. Anal. Chem.* – 2006. – Vol. 25. – P. 49-82.
3. Mutihac L., Buschmann H.J. // *J. Incl. Phenom.* – 2005. – Vol. 51. – P. 53-57.
4. De Fátima A., Fernandes S.A., Sabino A.A. // *Curr. Drug Discov. Technol.* – 2009. – Vol. 6. – P. 151-170.
5. Rodik R.V., Boyko V.I., Kalchenko V.I. // *Curr. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 16. – P. 1630-1655.
6. Cherenok S., Kalchenko V. // *Top. Heterocycl. Chem.* – 2009. – Vol. 20. – P. 229-273.
7. Sansone F., Baldini L., Casnati A., Ungaro R. // *New J. Chem.* – 2010. – Vol. 34. – P. 2715-2728.
8. Gutsche C.D. *Calixarenes: an introduction, Monographs in Supramolecular Chemistry.* – Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2008.
9. Asfari Z., Boehmer V., Harrowfield J., Vicens J. (Eds.). *Calixarenes 2001, Dordrecht, Kluwer Academic, 2001.*
10. Böhmer V. // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* – 1995. – Vol. 34. – P. 713-745.
11. Diamond D., Nolan K. // *Anal. Chem.* – 2001. – Vol. 73. – P. 22A-29A.
12. Da Silva E., Lazar A.N., Coleman A.W. // *J. Drug Del. Sci. Technol.* – 2004. – Vol. 14. – P. 3-20.
13. Perret F., Lazar A.N., Coleman A.W. // *Chem. Commun.* – 2006. – P. 2425-2438.
14. Sansone F., Segura M., Ungaro R.: in: Asfari M.-Z., Böhmer V., Harrowfield J., Vicens J. (eds.), *Calixarenes 2001, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2001.*
15. Coleman A.W., Perret F., Moussa M. et al. // *Perron H. Top. Curr. Chem.* – 2007. – Vol. 277. – P. 31-88.
16. Zadnurd R., Schrader T. // *J. Am. Chem. Soc.* – 2005. – Vol. 127. – P. 904-915.
17. Mutihac L., Lee J.H., Kim J.S., Vicens // *J. Chem. Soc. Rev.* – 2011. – Vol. 40. – P. 2777-2796.
18. Wilson C.O., Gisvold O., Block J.H. *Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical.* – Lippincott Williams & Wilkins, 2004. – P. 234.
19. Basset G.J.C., Quinlivan E.P., Ravanel S. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2004. – Vol. 101. – P. 1496-1501.
20. Kalchenko O.I., Lipkowski J., Kalchenko V.I. et al. // *J. Chrom. Sci.* – 1998. – Vol. 36. – P. 269-273.
21. Hansch C., Leo A., Hoekman D.H. *Exploring QSAR: Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants (Acs Professional Reference Book)* American Chemical Society, 1995. – Medical. – 580 p.
22. Liu Y., Han B.-H., Li B. et al. // *J. Org. Chem.* – 1998. – Vol. 63. – P. 1444-1454.

Надійшла до редакції 03.06.2013 р.

### Acknowledgement

This work was partially supported by the State Fund for Fundamental Researches of Ukraine (contract F53/151-2013) and the Russian Fund for Fundamental Researches (contract 13-03-90434).

UDC 547.853.3:547.732:547.496.2

# SYNTHESIS AND THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ETHYL 5-METHYL-2-(ALKYLTHIO)-4-OXO-3,4-DIHYDROTHIENO [2,3-d]PYRIMIDINE-6-CARBOXYLATES

O.V.Tkachenko, S.V.Vlasov, S.M.Kovalenko, I.O.Zhuravel', V.P.Chernykh

National University of Pharmacy

53, Pushkinska str., Kharkiv, 61002, Ukraine. E-mail: kosn@ukrfa.kharkov.ua

*Key words: thiophene; pyrimidine; thiourea*

By alkylation of the products of diethyl 3-methyl-5-[(methylthio)carbonothioyl]amino-2,4-thiophenedicarboxylate interaction with benzylamines the novel derivatives of ethyl 5-methyl-2-(alkylthio)-4-oxo-3,4-dihydrothieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylates have been obtained. It has been found that the signal of the  $\text{CH}_2$ -group adjacent to the nitrogen atom in position 3 of thieno[2,3-d]pyrimidine system is always observed in the range of 5.35-5.40 ppm, while the position of the signal of methylene-group connected with the sulfur atom much depends upon the structure of the radical attached to this group. IR-spectra of all the compounds contain the intensive  $\text{C}=\text{O}$  stretching band at 1721-1678  $\text{cm}^{-1}$ ; the spectra of the compounds with amide function contain bands of stretching  $\text{N}-\text{H}$  of 3280-3263  $\text{cm}^{-1}$ , while nitriles have the band of stretching  $\text{C}\equiv\text{N}$  vibrations near 2250  $\text{cm}^{-1}$ . It has been determined that all of the compounds are mostly active against the strain of *Candida albicans* fungi. The most resistant microorganism was found to be the strains of *Staphylococcus aureus*. The only exception is the derivative modified with the thioacetic acid residue in position 2 and unsubstituted benzyl in position 3, which appeared to be highly active against *Staphylococcus aureus* strain. Amides of thioacetic acid modified in position 3 with 3,4-dichlorobenzyl substituent and thioacetamide substituents in position 2 are active against *Pseudomonas aeruginosa*, as well as the compound, which contains 3-chlorobenzyl substituent in position 3 and *p*-chlorobenzotiol substituents in position 2 of thieno[2,3-d]pyrimidine.

## СИНТЕЗ ТА АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ ЕТИЛ 5-МЕТИЛ-2-(АЛКІЛТІО)-4-ОКСО-3,4-ДИГІДРОТІЄНО[2,3-d]ПІРИМІДИН-6-КАРБОКСИЛАТІВ

О.В.Ткаченко, С.В.Власов, С.М.Коваленко, І.О.Журавель, В.П.Черних

**Ключові слова:** тіофен; піримідин; тіосечовина

Шляхом алкилування продуктів взаємодії діетил 3-метил-5-[(метилтіо)карбонотіоїл]аміно-2,4-тіофендікарбоксилату з бензиламінами отримані нові похідні етил 5-метил-2-(алкілтіо)-4-оксо-3,4-дигідротієно[2,3-d]піримідин-6-карбоксилатів. Встановлено, що в спектрах  $^1\text{H}$  ЯМР сигнал групи  $\text{CH}_2$ , з'єднаної з атомом Нітрогену у положенні 3 тієно[2,3-d]піримідинової системи, для усіх кінцевих сполук знаходиться в діапазоні 5,35-5,4 м.ч., в той же час положення сигналу метиленової групи біля атома Сульфору значно залежить від будови радикалу, безпосередньо зв'язаного з нею. В ІЧ-спектрах для усіх сполук характерними є інтенсивні смуги валентних коливань  $\text{C}=\text{O}$  1721-1678  $\text{cm}^{-1}$ , для сполук з амідним фрагментом наявні смуги валентних коливань  $\text{N}-\text{H}$  3280-3263  $\text{cm}^{-1}$ , для нітрилів спостерігається смуга валентних коливань  $\text{C}\equiv\text{N}$  при 2250  $\text{cm}^{-1}$ . Встановлено, що всі сполуки найбільше пригнічують ріст грибів *Candida albicans*. Найменш активною більшість сполук виявилась до штамі *Staphylococcus aureus*. Виключенням є лише сполука із залишком тіооцтової кислоти у положенні 2 та незаміщеним бензильним замісником у положенні 3, яка проявила значну активність по відношенню до штаму *Staphylococcus aureus*. Амідні тіооцтової кислоти з 3,4-дихлоробензильним замісником у положенні 3 та тіоацетамідними замісниками у положенні 2 є активними по відношенню до *Pseudomonas aeruginosa*, так як і сполука, що містить 3-хлоробензильний замісник у положенні 3 тієно[2,3-d]піримідину та *p*-хлоробензотіольний замісник у положенні 2.

## СИНТЕЗ И ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ ЭТИЛ 5-МЕТИЛ-2-(АЛКИЛТИО)-4-ОКСО-3,4-ДИГИДРОТИЕНО[2,3-d]ПИРИМИДИН-6-КАРБОКСИЛАТОВ

Е.В.Ткаченко, С.В.Власов, С.Н.Коваленко, И.А.Журавель, В.П.Черных

**Ключевые слова:** тиофен; пириимидин; тиомочевина

Путем алкилирования продуктов взаимодействия диетил 3-метил-5-[(метилтио)карбонотиоил]амино-2,4-тиофендикарбоксилата с бензиламинами получены новые производные этил 5-метил-2-(алкилтио)-4-оксо-3,4-дигидротиено[2,3-d]пириимидин-6-карбоксилатов. Установлено, что в спектрах  $^1\text{H}$  ЯМР сигнал группы  $\text{CH}_2$ , связанной с атомом азота в положении 3 тиєно[2,3-d]пириимидиновой системы, для всех конечных соединений находится в диапазоне 5,35-5,4 м.д., в то же время положение сигнала метиленовой группы возле атома серы значительно зависит от строения радикала, непосредственно связанного с ней. В ИК-спектрах для всех соединений характерными являются интенсивные полосы валентных колебаний  $\text{C}=\text{O}$  1721-1678  $\text{cm}^{-1}$ , для соединений с амидным фрагментом присутствуют полосы валентных колебаний  $\text{N}-\text{H}$  3280-3263  $\text{cm}^{-1}$ , для нитрилов наблюдается полоса валентных колебаний  $\text{C}\equiv\text{N}$  при 2250  $\text{cm}^{-1}$ . Установлено, что все соединения наиболее активно подавляют рост грибов *Candida albicans*. Большинство соединений оказалось наименее активным по отношению к штаммам *Staphylococcus aureus*. Исключением из этого является соединение с остатком тиоуксусной кислоты в положении 2 и незамещенным бензильным заместителем в положении 3, которое проявило значительную активность по отношению к штамму *Staphylococcus aureus*. Амиды тиоуксусной кислоты с 3,4-дихлорбензильным заместителем в положении 3 и тиоацетамидными заместителями в положении 2 являются активными по отношению к *Pseudomonas aeruginosa* так же как и соединение, содержащее 3-хлорбензильный заместитель в положении 3 тиєно[2,3-d]пириимидина и *p*-хлорбензотіольный заместитель в положении 2.

It has been recently published that esters of 5-methyl-2-thioxothieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylic acid display affinity to histamine receptors of 5-HT<sub>3</sub> subtype and could be used as medicines for treatment of Bowel disease. They may also bind 5-HT<sub>1A</sub> subtype receptors, which make them useful for treatment of stress induced ulcer [1]. As the result of *in vivo* investigation of S-glycosides of ethyl ester of 3-amino-5-methyl-2-thioxothieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylic acid some compounds with a high range of anti-inflammatory activity have been found [2]. Esters of 2-S-alkylthiothieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylic acid may also be applied as the intermediates for preparation of fused systems of heterocycles with the antimicrobial activity [3].

Since the number of works dedicated to investigations of the biological activity of 5-methyl-2-thioxothieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylic acid is not enough, we devoted our work to the synthesis and research of the antimicrobial activity of some derivatives of ethyl 5-methyl-2-(alkylthio)-4-oxo-3,4-dihydrothieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylate.

Synthesis of the target compounds has been carried out by cyclization of the starting dithiocarbamate **1** [4,5], with primary amines [4]. Mostly amines of benzyl type were used. The above mentioned procedure resulted in the corresponding 3-R-5-methyl-4-oxo-2-thioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylates **2** as the crude products, which were suitable for further use without additional purification.

Target molecules **3** were prepared by alkylation of intermediates **2** with different alkyl halides (like benzyl chlorides and derivatives of chloroacetic acid). The radicals R and R<sup>1</sup> and physicochemical properties of compounds **3** are listed in Table 1.

The structures of all compounds **3** were determined by <sup>1</sup>H NMR and IR-spectral data (Tables 2 and 3). In all <sup>1</sup>H NMR-spectra of compounds **3** the signal of the methyl group is observed in the range of 2.65-2.85 ppm together with the signals of the carbethoxy-group protons as a triplet of CH<sub>3</sub> at 1.15-1.38 ppm and a quartet of CH<sub>2</sub>-group at 4.2- 4.6 ppm. The signal of the CH<sub>2</sub>-group adjacent to the nitrogen-atom in position 3 of thieno[2,3-d]pyrimidine system is always observed in the range of 5.35-5.40 ppm. The position of the methylene-group attached to the atom of sulfur much depends upon the structure of R<sup>1</sup>; for example, for benzylated derivatives its position

is located in the range of 4.43-4.47 ppm, for compounds with the benzoyl-group attached to CH<sub>2</sub> it is shifted downfield to 4.78-4.85 ppm. For compounds **3h**, **3k**, **3p** and **3q** with the carbethoxy-group this signal is found at 3.8-4.05 ppm, nitriles **3g** and **3m** – 4.20-4.35 ppm, carboxamides **3d**, **3l**, **3r-3u** – 3.85-4.1 ppm; for acid **3e** the signal CH<sub>2</sub>COOH is located at 4.03 ppm. For compounds **3t** and **3u** with the phenylethyl fragment two signals of methylene-groups are present – 4.2 (2H, t, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> Ph) and 3.03 (2H t, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ph). The integral intensity of all the signals present in the region the aromatic protons resonance well correlates with the number of protons in the structure of compounds **3**. For compound **3e** the signal of the carboxyl-group OH-proton is observed at 12.8 ppm; amides **3d**, **3l**, **3r-3u** show the signals of NH-proton in the range of 7.9-8.7 ppm.

IR-spectra of all compound **3** show the stretching bands of C–H in the region of 3091-2853 cm<sup>-1</sup>; for all of these compounds the intensive C=O stretching band is present at 1721-1678 cm<sup>-1</sup>. The spectra of compounds **3** with the amide function contain bands of stretching N–H 3280-3263 cm<sup>-1</sup>, while nitriles have the band of stretching C≡N vibrations near 2250 cm<sup>-1</sup>.

The antimicrobial activity of compound **3** were investigated by the agar well diffusion method [6, 7]. The antimicrobial effect was measured by the diameter of the growth inhibition zone based on the known data about active antibiotics applied for the well diffusion method against susceptible microorganism strains [7, 8]. To evaluate the antimicrobial activity the following criteria were used: in the case of the inhibition zone absence or its diameter was less than 10 mm either the bacteria strains were considered to be resistant or the concentration of the compound tested was rather low for the inhibition effect; the diameter of the inhibition zone was 10-15 mm – the low sensitivity of the bacteria strain to the compound in the given concentration; the diameter of the inhibition zone of 15-25 mm was considered as the sign of the substance activity against the microorganism strain; the diameter of the inhibition zone of 25 mm or more was considered as the evidence of the high antimicrobial activity of the compound tested. The results of the antimicrobial activity assay are presented in Table 4.

All of compounds **3** possessed the antimicrobial activity, but they were mostly active against the strain of *Candida albicans* fungi. The most antifungal activity was displayed by compounds **3e**, **3o** and **3s**, which

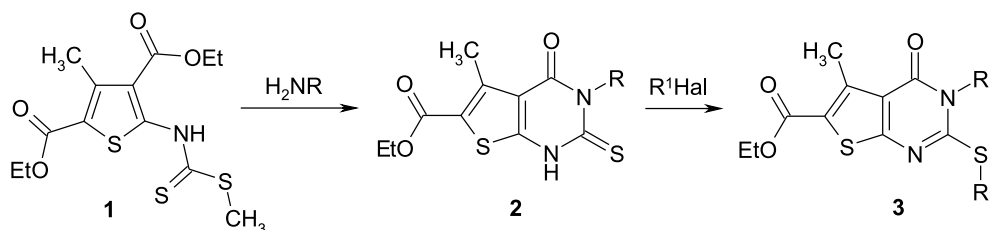


Table 1

Physicochemical properties of ethyl  
5-methyl-2-(alkylthio)-4-oxo-3,4-dihydrothieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylate derivatives **3**

Compound	R	R <sup>1</sup>	Mol. formula M.w.	Yield %, in the alkylation step	M.p., °C	N%
						calc. found
3a	Bn	CH <sub>3</sub>	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S <sub>2</sub> 374.48	76	180	7.48 7.57
3b	Bn	CH <sub>2</sub> COPh	C <sub>25</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub> 478.59	87	159-161	5.85 5.99
3c	Bn	p-ClBn	C <sub>24</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S <sub>2</sub> 485.03	85	137-139	5.78 5.92
3d	Bn	CH <sub>2</sub> CONH(Cyclohexyl)	C <sub>25</sub> H <sub>29</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub> 499.66	94	261-262	8.41 8.57
3e	Bn	CH <sub>2</sub> COOH	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S <sub>2</sub> 418.49	61	192-193	6.69 6.85
3f	4-FBn	CH <sub>2</sub> COPh	C <sub>25</sub> H <sub>21</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub> 496.58	82	176-178	5.64 5.72
3g	4-FBn	p-ClBn	C <sub>24</sub> H <sub>20</sub> ClFN <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S <sub>2</sub> 503.02	89	162-164	5.57 5.87
3h	4-FBn	CH <sub>2</sub> COOEt	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S <sub>2</sub> 464.54	70	177-179	6.03 6.17
3i	2-ClBn	CH <sub>2</sub> COPh	C <sub>25</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub> 513.04	85	163-165	5.46 5.67
3g	2-ClBn	CH <sub>2</sub> CN	C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S <sub>2</sub> 433.94	68	166-168	9.68 9.78
3k	2-ClBn	CH <sub>2</sub> COOEt	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S <sub>2</sub> 480.99	73	128-130	5.82 5.95
3l	2-ClBn	CH <sub>2</sub> CONHBn	C <sub>26</sub> H <sub>24</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub> 542.08	93	175-176	7.75 7.92
3m	3-ClBn	CH <sub>2</sub> CN	C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S <sub>2</sub> 433.94	62	183-185	9.68 9.98
3n	3-ClBn	CH <sub>2</sub> COPh	C <sub>25</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub> 513.04	85	164-165	5.46 5.55
3o	3-ClBn	p-ClBn	C <sub>24</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S <sub>2</sub> 519.47	78	140-145	5.39 5.67
3p	3-ClBn	CH <sub>2</sub> COOEt	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S <sub>2</sub> 480.99	82	152-155	5.82 5.93
3q	3,4-diClBn	CH <sub>2</sub> COOEt	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S <sub>2</sub> 515.44	88	191-193	5.43 5.49
3r	3,4-diClBn	CH <sub>2</sub> CONHBn	C <sub>26</sub> H <sub>23</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub> 576.52	93	215-217	7.29 7.44
3s	3,4-diClBn	CH <sub>2</sub> CONH(Cyclohexyl)	C <sub>25</sub> H <sub>27</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub> 568.55	90	218-220	7.39 7.49
3t	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> CONHBn	C <sub>27</sub> H <sub>27</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub> 521.66	78	212-213	8.06 8.22
3u	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> CONH(Cyclohexyl)	C <sub>26</sub> H <sub>31</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub> 513.68	83	197-198	8.18 8.35

showed the most diameters of the growth inhibition zones. The most resistant microorganisms were determined to be the strains of *Staphylococcus aureus* and *Proteus vulgaris*. The only exception was the derivative **3e** modified with the thioacetic acid residue in position 2, which appeared to be highly active against

*Staphylococcus aureus* strain. Amides of thioacetic acid modified in position 3 with 3,4-dichlorobenzyl substituent **3r** and **3s** were active against *Pseudomonas aeruginosa*, as well as compound **3o** with 3-chlorobenzyl substituents in position 3 and *p*-chlorobenzyl substituents in position 2.

Table 2

Data of  $^1\text{H}$  NMR-spectra of ethyl  
5-methyl-2-(alkylthio)-4-oxo-3,4-dihydrothieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylate derivatives **3**

Compound	Chemical shift, $\delta$ , ppm.				
	NH OH	$\text{CH}_3$ (3H, s.)	$\text{OCH}_2\text{CH}_3$ (3H, t. + 2H, q.)	aliphatic protons	aromatic protons
1	2	3	4	5	6
3a	-	2.3	1.37 + 4.33	2.58 (3H, t., $\text{SCH}_3$ ) 5.31 (2H, s., $\text{CH}_2\text{Ph}$ )	7.30 (5H, m., Ar-H)
3b	-	2.78	1.35 + 4.3	5.3 (2H, s., $\text{NCH}_2\text{Ph}$ ) 4.85(2H,s., $\text{SCH}_2\text{COPh}$ )	7.30 (5H, m., Ar-H) 7.55 (2H, t., H-5' + H-3') 7.68 (1H, t., H-4') 8.02 (2H, d., H-2' + H-6')
3c	-	2.83	1.37 + 4.3	5.25(2H, s., $\text{CH}_2\text{Ph}$ ) 4.47 (2H, s., $\text{SCH}_2(4\text{-ClPh})$ )	7.30 (9H, m., Ar-H)
3d	7.97 (NH)	2.83	1.3 + 4.3	1.1-1.8 (10 H, m., cyclohexyl) 3.89 (2H, s., $\text{SCH}_2\text{CO}$ ) 5.3 (2H, s., $\text{NCH}_2\text{Ph}$ ) 3.52 (1H, m., $\text{NHCHcyclohexyl}$ )	7.30 (5H, m., Ar-H)
3e	12.8 (OH)	2.85	1.22 + 4.32	4.03 (2H, s., $\text{SCH}_2\text{COOH}$ ) 5.25 (2H, s., $\text{NCH}_2\text{Ph}$ )	7.30 (5H, m., Ar-H)
3f	-	2.75	1.15 + 4.25	4.8 (2H, s., $\text{SCH}_2\text{COPh}$ ) 5.32 (2H, s., $\text{NCH}_2(4\text{-FPh})$ )	7.06 (2H, t., H-2 + H-6) 7.46 (2H, q., H-3 + H-5) 7.55 (2H, t., H-5' + H-3') 7.64 (1H, t. H-4') 8.07 (2H, d., H-2' + H-6')
3g	-	2.82	1.15 + 4.32	4.43 (2H, s., $\text{SCH}_2(4\text{-ClPh})$ ) 5.2 (2H, s., $\text{NCH}_2(4\text{-FPh})$ )	7.38 (2H, d., H-3' + H-5') 7.31 (2H, q., H-3 + H-5) 7.27 (2H, d., H-2' + H-6') 7.0 (2H, t., H-2 + H-6)
3h	-	2.83	1.25 + 4.2 1.35 + 4.4	3.8 (2H, s., $\text{SCH}_2\text{COOEt}$ ) 5.3 (2H, s., $\text{NCH}_2(4\text{-FPh})$ )	7.46 (2H, q., 3-H + 5-H) 7.06 (2H, t., 2-H + 6-H)
3i	-	2.8	1.35+4.75	4.78 (2H, s., $\text{SCH}_2\text{COPh}$ ) 5.4 (2H, s., $\text{NCH}_2(2\text{-ClPh})$ )	6.88-7.48 (4H, m., 2-ClPh-H) 7.54 (2H, t., H-5' + H-3') 7.64 (1H, t. H-4') 8.07 (2H, d., H-2' + H-6')
3g	-	2.83	1.4+4.32	4.20 (2H, s., $\text{SCH}_2\text{CN}$ ) 5.35 (2H, s., $\text{NCH}_2(2\text{-ClPh})$ )	6.88-7.48 (4H, m., Ar-H)
3k	-	2.85	1.25 + 4.2 1.35 + 4.4	3.92 (2H, s., $\text{SCH}_2\text{COOEt}$ ) 5.37 (2H, s., $\text{NCH}_2(2\text{-ClPh})$ )	7.9-7.5 (4H, m., Ar-H)
3l	8.6 (NH)	2.85	1.42 + 4.35	5.3 (2H, s., $\text{NCH}_2(2\text{-ClPh})$ ) 4.1 (2H, s., $\text{SCH}_2\text{CO}$ ) 4.32 (2H, s., $\text{NHCH}_2\text{Ph}$ )	6.9 -7.5 (9H, m., Ar-H)
3m	-	2.83	1.34 + 4.31	4.35 (2H,s., $\text{SCH}_2\text{CN}$ ) 5.27 (2H, s., $\text{NCH}_2(3\text{-ClPh})$ )	7.2-7.4 (4H, m., Ar-H)
3n	-	2.81	1.38 + 4.6	4.27 (2H, s., $\text{SCH}_2\text{COPh}$ ) 5.42 (2H, s., $\text{NCH}_2(3\text{-ClPh})$ )	6.85-8.1 (9H, m., Ar-H)
3o	-	2.84	1.38+4.22	4.45 (2H, s., $\text{NHCH}_2(4\text{-ClPh})$ ) 5.25 (2H, s., $\text{NCH}_2(3\text{-ClPh})$ )	7.10-7.45 (8H, m., Ar-H)
3p	-	2.79	1.25 + 4.2 1.37 + 4.3	3.98(2H, s., $\text{SCH}_2\text{COOEt}$ ) 5.3 (2H, s., $\text{NCH}_2(3\text{-ClPh})$ )	7.2-7.4 (4H, m., Ar-H)
3q	-	2.65	1.25 + 4.3 1.35 + 4.4	4.05(2H, s., $\text{SCH}_2\text{COOEt}$ ) 5.32 (2H, s., $\text{NCH}_2(3,4\text{-diCl-Ph})$ )	7.3-7.6 (3H, m., Ar-H)
3r	8.7 (NH)	2.82	1.42+4.3	4.05 (2H,s., $\text{SCH}_2\text{CO}$ ) 5.32 (2H, s., $\text{NHCH}_2\text{Ph}$ ) 4.3 (2H, s., $\text{NCH}_2(3,4\text{-diCl-Ph})$ )	7.2-7.65 (5H, m., Ar-H)

Table 2 continued

1	2	3	4	5	6
3s	7.9(NH)	2.8	1.32+4.3	1.1-1.8 (10 H, m., cyclohexyl) 3.85 (2H, s., SCH <sub>2</sub> CO) 5.3 (2H, s., NCH <sub>2</sub> Ph) 3.55 (1H, NH-CH cyclohexyl)	7.37-7.65 (3H, m., Ar-H)
3t	8.62(NH)	2.81	1.38+4.3	4.07 (2H, s., SCH <sub>2</sub> CO) 4.22 (2 H, t., NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph) 4.34 (2H, s., NHCH <sub>2</sub> Ph) 3.03 (2H t., NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph)	7.30 (10H, m., Ar-H)
3u	7.95(NH)	2.83	1.3+4.2	1.1-1.9 (10 H, m., cyclohexyl) 3.97 (2H, s., SCH <sub>2</sub> CO) 4.22 (2 H, t., NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph) 3.03 (2H, t., NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph) 3.55 (1H, m., NHCH cyclohexyl)	7.3-7.4 (5H, m., Ar-H)

Table 3

Data of IR-spectra of ethyl  
5-methyl-2-(alkylthio)-4-oxo-3,4-dihydrothieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylate derivatives **3**

Compound	Wavenumber, $\nu$ , cm <sup>-1</sup>				
	$\nu$ N-H	$\nu$ C-H	$\nu$ C≡N	$\nu$ C=O	$\nu$ C=N $\nu$ C=C
1	2	3	4	5	6
3a	-	3085 3066 3032 2976 2973 2886	-	1711 1683	1537 1540 1470 1390 1377 1363 1336 1324
3b	-	3063 3034 3007 2983 2914	-	1686	1595 1579 1509 1467 1381 1365 1338
3c	-	3063 3033 2992 2969 2930 2919 2868 2709	-	1718 1686	1594 1540 1509 1471 1406 1388 1372 1358 1335
3d	3277	3091 3033 2989 2931 2853	-	1715 1681 1637	1561 1516 1468 1393 1376 1363 1339 1309
3e	-	2976 2938 2738 2677	-	1744 1697	1586 1538 1508 1469 1374 1335 1302
3f	-	2981 2909	-	1719 1688	1510 1469 1449 1364 1338 1311
3g	-	2991 2972 2933	-	1715 1686	1603 1540 1509 1490 1471 1444 1433 1406 1387
3h	-	3067 2978 2935	-	1722 1692	1604 1540 1510 1470 1434 1388 1377 1365 1338 1319
3i	-	3059 2973 2924	-	1715 1686	1579 1537 1509 1467 1448 1365 1326 1293 1251
3g	-	3062 2977 2941 2902	2250	1718	1594 1591 1469 1443 1376 1334
3k	-	3064 2980 2936	-	1719 1691	1537 1511 1468 1443 1402 1385 1368 1335 1315
3l	3288	3064 3029 2989 2929 2872	-	1717 1678	1517 1468 1443 1391 1376 1332
3m	-	2991 2942	2250	1710 1687	1517 1473 1434 1375

Table 3 continued

1	2	3	4	5	6
3m	-	2991 2942	2250	1710 1687	1517 1473 1434 1375
3n	-	3083 3064 2980 2920 2871	-	1683	1597 1579 1509 1464 1435 1396 1378 1370 1355
3o	-	2979 2937	-	1719 1692	1595 1573 1537 1510 1493 1468 1436 1412 1376 1358 1334 1314 1298
3p	-	2988 2933 2906 2872	-	1721 1693	1542 1510 1473 1437 1388 1377 1366 1336 1309
3q	-	2981 2931 2873	-	1719 1689	1560 1537 1509 1469 1432 1400
3r	3263	3089 3031 2981 2935 2871	-	1717 1681	1562 1538 1511 1469 1431 1399 1366 1350 1331
3s	3273	3093 2986 2933 2854	-	1717 1680	1562 1517 1470 1394 1375 1352
3t	3271	3066 3027 2990 2932 2869 2285	-	1715 1681	1604 1586 1552 1533 1511 1468
3u	3980	3090 3024 2986 2932 2854	-	1718 1687	1561 1516 1468 1453 1396 1377 1366 1337 1303

Table 4

Antimicrobial properties of ethyl  
5-methyl-2-(alkylthio)-4-oxo-3,4-dihydrothieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylate derivatives **3**

Compound	The growth inhibition zone diameter, mm experiments were performed in triplicate, n=3					
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Candida albicans</i> ATCC 653/885
3a	15, 16, 15	15, 14, 15	17, 17, 16	16, 15, 14	17, 16, 16	20, 19, 18
3b	14, 15, 14	16, 17, 16	17, 17, 16	15, 16, 16	18, 19, 18	17, 16, 17
3c	14, 15, 14	14, 15, 14	13, 12, 13	12, 12, 13	17, 17, 17	20, 21, 22
3d	14, 15, 14	14, 15, 14	13, 12, 13	12, 12, 13	17, 17, 17	20, 21, 22
3e	25, 22, 23	15, 15, 16	17, 18, 18	16, 15, 16	18, 19, 20	24, 22, 22
3f	15, 15, 14	14, 13, 14	16, 16, 17	15, 14, 14	16, 16, 16	14, 14, 14
3g	15, 14, 15	18, 17, 17	16, 17, 16	15, 15, 15	18, 19, 19	20, 21, 20
3h	17, 18, 18	13, 13, 14	15, 15, 15	13, 14, 13	15, 16, 16	17, 18, 17
3i	14, 15, 15	12, 13, 13	13, 12, 13	12, 12, 13	15, 15, 15	19, 18, 18
3g	18, 18, 19	16, 15, 15	16, 18, 17	15, 15, 16	17, 18, 18	16, 16, 17
3k	14, 15, 15	17, 18, 17	15, 17, 17	13, 14, 14	16, 15, 16	16, 17, 17
3l	15, 15, 15	16, 15, 16	14, 13, 14	12, 13, 13	14, 15, 14	20, 19, 19
3m	18, 17, 18	16, 16, 17	16, 16, 16	15, 16, 14	19, 18, 18	17, 16, 16
3n	14, 15, 15	13, 13, 13	14, 13, 14	14, 13, 13	16, 15, 16	19, 20, 19
3o	14, 14, 15	16, 17, 17	22, 21, 20	17, 17, 18	18, 19, 19	23, 24, 23
3p	15, 15, 15	13, 14, 14	15, 16, 16	14, 13, 14	15, 16, 17	18, 19, 19
3q	14, 15, 15	14, 13, 14	14, 14, 14	12, 13, 12	15, 17, 16	14, 15, 14
3r	15, 16, 15	14, 13, 13	20, 18, 19	16, 17, 16	16, 15, 16	18, 19, 19
3s	15, 16, 15	14, 14, 13	20, 20, 21	15, 16, 16	15, 16, 17	22, 21, 22
3t	15, 14, 14	14, 13, 14	16, 17, 16	15, 14, 14	15, 16, 16	20, 19, 19
3u	15, 14, 15	14, 14, 14	15, 14, 14	13, 13, 13	16, 17, 16	17, 18, 17



Thus, it is obvious that introduction in position 3 of chlorinated benzyl substituents or the derivative of thioacetic acid in position 2 of ethyl 5-methyl-4-oxo-3,4-dihydrothieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylate increases the antimicrobial properties of the compound. It is noteworthy that ethers of thioacetic acid (namely compounds **3h**, **3k**, **3p**, **3q**) show a low activity, which indicates the importance of the OH or NH-acid fragment for compound **3** to be active as an antimicrobial agent.

## Experimental Part

### Chemical research

The melting points (°C) were measured with a Koeffler melting point apparatus and were not corrected. IR spectra were recorded on Bruker Tensor 27 spectrometer in KBr. <sup>1</sup>H NMR spectra were recorded on Bruker DRX-500 (500 MHz) spectrometers in DMSO-*d*<sub>6</sub> using TMS as an internal standard (chemical shifts are in ppm).

**Diethyl methyl-5-[[[(methylthio)carbonothioyl]amino]-2,4-thiophenedicarboxylate **1**** has been obtained by the known method [4, 5].

### General method for synthesis of compounds **3**

To 2g (0.0028 mol) of diethyl methyl-5-[[[(methylthio)carbonothioyl]amino]-2,4-thiophenedicarboxylate **1** 0.004 mol of the corresponding primary amine was added. The mixture was diluted with DMF and stirred at reflux until the release of methylthiol occurred (about 2-5 hours). Then the reaction mixture was cooled and diluted with water. The mixture obtained was acidified with 1 mL of the concentrated hydrochloric acid and the precipitate formed was filtered and thoroughly washed with a lot of water. Product **2** was additionally purified by reflux in 2-propanol.

## References

1. Пат. US 2007197551 (2007) // Заявл.: 25.02.2005; опубл.: 23.08.2007. [http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=20070823&DB=EPODOC&locale=en\\_EP&CC=US&NR=2007197551A1&KC=A1&ND=4](http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=20070823&DB=EPODOC&locale=en_EP&CC=US&NR=2007197551A1&KC=A1&ND=4).
2. Hafez H.N., El-Gazzar A.-R.B.A., Nawwar G.A.M. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2010. – Vol. 45, №4. – P. 1485-1493.
3. Hussein H.A.R. // *Phosphorus, Sulfur, Silicon and Relat. Elem.* – 2007. – Vol. 182, №9. – P. 2069-2085.
4. Ivashchenko A.V., Kovalenko S.M., Tkachenko O.V., Parkhomenko O.O. // *J. Comb. Chem.* – 2004. – Vol. 6, №4. – P. 573-583.
5. Kovalenko S.N., Vlasov S.V., Fedosov A.I., Chernykh V.P. // *J. of Org. and Pharmac. Chem.* – 2007. – Vol. 5, №3. – P. 34-40.
6. Бактеріологічний контроль поживних середовищ. Інформаційний лист МОЗ України №05.4.1/1670. – К., 2001.
7. Волянський Ю.Л., Гриценко І.С., Ширококов В.П. та ін. Вивчення специфічної активності антимікробних лікарських засобів: Метод. рекоменд. – К., 2004. – 38 с.
8. Некрасова Л.С., Свита В.М., Глушкевич Т.Г. та ін. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів: Метод. вказівки. – К., 2007. – 79 с.

Надійшла до редакції 08.01.2013 р.

### Acknowledgement

Authors gratefully acknowledge Tatyana P. Osolodchenko, the Head of Microorganism Biochemistry and Nutrient Media laboratory of I.I.Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology at NAMS of Ukraine for the microbiological experiment.

To compound **2** 0.9 mmol of DMF, 1 mmol of triethylamine were added together with 1 mmol of an alkylating agent and the mixture was stirred at 70°C for 8-12 hours. After that the reaction mixture was cooled and diluted with water. The precipitate of product **3** formed was filtered and crystallized forming 2-propanol.

### Research of the antimicrobial activity

According to the WHO recommendations [6, 7] the following test-strains were used: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Esherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC653/885. The bacterial concentration was 10<sup>7</sup> CFU/mL (determined by McFarland standard). Overnight cultures kept for 18-24 h at 36°C ± 1°C were used. The bacterial suspension was inoculated onto the entire surface of a Mueller-Hinton agar (Dagestan Scientific Research Institute of Nutrient Media). The compounds were introduced to the wells in the form of DMSO solution in concentrations of 100 µg/mL; the open wells were filled with 0.3mL of the solution.

### Conclusions

The synthesis of novel derivatives of ethyl 5-methyl-2-(alkylthio)-4-oxo-3,4-dihydrothieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylates has been carried out and the compounds obtained have been screened for the antimicrobial activity. As the result, it has been found that introduction of chlorinated benzyl substituents in position 3 of thieno[2,3-d]pyrimidine system or the moiety of thioacetic acid in position 2 promotes the antimicrobial activity, while OH- or NH-acidic fragment of thioacetic acid derivative increases the antimicrobial activity of a molecule.

UDC 547.298.1:547.831.9:615.254.1:615.276

# SYNTHESIS AND DIURETIC PROPERTIES OF N-ARYL-6-HYDROXY-2-METHYL-4-OXO-2,4-DIHYDRO-1H-PYRROLO[3,2,1-*ij*]QUINOLINE-5-CARBOXAMIDES WITH ELECTRON-ACCEPTOR SUBSTITUENTS IN THE ANILIDE FRAGMENT

I.V.Ukrainets, M.Yu.Golik, O.L.Shemchuk, V.M.Kravchenko

National University of Pharmacy,

53, Pushkinska str, Kharkiv, 61002, Ukraine. E-mail: uiv-2@mail.ru

**Key words:** anilides; 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamides; pyrroloquinolines; amidation; hydrolysis; diuretic activity

In numerous studies of 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamides it has been convincingly shown that amidation of quinoline-3-carboxylic acids esters with alkyl-, aryl- and hetaryl amines is the best way to obtain these compounds. As a rule, syntheses proceed smoothly and efficiently under rather mild conditions. However, in those cases when for formation of amides the temperature of 120-150°C and above is applied, partial destruction of the ester fragment may occur and, as a result, it pollutes the target products with specific impurities – the corresponding 4-hydroxy-1,2-dihydroquinolin-2-ones or their analogues. Application of <sup>1</sup>H NMR spectroscopy allows to prove that the cause of ester fragments destruction, which sometimes can be observed when alkyl 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylates react with amines under harsh conditions, is water presented in the reagents or in the solvents. It becomes clear from this study that at the temperature of 95°C and higher the sensitivity of 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acids esters in a solution or a melt to hydrolysis increases significantly. Simple methods to minimize this undesirable process have been proposed – if the synthesis of N-substituted amides based on them requires such severe conditions, water should be removed from the reagents and solvents in order to avoid contamination of the final products with 4-hydroxy-1,2-dihydroquinolin-2-ones. The results of the diuretic properties study of new substituted anilides of 6-hydroxy-2-methyl-4-oxo-2,4-dihydro-1H-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-5-carboxylic acid are discussed.

**СИНТЕЗ ТА ДІУРЕТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ N-АРИЛ-6-ГІДРОКСИ-2-МЕТИЛ-4-ОКСО-2,4-ДИГІДРО-1Н-ПІРОЛО[3,2,1-*ij*]ХІНОЛІН-5-КАРБОКСАМІДІВ З ЕЛЕКТРОНО-АКЦЕПТОРНИМИ ЗАМІСНИКАМИ В АНІЛІДНОМУ ФРАГМЕНТІ**  
**І.В.Українець, М.Ю.Голік, О.Л.Шемчук, В.М.Кравченко**

**Ключові слова:** аніліди; 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбоксаміди; піролохіноліни; амідування; гідроліз; діуретична активність

У процесі численних досліджень, присвячених 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбоксамідам, було переконливо показано, що кращим методом одержання таких сполук є амідування естерів хінолін-3-карбонових кислот алкіл-, арил- чи гетариламінами. Як правило, синтези проходять гладко та ефективно в досить м'яких умовах. Однак у тих випадках, коли для формування амідів потрібна температура 120-150°C і вище, можливе часткове розкладання естерного фрагменту і як результат забруднення цільових продуктів специфічними домішками – відповідними 4-гідрокси-1,2-дигідрохінолін-2-онами або їх аналогами. За допомогою спектроскопії ЯМР <sup>1</sup>H доведено, що причиною деструкції естерних фрагментів, яка інколи спостерігається при взаємодії алкіл 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбоксилатів з амінами в жорстких умовах, є присутня в реагентах чи розчиннику вода. З проведеного дослідження видно, що при температурі 95°C і вище чутливість до гідролізу естерів 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот, які перебувають у розчині чи розплаві, суттєво зростає. Запропоновані прості способи мінімізації цього небажаного процесу – якщо синтез на їх основі N-заміщених амідів потребує жорстких умов, то для запобігання забрудненню кінцевих продуктів 4-гідрокси-1,2-дигідрохінолін-2-онами необхідно видаляти воду з реагентів та розчинників. Обговорюються результати вивчення діуретичних властивостей нових заміщених анілідів 6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1H-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбонової кислоти.

**СИНТЕЗ И ДИУРЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА N-АРИЛ-6-ГИДРОКСИ-2-МЕТИЛ-4-ОКСО-2,4-ДИГИДРО-1Н-ПИРОЛО[3,2,1-*ij*]ХИНОЛИН-5-КАРБОКСАМИДОВ С ЭЛЕКТРОНОАКЦЕПТОРНЫМИ ЗАМЕСТИТЕЛЯМИ В АНИЛИДНОМ ФРАГМЕНТЕ**

**И.В.Украинец, Н.Ю.Голік, А.Л.Шемчук, В.Н.Кравченко**

**Ключевые слова:** анилиды; 4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоксамиды; пирролохинолины; амидирование; гидролиз; диуретическая активность

В процессе многочисленных исследований, посвященных 4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоксамидам, было убедительно показано, что лучшим методом получения таких соединений является амидирование сложных эфиров хинолин-3-карбоновых кислот алкил-, арил- и гетариламинами. Как правило, синтезы проходят гладко и эффективно в довольно мягких условиях. Однако в тех случаях, когда для формирования амидов требуется температура 120-150°C и выше, возможно частичное разрушение сложноэфирного фрагмента и как результат загрязнение целевых продуктов специфическими примесями – соответствующими 4-гидрокси-1,2-дигидрохинолин-2-онами или их аналогами. С помощью спектроскопии ЯМР <sup>1</sup>H доказано, что причиной деструкции сложноэфирных фрагментов, иногда наблюдающейся при взаимодействии алкил 4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоксилатов с аминами в жестких условиях, является присутствующая в реагентах или растворителе вода. Из проведенного исследования следует, что при температуре 95°C и выше чувствительность к гидролизу находящихся в растворе или расплаве сложных эфиров 4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновых кислот существенно возрастает. Предложены простые способы минимизации этого нежелательного процесса – если синтез на их основе N-замещенных амидов требует столь жестких условий, то во избежание загрязнения конечных продуктов 4-гидрокси-1,2-дигидрохинолин-2-онами необходимо удалять воду из реагентов и растворителей. Обсуждаются результаты изучения диуретических свойств новых замещенных анилидов 6-гидрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигидро-1H-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-5-карбоновой кислоты.

In numerous studies of 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamides it has been convincingly shown that amidation of quinoline-3-carboxylic acids esters with alkyl-, aryl- and hetarylamines is the best way to obtain these compounds [2-6]. As a rule, syntheses proceed smoothly and efficiently under rather mild conditions. However, in those cases when for formation of amides the temperature of 120-150°C and above is applied, partial destruction of the ester fragment may occur and, as a result, it pollutes the target products with specific impurities – the corresponding 4-hydroxy-1,2-dihydroquinolin-2-ones or their analogues [7-10]. This effect is the most significant for amines with low nucleophilicity, for example, anilines with electron-accepting substituents in the aromatic ring.

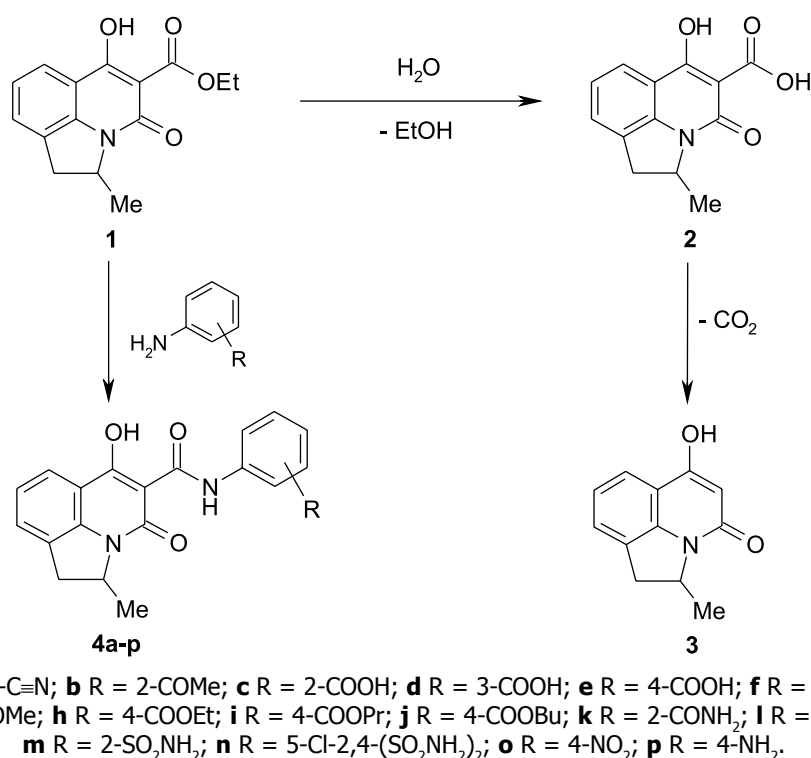
Simple experiments carried out directly in the ampoule of the NMR spectrometer were used to determine the cause of this undesirable reaction. At first, to solve the problem the  $^1\text{H}$  NMR spectra of the substances most readily undergoing destruction, namely methyl esters of 4-hydroxy-2-oxo-1,2,5,6,7,8-hexahydro- [7] and 4-hydroxy-6,7-dimethoxy-2-oxo-1,2-dihydro- [10] quinoline-3-carboxylic acids, as well as ethyl ester of 6-hydroxy-2-methyl-4-oxo-2,4-dihydro-1*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-5-carboxylic acid [8] and its 2-methyl-substituted analogue **1** [9], were registered in  $\text{DMSO-d}_6$  at the room temperature. These data served as the initial control.

Then temperatures of the samples were increased, kept at the same range for a certain period of time, and a new  $^1\text{H}$  NMR spectrum was registered. Afterwards the next measurement at higher temperature

was performed. The experiment lasted until the evidence of the ester fragments destruction appeared in the  $^1\text{H}$  NMR spectrum.

The behaviour of all esters tested is similar – they are quite stable in  $\text{DMSO-d}_6$  at 80°C. However, at 95°C during 5-25 minutes of heating the first signs of the ester groups decomposition are detected: along with the initial esters, methyl or ethyl alcohols and related quinolinecarboxylic acids type **2** are registered in the reaction mixture. It is a well-known fact [11] that they are extremely unstable and rapidly decarboxylize to 4-hydroxy-1,2-dihydroquinolin-2-ones in solution as evidenced by instant appearance of H-3 protons characteristic singlets in the  $^1\text{H}$  NMR spectra at 5.40-5.80 ppm. With the further increase of the temperature the process of esters decomposition accelerates significantly, and it is almost complete in 20-30 seconds at 150°C.

The fact that the intermediate quinolinecarboxylic acids are formed at relatively low temperatures indicates that most likely the real cause for appearance of the undesirable 4-hydroxy-1,2-dihydroquinolin-2-ones as by-products in the reaction between alkyl 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate with aromatic amines is hydrolysis of the ester groups, but not their pyrolytic decomposition as previously supposed. The repetitive experiment carried out with ethyl 6-hydroxy-2-methyl-4-oxo-2,4-dihydro-1*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-5-carboxylate (**1**) has confirmed this conclusion. The only difference from the previous experiment is that instead of the hygroscopic  $\text{DMSO-d}_6$ , toluene- $\text{d}_8$  – the solvent with deliberately much lower water content is used. According



Scheme. The synthesis of pyrroloquinoline-5-carboxanilides **4**.

Table 1

Physicochemical Characteristics of Anilides **4a-p**

Compound	Empirical formula	Found, %			Mp, °C	Yield, %	Diuretic activity, %**
		Calculated, %					
		C	H	N			
4a	C <sub>20</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	<u>69.44</u> 69.56	<u>4.29</u> 4.38	<u>12.10</u> 12.17	167-169	78	- 4
4b	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	<u>69.51</u> 69.60	<u>4.88</u> 5.01	<u>7.84</u> 7.73	158-160	76	+ 26
4c	C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	<u>66.02</u> 65.93	<u>4.55</u> 4.43	<u>7.62</u> 7.69	232-234	80	+ 152
4d	C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	<u>66.01</u> 65.93	<u>4.50</u> 4.43	<u>7.74</u> 7.69	255-257	85	+ 95
4e	C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	<u>65.85</u> 65.93	<u>4.36</u> 4.43	<u>7.60</u> 7.69	281-283	88	+ 110
4f	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	<u>66.79</u> 66.66	<u>4.88</u> 4.79	<u>9.32</u> 7.40	188-190*	79	- 1
4g	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	<u>66.75</u> 66.66	<u>4.86</u> 4.79	<u>7.49</u> 7.40	187-199*	87	+ 110
4h	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	<u>67.23</u> 67.34	<u>5.02</u> 5.14	<u>7.01</u> 7.14	176-178*	90	+ 67
4i	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	<u>68.08</u> 67.97	<u>5.54</u> 5.46	<u>6.80</u> 6.89	134-136*	89	- 10
4j	C <sub>24</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	<u>68.65</u> 68.56	<u>5.83</u> 5.75	<u>6.54</u> 6.66	125-127*	83	+ 27
4k	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	<u>66.22</u> 66.11	<u>4.84</u> 4.72	<u>11.47</u> 11.56	259-261	77	+ 3
4l	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	<u>66.74</u> 66.83	<u>4.95</u> 5.07	<u>11.02</u> 11.13	203-205	75	+ 37
4m	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> S	<u>57.00</u> 57.13	<u>4.17</u> 4.29	<u>10.44</u> 10.52	227-229	78	+ 14
4n	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>4</sub> O <sub>7</sub> S <sub>2</sub>	<u>44.38</u> 44.49	<u>3.26</u> 3.34	<u>11.03</u> 10.92	315-317	72	+ 17
4o	C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	<u>62.58</u> 62.46	<u>4.23</u> 4.14	<u>11.42</u> 11.50	231-233	85	+ 20
4p	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	<u>67.94</u> 68.05	<u>4.98</u> 5.11	<u>12.65</u> 12.53	210-212	91	+ 5
	Hydrochlorothiazide						+53

\* Recrystallized from ethyl acetate, the remaining material is the mixture of DMF and ethanol.

\*\* «+» Indicates increase and «-» inhibition of diuresis when compared with the control taken as 100%.

to the <sup>1</sup>H NMR spectral data boiling of tricyclic ester **1** in toluene-d<sub>8</sub> (~110°C) for 10 minutes does not cause any significant changes in its structure. But after adding D<sub>2</sub>O to the test solution decomposition of the initial ester **1** to 6-hydroxy-2-methyl-4-oxo-2,4-dihydro-1*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-4-ones (**3**) has been observed by approximately 50% after boiling for 3 minutes (Scheme).

It becomes clear from this study that at the temperature of 95°C and higher the sensitivity of 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acids esters in solution or a melt to hydrolysis increases significantly. Therefore, if the synthesis of *N*-substituted amides based on them requires such severe

conditions, water should be removed from the reagents and solvents in order to avoid contamination of the final products with 4-hydroxy-1,2-dihydroquinolin-2-ones. This fact is of particular relevance while working with amines of the low reactivity when hydrolysis can be a significant competitive process for amidation or even become the main direction of the reaction.

Practically, it is sufficient to dry 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acids esters to the constant weight at 50°C before amidation. Sometimes it must be done in a vacuum desiccator over P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, because some of them might form crystal hydrates [12]. Water is removed from amines by various con-

Table 2

<sup>1</sup>H NMR Spectra of the Compounds Synthesized

Com- pound	Chemical shifts, $\delta$ , ppm ( <i>J</i> , Hz)										Anilide fragment
	2-Methylpyrrolo[3,2- <i>ij</i> ]quinoline ring										
	6-OH (1H, s)	NH (1H, s)	H-7 (1H, d)	H-9 (1H, d)	H-8 (1H, t)	CH-CH <sub>3</sub> (1H, m)	NCHCH- <i>cis</i> (1H, d, d)	NCHCH- <i>trans</i> (1H, d, d)	CH <sub>3</sub> (3H, d)		
4a	15.95	13.16	7.61 ( <i>J</i> = 7.3)	7.71 ( <i>J</i> = 8.1)	7.70 ( <i>J</i> = 8.0)	5.01	3.64 ( <i>J</i> = 17.0, <i>J</i> = 9.5)	2.99 ( <i>J</i> = 17.0, <i>J</i> = 3.4)	1.51 ( <i>J</i> = 6.7)	8.24 (1H, d, <i>J</i> = 8.2, H-6'); 7.87 (1H, d, d, <i>J</i> = 7.8, <i>J</i> = 1.5, H-3'); 7.79-7.68 (2H, m, H-7,5'); 7.40-7.23 (2H, m, H-8,5')	
4b	16.56	13.14	7.71 ( <i>J</i> = 8.1)	7.70 ( <i>J</i> = 8.0)	7.70 ( <i>J</i> = 8.0)	5.00	3.64 ( <i>J</i> = 17.4, <i>J</i> = 9.3)	2.98 ( <i>J</i> = 17.4, <i>J</i> = 3.4)	1.51 ( <i>J</i> = 6.8)	8.12 (1H, d, <i>J</i> = 8.2, H-6'); 7.96 (1H, d, <i>J</i> = 8.0, H-3'); 7.65-7.55 (2H, m, H-9,4'); 7.33 (1H, t, <i>J</i> = 7.3, H-5'); 2.59 (3H, s, COCH <sub>3</sub> )	
4c	16.60	12.88	7.70 ( <i>J</i> = 8.0)	7.70 ( <i>J</i> = 8.0)	7.70 ( <i>J</i> = 8.0)	4.95	3.62 ( <i>J</i> = 17.2, <i>J</i> = 9.4)	2.95 ( <i>J</i> = 17.2, <i>J</i> = 3.3)	1.48 ( <i>J</i> = 6.7)	13.16 (1H, br. s, COOH); 8.19 (1H, d, <i>J</i> = 8.4, H-3'); 7.91 (1H, d, d, <i>J</i> = 7.8, <i>J</i> = 1.7, H-6'); 7.64-7.53 (2H, m, H-9,4'); 7.31-7.18 (2H, m, H-8,5')	
4d	16.26	12.79	7.56 ( <i>J</i> = 7.0)	7.56 ( <i>J</i> = 7.0)	7.56 ( <i>J</i> = 7.0)	4.97	3.62 ( <i>J</i> = 17.5, <i>J</i> = 9.4)	2.97 ( <i>J</i> = 17.5, <i>J</i> = 3.3)	1.51 ( <i>J</i> = 6.8)	13.05 (1H, br. s, COOH); 8.25 (1H, s, H-2'); 7.81-7.66 (3H, m, H-7,6,4'); 7.48 (1H, t, <i>J</i> = 7.8, H-5')	
4e	16.14	12.90	7.67 ( <i>J</i> = 7.8)	7.67 ( <i>J</i> = 7.8)	7.67 ( <i>J</i> = 7.8)	4.95	3.60 ( <i>J</i> = 17.3, <i>J</i> = 9.4)	2.96 ( <i>J</i> = 17.3, <i>J</i> = 3.3)	1.49 ( <i>J</i> = 6.6)	13.08 (1H, br. s, COOH); 7.91 (2H, d, <i>J</i> = 8.4, H-3,5'); 7.73 (2H, d, <i>J</i> = 8.4, H-2,6')	
4f	16.52	13.16	7.74 ( <i>J</i> = 8.1)	7.74 ( <i>J</i> = 8.1)	7.74 ( <i>J</i> = 8.1)	5.01	3.64 ( <i>J</i> = 17.1, <i>J</i> = 9.5)	2.99 ( <i>J</i> = 17.1, <i>J</i> = 3.4)	1.51 ( <i>J</i> = 6.4)	8.19 (1H, d, <i>J</i> = 8.3, H-3'); 7.93 (1H, d, <i>J</i> = 7.8, H-6'); 7.68-7.57 (2H, m, H-9,4'); 7.37-7.23 (2H, m, H-8,5'); 3.89 (3H, s, COOCH <sub>3</sub> )	
4g	16.11	12.95	7.71 ( <i>J</i> = 7.9)	7.71 ( <i>J</i> = 7.9)	7.71 ( <i>J</i> = 7.9)	4.98	3.64 ( <i>J</i> = 17.4, <i>J</i> = 9.4)	2.98 ( <i>J</i> = 17.4, <i>J</i> = 3.4)	1.52 ( <i>J</i> = 6.4)	7.95 (2H, d, <i>J</i> = 8.7, H-3,5'); 7.78 (2H, d, <i>J</i> = 8.7, H-2,6'); 3.82 (3H, s, COOCH <sub>3</sub> )	
4h	16.09	12.92	7.66 ( <i>J</i> = 7.9)	7.66 ( <i>J</i> = 7.9)	7.66 ( <i>J</i> = 7.9)	4.95	3.60 ( <i>J</i> = 17.6, <i>J</i> = 9.4)	2.96 ( <i>J</i> = 17.6, <i>J</i> = 3.3)	1.50 ( <i>J</i> = 6.5)	7.89 (2H, d, <i>J</i> = 8.6, H-3,5'); 7.73 (2H, d, <i>J</i> = 8.6, H-2,6'); 4.25 (2H, q, <i>J</i> = 7.2, COOCH <sub>2</sub> ); 1.29 (3H, t, <i>J</i> = 7.2, OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> )	
4i	16.10	12.91	7.65 ( <i>J</i> = 8.0)	7.65 ( <i>J</i> = 8.0)	7.65 ( <i>J</i> = 8.0)	4.94	3.60 ( <i>J</i> = 17.3, <i>J</i> = 9.0)	2.96 ( <i>J</i> = 17.3, <i>J</i> = 3.2)	1.50 ( <i>J</i> = 6.4)	7.90 (2H, d, <i>J</i> = 8.4, H-3,5'); 7.73 (2H, d, <i>J</i> = 8.4, H-2,6'); 4.16 (2H, t, <i>J</i> = 6.6, COOCH <sub>2</sub> ); 1.70 (2H, m, COOCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 0.95 (3H, t, <i>J</i> = 7.2, OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> )	
4j	16.13	12.96	7.71 ( <i>J</i> = 8.0)	7.71 ( <i>J</i> = 8.0)	7.71 ( <i>J</i> = 8.0)	4.98	3.63 ( <i>J</i> = 17.3, <i>J</i> = 9.2)	2.98 ( <i>J</i> = 17.3, <i>J</i> = 3.3)	1.51 ( <i>J</i> = 6.4)	7.94 (2H, d, <i>J</i> = 8.6, H-3,5'); 7.77 (2H, d, <i>J</i> = 8.6, H-2,6'); 4.23 (2H, t, <i>J</i> = 6.4, OCH <sub>2</sub> ); 1.68 (2H, quin., <i>J</i> = 7.2, OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 1.40 (2H, m, OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 0.93 (3H, t, <i>J</i> = 7.3, OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> )	
4k	16.75	12.86	7.70 ( <i>J</i> = 8.0)	7.70 ( <i>J</i> = 8.0)	7.70 ( <i>J</i> = 8.0)	4.96	3.62 ( <i>J</i> = 17.2, <i>J</i> = 9.4)	2.96 ( <i>J</i> = 17.2, <i>J</i> = 3.3)	1.48 ( <i>J</i> = 6.6)	8.08 (1H, d, <i>J</i> = 8.3, H-3'); 8.00 (1H, s, CONH); 7.60-7.53 (3H, m, H-9,6' + CONH); 7.47 (1H, t, <i>J</i> = 7.8, H-4'); 7.28-7.17 (2H, m, H-8,5')	
4l	16.69	12.81	7.72 ( <i>J</i> = 8.0)	7.72 ( <i>J</i> = 8.0)	7.72 ( <i>J</i> = 8.0)	4.99	3.64 ( <i>J</i> = 17.4, <i>J</i> = 9.3)	2.97 ( <i>J</i> = 17.4, <i>J</i> = 3.4)	1.49 ( <i>J</i> = 6.4)	8.46 (1H, q, <i>J</i> = 4.6, NHCH <sub>3</sub> ); 8.07 (1H, d, <i>J</i> = 8.2, H-3'); 7.52-7.43 (2H, m, H-4,6'); 7.30-7.19 (2H, m, H-8,5'); 2.76 (3H, d, <i>J</i> = 4.6, NHCH <sub>3</sub> )	
4m	16.43	12.54	7.73 ( <i>J</i> = 8.0)	7.73 ( <i>J</i> = 8.0)	7.73 ( <i>J</i> = 8.0)	4.99	3.64 ( <i>J</i> = 17.3, <i>J</i> = 9.2)	2.98 ( <i>J</i> = 17.3, <i>J</i> = 3.3)	1.49 ( <i>J</i> = 6.4)	7.99-7.87 (2H, m, H-5,6'); 7.67-7.56 (2H, m, H-9,3'); 7.46-7.34 (3H, m, H-4' + SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> )	
4n	15.81	12.91	7.76 ( <i>J</i> = 8.0)	7.76 ( <i>J</i> = 8.0)	7.76 ( <i>J</i> = 8.0)	5.00	3.65 ( <i>J</i> = 17.2, <i>J</i> = 9.3)	2.99 ( <i>J</i> = 17.2, <i>J</i> = 3.4)	1.48 ( <i>J</i> = 6.4)	8.47 (1H, s, H-6'); 8.35 (1H, s, H-3'); 7.82 (2H, s, SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ); 7.70 (2H, s, SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> )	
4o	15.77	13.06	7.66 ( <i>J</i> = 8.1)	7.66 ( <i>J</i> = 8.1)	7.66 ( <i>J</i> = 8.1)	4.95	3.61 ( <i>J</i> = 17.3, <i>J</i> = 9.2)	2.96 ( <i>J</i> = 17.3, <i>J</i> = 3.3)	1.52 ( <i>J</i> = 6.3)	8.16 (2H, d, <i>J</i> = 8.7, H-3,5'); 7.80 (2H, d, <i>J</i> = 8.7, H-2,6')	
4p	17.03	12.30	7.70 ( <i>J</i> = 8.0)	7.70 ( <i>J</i> = 8.0)	7.70 ( <i>J</i> = 8.0)	4.96	3.62 ( <i>J</i> = 17.2, <i>J</i> = 9.3)	2.96 ( <i>J</i> = 17.2, <i>J</i> = 3.4)	1.49 ( <i>J</i> = 6.4)	7.31 (2H, d, <i>J</i> = 8.8, H-2,6'); 6.57 (2H, d, <i>J</i> = 8.8, H-3,5'); 5.12 (2H, br. s, NH <sub>2</sub> )	

\* This signal is overlapped by proton signals of the anilide fragment and is given together with them.

ventional methods depending on their structures and physical conditions. According to our observations xylenes (or their mixtures), and bromobenzene are the most suitable solvents: they are stable, have a good solvent ability, have relatively high boiling points, can be easily dried and regenerated.

According to these easy-to-implement recommendations we have obtained a series of new *N*-aryl-6-hydroxy-2-methyl-4-oxo-2,4-dihydro-1*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-5-carboxamides **4a-p** with electron-accepting substituents in the anilide fragment of the molecule (Table 1 and Table 2) with good yields. 4-Amino derivative **4p** in this series, of course, is not included, but to identify its structural and biological regularities we decided to consider it together with 4-nitroanilide **4o**. In the <sup>1</sup>H NMR spectra of the crude anilides **4a-p** obtained in compliance with the conditions offered the impurity of pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-4-ones **3** has not been detected. Therefore, if the undesirable hydrolysis of ester **1** takes place, it is very insignificant. For comparison, an attempt to use the commercial anthranilonitrile (i.e. the one which does not require additional drying) in the synthesis while all the other conditions were equal led to formation of a mixture of the target 2-cyananilide **4a** and pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-4-one **3** in the ratio of ~ 2:3 according to the <sup>1</sup>H NMR spectral data.

The screening of the diuretic properties of all anilides **4a-p** synthesized was conducted in white rats weighing 180-200 g according to the standard method [13]. The compounds tested were introduced orally in a fine aqueous suspension stabilized with Tween-80. The dose was 10 mg/kg. One of the most famous diuretic – Hydrochlorothiazide [14] in its effective dose of 40 mg/kg was used as a reference drug.

The analysis of the results of biological screening given in Table 1 shows that *N*-acyl derivatives of amino-benzoic acid **4c-e** deserve special attention among all the tested compounds. Though their dose is much lower, their diuretic activity is 2-3 times higher than that of the reference drug. Moreover, there is a well-defined relationship between the level

of their diuretic effect and the position of the carboxyl group in the anilide ring: 2 > 4 > 3. The transformation of acids **4c,e** to their esters has a mixed influence on their biological properties. For example, the activity of *para*-substituted methylbenzoate **4g** remains at the same level as of its acid **4e**, while its closest homologues **4h-j** lose the ability to increase urine output up to appearance of the antidiuretic properties of propyl ester **4i**. Modification of 2-carboxyl group is more categorical: its esterification (methyl ester **4f**) and amidation (amides **4k,l**) should be considered as unreasonable. Despite the expectations, sulphonamides **4m,n** were not active either. In comparison with the previously studied unsubstituted phenylamide of 6-hydroxy-2-methyl-4-oxo-2,4-dihydro-1*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-5-carboxylic acid [9], nitro- and amine groups in the *para*-position of the anilide ring (amides **4o,p**) contribute to appearance of diuretic properties, but in general, their positive impact is insignificant.

### Experimental Part

The <sup>1</sup>H NMR spectra of the anilides **4a-p** synthesized were recorded on a Varian Mercury-400 spectrometer (400 MHz) in DMSO-*d*<sub>6</sub>. Investigation of stability of esters of quinoline-3-carboxylic acids to hydrolysis was carried out with the help of the same device, the solvent was DMSO-*d*<sub>6</sub> or toluene-*d*<sub>8</sub>. TMS served as the internal standard in all cases. Ethyl ester of 6-hydroxy-2-methyl-4-oxo-2,4-dihydro-1*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-5-carboxylic acid (**1**) was obtained according to our previous procedure [9].

**6-Hydroxy-2-methyl-4-oxo-2,4-dihydro-1*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-5-carboxylic Acid Anilides **4a-p**** (General Method). Mix a pre-dried mixture of 2.73 g (0.01 mol) of ethyl ester **1**, the corresponding aniline (0.01 mol) and 2 ml of xylene and allow to stand on a metal bath at 130°C for 20-30 minutes. Cool the reaction mixture, add 10 ml of ethanol and triturate thoroughly. Filter the precipitated anilide **4a-p**, wash with alcohol, dry, and recrystallize from the suitable solvent (see Table 1).

### References

1. Ukrainets I.V., Gorokhova O.V., Andreeva X.V., Sim G. // *Int. J. Pharm. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 1, №3. – P. 33-40.
2. Jönsson S., Andersson G., Fex T. et al. // *J. Med. Chem.* – 2004. – Vol. 47, №8. – P. 2075-2088.
3. Collin X., Robert J.M., Duflos M. et al. // *J. Pharm. Pharmacol.* – 2001. – Vol. 53, №3. – P. 417-423.
4. Khan S.R., Mhaka A., Pili R., Isaacs J.T. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2001. – Vol. 11, №4. – P. 451-452.
5. Björk A., Jönsson S., Fex T., Hedlund G. / *US Patent 6077851.* – 2000.
6. Kutyrev A., Kappe T. // *J. Heterocyclic Chem.* – 1997. – Vol. 34, №5. – P. 969-972.
7. Ukrainets I.V., Kolesnik E.V., Sidorenko L.V. et al. // *Chem. Heterocycl. Comp.* – 2006. – Vol. 42, №6. – P. 765-775.
8. Ukrainets I.V., Mospanova E.V., Sidorenko L.V. // *Chem. Heterocycl. Comp.* – 2007. – Vol. 43, №7. – P. 863-870.
9. Ukrainets I.V., Golik N.Yu., Shemchuk A.L. et al. // *Chem. Heterocycl. Comp.* – 2011. – Vol. 47, №7. – P. 826-832.

10. Ukrainets I.V., Bevz O.V., Mospanova E.V. et al. // *Chem. Heterocycl. Comp.* – 2012. – Vol. 48, №2. – P. 320-326.
11. Ukrainets I.V., Davidenko A.A., Mospanova E.V. et al. // *Chem. Heterocycl. Comp.* – 2010. – Vol. 46, №5. – P. 559-568.
12. Ukrainets I.V., Gorokhova O.V., Sidorenko L.V. et al. // *Zh. Org. Farm. Khim.* – 2005. – Vol. 3, Is. 3 (11). – P. 20-25.
13. Sernov L.N., Gatsura V.V. *Elements of Experimental Pharmacology [in Russian]*. – Moscow: Nauka, 2000. – P. 103-104.
14. Mashkovskii M.D. *Drugs [in Russian]*. – Moscow: RIA Novaya Volna – Izd. Umerenkov, 2009. – P. 499-500.

Надійшла до редакції 23.03.2013 р.

---

#### **Acknowledgments**

The authors are deeply indebted to Doctor of Chemistry A.V.Turov (Kyiv National University named after Taras Shevchenko, Ukraine) for his help in registration of NMR spectra.

УДК 547.771 + 547.574.2 + 547.339

# СИНТЕЗ НІТРИЛІВ ПІРАЗОЛ-4-КАРБОНОВИХ КИСЛОТ ТЕРМІЧНОЮ ДЕГІДРАТАЦІЄЮ ОКСИМІВ ПІРАЗОЛ-4-КАРБАЛЬДЕГІДІВ

М.К.Братенко, Н.В.Панасенко, М.В.Вовк\*

Буковинський державний медичний університет  
58000, м. Чернівці, пл. Театральна, 2. E-mail: bratenko@gmail.com

\* Інститут органічної хімії НАН України

**Ключові слова:** оксими піразол-4-карбальдегідів; нітрили піразол-4-карбонових кислот; термічна дегідратація; диметилформамід

Проведено детальний літературний аналіз методів синтезу, хімічних і біологічних властивостей нітрилів 4-піразолкарбонових кислот, які є важливими синтетичними блоками для спрямованого отримання ряду функціональних похідних піразолу. Розроблено простий і ефективний метод отримання синтетично та фармакологічно перспективних нітрилів 4-піразолкарбонових кислот, який полягає у термічній дегідратації в диметилформаміді оксимів доступних піразол-4-карбальдегідів. Встановлено, що їх 3-годинне нагрівання в киплячому ДМФА є достатнім для перетворення на піразол-4-карбонітрили з виходом 56-86%. З'ясовано, що порівняно з алифатичними та ароматичними альдоксимами підвищення температури реакційного середовища до кипіння (на 17°C) у випадку оксимів піразол-4-карбальдегідів дозволяє скоротити час реакції в 16 разів і тим самим зробити його економічно ефективним і технологічним. Показано, що в даному перетворенні диметилформамід відіграє роль одночасно розчинника та реагента. Запропоновано механізм знайденої дегідратації, який включає послідовне елімінування диметиламіну та формиатної кислоти з інтермедіату, генерованого нуклеофільним приєднанням оксимного гідроксилу до електрофільного центру диметилформаміду. Склад та структура синтезованих нітрилів підтверджені методами елементного аналізу, хроматомас-спектрометрії, ІЧ- і ЯМР <sup>1</sup>H-спектроскопії.

## SYNTHESIS OF PYRAZOL-4-CARBONITRILES BY THERMAL DEHYDRATATION OF PYRAZOL-4-CARBALDEHYDE OXIMES

M.K. Bratenko, N.V. Panasenko, M.V. Vovk

**Key words:** pyrazol-4-carbaldehyde oximes; 4-pyrazolcarboxylic acids nitriles; thermal dehydration; dimethylformamide. A detailed literary analysis of the methods for synthesis, chemical and biological properties of 4-pyrazolcarboxylic acids nitriles, which are important synthetic building-blocks for purposeful obtaining of functional derivatives of pyrazole, has been conducted. A simple and effective method of obtaining of synthetically and pharmacologically perspective nitriles of 4-pyrazolcarboxylic acids has been developed. They are obtained by thermal dehydration of oximes of easily available pyrazole-4-carbaldehydes in dimethylformamide. It has been determined that heating of these compounds in the boiling dimethylformamide for 3 hours is enough to produce pyrazole-4-carbonitriles with 56-86% yields. It has also been found that in comparison with aliphatic and aromatic aldoximes increase of the temperature of the reaction medium till it boils (by 17°C) in case of oximes of pyrazole-4-carbaldehydes allows to reduce 16 times the reaction time, thus making this synthesis to be economically effective and technological. It has been shown that in this transformation DMFA simultaneously plays roles of the solvent and reagent. The mechanism of the dehydration discovered has been proposed. It includes consecutive elimination of dimethylamine and formate acid from the intermediate generated by nucleophilic addition of oximic hydroxyl to the electrophilic centre of dimethylformamide. The composition and structure of the nitriles synthesized have been confirmed by elemental analysis, chromatomass-spectrometry, IR- and <sup>1</sup>H NMR spectroscopy.

## СИНТЕЗ НИТРИЛОВ ПІРАЗОЛ-4-КАРБОНОВИХ КИСЛОТ ТЕРМИЧЕСКОЙ ДЕГИДРАТАЦИЕЙ ОКСИМОВ ПІРАЗОЛ-4-КАРБАЛЬДЕГИДОВ

М.К.Братенко, Н.В.Панасенко, М.В.Вовк

**Ключевые слова:** оксими піразол-4-карбальдегідів; нітрили піразол-4-карбонових кислот; термічеська дегідратація; диметилформамід

Сделан подробный литературный анализ методов синтеза, химических и биологических свойств нитрилов піразол-4-карбонових кислот, которые являются важными синтетическими блоками для целенаправленного получения ряда функциональных производных піразола. Разработан простой и эффективный метод получения синтетически и фармакологически перспективных нитрилов 4-піразолкарбонових кислот, который заключается в термической дегідратації в диметилформаміді оксимов доступных піразол-4-карбальдегідів. Установлено, что их 3-часовое нагревание в кипящем ДМФА является достаточным для превращения в піразол-4-карбонітрилы с выходами 56-86%. Выяснено, что по сравнению с алифатическими и ароматическими альдоксимами повышение температуры реакционной среды до кипения (на 17°C) в случае оксимов піразол-4-карбальдегідів позволяет сократить время реакции в 16 раз и тем самым сделать его экономически эффективным и технологическим. Показано, что в данном преобразовании диметилформамид играет роль одновременно растворителя и реагента. Предложен механизм найденной дегідратації, который включает последовательное элиминирование диметиламина и формиатной кислоты с интермедіата, генерированного нуклеофільным присоединением оксимного гидроксильного центра к электрофільному центру диметилформаміда. Состав и структура синтезированных нитрилов подтверждены методами элементного анализа, хроматомасс-спектрометрии, ИК- и ЯМР <sup>1</sup>H спектроскопии.



Нітрили піразол-4-карбонових кислот є представниками важливого типу 4-функціоналізованих піразолів, який характеризується широким діапазоном біологічних та хімічних властивостей. Зокрема, в ряду найбільш досліджених нітрилів 1,3-дизаміщених піразол-4-карбонових кислот знайдені речовини з вираженою бактерицидною [1, 2] та протизапальною [3] дією. Окрім цього, наявність в їх структурі синтетично привабливої ціаногрупи дозволяє здійснювати спрямовану функціоналізацію піразольного ядра різноманітними ациклічними та гетероциклічними фрагментами. На їх основі розроблені способи одержання біоперспективних 4-тіокарбамоїл- [4], 4-тіазоліл- [5, 6] та 4-триазиніл- [7] піразолів. Наявні в літературі варіанти синтезу 4-ціанопіразолів, як правило, ґрунтуються на двох суттєво відмінних підходах, таких як 1) формування ціанофункціалізованого ядра циклоконденсацією нітрилімінів із енамініонітрилами [8] або фумаронітрилом [9]; 2) дегідратація піразол-4-альдоксимів під дією оцтового ангідриду [1, 2, 5], хлорокису фосфору [3] або комплексу хлористого тіонілу з диметилформамідом [10]. В силу препаративної доступності 4-формілпіразолів [11] саме останній підхід є більш поширеним. При цьому варто зазначити, що використання високотоксичних та гідролітично нестабільних реагентів є його суттєвим недоліком. Саме тому особливого значення набуває пошук екологічно безпечних способів отримання нітрилів піразол-4-карбонових кислот.

Нещодавно автори [12] показали, що дегідратація альдоксимів до нітрилів може відбуватись при підвищеній температурі в розчині диметилформаміду (ДМФА), і встановили, що їх нагрівання впродовж 48 год при 135°C із задовільними та високими виходами приводить до аліфатичних, ароматичних і почасти гетероциклічних нітрилів. Нам видавалось доцільним поширити цей спосіб і на одержання нітрилів ряду піразолу.

При детальному дослідженні термічної поведінки оксимів 3-арил-1-феніл-4-піразолкарбальдегідів **1а-к** знайдено, що їх тригодинне нагрівання в киплячому ДМФА є достатнім для перетворення на піразол-4-карбонітрили **2а-к** із виходами 56-86%. Доречно відзначити, що порівняно з аліфатичними та ароматичними альдоксимами підвищення температури реакційного середовища до його кипіння (на 17°C) у випадку оксимів **1а-к** дозволяє скоротити час реакції в 16 разів і тим самим зробити його економічно ефективним і технологічним.

Отримані нами результати узгоджуються з висновком авторів [12], згідно з яким ДМФА виступає як у ролі каталізатора, так і розчинника процесу дегідратації альдоксимів. Запропонований ними механізм дегідратації, очевидно, носить за-

гальний характер і є справедливим для оксимів ряду піразолу. Він передбачає первинну атаку гідроксильної групи оксиму на електрофільний карбонільний центр ДМФА і утворення таутомерних інтермедіатів **A** та **B**. Останній в умовах реакції зазнає ряду послідовних елімінуючих перетворень: первинного відщеплення диметиламіну і через *o*-формілоксимний інтермедіат **B** – мурашиної кислоти (схема).

Індивідуальність та склад синтезованих нітрилів **2а-к** узгоджуються із результатами елементного аналізу та хроматомас-спектрометрії, а їх структура підтверджена ІЧ- та ЯМР <sup>1</sup>H спектрами.

### Експериментальна частина

ІЧ-спектри сполук у таблетках КВг записані на приладі UR-20. Спектри ЯМР <sup>1</sup>H виміряні на приладі Varian Mercury-400 (399.960 МГц) у розчині ДМСО-*d*<sub>6</sub> (внутрішній стандарт ТМС). Хроматомас-спектри одержані на приладі PE SCXAPI 150 EX, використані детектори UV (250 нм) та ELSOJ.

**(E+Z)-Оксими 3-арил-1-феніл-1H-піразол-4-карбальдегіду 1а-к** отримані методом [13].

**(E+Z)-Оксим 3-(4-фторофеніл)-1-феніл-1H-піразол-4-карбальдегіду 1б.** Вихід – 82%. Т.пл. – 162-164°C. ІЧ-спектр,  $\nu$ , см<sup>-1</sup>: 1650 (C=N), 3285 (O-H). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H,  $\delta$ , м.ч.: 7.36-8.14 м (10H, 9H<sub>аром.</sub> + HC=), 8.83 с, 9.14 с (1H, H<sup>5</sup>), 11.15 с, 11.86 с (1H, OH). Знайдено, %: C 68.62; H 4.21; N 14.74. C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>F-N<sub>3</sub>O. Вираховано, %: C 68.32; H 4.30; N 14.94.

**(E+Z)-Оксим 3-(4-етилфеніл)-1-феніл-1H-піразол-4-карбальдегіду 1е.** Вихід – 76%. Т.пл. – 144-146°C. ІЧ-спектр,  $\nu$ , см<sup>-1</sup>: 1645 (C=N), 3280 (O-H). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H,  $\delta$ , м.ч.: 1.23 т (3H, CH<sub>3</sub>, J 7.4 Гц), 2.67 к (2H, CH<sub>2</sub>, J 7.4 Гц), 7.32-8.15 м (10H, 9H<sub>аром.</sub> + HC=), 8.83 с, 9.14 с (1H, H<sup>5</sup>), 11.09 с, 11.79 с (1H, OH). Знайдено, %: C 74.02; H 5.79; N 14.67. C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O. Вираховано, %: C 74.21; H 5.88; N 14.42.

**(E+Z)-Оксим 3-(2,3-дигідро-1,4-бензодіоксин-6-іл)-1-феніл-1H-піразол-4-карбальдегіду 1ж.** Вихід – 84%. Т.пл. – 178°C. ІЧ-спектр,  $\nu$ , см<sup>-1</sup>: 1645 (C=N), 3275 (O-H). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H,  $\delta$ , м.ч.: 4.32 с (4H, 2CH<sub>2</sub>), 7.02-8.10 м (9H, 8H<sub>аром.</sub> + HC=), 8.80 с, 9.09 с (H<sup>5</sup>), 11.08, 11.76 с (1H, OH). Знайдено, %: C 67.07; H 4.89; N 14.72. C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>. Вираховано, %: C 67.28; H 4.71; N 14.94.

**(E+Z)-Оксим 3-(5-метил-2-фурил)-1-феніл-1H-піразол-4-карбальдегіду 1з.** Вихід – 53%. Т.пл. – 174°C. ІЧ-спектр,  $\nu$ , см<sup>-1</sup>: 1650 (C=N), 3270 (O-H). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H,  $\delta$ , м.ч.: 2.44 с (3H, CH<sub>3</sub>), 6.37 д (1H<sub>фуран</sub>, J 2.9 Гц), 6.91 д (1H<sub>фуран</sub>, J 2.9 Гц), 7.27-7.48 м (5H<sub>аром.</sub>), 7.94 с, 8.07 с (1H, HC=), 8.86 с, 9.11 с (1H, H<sup>5</sup>), 11.14 с, 11.73 с (1H, OH). Знайдено, %: C 67.65; H 4.68; N 15.95. C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>. Вираховано, %: C 67.41; H 4.90; N 15.72.

**(E+Z)-Оксим 3-(1-бензофуран-2-іл)-1-феніл-1H-піразол-4-карбальдегіду 1і.** Вихід – 65%. Т.пл. – 214°C. ІЧ-спектр,  $\nu$ , см<sup>-1</sup>: 1655 (C=N), 3310 (O-H).



( $5H_{\text{аром.}}$ ), 7.73 д ( $1H_{\text{аром.}}$ ,  $J$  8.0 Гц), 7.81 д ( $1H_{\text{аром.}}$ ,  $J$  7.8 Гц), 7.95 д ( $2H_{\text{аром.}}$ ,  $J$  8.2 Гц), 9.51 ( $1H$ ,  $H^5_{\text{піразол}}$ ). Знайдено, %: С 76.06; Н 3.64; N 14.94.  $[M+1]^+$  – 286.  $C_{16}H_{11}N_3O$ . Вираховано, %: С 75.78; Н 3.89; N 14.75. М – 285.31.

**Нітрил 3-(5-хлоро-2-тієніл)-1-феніл-1H-піразол-4-карбонової кислоти 2к.** Вихід – 57%. Т.пл. – 156°C. ІЧ-спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 2235 (C≡N). Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м.ч.: 7.27-7.59 м ( $5H_{\text{аром.}}$ ), 7.85 д ( $2H_{\text{аром.}}$ ,

$J$  7.6 Гц), 9.42 ( $1H$ ,  $H^5_{\text{піразол}}$ ). Знайдено, %: С 59.09; Н 2.65; N 14.82.  $[M+1]^+$  – 286.  $C_{14}H_8ClN_3S$ . Вираховано, %: С 58.85; Н 2.82; N 14.70. М – 285.76.

### Висновки

Запропоновано спосіб отримання нітрилів піразол-4-карбонових кислот, який базується на дегідратації оксимів піразол-4-карбальдегідів у киплячому диметилформаміді.

### Література

1. Prakash O., Pundeer R., Ranjan P. et al. // *Ind. J. Chem. B.* – 2009. – Vol. 48. – P. 503-568.
2. Kumar R., Nair R.R., Dhima S.S. et al. // *J. Het. Chem.* – 2011. – Vol. 48. – P. 1211-1215.
3. Bekhit A.A., Ashour H.M.A., Bekhit A.E. et al. // *J. Enzyme Inhibit. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 24. – P. 296-309.
4. Sharma P.K., Chanda K.N., Kumar P. et al. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 46. – P. 1425-1432.
5. Bekhit A.A., Fahmy H.T.Y., Roston S.A.F. et al. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2010. – Vol. 45. – P. 6027-6038.
6. Goddard C.J. // *J. Het. Chem.* – 1991. – Vol. 28. – P. 1607-1612.
7. Reddy G.J., Manjula D., Rao K.S. // *Ind. J. Chem. B.* – 2005. – Vol. 44. – P. 2412-2415.
8. Saliman S.A., Abdelhamid J.A., Gaber H.M. // *J. Het. Chem.* – 2005. – Vol. 42. – P. 1185-1189.
9. Hassaneen H.M., Ead H.A., Elwan N.M., Shawal A.S. // *Heterocycles.* – 1988. – Vol. 27. – P. 2857-2862.
10. Reddy G.J., Sailaja J., Pallavi K., Rao K.S. // *Ind. J. Chem. B.* – 2005. – Vol. 44. – P. 180-183.
11. Вовк М.В., Братенко М.К., Чорноус В.О. 4-Функціональнозаміщені піразоли. – Чернівці: Прут, 2008. – С. 287.
12. Suspana P., Liashopolos T., Tsangos P.G., Varvounis G. // *Synlett.* – 2007. – №17. – P. 2671-2674.
13. Prakash O., Pannu K., Naithani R., Kaur H. // *Synt. Commun.* – 2006. – Vol. 36. – P. 3479-3485.

Надійшла до редакції 08.01.2013 р.

## REACTIVITY OF PHENYLANTHRANILIC ACIDS DERIVATIVES. XXIII. SYNTHESIS AND ACID-BASE PROPERTIES OF 4,5-DIMETHOXY-N-(2'-CARBOXYPHENYL)ANTHRANILIC ACIDS

S.G.Isaev, O.M.Sviechnikova\*, A.O.Devyatkina, T.A.Kostina, T.N.Svyatska\*

National University of Pharmacy

53, Pushkinska str., Kharkiv, 61002, Ukraine. E-mail: medchimia@mail.ru

\* Kharkiv National Pedagogical University named after G.S. Skovoroda

*Key words: synthesis; reactivity; N-phenylanthranilic acid*

*The alternative ways of synthesis of new 4,5-dimethoxy-N-(2'-carboxyphenyl)anthranilic acids have been considered and new ways for their obtaining have been suggested. The structure of the compounds synthesized has been proven by the elemental analysis, IR- and NMR-spectroscopy. The purity has been controlled by the method of thin-layer chromatography. The reactivity of 4,5-dimethoxy-N-(2'-carboxyphenyl)anthranilic acids has been researched by studying the acid-base properties in the binary solvent of dioxane-water (60 vol% of dioxane). It has been found that the substances synthesized are dibasic subacids, which strength depends upon the nature and position of substituents. The quantitative assessment of the influence of substituents on two reactive centres of the acids synthesized has been carried out by the method of correlative analysis according to the Gamete equation. It has been proven that the reactive centres sensitivity is substantially different and dependent on the substituent distance. In addition, appearance of another reactive centre does not practically influence on sensitivity of the first one. It has been determined that the substances synthesized reveal the anti-inflammatory, analgesic, diuretic, bacteriostatic, and fungistatic effects. According to the classification by K.K. Sydorov the substances synthesized when introducing intragastrically belong to low-toxic compounds ( $DL_{50} > 3000$  mg/kg).*

### **РЕАКЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ ПОХІДНИХ N-ФЕНІЛАНТРАНІЛОВИХ КИСЛОТ. XXIII. СИНТЕЗ ТА КИСЛОТНО-ОСНОВНІ ВЛАСТИВОСТІ 4,5-ДИМЕТОКСИ-N-(2'-КАРБОКСИФЕНІЛ)АНТРАНІЛОВИХ КИСЛОТ**

**С.Г.Ісаєв, О.М.Свєчнікова, А.О.Дев'яткіна, Т.А.Костіна, Т.Н.Святська**

**Ключові слова:** синтез; реактивність; N-фенілантранилово кислота

*Розглянуті альтернативні варіанти синтезу нових 4,5-диметокси-N-(2'-карбоксифеніл)антранилових кислот та запропоновані нові способи їх одержання. Будову синтезованих речовин доведено даними елементного аналізу, ІЧ- та ПМР-спектроскопії. Чистоту контролювали методом тонкошарової хроматографії. Досліджено реакційну здатність заміщених N-(2'-карбоксифеніл)антранилових кислот шляхом вивчення кислотно-основних властивостей у бінарному розчиннику діоксан-вода (60 об% діоксану). Встановлено, що синтезовані речовини є слабкими двоосновними кислотами, сила яких залежить від природи та положення замісників. Методом кореляційного аналізу проведено кількісну оцінку впливу замісників на два реакційних центри синтезованих кислот за рівнянням Гаммета. Доведено, що чутливість реакційних центрів суттєво відрізняється та залежить від віддаленості замісників. При цьому поява другого реакційного центру практично не впливає на чутливість першого. Було встановлено, що синтезовані речовини проявляють протизапальну, анальгетичну, діуретичну, бактеріостатичну та фунгістатичну активність. За класифікацією К.К.Сидорова синтезовані речовини при внутрішньо-шлунковому введенні належать до класу малотоксичних сполук ( $DL_{50} > 3000$  мг/кг).*

### **РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ N-ФЕНИЛАНТРАНИЛОВЫХ КИСЛОТ. XXIII. СИНТЕЗ И КИСЛОТНО-ОСНОВНЫЕ СВОЙСТВА 4,5-ДИМЕТОКСИ-N-(2'-КАРБОКСИФЕНИЛ)АНТРАНИЛОВЫХ КИСЛОТ**

**С.Г.Исаев, Е.Н.Свечникова, А.А.Девяткина, Т.А.Костина, Т.М.Святская**

**Ключевые слова:** синтез; реактивность; N-фенілантранилово кислота

*Рассмотрены альтернативные варианты синтеза новых 4,5-диметокси-N-(2'-карбоксифеніл)антраниловых кислот и предложены новые способы их получения. Строение синтезированных веществ доказано данными элементного анализа, ИК- и ПМР-спектроскопии. Чистоту контролировали методом тонкослойной хроматографии. Исследована реакционная способность замещенных N-(2'-карбоксифеніл)антранилово кислоты путем изучения кислотно-основных свойств в бинарном растворителе диоксан-вода (60 об% диоксана). Установлено, что синтезированные вещества являются слабыми двухосновными кислотами, сила которых зависит от природы и положения заместителей. Методом корреляционного анализа проведено количественную оценку влияния заместителей на два реакционных центра синтезированных кислот согласно уравнению Гаммета. Доказано, что чувствительность реакционных центров существенно отличается и зависит от удаленности заместителей. При этом появление второго реакционного центра практически не влияет на чувствительность первого. Было установлено, что синтезированные вещества проявляют противовоспалительную, анальгетическую, диуретическую, бактериостатическую и фунгиостатическую активность. По классификации К.К.Сидорова синтезированные вещества при внутрижелудочном введении следует относить к классу малотоксичных соединений ( $DL_{50} > 3000$  мг/кг).*

\* Post XXII see [15]

Analysis of the research data [1-11] indicates the widespread use of derivatives of N-phenylanthranilic acids in medicine, pharmacy, industry and various fields of science. N-phenylanthranilic acids derivatives have a wide synthetic and pharmacological potential [1-3, 8-11]. The circumstances above caused the necessity to carry out the synthesis of new 4,5-dimethoxy-N-(2'-carboxyphenyl)anthranilic acids, study of their reactivity and biological activity. It will allow to optimize the search for new biologically active compounds of this series and forecast their biological effect.

Substituted 4,5-dimethoxy-N-(2'-carboxyphenyl)anthranilic acids have been obtained by the Ullmann reaction by the interaction of 4,5-dimethoxy-chlorobenzoic acids (1) with o-halogenbenzoic acid (method 1) and by arylation of 4,5-dimethoxyanthranilic acid by o-halogenbenzoic acid (method 2) in the medium of N-amylalcohol (method 1A, 2A), DMF (method 1B, 2B), without a solvent (method 1C, 2C) in the presence of copper or copper (II) oxide [1-3]. The same as a counter synthesis of 4,5-dimethoxy-N-(2'-carboxyphenyl)anthranilic acids (5) condensation of N-acetyl-4,5-dimethoxyanthranilic acids (3) with substituted o-halogenbenzene acid follow by hydrolysis of N-acyd derivatives has been used (Method 3). In order to increase solubility of copper ions in the aprotic low-polar phase to accelerate the arylation reaction various solvent (Tween-80, sodium salt of oleic acids, stearic acid) added to the reaction mixture in the amount of 3-5 weight percent have been used. The use of sodium oleate as a phase trans-

fer catalyst allows to accelerate 1,4 times the arylation reaction (Scheme 1).

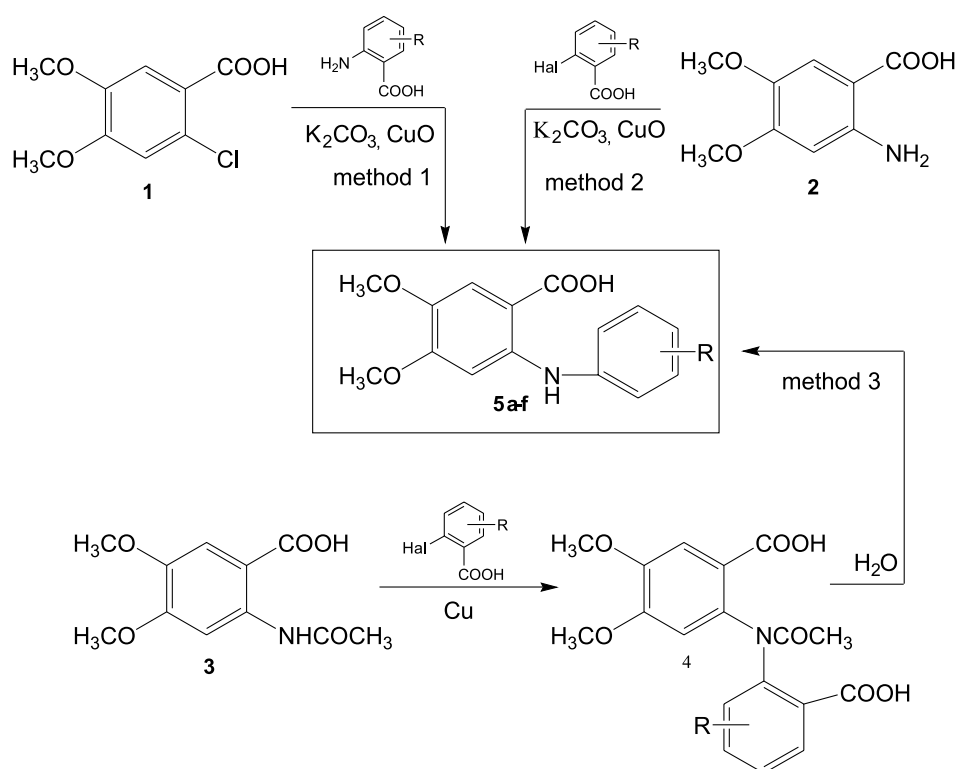
The structure and identity of 4,5-dimethoxy-N-(2'-carboxyphenyl)anthranilic acids have been confirmed by elemental analysis, IR-, NMR-spectroscopy, chromatographic analysis and qualitative reactions (Table 1, 2, 3).

IR-spectra of 4,5-dimethoxy-N-(2'-carboxyphenyl)anthranilic acids (5a-f) are characterized by a number of intense bands, which correspond to the main structural fragments of molecules of the substances synthesized,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3362-3258 ( $\nu_{\text{NH}}$ ), 1709-1659 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ), 1591-1570 ( $\delta_{\text{NH}}$ ), 1235-1206 ( $\nu_{\text{CN}}$ ). The strong bands of nitrogroup  $\nu \frac{\text{as}}{\text{s}} \text{NO}_2$ , 1523  $\text{cm}^{-1}$  and  $\nu \frac{\text{s}}{\text{NO}_2}$ , 1351-1350  $\text{cm}^{-1}$  are also characteristic for the spectra of compounds (5a-f).

In the NMR-spectra of acids (5a-f) signals of aromatic protons in the range of 6.50-7.90 ppm have been identified. The proton signals of the secondary amino group appear as a broad singlet in the region of 8.05-11.18 ppm. The proton signals of the methoxy group are one or two singlets at 3.60-3.80 ppm (Table 3).

As a continuation of a number of papers [4, 12-19] related to the study of reactivity of biologically active substituted N-phenylanthranilic acids, dissociation of 4,5-dimethoxy-N-(2'-carboxyphenyl)anthranilic acids (5a-f) has been examined according to the equation.

Ionization constants of 4,5-dimethoxy-N-(2'-carboxyphenyl)anthranilic acids have been determined by potentiometric titration in the binary solvent of dioxane-water (60 vol% of dioxane) at 25°C (Scheme 2) [18, 19]. The given method allows to obtain concen-



Scheme 1

**Table 1**

## Characteristics of 4,5-dimethoxy-N-(2'-carboxyphenyl)anthranilic acids synthesized

Com- pound	R	Yield <sup>1</sup> , %						M.p., °C	Found, %		Formula	Calculated, %			
		Method 1			Method 2				Method 3	N		C	N	C	
		A	B	C	A	B	C								A
5a	H	62	69	88	63	74	88	35	50	>300	4.45	60.61	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>6</sub>	4.41	60.57
5b	4'-Br	67	70	92	65	74	90	45	56	>300	3.59	48.53	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> BrNO <sub>6</sub>	3.54	48.51
5c	5'-Cl	68	71	90	65	72	89	47	55	260-264	3.91	54.58	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> ClNO <sub>6</sub>	3.98	54.64
5d	6'-NO <sub>2</sub>	65	74	92	62	70	90	44	57	>300	7.82	52.99	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	7.73	53.04
5e	4',6'-Br	65	75	90	63	72	88	40	55	>300	3.05	40.41	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> BrNO <sub>6</sub>	2.95	40.45
5f	4',6'-NO <sub>2</sub>	69	79	94	65	75	93	43	55	254-257	10.38	47.22	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>16</sub>	10.32	47.18

Note. <sup>1</sup>Crystallized from aqueous ethanol**Table 2**

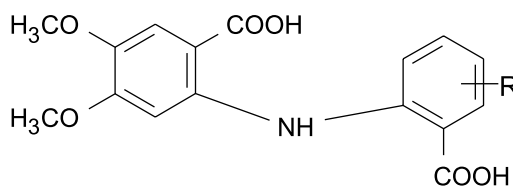
## Acid-base, spectral and chromatographic characteristics of 4,5-dimethoxy-N-(2'-carboxyphenyl)anthranilic acids

Com- pound	R	pKa(1)	pKa(2)	NMR-spectra, chemical shifts (pph)				IR-spectra, absorption maxima, cm <sup>-1</sup>						R <sub>f</sub> <sup>1</sup>
				COOH (1H, s.)	NH (1H, w.s.)	OCH <sub>3</sub>	ArH	V <sub>NH</sub>	V <sub>C=O</sub>	V <sub>C-Ph</sub>	δ <sub>NH</sub>	v $\frac{ds}{s}$ NO <sub>2</sub>	V <sub>C-NH</sub>	
5a	H	6.37±0.02	6.95±0.03	12.95	10.65	3.71 (6H,s)	6.80-7.99(6H,m)	3350	1659	1597	1575	-	1235	0.45
5b	4'-Br	5.74±0.02	6.72±0.02	13.01	10.70	3.65 (6H,s)	6.88-7.90(5H,m)	3356	1668	1613	1582	-	1213	0.40
5c	5'-Cl	6.14±0.01	6.74±0.03	12.93	10.72	3.75 (6H,s)	6.69-7.80(5H,m)	3362	1669	1613	1583	-	1234	0.43
5d	6'-NO <sub>2</sub>	5.14±0.03	6.55±0.01	13.10	10.92	3.82 (6H,s)	7.05-8.75(5H,m)	3258	1675	1616 1589	1570	1523 1351	1206	0.46
5e	4',6'-Br	3.75±0.01	5.76±0.02	12.98	8.05	3.72(3H,s) 3.60(3H,s)	6.50-7.33(4H,m)	3348	1665	1602	1576	-	1230	0.35
5f	4',6'-NO <sub>2</sub>	3.2±0.03	5.83±0.01	12.90	10.80	3.80 (6H,s)	6.72-7.55(4H,m)	3332	1709 1672	1614	1591	1523 1350	1211	0.38

Note. <sup>1</sup>R<sub>f</sub> values are given in the solvent system of ethanol-hexane (1:2.5)

**Table 3**

The proton chemical shift value of 4,5-dimethoxy-N-(2'-carboxyphenyl)anthranilic acids



Compound	R	The chemical shifts (pph)			
		COOH (1H, s)	NH (1H, w.s)	(OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	ArH
5a	H	12.95	10.65	3.71 (6H,s)	6.80-7.85(6H,m)
5b	4'-Br	12.93	10.72	3.75 (6H,c)	6.69-7.80(5H,m)
5c	5'-Cl	12.90	10.80	3.80 (6H,s)	6.72-7.55(4H,m)
5d	6'-NO <sub>2</sub>	13.01	10.70	3.65 (6H,s)	6.88-7.90(5H,m)
5e	4',6'-Br	12.98	8.05	3.72(3H,s) 3.60(3H,s)	6.50-7.30(5H,m)
5f	4',6'-NO <sub>2</sub>	13.20	11.18	3.80 (6H,s)	7.10-8.70(5H,m)

tration of pKa only. However, O.M.Svechnikova has proven that these data do not differ practically from thermodynamic pKa [20]. The results obtained are presented in Table 2.

It has been found while pre-studying the titration curves of compounds (1 a-f) obtained by the electrometric method that N-phenylantranilic acids under research are dibasic subacids,  $\Delta pK_a$  ( $pK_a(II) - pK_a(I)$ ) less than 4. It allowed to use the Noies's method [21] to calculate pKa.

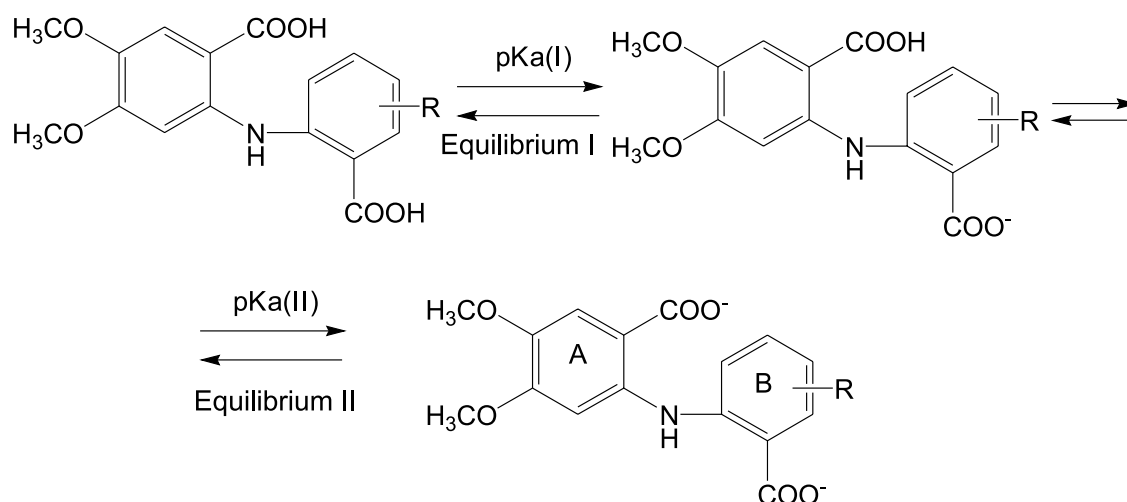
Analysis of the structure of compounds of the isostructural series has demonstrated that dissociation of 2'-carboxyphenylic radical is stronger comparing with the ionogenic carboxyl group of the anthranilic fragment of the molecule (A) due to the presence of strong acceptor substitutes (NO<sub>2</sub>, Cl, Br) in the ring (B), and two donor methoxy groups in the ring (A).

The data presented in Table 2 testify that the nature and position of substitutes have influence upon the acid-base balance of both 4,5-dimethoxy-N-(2'-

carboxyphenyl)anthranilic acids. Introduction of electron-acceptor substitutes strengthens dissociation of acids due to the greater anion stabilization. Electron donor substitutes cause an opposite effect. However, the reactive centres sensitivity to the influence of substitutes differs greatly. For balance (I)  $-pK_a(6) = 1.23$ , and for balance (II)  $-pK_a(1) - pK_a(6) = 0.40$ , i.e. the carboxyl group sensitivity in the ring (B) of 4,5-dimethoxy-N-(2'-carboxyphenyl) anthranilic acids molecules to the influence of substitutes is much greater than sensitivity of the same ionogenic group in the anthranilic fragment (A).

The quantitative assessment of the influence of substitutes in the nonanthranilic fragment of 4,5-dimethoxy-N-(2'-carboxyphenyl)anthranilic acids (5a-f) molecule has been carried out in the range of the principle of linear free energy (LFE) by the Gamete equation (Fig.).

The pKa indices of all compounds studied were used for correlation because schemes of  $pK_a(I) - f(\sigma)$ ,



Scheme 2

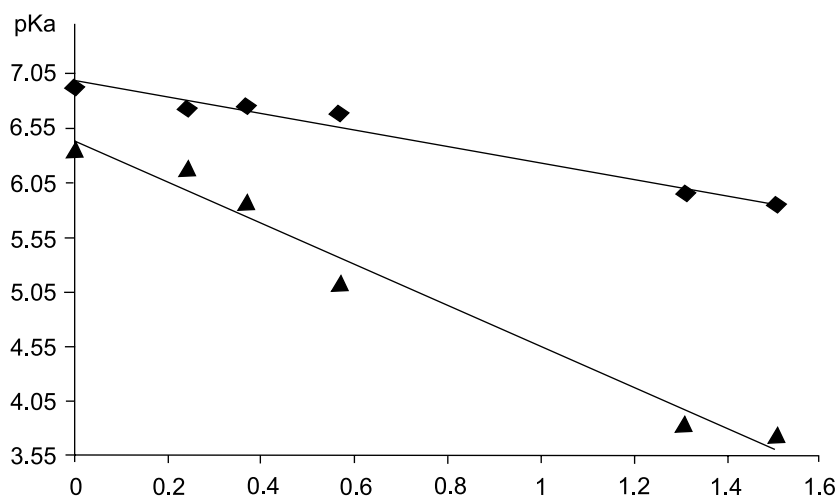


Fig. Dependence of pKa(I) – f( $\sigma$ ), pKa(II) – f( $\sigma$ ) for 4,5-dimethoxy-N-(2'-carboxyphenyl)anthranilic acids in the binary solvent of dioxane-water (60% vol. dioxane) at 25°C.

pKa(II) – f( $\sigma$ ) dependence testify their closeness to linearity.

The equations I and II obtained have statistically significant parameters:

$$\begin{array}{l} \text{Balance I} \\ \text{pKa(I)} = (6.43 \pm 0.06) - (1.78 \pm 0.06)\sigma \quad (1) \\ n=6 \quad \quad \quad s=0.182 \quad \quad \quad r=0.997 \end{array}$$

$$\begin{array}{l} \text{Balance II} \\ \text{pKa(II)} = (6.98 - 0.05) - (0.78 - 0.05)\sigma \quad (2) \\ n=6 \quad \quad \quad s=0.154 \quad \quad \quad r=0.991 \end{array}$$

Comparison of the reaction constants  $\rho_I=1.78$  and  $\rho_{II}=0.78$  shows that sensitivity of the reactive centre I (carboxyl group in the ring B) is 2.3 times higher than sensitivity of the reactive centre II (carboxyl group in the ring A). Probably, it is connected with the different distance between carboxyl groups and substitutes in the ring B. It should be noted that appearance of another reactive centre does not practically influence upon sensitivity (within the limits of experimental error  $\rho_{II}$  corresponds to  $\rho$  from the other isostructural series of N-phenylanthranilic acids) [12, 13, 18-20]. For balance I sensitivity of the reactive centre is sufficiently high because of closeness of substitutes.

It has been found that the substances synthesized have the anti-inflammatory, analgesic, diuretic, bacteriostatic and fungistatic activity. According to the classification by K.K. Sydorov the substances synthesized when introducing intragastrically belong to low-toxic compounds ( $DL_{50} > 3000$  mg/kg).

### Experimental Part

Melting points (°C) were measured with the Koeffler's point apparatus and were not corrected. IR-spectra were recorded by the FT-IR Bruker Tensor 27 spectrometer in KBr.  $^1\text{H}$  NMR-spectra were recorded by the Varion Mercury 200 (200 Mhz) spectrometer in

DMSO- $d_6$  using TMS as an internal standard (chemical shifts are reported in ppm).

The derivatives of 4,5-dimethoxy-N-(2'-carboxyphenyl)anthranilic acid were synthesized by a modified Ullmann reaction [1, 3]. The compounds obtained were recrystallized three times from ethanol and dried to 105°C up to the constant weight. The purity of the compounds was checked by thin-layer chromatography.

Reagents. Dioxane used («oscillating») was not purified additionally.

For preparing mixed solutions a fresh boiled bi-distillate liberated from  $\text{CO}_2$  was used [21].

The methods of measurements were similar to those described in [21]. 0.05 M aqueous solution of KOH purified from  $\text{CO}_2$  served as a titration agent. The concentration of titration solutions was 0.005 mol/l. Potentiometric titration was conducted at 25°C on an EV-74 ionometer using a glass electrode ESP-43-074 and a silver chloride electrode EVL-1 M. The pKa of acetic acid in the binary solvent of dioxane-water solution (60 vol% of dioxane) was determined as a standard (pKa exp. = 7.50; 5.52; 7.49).

The pKa measurements were conducted for each compound independently. The accuracy of the results obtained was estimated by the methods of mathematical statistics (with the reliability level of 0.95) [22].

### Conclusions

1. The preparative methods for synthesis of 4,5-dimethoxy-N-(2'-carboxyphenyl)anthranilic acids in the solid phase and in the aqueous medium with the use of a phase transfer catalyst – sodium oleate have been developed.

2. Reactivity of 4,5-dimethoxy-N-(2'-carboxyphenyl) anthranilic acids (6 compounds) has been investigated by studying the acid-base balance of these compounds in the binary solvent of dioxane-water.

3. It has been found that 4,5-dimethoxy-N-(2'-carboxyphenyl) anthranilic acids are dibasic subacids,



which strength depends upon the nature and position of substitutes.

4. The quantitative assessment of the influence of substitutes on two reactive centres of the acids synthesized has been carried out by the method of correlation analysis according to the Gamete equation.

5. It has been proven that sensitivity of the reactive centres substantially differs and depends on the

distance of the substitutes. Herewith, appearance of another reactive centre does not practically influence on sensitivity of the first centre.

6. The correlation equations  $pK_{a(i,ii)} - f(\sigma)$  obtained for 4,5-dimethoxy-N-(2'-carboxyphenyl)anthranilic acids allow to predict acid-base properties of the other compounds of this isostructural series and to use them for QSAR-analysis.

## References

1. Ісаєв С.Г., Сулейман М.М., Свєчнікова О.М. // Мед. хімія. – 2010. – Т. 12, №2 (43). – С. 82-86.
2. Ісаєв С.Г., Павлій О.О., Брунь Л.В. та ін. // Ліки. – 2007. – №3/4. – С. 75-79.
3. Ісаєв С.Г. Синтез, реакційна здатність і біологічна активність похідних орто-галогенбензойних, ароматичних амінокислот та акридину: Дис. ... д-ра. фармац. наук. – Х., 2008. – 357 с.
4. Ісаєв С.Г., Свєчнікова О.М., Сулейман М.М. // Фармац. часопис. – 2012. – №3 (23). – С. 12-16.
5. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Изд. 15-е, перераб., испр. и доп. – М.: Новая волна, 2005. – 1200 с.
6. Оптимізація пошуку ефективних лікарських засобів на основі N-фенілантранілових кислот: Інформ. лист №193-03 / Укладачі: С.Г.Ісаєв, О.О.Павлій, І.А.Зупанець та ін. – К., 2003. – Вип. №13 з проблеми «Фармація». – 5 с.
7. Chikina E.L., Isaev S.G., Svechnikova E.N. Proceedings of the IVTN-2004 Computer application in scientific researches IVTN-2004. – P. 31.
8. Lassiani L., Pavan M., Berti F. // Bioorg. and Medicinal Chem. – 2009. – Vol. 17, №6. – P. 2336-2350.
9. Renaud R., Vincent T., Cazoline N. et al. // J. Biol. Chem. – 2004. – Vol. 279, №20. – P. 21160-21168.
10. Tsutomu Nakahara, Akiko Mitani, Maki Saito et al. // Vascular Pharmacol. – 2004. – Vol. 41, №1. – P. 21-25.
11. Xunfeng M., Adam T. August, Christian Wolf // J. Biol. Chem. – 2006. – №7. – P. 142-149.
12. Гайдукевич А.Н., Свєчнікова Е.Н., Голик Н.Ю // ЖОХ. – 1994. – Т. 64, вип. 10. – С. 1705-1709.
13. Гайдукевич А.Н., Арсєньєва Т.И., Свєчнікова Е.Н., Микитенко Е.Е. // ЖОХ. – 1992. – Т. 62, вип. 62. – С. 1589-1591.
14. Ісаєв С.Г., Свєчнікова О.М., Сулейман М.М., Жукова Т.В. // Вісник фармації. – 2012. – №3 (71). – С. 52-56.
15. Ісаєв С.Г., Свєчнікова О.М., Алферова Д.О. та ін. // Вісник фармації. – 2013. – №2 (74). – С. 45-48.
16. Ісаєв С.Г., Свєчнікова О.М., Павлій О.І. // Фармац. журн. – 2002. – №5. – С. 63-68.
17. Свєчнікова О.М., Ісаєв С.Г., Павлій О.І. та ін. // Вісник фармації. – 2002. – №3 (31). – С. 22-25.
18. Gaidukevich A.N., Svechnikova E.N., Dynnik E.V. et al. // Org. Reactivity. – 1990. – Vol. XXVII, issue 1 (97). – P. 87-96.
19. Gaidukevich A.N., Svechnikova E.N., Kolesnik S.V. et al. // Org. Reactivity. – 1990. – Vol. XXVII, issue 3 (99). – P. 152-158.
20. Свєчнікова О.М. Реакційна здатність, зв'язок структура-біологічна активність та використання похідних N-фенілантранілової кислоти: Дис. ... д-ра. хім. наук. – Х., 1999. – 299 с.
21. Альберт А., Сержент Е. Константы ионизации кислот и оснований. – М.: Химия, 1964. – 178 с.
22. Львовский Е.Н. Статистические методы построения эмпирических формул. – М.: Высш. шк., 1988. – 125 с.

Надійшла до редакції 22.05.2013 р.

# «GREEN» SYNTHESIS OF ETHYL 4-HYDROXY-2-OXO-1,2-DIHYDROQUINOLINE-3-CARBOXYLATES

I.V.Ukrainets, O.V.Gorokhova, X.V.Andreeva, N.Yu.Golik

National University of Pharmacy,  
53, Pushkinska str., Kharkiv, 61002, Ukraine. E-mail: uiv-2@mail.ru

**Key words:** ethyl 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylates; pyrido[3,2,1-ij]-quinolines; pyrrolo[3,2,1-ij]quinolines; 3-(1-quinolinyl)propanenitriles» «green chemistry»

One of the most convenient methods for obtaining ethyl of N-substituted 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylates and their tricyclic analogues at present is condensation of the corresponding anilines with triethyl methanetricarboxylate. In spite of the fact that there are many methods describing the successful performance of this reaction in conditions of laboratory, but unfortunately, all of them appeared to be completely unusable for large production for a variety of reasons. The study of quality of the esters of 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acids by HPLC has shown that all of them contain from 2.4 to 5.6% of specific admixtures of 4-hydroxy-1,2-dihydroquinolin-2-ones. In laboratory conditions these amounts can be neglected, but for industrial manufacture they can turn into great losses. The source of admixtures of 4-hydroxy-1,2-dihydroquinolin-2-ones appearing in crude esters can be only the esters themselves. It is obvious that ester grouping is partially destroyed not in the process of separation of the final products, but during the course of the basic reaction. It has been experimentally proven that the cause of contamination of the target products with the admixtures of the corresponding 4-hydroxy-1,2-dihydroquinolin-2-ones is water, which is present in reagents. Applying the principles of «green chemistry» the alternative for carrying out the syntheses of ethyl 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylates adapted for industrial manufacture has been suggested on the basis of N-substituted anilines and triethyl methanetricarboxylate.

## «ЗЕЛЕНИЙ» СИНТЕЗ ЕТИЛОВИХ ЕСТЕРІВ 4-ГІДРОКСИ-2-ОКСО-1,2-ДИГІДРОХІНОЛІН-3-КАРБОНОВИХ КИСЛОТ

I.V.Українець, O.V.Горохова, K.B.Андрєєва, M.Ю.Голік

**Ключові слова:** естер 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбоксилатів; піридо[3,2,1-ij]-хіноліни; пірроло[3,2,1-ij]-хіноліни; 3-(1-хінолініл)пропаннітрили; «зелена хімія»

Одним з найбільш зручних способів одержання етилових естерів N-заміщених 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонových кислот та їх трициклічних аналогів на теперішній час залишається конденсація відповідних анілінів з триетилметантрикарбоксилатом. Незважаючи на те, що методів успішного проведення цієї реакції в лабораторних умовах описано досить багато, всі вони, на жаль, з різних причин виявились зовсім непридатними для масштабного виробництва. Вивчення якості одержуваних естерів 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонových кислот методом ВЕРХ показало, що всі вони містять від 2,4 до 5,6% специфічних домішок 4-гідрокси-1,2-дигідрохінолін-2-онів. У лабораторній практиці такими кількостями можна знехтувати, але для промислового виробництва вони можуть обернутися значними втратами. Джерелом появи в неочищених естерах домішок 4-гідрокси-1,2-дигідрохінолін-2-онів можуть бути тільки самі ці естери. Очевидно естерне угруповання частково розкладається не при виділенні кінцевих продуктів, а ще в процесі проведення основної реакції. Експериментально доведено, що причиною забруднення цільових продуктів специфічними домішками відповідних 4-гідрокси-1,2-дигідрохінолін-2-онів є присутня в реагентах вода. Керуючись принципами «зеленої хімії», ми запропонували адаптований під промислове виробництво варіант проведення синтезів етилових естерів 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонových кислот на основі N-заміщених анілінів та триетилметантрикарбоксилату.

## «ЗЕЛЁНЫЙ» СИНТЕЗ ЭТИЛОВЫХ ЭФИРОВ 4-ГИДРОКСИ-2-ОКСО-1,2-ДИГИДРОХИНОЛИН-3-КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

I.V.Українець, O.V.Горохова, K.B.Андрєєва, H.Ю.Голік

**Ключевые слова:** эфир 4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоксилатов; пиридо[3,2,1-ij]-хинолины; пирроло[3,2,1-ij]-хинолины; 3-(1-хинолинил)пропаннитрилы; «зеленая химия»

Одним из наиболее удобных способов получения этиловых эфиров N-замещённых 4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбонových кислот и их трициклических аналогов в настоящее время остаётся конденсация соответствующих анилинов с триэтилметантрикарбоксилатом. Несмотря на то, что методов успешного проведения этой реакции в лабораторных условиях описано достаточно много, все они, к сожалению, по разным причинам оказались совершенно непригодными для крупного производства. Изучение качества получаемых сложных эфиров 4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбонových кислот методом ВЭЖХ показало, что все они содержат от 2,4 до 5,6% специфических примесей 4-гидрокси-1,2-дигидрохинолин-2-онов. В лабораторной практике этими количествами можно пренебречь, но для промышленного производства они могут обернуться значительными потерями. Источником появления в неочищенных эфирах примесей 4-гидрокси-1,2-дигидрохинолин-2-онов могут быть только сами эти эфиры. Очевидно сложное молекулярное угруповання частково розрушається не при виділенні кінцевих продуктів, а ще в процесі проведення основної реакції. Експериментально доказано, що причиною загрознєння цєлевих продуктів примєсями соотвєтствующих 4-гидрокси-1,2-дигидрохинолин-2-онов являється присутствующая в реагентах вода. Руководствуясь принципами «зеленой химии», мы предложили адаптированный под промышленное производство вариант проведения синтезов этиловых эфиров 4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбонových кислот на основе N-замещённых анилинов и триэтилметантрикарбоксилата.

The scientific direction «green chemistry» appeared only at the end of the XX-th century, but it has already found a lot of followers in the world chemical community. And this is not surprising since by now environmental protection from the negative effect of chemical enterprises has been changed from initially fashionable trend into vital necessity. Even a shallow analysis of the principles declared by «green chemistry» [1-2] shows that their implementation (even partial) while synthesizing any given chemical product affect positively the various sides of the industrial production – from economic to ecological ones. Therefrom our interest is in the topic imposed by the prospect of entering some new medicines of the range of 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamides at the pharmaceutical market.

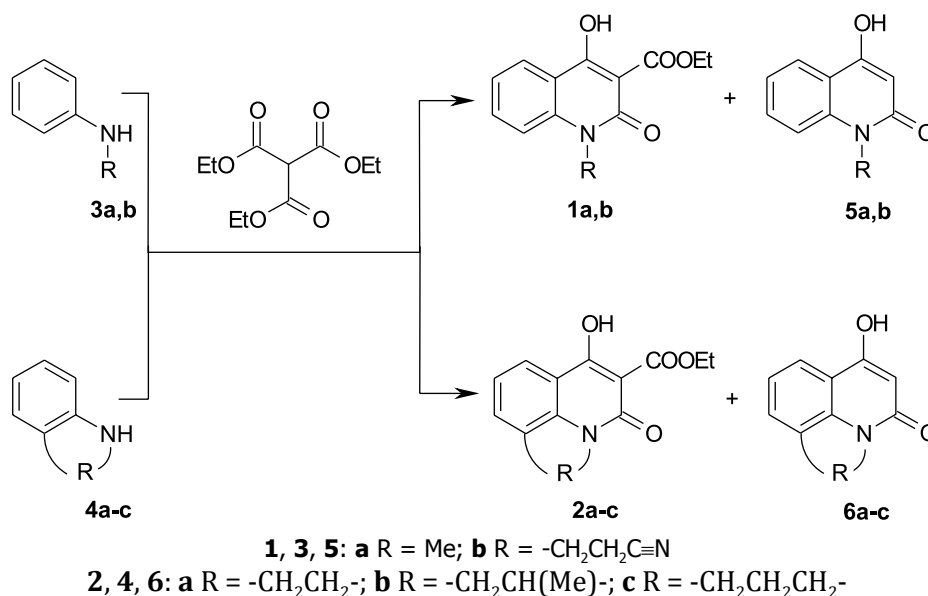
The initial products for obtaining such compounds are, as a rule, lower alkyl esters (more often ethyl) of the corresponding quinolinecarboxylic acids [3-5]. Amidation of the acids themselves is possible [4-6]. However, due to their high tendency to decarboxylation (especially in solution) [7] such methods are used in practice in very rare cases.

One of the most convenient methods for obtaining ethyl of *N*-substituted 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylates **1** and their tricyclic analogues **2** at present is condensation of the corresponding anilines **3** or **4** with triethyl methanetricarboxylate (Scheme).

In spite of the fact that there are many methods describing the successful performance of this reaction in conditions of laboratory, but unfortunately, all of them appeared to be completely unusable for large production for a variety of reasons. That is why we have proposed the modified method constituting a gradual addition of *N*-substituted aniline into the solution of triethyl methanetricarboxylate in diphenyl oxide heated up to 215-220°C [8]. This modifica-

tion allows working with great loads and basically can be easily reproduced industrially. At the same time the necessity of using diphenyl oxide as the «weakest link» of the whole synthetic chain can become an extremely serious problem with time. On the one hand, this thermal medium has excellent characteristics of thermal and chemical stability. Its benefits are also low toxicity for many animals [9, 10] and human [11]. But on the other hand, it should be remembered that even with all things considered diphenyl oxide is added to the list of chemicals that are hazardous for the environment. It is inflammable, can form high-toxic decomposition products and smoke when burning. Finally, ingress of this material into waste water and water supply is not absolutely permissible because of its high toxicity for aquatic life. In other words, the risk of occurrence of different emergency situations and environmental threats stipulated by use of diphenyl oxide will be kept constant without regard to the strictest control over production.

A durable solution of this problem can be one of the approaches of «green chemistry», namely to refuse to use of potentially toxic solvents. In case of the reaction considered its practical implementation is rather easy since one of the main reagents (triethyl methanetricarboxylate) is perfectly acceptable as an alternative to diphenyl oxide by its physical properties. In fact, addition of *N*-substituted anilines **3-4** into triple excess of triethyl methanetricarboxylate heated to 215-220°C gives ethyl esters of the corresponding quinolinecarboxylic acids **1-2** with high yields. It is true that therefrom the additional task appears – regeneration of triethyl methanetricarboxylate taken in excess. However, we have found that upon completion of condensation the excess of this expensive reagent is rather easily returned to production with losses not exceeding 5% (see Experimental Part).



Scheme. The synthesis of ethyl 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylates **1** and **2**.

It should be noted that removal of diphenyl oxide from the synthetic scheme is imposed not only with production and ecological safety. The study of quality of the esters **1** and **2** by HPLC has shown that all of them contain from 2.4 to 5.6% of specific admixtures of 4-hydroxy-1,2-dihydroquinolin-2-ones **5** or **6**. In laboratory conditions these amounts can be neglected, but for industrial manufacture they can turn into great losses. It is worth remembering one more principle of «green chemistry» – the tendency to introduction of technologies allowing to reduce the yields of undesirable by-products.

The source of admixtures of 3*H*-quinolines **5-6** appearing in crude esters **1-2** can be only the esters themselves. Our tentative assumption that their partial hydrolysis and subsequent easily proceeding decarboxylation [7] occur at the stage of separation (when treating with a hot aqueous solution of sodium carbonate [8]) or in the process of drying has not been confirmed. In the experiments carried out under conditions that exclude contacts with water the similar results have been obtained. It is obvious that ester grouping is partially destroyed not in the process of separation of the final products, but during the course of the basic reaction. A strong argument in favour of such conclusion is the fact that ethyl esters of 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acids begin to reveal anomalously high sensitivity to water and rapidly decompose at 95°C [12]. It is clear that at 215-220°C all water, which present in the reaction mixture, will be inevitably involved in hydrolysis of the resulting cyclic ester **1** or **2**. Therefore, the less water is in initial reagents, the lower is the yield of by-products of 4-hydroxy-1,2-dihydroquinolin-2-ones **5** and **6**. This fact has just become another incentive for refusal of diphenyl oxide use as an additional potentially possible source of water.

To remove water from the main components of the reaction – *N*-substituted anilines and triethyl methanetricarboxylate – can be done by various ways. We believe that it is expedient to use commercially available molecular sieves as drying agents. They have a good desiccant ability, readily regenerate, and, of no less importance, they are environmentally harmless. Finally it should be noted that with introduction of reagents dried in such way into the synthesis the undesired process of 3*H*-quinolines formation can be completely suppressed. In our experiments their content in crude esters **1-2** did not exceed 0.1%.

Thus, based on detailed study of peculiarities of the reaction of *N*-substituted anilines with triethyl methanetricarboxylate the method, which is simple in performance and at the same time highly effective and suitable for large scale production, for obtaining ethyl esters of 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acids and their tricyclic analogues has been suggested.

## Experimental Part

Identification of the esters **1** and **2** synthesized is confirmed by NMR <sup>1</sup>H spectra recorded on a Varian Mercury-400 spectrometer (400 MHz) in the solution of DMSO-d<sub>6</sub>, the internal standard TMS by comparing with the similar spectra of the known samples [8, 12-15]. Their quantitative analysis is carried out by HPLC using a Waters Alliance 2695 liquid chromatograph with a Waters PDA 2998 diode matrix spectrophotometric detector. The chromatographic conditions are: the analytical column – Agilent Zorbax SB-CN with the size of 4.6×250 mm; the particle size of the sorbent – 5 μm; the flow rate of the mobile phase – 1 ml/min; the column temperature – 30°C; the injection volume – 20 μl; detection at wavelength of 235 nm. The composition of the mobile phase is the mixture of 0.05 M phosphate buffer solution with pH 3.0 and acetonitrile (55:45). In chromatographic studies as tracking substances the known samples of esters **1** and **2**, as well as 3*H*-quinolines **5** and **6** are used.

**Ethyl 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylates 1-2 (General Method).** In 69.67 g (0.3 Mol) of triethyl methanetricarboxylate heated to 215-220°C add dropwise while stirring 0.1 mol of the corresponding *N*-substituted aniline **3** or **4** taking into account the temperature of the reaction mixture, which should be maintained in the range of 215±5°C. In case of solid amines (for example, 3-anilinepropanenitrile **3b**) to 0.2 Mol of triethyl methanetricarboxylate add 0.1 Mol of aniline solution in 0.1 Mol of triethyl methanetricarboxylate. Remove ethanol liberating in the course of the reaction via a suitable reflux condenser without entrainment of initial reagents. After addition of all aniline, mix the reaction mass for 1 h at 220°C to complete the reaction. Then cool it to ~ 150°C, change the reflux condenser to the descending condenser and distill the excess of triethyl methanetricarboxylate under reduced pressure (2-5 mm Hg). On the average 44.3 g of triethyl methanetricarboxylate, which is available for resynthesis without additional purification, is obtained. While stirring add 200 ml of hexane to the residue cooled to ~ 70°C. Gradually while decreasing the temperature the viscous reaction mass is crystallized. Sometimes, for example, in case of ethyl 6-hydroxy-2-methyl-4-oxo-2,4-dihydro-1*H*-pyrrolo [3,2,1-*ij*]quinoline-5-carboxylate (**2b**) to accelerate crystallization it is useful to add inoculation. Filter the light-yellow precipitate formed, wash with hexane and dry. The yields are 86-97% with the content of the active substance not less than 94%. The technical esters **1** or **2** obtained in such way are suitable for the majority of further chemical transformations without additional purification.

## References

1. Schulte P.A., McKernan L.T., Heide D.S. et al. // *Environ. Health.* – 2013. – Vol. 12-31 / doi: 10.1186/1476-069X-12-31.
2. Anastas P.T., Warner J.C. *Green Chemistry: Theory and Practice.* – New York: Oxford University Press, 1998. – P. 30-34.
3. Collin X., Robert J.M., Duflos M. et al. // *J. Pharm. Pharmacol.* – 2001. – Vol. 53, №3. – P. 417-423.
4. Jönsson S., Andersson G., Fex T. et al. // *J. Med. Chem.* – 2004. – Vol. 47, №8. – P. 2075-2088.
5. Ukrainets I.V., Mospanova E.V., Berezhnyakova N.L., Naboka O.I. // *Chem. Heterocycl. Comp.* – 2007. – Vol. 43, №12. – P. 1532-1539.
6. Marquess D., Fatheree P.R., Turner D.S. et al. // *WO Patent 2005/100350.* – 2005.
7. Ukrainets I.V., Davidenko A.A., Mospanova E.V. et al. // *Chem. Heterocycl. Comp.* – 2010. – Vol. 46, №5. – P. 559-568.
8. Ukrainets I.V., Golik N.Yu., Andreeva K.V., Gorokhova O.V. // *Chem. Heterocycl. Comp.* – 2010. – Vol. 46, №12. – P. 1459-1466.
9. Hefner R.E., Leong B.K., Kociba R.J., Gehring P.J. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 1975. – Vol. 33, Iss. 1. – P. 78-86.
10. Hardy M.L. // *Chemosphere.* – 2002. – Vol. 46, №5. – P. 717-728.
11. Kheifits L.A., Dashunin V.M. *Fragrances and Other Products for Perfumes.* – Moscow: Khimia, 1994. – P. 154-155.
12. Ukrainets I.V., Golik N.Yu., Shemchuk A.L. et al. // *Chem. Heterocycl. Comp.* – 2011. – Vol. 47, №7. – P. 826-832.
13. Ukrainets I.V., Gorokhova O.V., Taran S.G. et al. // *Chem. Heterocycl. Comp.* – 1994. – Vol. 30, №7. – P. 829-836.
14. Ukrainets I.V., Sidorenko L.V., Gorokhova O.V. et al. // *Chem. Heterocycl. Comp.* – 2006. – Vol. 42, №5. – P. 631-635.
15. Ukrainets I.V., Berezhnyakova N.L., Grinevich L.A. et al. // *Chem. Heterocycl. Comp.* – 2010. – Vol. 46, №6. – P. 699-710.

Надійшла до редакції 10.06.2013 р.

---

## Acknowledgments

The authors are deeply indebted to Doctor of Chemistry A.V.Turov (Taras Shevchenko National University, Kiev, Ukraine) for his help in registration of NMR spectra.

УДК 547.745: 547.781: 547.789.18: 547.759.4: 547.792.3

# CARBON-CARBON AND CARBON-HETEROATOM CONJUGATE ADDITION OF N-SUBSTITUTED MALEIMIDES TO 4H-1,2,4-TRIAZOL-3-THIOLES, 2-AMINO-1,3-THIAZOLES, 1H-IMIDAZOLE AND 2-PHENYLINDOLIZINE CATALYZED BY LEWIS ACIDS

T.V.Matviiuk\*/\*\*, M.V.Gorichko\*, C.Lherbet\*\*/\*\*, M.Baltas\*\*/\*\*, Z.V.Voitenko\*

\* Department of Chemistry, Taras Shevchenko National University of Kyiv, 64, Volodymyrska str., Kyiv, 01601, Ukraine. E-mail: z\_voitenko@mail.univ.kiev.ua;

\*\* Université de Toulouse, UPS, Laboratoire de Synthèse et Physico-Chimie de Molécules d'Intérêt Biologique

\*\*\* CNRS; Laboratoire de Synthèse et Physico-Chimie de Molécules d'Intérêt Biologique

*Key words: Michael addition; catalyst; maleimide; Lewis acids; succinimide, regioselectivity*

*In the paper the cheap and effective method of the synthesis of 3-heteryl substituted succinimides via catalytic Michael addition are presented. Lewis acids have been found to be effective catalysts for conjugate addition of N-aryl substituted maleimides to the heterocycles with donor-heteroatoms or CH-active function. Catalytic reactions proceed in mild conditions without formation of by-products that are often present in the classical Michael reaction. The compounds synthesized are promising and interesting substrates for biological evaluation since numerous natural products, drugs and drug candidates bear the succinimide core. Moreover, regioselectivity of addition of ambident heterocyclic nucleophiles such as 4H-1,2,4-triazole-3-thiole, 1H-imidazole and 2-amino-1,3-thiazole to maleimides have been investigated. Lewis acids such as aluminium chloride, zinc chloride and lithium perchlorate have been tested on different heterocyclic substrates as catalysts. Interestingly, depending on nucleophilicity of the substrate different Lewis acids have shown significantly varying efficacy. In this respect aluminium chloride was identified as the most effective catalyst for C–C addition among the Lewis acids tested. Lithium perchlorate appears to be the most efficient in the case of C–N addition with the endocyclic nitrogen atom of the heterocycle. Zinc chloride shows a good catalytic efficacy in addition of maleimides to the exocyclic amino group of 2-aminothiazole. Finally, the advantages of the catalytic approach developed such as mild reaction conditions, easy handling, low toxicity of the catalysts and their low cost make this method useful for the synthesis of new 3-heteryl substituted succinimides, which, in turn, are interesting substrates in medicinal chemistry.*

**КАТАЛІТИЧНЕ КАРБОН-КАРБОН ТА КАРБОН-ГЕТЕРОАТОМ СПРЯЖЕНЕ ПРИЄДНАННЯ N-ЗАМІЩЕНИХ МАЛЕЇНІМІДІВ ДО 4Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОЛІВ, 2-АМІНО-1,3-ТІАЗОЛІВ, 1Н-ІМІДАЗОЛУ ТА 2-ФЕНІЛІНДОЛІЗИНУ В ПРИСУТНОСТІ КИСЛОТ ЛЬЮІСА**

**Т.В.Матвіюк, М.В.Горічко, К.Лербет, М.Бальтас, З.В.Войтенко**

**Ключові слова:** приєднання за Міхаелем; каталізатор; малеїнімід; кислоти Льюїса; сукцинімід; регіоселективність

*В даній публікації представлений простий та економічний метод синтезу похідних 3-гетерилзаміщених піролідин-2,5-діонів за допомогою каталітичної реакції Міхаеля. В якості каталізаторів були використані кислоти Льюїса, які показали високу каталітичну ефективність у реакціях приєднання N-арил заміщених малеїнімідів до донорних та СН-активних гетероциклів. Представлені реакції перебігають в основному при кімнатній температурі і м'яких умовах, що дозволяє уникнути утворення небажаних побічних продуктів. Синтезовані речовини є цікавими та перспективними об'єктами з точки зору медичної хімії, оскільки відомо, що сполуки із сукцинімідним ядром проявляють антибактеріальну, протитуберкульозну та антиепілептичну активність. Відомі також природні сполуки з піролідин-2,5-діоновим фрагментом, що використовуються як ефективні та селективні антибіотики. У даній роботі було досліджено регіоселективність приєднання малеїнімідів до гетероциклічних субстратів з двома альтернативними донорними центрами. В якості каталізаторів були використані хлориди алюмінію та цинку, а також літій перхлорат. Було виявлено, що випробувані кислоти Льюїса проявляють різну каталітичну активність на різних субстратах, що вочевидь залежить від нуклеофільності гетероциклу. Найбільш ефективним каталізатором для С–С приєднання виявився алюмінію хлорид. У свою чергу, літій перхлорат показав високу каталітичну активність для С–N приєднання, а цинку хлорид був ідентифікований, як найбільш ефективний у випадку приєднання малеїнімідного кільця до екзоциклічної аміногрупи 2-амінотіазолу. Перевагами даного каталітичного методу є м'які реакційні умови, низька токсичність каталізаторів та їх низька ціна, що робить даний підхід синтетично вигідним для отримання 3-гетерилзаміщених піролідин-2,5-діонів.*

**КАТАЛИТИЧЕСКОЕ УГЛЕРОД-УГЛЕРОД И УГЛЕРОД-ГЕТЕРОАТОМ СОПРЯЖЕННОЕ ПРИСОЕДИНЕНИЕ N-ЗАМЕЩЕННЫХ МАЛЕИНИМИДОВ К 4Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОЛАМ, 2-АМІНО-1,3-ТІАЗОЛАМ, 1Н-ИМИДАЗОЛУ И 2-ФЕНИЛІНДОЛІЗИНУ В ПРИСУТСТВИИ КИСЛОТ ЛЬЮИСА**

**Т.В.Матвюк, М.В.Горічко, К.Лербет, М.Бальтас, З.В.Войтенко**

**Ключевые слова:** присоединение по Михаэлю; каталізатор; малеинимид; кислоти Льюиса; сукцинимид; региоселективность

*В настоящей статье представлен простой и эффективный экономный метод синтеза 3-гетерилзамещенных пирролидин-2,5-дионов с помощью каталитической реакции Михаэля. В качестве катализаторов были использованы кислоты Льюиса, которые показали высокую каталитическую активность в ре-*

акциях присоединения *N*-арилзамещенных малеинимидов к донорным гетероциклам. Представленные реакции протекают в большинстве случаев при комнатной температуре и мягких условиях, что позволяет избегать образования нежелательных побочных продуктов. Синтезированные соединения являются перспективными в области медицинской химии, поскольку хорошо известно, что производные пирролидин-2,5-дионов обладают антибактериальной, антиэпилептической и противотуберкулезной активностью. Также известны продукты природного происхождения, содержащие сукцинимидное ядро, которые являются эффективными и селективными антибиотиками. В представленной работе была исследована региоселективность присоединения малеинимидов к гетероциклическим субстратам. В качестве катализаторов были использованы хлориды алюминия, цинка и перхлорат лития. Оказалось, что апробированные кислоты Льюиса имеют разную каталитическую активность на разных субстратах, что, вероятно, зависит от нуклеофильности гетероцикла. Наиболее эффективным катализатором для C–C присоединения оказался хлорид алюминия, тогда как перхлорат лития показал высокую каталитическую активность при C–N присоединении, а хлорид цинка позволил получить высокие выходы аддуктов в случае присоединения малеинимидов к экзоциклической аминогруппе 2-аминотиазола. Представленный здесь оптимизированный каталитический метод позволяет синтезировать новые 3-гетарилзамещенные пирролидин-2,5-дионы.

Michael and conjugated addition reactions are well known as efficient methods for the construction of carbon-carbon and carbon-heteroatom bonds with wide applications in organic synthesis [1, 2]. These reactions have been widely used in the synthesis of pharmaceutical intermediates, peptide analogues, antibiotics, and other drugs [3-5]. On the other hand, maleimides are an important class of substrates, which have been successfully used in the wide range of organic transformations. They have emerged as excellent dienophiles/dipolarophiles in cycloaddition reactions, as well as Michael acceptors. Traditionally, conjugate additions are performed under the influence of strong bases, but basic conditions often lead to formation of undesirable side products by polymerization, self-condensation, and other reactions.

Due to the presence of two carbonyl groups conjugated with a double bond and nitrogen imide atom maleimides have excellent opportunity to formation of complexes with heavy Lewis acids. In this context the search of new and efficient catalysts for various organic transformations is a relevant area of research nowadays. Various alternative catalysts, such as phase-transfer catalysts, transition-metal complexes, lanthanides, alumina [6], have been proposed [1, 7]. Despite the broad research and scientific attention to this field only a few catalysts can be used for a preparative synthesis due to high costs, difficulties related to their recovery and reuse, and often a complicated procedure of synthesis. Thus, development of new methods using cheap, commercially available, non-toxic catalysts capable of generating products in good yields is of paramount importance.

In the course of our previous study of Michael reaction on heterocyclic substrates with maleimides as electron-deficient dienophiles [8-11] we were trying to expand the boundaries of this reaction and find the optimal experimental conditions. Herein we report results of our research on conjugate addition of maleimides to nucleophilic heterocyclic substrates under the mild catalytic conditions. In this respect, we used Lewis acids because of their efficacy, low cost, ease of handling and low toxicity. Only a few examples of using aluminum chloride, as well as other

Lewis acids were reported for the activation of maleimides [12] and the potency of those catalysts in the field of Michael addition has not been developed yet. Our interest on maleimides as Michael acceptors is also specified because of a large number of reported pharmaceutical substances bearing the pyrrolidine-2,5-dione fragment. For example, Phensuximide and Suclophenide are already more than 40 years in use as effective anticonvulsant and antiepileptogenic drugs [13, 14] and they are still actual nowadays (Fig. 1). Moreover, succinimide is the core structural unit found in natural products. [15, 16]. Since Komura and co-workers in 1987 reported isolation of Andrimid as a new and highly specific antibiotic, 1,3-substituted and 3,4-disubstituted succinimides emerged as a new class of natural products with the important biological activity [17]. Andrimid and Moiramide B (Fig.) exhibit a potent antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and a number of other antibiotic-resistant human pathogens. Those natural antibiotics have been described in the target fatty acid biosynthesis system (FAS) that is the primary target for antitubercular drugs [18]. Furthermore, Hirsutellone A, a natural product bearing the succinimide ring (Fig. 1) displayed a significant growth inhibitory activity against *Mycobacterium tuberculosis* [19]. Due to the wide spectrum of bioactivity of pyrrolidine-2,5-dione derivatives we have synthesized a number of new 3-heteryl substituted succinimides using the optimized catalytic conditions.

## Results and Discussion

In our research we have used *N*-aryl maleimides as electron-deficient reactants in conjugate addition with 4*H*-1,2,4-triazole-3-thioles, 2-amino-1,3-thiazoles, 1*H*-imidazole and 2-phenylindolizine. The reactions, in general, proceed smoothly at the room temperature, and the products are in good yields. C–C, C–N and C–S adducts have been synthesized using aluminum chloride, lithium perchlorate and zinc chloride as catalysts. Regioselectivity of maleimide addition in the presence of two alternative nucleophilic centres in a heterocyclic substrate has been investigated. For example, addition of 4*H*-1,2,4-triazole-

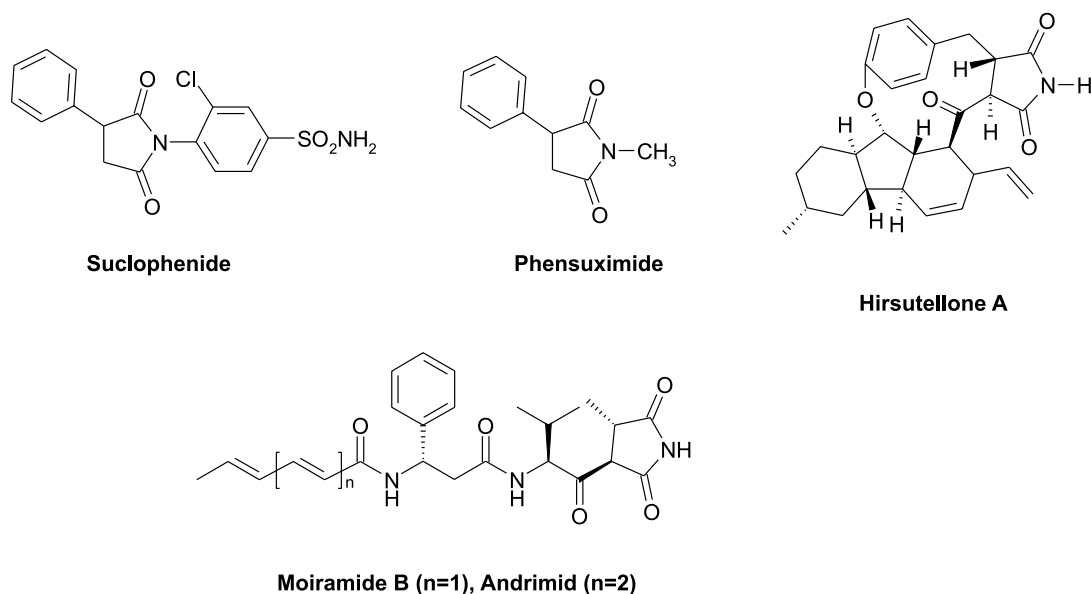


Figure. Structures of anticonvulsant drugs (Phensuximide and Suclophenide), natural antibiotics (Moiramide B and Andrimide) and antimycobacterial alkaloid Hirsutellone A.

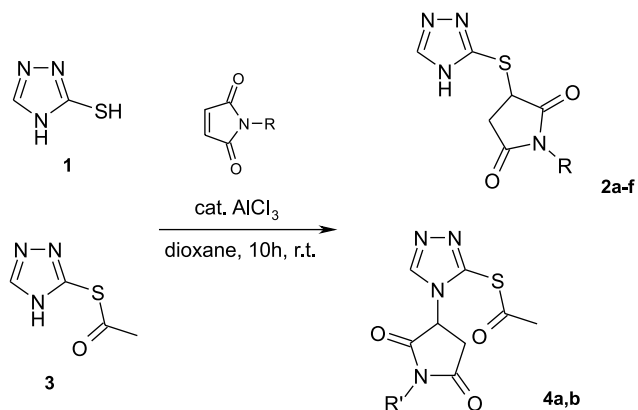
3-thiol (**1**) with maleimides gives the conjugated products *via* a highly nucleophilic mercapto group as a single type of products (Scheme 1) in good yields (Table 1). In the case of the blocked mercapto function (compound **3**) the reaction proceeds *via* the 4-*NH*-position of the heterocycle forming only one product **4a,b**, respectively.

Regioselectivity of Michael addition of maleimides to 2-amino-1,3-thiazoles has been also investigated. Recently we have reported the double conjugate addition of maleimides to 2-amino-1,3-thiazole and 3-substituted-2-aminopyridines in the presence of the catalytic amount of lithium perchlorate [19]. In contrast, the presence of the catalytic amount of zinc chloride leads to formation of C-N mono Michael adducts (**6a,b**) *via* the exocyclic nitrogen atom of the heterocycle (Scheme 2, Table 2). Aluminum chloride appears to be not effective catalyst in this reaction. Only the trace amounts of mono addition products were isolated. In this case regioselectivity of the reaction depends on the catalyst used. *N*-Acylated deriva-

tive of 2-amino-1,3-thiazole (**7**) reacts with maleimide *via* C-5 ring position forming C-C adduct **8**. The reaction proceeds in the presence of aluminum chloride. After refluxing of the reaction mixture for 5 hours, compound **8** was isolated as a single product in 76% yield.

Subsequently imidazole has been selected as a substrate for our further investigation of catalytic conjugate addition since it combines the imido group and a CH-active fragment as alternative reactive positions in one ring. The addition occurs on the nitrogen atom of the heterocycle forming carbon-heteroatom adducts **10a-c** in good yields (Scheme 3, Table 3). The reaction proceeds at the room temperature in the presence of the catalytic amount of lithium perchlorate with full conversion of the starting products in 2 hours. Aluminum and zinc chlorides appear to be not appropriate catalysts, mixtures of hardly identified products were isolated in both cases.

Thereafter 2-phenylindolizine (**11**) was selected as a less reactive substrate that contains only CH-active fragment. Unlike previously used conditions, this



Scheme 1. Carbon-heteroatom conjugate addition of maleimides to 4H-1,2,4-triazole-3-thiol **1** and its acetyl derivative **3**.

**Table 1**

The compounds synthesized

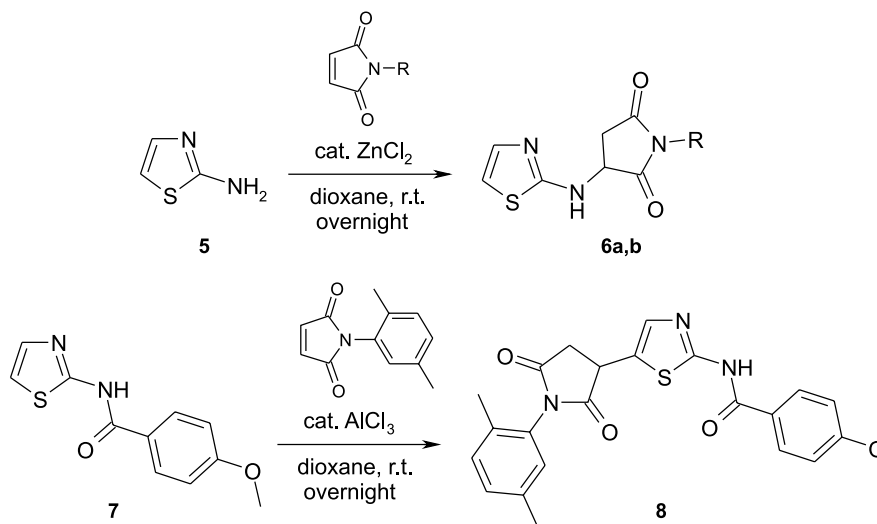
Cmpd	R	Yield %
2a	<i>p</i> -(NO <sub>2</sub> )C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	80
2b	<i>m</i> -(NO <sub>2</sub> )C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	60
2c	<i>p</i> -(OCH <sub>3</sub> )C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	63
2d	<i>m</i> -(Br)C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	80
2e	-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	62
2f	-CH <sub>2</sub> -Ph	50
4a	<i>p</i> -(NO <sub>2</sub> )C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	57
4b	<i>p</i> -(OCH <sub>3</sub> )C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	40



**Table 2**

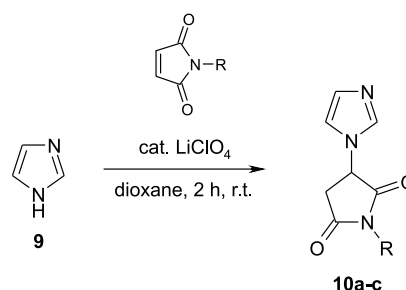
The compounds synthesized

Cmpd	R	Yield %
6a	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	44
6b	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	38

Scheme 2. Michael addition of maleimides to 2-aminothiazoles **5** and **7**.**Table 3**

The compounds synthesized

Cmpd	R	Yield %
10a	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	95
10b	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> - <i>p</i> (OCH <sub>3</sub> )	92
10c	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> - <i>p</i> (NO <sub>2</sub> )	90

Scheme 3. Synthesis of imidazole derivatives **10a-c**.

reaction requires refluxing of the reaction mixture for 6 hours. The products **12a,b** were isolated in good yields only when aluminum chloride was used as a catalyst (Scheme 4, Table 4).

### Experimental Part

All chemicals were obtained from Aldrich or Acros Organics and used without further purification. All solvents were distilled before use. Compounds **3**, **7** and **11** have been synthesized according to the literature procedures and completely characterized using <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR, MS and C,H,N analysis with all the results obtained fitting the previously reported literature data (details are not reported here) [22, 23, 24]. Nuclear magnetic resonance spectra were recorded on a 'Mercury 400' Varian spectrometer (<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR), TMS signal was used as an inter-

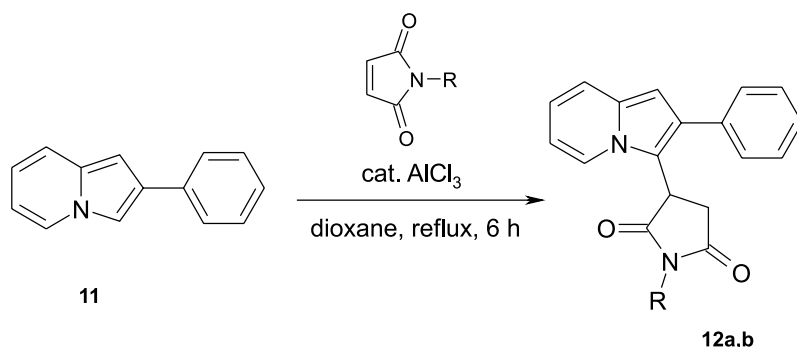
nal standard for calibration of spectral data. Melting points were measured on a Mettler Toledo MP50 melting point system and are uncorrected.

*General procedure for the synthesis of derivatives 2a-f, 4a,b and 8:* 100 mg (0,99 mmol) of 4*H*-1,2,4-triazole-3-thiole (**1**) or 143 mg (0,1 mmol) of *S*-(4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)ethanethioate (**3**) and 1 mmol of *N*-substituted maleimide were dispersed in a dry dioxane. The mixture was stirred for 15 minutes for dissolving of maleimide. Thereafter 2,0 mg of anhydrous aluminum chloride (0,015 mmol) was quickly added. The reaction mixture was stirred at the room temperature for 10 hours. The progress of the reaction was monitored by TLC. After its completion the solvent was evaporated. Then the residue was washed two times with distilled water and the crude product was purified by crystallization.

**Table 4**

The compounds synthesized

Cmpd	R	Yield %
12a	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	84
12b	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	71

Scheme 4. Synthesis of 2-phenylindolizine derivatives **12a,b**.

*1-(4-Nitrophenyl)-3-(4H-1,2,4-triazol-3-ylsulfanyl)-2,5-pyrrolidinedione (2a)*

A crude product was crystallized from methyl alcohol to give a purple powder. Yield 80%; m.p.: 165-166°C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 2.94 dd (1H, J 18.4 Hz, J 3.6 Hz); 3.45 dd (1H, J 18.4 Hz, J 9.6 Hz); 4.62 dd (1H, J 3.6 Hz, J 9.6 Hz); 7.60 d (2H, J 8.2 Hz); 8.34 d (2H, J 8.2 Hz); 8.45 s (1H); 14.16 br. s (1H). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 36.5, 41.6, 128.1, 145.2, 145.8, 158.0, 159.8, 162.5, 174.5, 174.8.

*1-(3-Nitrophenyl)-3-(4H-1,2,4-triazol-3-ylsulfanyl)-2,5-pyrrolidinedione (2b)*

A crude product was crystallized from methyl alcohol to give a white powder. Yield 60%; m.p.: 171-173°C (dec.). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 2.93 dd (1H, J 18.4 Hz, J 4.6 Hz); 3.57 dd (1H, J 18.4 Hz, J 9.6 Hz); 4.72 dd (1H, J 4.6 Hz, J 9.6 Hz); 7.78-7.82 m (2H); 8.19 s (1H); 8.31 d (1H, J 8.2 Hz); 8.42 s (1H); 14.17 s (1H).

*1-(4-Methoxyphenyl)-3-(4H-1,2,4-triazol-3-ylsulfanyl)-2,5-pyrrolidinedione (2c)*

A crude product was crystallized from isopropyl alcohol to give light yellow crystals. Yield 63%; m.p.: 162-163°C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 2.93 dd (1H, J 16.8 Hz, J 2.4 Hz); 3.40 dd (1H, J 16.8 Hz, J 9.4 Hz); 3.82 s (3H); 4.54 dd (1H, J 2.4 Hz, J 9.4 Hz); 6.98 d (2H, J 8.2 Hz); 7.19 d (2H, J 8.2 Hz); 8.04 s (1H); 14.17 br. s (1H).

*1-(3-Bromophenyl)-3-(4H-1,2,4-triazol-3-ylsulfanyl)-2,5-pyrrolidinedione (2d)*

Yield 80%; m.p.: 178-180°C (dec.). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 2.93 dd (1H, J 18.4 Hz, J 4.6 Hz); 3.57 dd (1H, J 18.4 Hz, J 9.6 Hz); 4.72 dd (1H, J 4.6 Hz, J 9.6 Hz); 7.80-7.83 m (2H); 8.19 s (1H); 8.31 d (1H, J 8.2 Hz); 8.42 s (1H); 14.16 br. s (1H).

*1-Phenyl-3-(4H-1,2,4-triazol-3-ylsulfanyl)-2,5-pyrrolidinedione (2e)*

Yield 62%; m.p.: 154-155°C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 2.92 dd (1H, J 18.0 Hz, J 4.8 Hz); 3.42 dd (1H, J 18.0 Hz, J 9.6 Hz); 4.67 dd (1H, J 4.8 Hz, J 9.6 Hz); 7.26 d (2H, J 7.2 Hz); 7.40-7.53 m (3H); 8.56 s (1H); 14.08 br. s (1H). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 36.5, 41.3, 127.0, 128.5, 128.9, 132.8, 145.8, 155.4, 174.3, 174.8.

*1-Benzyl-3-(4H-1,2,4-triazol-3-ylsulfanyl)-2,5-pyrrolidinedione (2f)*

A crude product was crystallized from isopropyl alcohol to give a white powder. Yield 62%; m.p.: 154-155°C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 2.92 dd (1H, J 18.4 Hz, J 4.0 Hz); 3.27 dd (1H, J 18.4 Hz, J 9.6 Hz); 4.56-4.58 m (3H); 7.24-7.28 m (5H); 8.58 s (1H); 14.12 br. s (1H).

*S-{4-[1-(4-Nitrophenyl)-2,5-dioxo-3-pyrrolidinyl]-4H-1,2,4-triazol-3-yl} ethanethioate (4a)*

A crude product was crystallized from ethanol to give white crystals. Yield 57%; m.p.: 183-184°C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 2.80 s (3H);

2.90 dd (1H, J 18.0 Hz, J 4.8 Hz); 3.36 dd (1H, J 18.0 Hz, J 9.6 Hz); 4.65 dd (1H, J 4.8 Hz, J 9.6 Hz); 7.03 d (2H, J 8.8 Hz); 7.16 d (2H, J 8.8 Hz); 8.56 s (1H). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 37.2, 41.2, 55.4, 114.15, 125.3, 128.2, 145.4, 152.7, 159.0, 174.5, 174.9, 175.4.

*S-{4-[1-(4-Methoxyphenyl)-2,5-dioxo-3-pyrrolidinyl]-4H-1,2,4-triazol-3-yl} ethanethioate (4b)*

A crude product was crystallized from ethanol to give a light yellow powder. Yield 40%; m.p.: 167-169°C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 2.82 s (3H); 3.37 dd (1H, J 18.4 Hz, J 3.6 Hz); 3.80 dd (1H, J 18.4 Hz, J 9.6 Hz); 3.81 s (3H); 4.53 m (1H); 6.99 d (2H, J 8.8 Hz); 7.18 d (2H, J 8.8 Hz); 8.44 s (1H).

*N-{5-[1-(2,5-Dimethylphenyl)-2,5-dioxo-3-pyrrolidinyl]-1,3-thiazol-2-yl}-4-methoxybenzamide (8)*

A crude product was crystallized from the mixture of isopropyl alcohol and ethyl acetate (1:1) to give a white powder. Yield 62%; m.p.: 138-139°C (dec.). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 2.48 s (3H); 2.58 s (3H); 2.91 dd (1H, J 18.0 Hz, J 1.2 Hz); 3.17 s (3H); 3.23 dd (1H, J 18.0 Hz, J 9.2 Hz); 4.56 dd (1H, J 1.2 Hz, J 9.2 Hz); 3.57 s (3H); 7.22-7.28 m (7H); 8.29 s (1H); 11.08 br. s (1H).

*General procedure for the synthesis of derivatives 6a, b:* 80 mg (0,80 mmol) of 1,3-thiazol-2-amine was dissolved in 7 mL of dry dioxane. Then *N*-substituted maleimide (0,82 mmol) was added to the solution. The resulting mixture was stirred for 10 min for complete dissolution of the reagents. Thereafter 2,0 mg (0,015 mmol) of anhydrous zinc chloride was quickly added and the flask was fitted with a calcium chloride tube. The reaction mixture was stirred overnight at the room temperature. After the solvent was evaporated, to the residue 8 mL of brain was added. The mixture was extracted 3 times with ethyl acetate. Combined organic layers were dried with sodium sulphate, filtered and the solvent was evaporated. A crude product was then purified by crystallization.

*1-Phenyl-3-(1,3-thiazol-2-ylamino)-2,5-pyrrolidinedione (6a)*

A crude product was crystallized from the small amount of isopropyl alcohol to give a creamy powder. Yield 44%; m.p.: 119-120°C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 2.85 dd (1H, J 18.0 Hz, J 3.6 Hz); 3.31 dd (1H, J 18.0 Hz, J 9.2 Hz); 4.53 dd (1H, J 3.6 Hz, J 9.2 Hz); 6.78-7.38 m (6H); 7.41 d (1H, J 4.8 Hz); 8.01 s (1H). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 38.9, 54.9, 115.6, 125.6, 127.3, 133.0, 138.9, 165.0, 169.6, 170.3, 172.2.

*1-Benzyl-3-(1,3-thiazol-2-ylamino)-2,5-pyrrolidinedione (6b)*

A crude product was crystallized from the small amount of isopropyl alcohol to give a creamy powder. Yield 38%; m.p.: 138-140°C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 2.91 dd (1H, J 18.4 Hz, J 4.0 Hz); 3.27 dd (1H, J 18.4 Hz, J 9.2 Hz); 4.27 s (2H); 4.58 dd (1H, J 4.0 Hz, J 9.2 Hz); 6.73 d (1H, J 7.6 Hz); 7.22 d (1H, J 7.6 Hz); 7.24-7.33 m (5H); 8.12 br. s (1H).

*General procedure for the synthesis of derivatives 10a-c:* 80 mg (1,18 mmol) of imidazole was dissolved in 7 mL of dry dioxane. After that *N*-substituted maleimide (1,18 mmol) was added. The resulting mixture was stirred for complete dissolution of the reagents. Then the catalytic amount of lithium perchlorate 2,0 mg (0,019 mmol) was added and the reaction mixture was stirred for 2h at the room temperature. Then 18 mL of distilled water was added. The precipitate obtained was filtered and washed with isopropyl alcohol and diethyl ether to give a white powder.

*3-(1H-Imidazol-1-yl)-1-phenyl-2,5-pyrrolidinedione (10a)*

Yield 95%; m.p.: 161-163°C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 3.16 dd (1H, J 16.8 Hz, J 6.4 Hz); 3.40 dd (1H, J 16.8 Hz, J 9.2 Hz); 5.68 dd (1H, J 9.2 Hz, J 6.4 Hz); 6.92 s (1H); 7.36-7.49 m (5H); 7.57 s (1H); 7.80 s (1H). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>D), δ, ppm: 2.9 dd (1H, J 16.8 Hz, J 6.4 Hz); 3.26 dd (1H, J 16.8 Hz, J 9.2 Hz); 5.38 dd (1H, J 9.2 Hz, J 6.4 Hz); 6.54-6.57 m (2H); 6.80-6.88 m (3H); 6.9 s (1H); 7.08 s (1H); 7.51 s (1H). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 36.88, 54.79, 118.56, 127.3, 128.59, 128.93, 129.34, 132.47, 137.96, 172.94, 173.35.

*3-(1H-Imidazol-1-yl)-1-(4-methoxyphenyl)-2,5-pyrrolidinedione (10b)*

Yield 92%; m.p.: 154-155°C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 3.18 dd (1H, J 16.8 Hz, J 6.8 Hz); 3.37 dd (1H, J 16.8 Hz, J 4.2 Hz), 3.83 s (3H); 5.64 dd (1H, J 4.2 Hz, J 6.8 Hz); 6.94 s (1H); 7.00-7.26 m (4H); 7.40 s (1H); 7.83 s (1H).

*3-(1H-Imidazol-1-yl)-1-(4-nitrophenyl)-2,5-pyrrolidinedione (10c)*

Yield 90%; m.p.: 170-171°C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 3.16 dd (1H, J 17.6 Hz, J 8.8 Hz); 3.36 dd (1H, J 17.6 Hz, J 9.2 Hz); 5.63 dd (1H, J 8.8 Hz, J 9.2 Hz); 6.92 s (1H); 7.27 d (2H, J 7.2 Hz); 7.33 d (2H, J 7.2 Hz); 7.38 s (1H); 7.80 s (1H).

*General procedure for the synthesis of derivatives 12a,b:* 2-Phenylindolizine 100 mg (0,52 mmol) was

dispersed in dry dioxane. Then 0,53 mmol of *N*-substituted maleimide was added. The mixture was stirred for 15 minutes. After that the catalytic amount of aluminum chloride 1.5 mg (0,011 mmol) was added. The reaction mixture was refluxed for 6 hours. The reaction progress was monitored by TLC. After completion, the solvent was evaporated and the crude product was purified by crystallization.

*1-Phenyl-3-(2-phenyl-3-indoliziny)-2,5-pyrrolidinedione (12a)*

The crude product was recrystallized from absolute ethanol. Yield: 84%; mp: 210-212°C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 3.06 dd (1H, J 6.9 Hz, J 17.7 Hz); 3.36 m (1H); 5.13 t (1H, J 6.9 Hz); 6.60-7.54 m (14H); 7.97 d (1H, J 6.6 Hz). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 33.6, 37.4, 99.6, 111.3, 114.5, 117.5, 119.1, 122.8, 126.9, 127.1, 128.4, 128.7, 128.9, 129.0, 129.8, 132.3, 132.5, 135.7, 174.5, 175.8.

*1-Benzyl-3-(2-phenyl-3-indoliziny)-2,5-pyrrolidinedione (12b)*

The crude product was recrystallized from absolute ethanol. Yield: 71%; mp: 192-194°C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 3.14 dd (1H, J 6.3 Hz, J 16.8 Hz); 3.35 m (1H); 4.12 s (2H); 5.07 m (1H); 6.67-7.53 m (14H); 7.95 d (1H, J 6.9 Hz). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 33.6, 37.5, 46.6, 99.8, 111.5, 114.3, 117.1, 118.9, 122.8, 124.9, 126.4, 127.1, 128.4, 128.7, 128.9, 129.0, 129.8, 132.3, 132.5, 135.7, 174.1, 175.6.

## Conclusions

We have demonstrated that Lewis acids can be effective catalysts for carbon-carbon and carbon-heteroatom Michael addition. The advantages of this method such as mild reaction conditions, simple experimental procedure, low toxicity of the catalysts and their low cost can make this method synthetically useful. Moreover, it is an easy way to synthesize 3-heteryl substituted pyrrolidine-2,5-diones, which are attractive synthetic compounds in the field of medicinal chemistry.

## References

1. Comelles J., Moreno-Manas M., Vallribera A. // *Arkivoc.* – 2005. – Vol. 9, – P. 207-238.
2. Shintani R., Duan W.-L., Nagano T. et al. // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2005. – Vol. 44, №29. – P. 4611-4614.
3. Shrestha R.Y., Shen K.A., Pollack J.-S. A. et al. // *Bioconjugate Chem.* – 2012. – Vol. 23, №3. – P. 574-585.
4. Harada S., Kumagai N., Kinoshita T. et al. // *J. Am. Chem. Soc.* – 2003. – Vol. 125, №9. – P. 2582-2590.
5. Bartoli G., Bosco M., Carlone A. et al. // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2006. – Vol. 45, №30. – P. 4966-4970.
6. Ballini R., Palmieri A. // *Adv. Synth. Catal.* – 2006. – Vol. 348, №10-11. – P. 1154-1156.
7. Almasi D., Alonso D.A., Najera C. // *Tetrahedron: Asymmetry.* – 2007. – Vol. 18, №3. – P. 299-365.
8. Voitenko Z.V., Pokholenko O.A., Shkarov O.O. et al. // *Eur. J. Org. Chem.* – 2001. – №7. – P. 1401-1405.
9. Pokholenko O.A., Voitenko Z.V., Kovtunenkov V.O. // *Russ. Chem. Reviews.* – 2004. – Vol. 73, №8. – P. 771-784.
10. Voitenko Z.V., Pokholenko O.A., Shkarov O.O. et al. // *Chemistry of Heterocyclic Compounds.* – 2002. – Vol. 38, №2. – P. 190-196.
11. Matviuk T., Gorichko M., Kysil A. et al. // *Synth. Comm.* – 2012. – Vol. 42. – P. 3304-3310.

12. Bartoli G., Bosco M., Marcantoni E. et al. // *Tetrahedron Lett.* – 2002. – Vol. 43. – P. 6331-6333.
13. Snyder H.S. *Drugs and the Brain.* – New York: Scientific American Library, 1986.
14. Crider A.M., Kolczynski T.M., Yates K.M. // *J. Med. Chem.* – 1980. – Vol. 23, №3. – P. 324-326.
15. Ando Y., Fuse E., Figg W.D. // *Clin. Cancer Res.* – 2002. – Vol. 8, №6. – P. 1964-1973.
16. Freiberg C., Fischer H.P., Brunner N.A. // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2005. – Vol. 49, №2. – P. 749-759.
17. Fredenhagen A., Tamura S.Y., Kenny P.T.M. et al. // *J. Am. Chem. Soc.* – 1987. – Vol. 109. – P. 4409-4411.
18. Freiberg C., Brunner N.A., Schiffer G. et al. // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279, №25. – P. 26066-26073.
19. Isaka M., Rugseree N., Maithip P. et al. // *Tetrahedron.* – 2005. – Vol. 61, №23. – P. 5577-5583.
20. Menendez C., Gau S., Lherbet C. et al. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 46, №11. – P. 5524-5531.
21. Menendez C., Chollet A., Rodriguez F. et al. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2012. – Vol. 52. – P. 275-283.
22. Hiroshi M., Hiroyuki I. // *Jpn. Tokkyo Koho.* – 1972. – JP 47004963 B4 19720212.
23. Ramachandraiah G., Reddy K. Kondal // *Ind. J. of Chem., Section B: Organic Chemistry Including Med. Chem.* – 1985. – Vol. 24B, №8. – P. 808-810.
24. Pohjala E. // *Tetrahedron Lett.* – 1972. – Vol. 13, №25. – P. 2585-2588.

Надійшла до редакції 10.06.2013 р.

УДК 547.787 + 547.79: 57.083.3

# СИНТЕЗ І ДОСЛІДЖЕННЯ ВАЗОАКТИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НОВИХ ФОСФОРИЛЬОВАНИХ ПЕПТИДОМІМЕТИКІВ

І.Н.Яковенко, О.І.Лукашук, К.М.Кондратюк, О.В.Головченко, В.В.Жирнов, В.С.Броварець

Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України  
02660, м. Київ, вул. Мурманська, 1. E-mail: brovarets@bpci.kiev.ua

*Ключові слова:* кровоносні судини; біологічно активні речовини; вазодилататори; пептидоміметики

В роботі представлений синтез нових фосфорильованих пептидоміметиків та проведена оцінка біологічної активності синтезованих сполук. Показана можливість використання похідних діетилових естерів 5-аміно-2-фталімідо-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти для синтезу фосфорильованих пептидоміметиків, які містять всередині пептидного ланцюга залишок фосфогліцину. З цією метою підбрані оптимальні умови розщеплення оксазольного кільця у кислому середовищі. Взаємодією діетилових естерів 2-аміноалкіл-5-алкіламіно-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти з ненасиченими азлактонами синтезовані фосфорильовані пептидоміметики, які містять фрагменти дегідроамінокислот. Розроблений метод синтезу є зручним та препаративним, оскільки перетворення проходять у м'яких умовах, що дозволяє уникнути утворення небажаних побічних продуктів, а пептидоміметики отримують із високими виходами без застосування хроматографічних колонок. Біологічні дослідження виявили вазодилатуючу активність нових похідних фосфорильованих пептидоміметиків у залежності від їх хімічної структури при дії на ізольовану аорту щурів. У статті обговорюються можливі молекулярні механізми їх біологічної активності за участі  $Ca^{2+}$ -каналів плазматичних мембран гладеньком'язових клітин судин. Наведені дані впливу на тонус судин інгібітора потенціал-залежних  $Ca^{2+}$ -каналів L-типу нітрендипіну, встановлено, що концентраційні залежності вазодилатуючої активності синтезованих нами діетилових естерів 5-алкіламіно-2-[N-[N-бензоіл-(4-метилбензиліден)гліцил]амінометил]-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти і нітрендипіну схожі, що може свідчити про зв'язок виявленого вазодилатуючого ефекту даних сполук з пригніченням кальцієвої системи сигналізації. Дослідження свідчать про безпосередній вплив синтезованих сполук на м'язові клітини судин.

## THE SYNTHESIS AND INVESTIGATION OF VASOACTIVE PROPERTIES OF NEW PHOSPHORYLATED PEPTIDOMIMETICS

I.N.Iakovenko, O.I.Lukashuk, K.M.Kondratyuk, A.V.Golovchenko, V.V.Zhyrnov, V.S.Brovarets

**Key words:** blood vessels; biologically active substances; vasodilators; peptidomimetics

The paper presents the synthesis of new phosphorylated peptidomimetics and their action on the isolated rat aorta. It has been shown that derivatives of diethyl 5-amino-2-phthalimidoalkyl-1,3-oxazol-4-ylphosphonates can be employed in the synthesis of phosphorylated peptidomimetics containing a phosphoglycine residue. For this purpose derivatives of 1,3-oxazol-4-ylphosphonates were decomposed hydrolytically in the acidic medium. The reaction of diethyl 5-alkylamino-2-aminoalkyl-1,3-oxazol-4-ylphosphonates with unsaturated azlactones was used to obtain phosphorylated peptidomimetics with dehydroamino acid groups. The method developed is very convenient and preparative because reactions proceed in mild conditions without formation of undesirable by-products. Peptidomimetics are isolated with high yields and their separation does not require chromatography. Biological research has revealed the vasodilating activity of new derivatives of phosphorylated peptidomimetics depending on their chemical structure when acting on the rat's isolated aorta. The possible molecular mechanisms of this activity with participation of the plasma membrane  $Ca^{2+}$ -channels of vascular smooth muscle cells are discussed. The data of impact of an inhibitor of voltage-dependent  $Ca^{2+}$ -channels of L-type of nitrendipine on the vascular tone are reported. It has been found that the concentration dependences of the vasodilating activity of the diethyl esters of 5-alkylamino-2-[N-[N-benzoyl-(4-methylbenzylidene)glycyl]aminomethyl]-1,3-oxazol-4-ylphosphonates synthesized and nitrendipine are similar. It can testify about the indirect detection of the vasodilatory effect of these compounds associated with inhibition of the calcium signal system. The study shows a direct effect of the compounds synthesized on the muscle cells of blood vessels.

## СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ ВАЗОАКТИВНЫХ СВОЙСТВ НОВЫХ ФОСФОРИЛИРОВАННЫХ ПЕПТИДОМІМЕТИКОВ

И.Н.Яковенко, Е.И.Лукашук, К.М.Кондратюк, О.В.Головченко, В.В.Жирнов, В.С.Броварець

**Ключевые слова:** кровеносные сосуды; биологически активные вещества; вазодилататоры; пептидоміметики

В данной работе представлен синтез новых фосфорилированных пептидоміметиков и проведена оценка биологической активности синтезированных соединений. Показана возможность использования производных диэтиловых эфиров 5-амино-2-фталимидаоалкил-1,3-оксазол-4-илфосфоновых кислот для синтеза фосфорилированных пептидоміметиков, которые содержат в середине пептидной цепи остаток фосфоглицина. С этой целью подобраны оптимальные условия расщепления оксазольного кольца в кислой среде. Взаимодействием диэтиловых эфиров 2-аминоалкил-5-алкиламіно-1,3-оксазол-4-илфосфоновых кислот с ненасыщенными азлактонами синтезированы фосфорилированные пепти-

домиметики, содержащие фрагменты дегидроаминокислот. Разработанный метод синтеза является удобным и препаративным, так как превращения происходят в мягких условиях, что позволяет избежать образования нежелательных побочных продуктов, пептидомиметики выделены с высокими выходами без применения хроматографических колонок. Биологические исследования обнаружили вазодилатирующую активность новых производных фосфорилированных пептидомиметиков в зависимости от их химической структуры при действии на изолированную аорту крыс. В статье обсуждаются возможные молекулярные механизмы их биологической активности с участием  $Ca^{2+}$ -каналов плазматических мембран гладкомышечных клеток сосудов. Приведены данные влияния на тонус сосудов ингибитора потенциал-зависимых  $Ca^{2+}$ -каналов L-типа нитрендипина, установлено, что концентрационные зависимости вазодилатирующей активности синтезированных нами диэтиловых эфиров 5-алкиламино-2-{N-[N-бензоил-(4-метилбензилден)глицил]аминометил}-1,3-оксазол-4-илфосфоновых кислот и нитрендипина похожи, что может свидетельствовать о косвенном обнаружении вазодилатирующего эффекта данных соединений, связанного подавлением кальцевой системы сигнализации. Исследования свидетельствуют о непосредственном влиянии синтезированных соединений на мышечные клетки сосудов.

Синтез та вивчення біологічної активності нових хімічних сполук з метою їх подальшого застосування в медичній практиці є одним із основних напрямків фармакології. Метою наших досліджень були синтез та оцінка біологічної активності нових фосфорильованих пептидоміметиків із використанням живої тест-системи органної культури ізольованих сегментів аорти щурів за впливом на їх тонус.

Для одержання нових фосфорильованих пептидоміметиків ми використали властивість оксазольного кільця розщеплюватись у кислому середовищі з утворенням амідів фосфоногліцину [1, 2]. Синтез досліджених сполук було здійснено за схемою 1.

Так, при нагріванні фталімідних похідних 2-аміноалкіл-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти **1** [3] у 70%-ій водній оцтовій кислоті відбувається розкриття оксазольного кільця, в результаті чого з високими виходами отримують фталімідозахиснені фосфонопептидоміметики **2**. При обробці їх спиртовим розчином гідразингідрату відбувається зняття фталімідного захисту з утворенням пептидоміметиків **3**. Цей підхід до синтезу таких сполук зручний тим, що перетворення проходить у м'яких умовах, а побічний продукт реакції – фталазид легко відділяється з реакційної суміші.

5-Аміно-1,3-оксазоли **1** були застосовані для отримання фосфорильованих пептидоміметиків більш складної структури. З цією метою нами були здійснені перетворення **1** → **4** → **5** → **6**. При дії гідразингідрату на сполуки **1** спочатку були виділені діетилові естери 2-аміноалкіл-5-аміно-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти **4**, які при взаємодії з 4-(4-метилбензиліден)-2-феніл-4Н-оксазол-5-оном дають оксазоловімісні похідні дегідропептидоміметиків **5** як результат розкриття азлактонного циклу. Розщеплення оксазольного кільця з утворенням фосфорильованих пептидоміметиків **6** проводили нагріванням продуктів **5** у 70% водній оцтовій кислоті.

Склад та будова сполук **2-6** узгоджується з даними елементного аналізу, ІЧ- і ЯМР  $^1H$  та  $^{31}P$  спектрів (табл. 1, 2).

## Експериментальна хімічна частина

Спектри ЯМР отримані на приладах Bruker AVANCE DRX-500:  $^1H$  (500 МГц),  $^{31}P$  (202 МГц) в розчині  $CDCl_3$ , хімічні зсуви наведені відносно ТМС (внутрішній стандарт) або 85% фосфорної кислоти (зовнішній стандарт). ІЧ-спектри сполук записували на спектрометрі Vertex 70 в KBr або дихлорометані. Температури плавлення визначали на приладі Fisher Johns. Контроль за перебігом реакцій здійснювали за допомогою ТШХ (елюент – дихлорометан-метанол, 95:5).

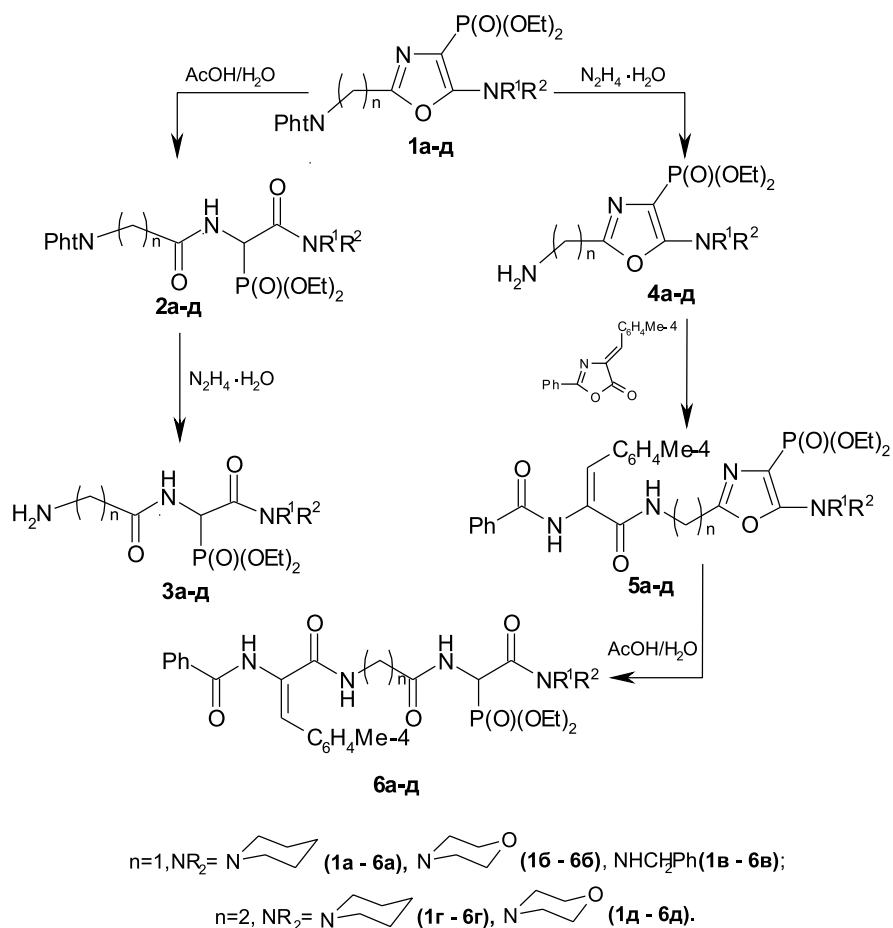
**Алкиламіди N-(фталімідоацетил)діетоксифосфорилгліцину 2a-в.** Розчин 0,01 Моль однієї із сполук **1a-в** в 50 мл суміші оцтова кислота-вода (5:1) нагрівали впродовж 7 год при 75°C на водяній бані, розчинник видаляли у вакуумі. Залишок обробляли 5% розчином соди (20 мл), екстрагували дихлорометаном (3×50 мл), екстракт висушували над  $MgSO_4$  і розчинник видаляли при пониженому тиску. Сполуки **2a-в** аналізували без додаткової очистки.

**Алкиламіди N-(β-фталімідопропіоніл)діетоксифосфорилгліцину 2гд** були отримані з оксазолів **1гд** подібно до сполук **2a-в**.

**Алкиламіди N-(гліцил)діетоксифосфорилгліцину 3a-в.** До розчину 0,01 Моль однієї із сполук **2a-в** в 50 мл етанолу додавали 1,2 мл (0,012 Моль) гідразингідрату, суміш нагрівали впродовж 1-2 год при 50-55°C (контроль ТШХ). Осад фталазиду відфільтровували, фільтрат видаляли при пониженому тиску, оливоподібний залишок розчиняли у 20 мл дихлорометану, осад відфільтровували, фільтрат видаляли при пониженому тиску і сполуки **3a-в** аналізували без додаткової очистки.

**Алкиламіди N-(β-аланіл)діетоксифосфорилгліцину 3гд** були отримані із сполук **2гд** подібно до продуктів **3a-в**.

**Діетилові естери 5-алкіламіно-2-{N-[N-бензоіл-(4-метилбензиліден)гліцил]аминометил}-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти 5a-в.** До розчину 0,015 Моль однієї із сполук **4a-в** в 50 мл безводного бензолу додавали 2,6 г (0,01 Моль) 4-(4-метилбензиліден)-2-феніл-4Н-оксазол-5-ону,



Схема

Таблиця 1

## Характеристики сполук 2-6

Сполука	Формула	Вихід, %	Т.пл., °С	Знайдено, %		Вирахувано, %	
				N	P	N	P
2а	$C_{21}H_{28}N_3O_7P$	95	191-192	9.09	6.63	9.03	6.65
2б	$C_{20}H_{26}N_3O_8P$	93	185-187	8.98	6.62	8.99	6.63
2в	$C_{23}H_{26}N_3O_7P$	88	197-198	8.51	6.28	8.62	6.35
2г	$C_{22}H_{30}N_3O_7P$	96	176-178	6.50	8.69	8.76	6.46
2д	$C_{21}H_{28}N_3O_8P$	90	195-196	6.45	8.72	8.73	6.43
3а	$C_{13}H_{26}N_3O_5P$	75	Олива	12.50	9.26	12.53	9.24
3б	$C_{12}H_{24}N_3O_6P$	76	Олива	123	9.14	12.46	9.18
3в	$C_{15}H_{24}N_3O_5P$	78	Олива	11.79	8.59	11.76	8.67
3г	$C_{14}H_{28}N_3O_5P$	77	Олива	12.06	8.85	12.03	8.87
3д	$C_{13}H_{26}N_3O_6P$	78	Олива	11.99	8.81	11.96	8.82
5а	$C_{30}H_{37}N_4O_6P$	86	69-71	9.68	5.41	9.65	5.33
5б	$C_{29}H_{35}N_4O_7P$	83	79-80	9.65	5.33	9.62	5.32
5в	$C_{32}H_{35}N_4O_6P$	92	83-85	9.29	5.03	9.30	5.14
5г	$C_{31}H_{39}N_4O_6P$	85	75-77	9.48	5.24	9.42	5.21
5д	$C_{30}H_{37}N_4O_7P$	79	65-66	9.34	5.16	9.39	5.19
6а	$C_{30}H_{39}N_4O_7P$	88	86-87	9.39	5.11	9.36	5.17
6б	$C_{29}H_{37}N_4O_8P$	87	94-96	9.36	5.25	9.33	5.16
6в	$C_{31}H_{41}N_4O_7P$	88	93-95	9.19	5.11	9.14	5.06
6г	$C_{30}H_{39}N_4O_8P$	79	77-78	9.15	5.03	9.12	5.04

Таблиця 2

Дані ІЧ-, ЯМР,  $^1\text{H}$  та  $^{31}\text{P}$ -спектрів синтезованих сполук

Сполука	ІЧ-спектр у, $\text{cm}^{-1}$ (KBr) <sup>1</sup>	Спектр ЯМР $^{31}\text{P}$ ( $\text{CDCl}_3$ ), δ, м. ч.	Спектр ЯМР $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ ), δ, м.ч.
1	2	3	4
2а	3285 (N-H), 1727, 1677, 1638 (C=O), 1254 (P=O), 1026 (P-O-C), 955 (P-O-C-C)	17.2	1.32 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 3.53 м (2H, $\text{NCH}_2$ , морфолін), 3.66 м (2H, $\text{NCH}_2$ , морфолін), 3.76 м (4H, $\text{O}(\text{CH}_2)_2$ , морфолін), 4.17 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 4.48 с (2H, $\text{CH}_2$ ), 5.52 дд (1H, $\text{CH}$ , $^2J_{\text{HP}}$ 18.0 Гц, $^3J_{\text{HH}}$ 8.6 Гц), 7.75, 7.88 м (4H, $o\text{-C}_6\text{H}_4$ ), 7.83 д (1H, $\text{NH}$ , $^3J_{\text{HH}}$ 8.6 Гц)
2б	3331 (N-H), 1725-1656 (C=O), 253 (P=O), 1025 (P-O-C), 961 (P-O-C-C)	17.0	1.25 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 4.13 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 4.44-4.50 м (4H, $\text{CH}_2$ гліцин, $\text{CH}_2$ бензиламін), 5.11 дд (1H, $\text{CH}$ , $^2J_{\text{HP}}$ 19.0 Гц, $^3J_{\text{HH}}$ 7.3 Гц), 7.01 д (1H, $\text{NH}$ , $^3J_{\text{HH}}$ 7.3 Гц), 7.16 ш.с (1H, $\text{NH}$ ), 7.28 м (5H, $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 7.23-7.86 м (4H, $o\text{-C}_6\text{H}_4$ )
2в	3256 (N-H), 1717, 1634 (C=O), 1266 (P=O), 1017 (P-O-C), 977 (P-O-C-C)	19.2	1.29 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 1.62-1.66 м (6H, $3\text{CH}_2$ піперидин), 2.73 м (2H, $\text{CH}_2$ ), 3.51 м (1H, N-CH піперидин), 3.57 м (2H, N-CH піперидин), 3.72 м (1H, N-CH піперидин), 4.02 м (2H, $\text{CH}_2$ ), 4.11 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 5.59 дд (1H, $\text{NH}$ , $^2J_{\text{HP}}$ 18 Гц, $^3J_{\text{HH}}$ 8.6 Гц), 7.31 д (1H, $\text{NH}$ , $^3J_{\text{HH}}$ 8.6 Гц), 7.72-7.84 м (4H, $o\text{-C}_6\text{H}_4$ )
2г	3403 (N-H), 1717, 1644 (C=O), 1245 (P=O), 1023 (P-O-C), 977 (P-O-C-C)	17.6	1.28 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 2.73 м (2H, $\text{CH}_2$ ), 3.56 м (2H, $\text{NCH}_2$ , морфолін), 3.66 м (1H, $\text{NCH}$ , морфолін), 3.75 м (5H, $\text{NCH}$ , морфолін, $\text{O}(\text{CH}_2)_2$ морфолін), 4.00 м (2H, $\text{CH}_2$ ), 4.12 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 5.57 дд (1H, $\text{CH}$ , $^2J_{\text{HP}}$ 19.0 Гц, $^3J_{\text{HH}}$ 9.0 Гц), 7.63 д (1H, $\text{NH}$ , $^3J_{\text{HH}}$ 9.0 Гц), 7.72-7.83 м (4H, $o\text{-C}_6\text{H}_4$ )
2д	3401 (N-H), 1720, 1651 (C=O), 1245 (P=O), 1026 (P-O-C)	17.6	1.34 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 1.59-1.66 м (6H, $3\text{CH}_2$ піперидин), 1.97 ш.с (2H, $\text{NH}_2$ ), 3.42 с (2H, $\text{CH}_2$ ), 3.60 м (3H, $\text{CH}_2\text{NC-N}$ піперидин), 3.68 м (1H, $\text{NC-N}$ піперидин), 4.18 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 5.56 дд (1H, $\text{CH}$ , $^2J_{\text{HP}}$ 17.0 Гц, $^3J_{\text{HH}}$ 7.3 Гц), 8.13 д (1H, $\text{NH}$ , $^3J_{\text{HH}}$ 7.3 Гц)
3а	3298 (N-H), 1638 (C=O), 1233 (P=O), 1049 (P-O-C), 947 (P-O-C-C)	18.1	1.33 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 3.04 ш.с (2H, $\text{NH}_2$ ), 3.44 с (2H, $\text{CH}_2$ ), 3.54-3.81 м (8H, $4\text{CH}_2$ морфолін), 4.18 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 5.53 дд (1H, $\text{CH}$ , $^2J_{\text{HP}}$ 17.0 Гц, $^3J_{\text{HH}}$ 6.2 Гц), 8.13 д (1H, $\text{NH}$ , $^3J_{\text{HH}}$ 6.2 Гц)
3б	3329 (N-H), 1649 (C=O), 1241 (P=O), 1026 (P-O-C), 965 (P-O-C-C)	17.3	1.29 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 2.40 ш.с (2H, $\text{NH}_2$ ), 3.44 с (2H, $\text{CH}_2$ ), 4.08 м (2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 4.20 м (2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 4.44 дд (1H, $\text{CH}$ , $^2J_{\text{HP}}$ 15.0 Гц, $^3J_{\text{HH}}$ 5.2 Гц), 4.54 дд (1H, $\text{CH}$ , $^2J_{\text{HP}}$ 15.0 Гц, $^3J_{\text{HH}}$ 6.0 Гц), 5.18 дд (1H, $^2J_{\text{HP}}$ 20.0 Гц, $^3J_{\text{HH}}$ 8.3 Гц), 7.32 м (5H, $\text{C}_6\text{H}_5$ ; 1H, $\text{NH}$ ), 8.03 д (1H, $\text{NH}$ , $^3J_{\text{HH}}$ 8.3 Гц)
3в	3309 (N-H), 1675 (C=O), 1247 (P=O), 1025 (P-O-C), 977 (P-O-C-C)	17.1	1.31 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 1.57-1.64 м (6H, $3\text{CH}_2$ піперидин), 2.61 м (2H, $\text{CH}_2$ ), 3.13 м (2H, $\text{CH}_2$ ), 3.56 м (4H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2$ піперидин), 4.15 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 5.48 дд (1H, $\text{CH}$ , $^2J_{\text{HP}}$ 17.0 Гц, $^3J_{\text{HH}}$ 6.8 Гц), 8.01 д (1H, $\text{NH}$ , $^3J_{\text{HH}}$ 6.8 Гц), 8.17 ш.с (2H, $\text{NH}_2$ )
3г	3301 (N-H), 1663 (C=O), 1242 (P=O), 1028 (P-O-C), 963 (P-O-C-C)	18.5	1.31 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 2.64 м (2H, $\text{CH}_2$ ), 3.14 м (2H, $\text{CH}_2$ ), 3.52-3.76 м (8H, $4\text{CH}_2$ морфолін), 4.16 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 5.48 м (1H, $\text{CH}$ ), 6.28 ш.с (2H, $\text{NH}_2$ ), 8.18 м (1H, $\text{NH}$ )
3д	3291 (N-H), 1652 (C=O), 1231 (P=O), 1026 (P-O-C), 966 (P-O-C-C)	18.2	1.30 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 1.63 м (6H, $3\text{CH}_2$ піперидин), 2.33 с (3H, $\text{CH}_3$ ), 3.48 м (4H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2$ піперидин), 4.08 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 4.53 д (2H, $\text{CH}_2$ , $^3J_{\text{HH}}$ 6 Гц), 7.13-7.90 м (9H, $\text{C}_6\text{H}_5$ , $n\text{-C}_6\text{H}_4$ ), 7.30 с (1H, $\text{CH}$ ), 7.38 ш.с (1H, $\text{NH}$ ), 8.20 ш.с (1H, $\text{NH}$ )
5а	3250 (N-H), 1652 (C=O), 1625 (C-N), 1517 (C-N), 1278 (P=O), 1024 (P-O-C), 966 (P-O-C-C)	14.2	1.31 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 2.34 с (3H, $\text{CH}_3$ ), 3.58 м (4H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2$ морфолін), 3.78 м (4H, $\text{O}(\text{CH}_2)_2$ морфолін), 4.10 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 4.56 д (2H, $\text{CH}_2$ , $^3J_{\text{HH}}$ 5.2 Гц), 7.05 ш.с (1H, $\text{NH}$ ), 7.15, 7.34, 7.48, 7.58, 7.87 м (9H, $\text{C}_6\text{H}_5$ , $n\text{-C}_6\text{H}_4$ ), 7.24 с (1H, $\text{CH}$ ), 7.94 ш.с (1H, $\text{NH}$ )
5б	3258 (N-H), 1662 (C=O), 1623 (C-N), 1578 (C=N), 1517 (C-N), 1271 (P=O), 1024 (P-O-C), 967 (P-O-C-C)	13.0	1.27 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 1.63 м (6H, $3\text{CH}_2$ піперидин), 2.33 с (3H, $\text{CH}_3$ ), 2.89 м (2H, $\text{CH}_2$ ), 3.46 м (4H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2$ піперидин), 3.75 м (2H, $\text{CH}_2$ ), 4.05 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 7.10-7.91 м (11H, $\text{C}_6\text{H}_5$ , $n\text{-C}_6\text{H}_4$ , $\text{CH}$ , $\text{NH}$ ), 8.20 ш.с (1H, $\text{NH}$ )
5в	3246 (N-H), 1626 (C=O) (смуга із плечем), 1578 (C=N), 1518 (C-N), 1283 (P=O), 1025 (P-O-C), 966 (P-O-C-C)	14.1	1.27 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 2.32 с (3H, $\text{CH}_3$ ), 2.90 м (2H, $\text{CH}_2$ ), 3.53 м (4H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2$ морфолін), 3.72 м (2H, $\text{CH}_2$ ), 3.77 м (4H, $\text{O}(\text{CH}_2)_2$ морфолін), 7.02 ш.с (1H, $\text{NH}$ ), 7.12- 7.88 м (10H, $\text{C}_6\text{H}_5$ , $n\text{-C}_6\text{H}_4$ , $\text{CH}$ ), 8.16 ш.с (1H, $\text{NH}$ )



Продовження табл. 2

1	2	3	4
5г	3255 (N-H), 1604 (C=O) (смуга з плечем), 1579 (C=N), 1519 (C-N), 1275 (P=O), 1025 (P-O-C), 967 (P-O-C-C)	13.4	1.25 м (6H, 2OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ), 2.34 с (3H, CH <sub>3</sub> ), 2.92 м (2H, CH <sub>2</sub> ), 3.76 м (2H, CH <sub>2</sub> ), 4.02 м (4H, 2OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ), 4.47 д (2H, CH <sub>2</sub> , <sup>3</sup> J <sub>HH</sub> 5.7 Гц), 6.32 т (1H, NH, <sup>3</sup> J <sub>HH</sub> 5.7 Гц), 6.97-7.86 м (16H, 2C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> , <i>n</i> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> , CH, 2NH), 7.56 ш.с (1H, NH)
5д	3249 (N-H), 1637 (C=O) (смуга з плечем), 1519 (C-N), 1281 (P=O), 1024 (P-O-C), 967 (P-O-C-C)	14.5	1.29 м (6H, 2OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ), 1.55-1.63 м (6H, 3CH <sub>2</sub> піперидин), 2.33 с (3H, CH <sub>3</sub> ), 3.54 м (4H, N(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> піперидин), 4.15 м (6H, 2OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> , CH <sub>2</sub> ), 5.54 дд (1H, CH, <sup>2</sup> J <sub>HP</sub> 17.6 Гц, <sup>3</sup> J <sub>HH</sub> 8.3 Гц)?, 7.13-7.94 м (12H, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> , <i>n</i> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> , 2NH), 8.21 с (1H, NH)
6а	3402 (N-H), 1644 (C=O), 1249 (P=O), 1023 (P-O-C), 976 (P-O-C-C)	17.5	1.31 м (6H, 2OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ), 2.34 с (3H, CH <sub>3</sub> ), 3.48-3.76 м (8H, 4CH <sub>2</sub> морфолін), 4.16 м (6H, 2OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> , CH <sub>2</sub> ), 5.49 дд (1H, CH, <sup>2</sup> J <sub>HP</sub> 16.4 Гц, <sup>3</sup> J <sub>HH</sub> 7.5 Гц), 7.16-7.91 м (12H, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> , <i>n</i> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> , CH, 2NH), 8.01 с (1H, NH)
6б	3283 (N-H), 1651 (C=O), 1252 (P=O), 1026 (P-O-C), 975 (P-O-C-C)	17.0	1.20 м (6H, 2OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ), 1.54-1.65 м (6H, 3CH <sub>2</sub> піперидин), 2.32 с (3H, CH <sub>3</sub> ), 2.50 м (1H, CH), 2.60 м (1H, CH), 3.53 м (4H, N(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> піперидин), 3.64 м (1H, CH), 3.71 м (1H, CH), 4.08 м (4H, 2OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ), 5.45 дд (1H, CH, <sup>2</sup> J <sub>HP</sub> 17.6 Гц, <sup>3</sup> J <sub>HH</sub> 8.3 Гц), 7.11-7.95 м (12H, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> , <i>n</i> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> , CH, 2NH), 8.55 ш.с (1H, NH)
6в	3250 (N-H), 1627 (C=O), 1260 (P=O), 1025 (P-O-C), 966 (P-O-C-C)	18.3	1.26 м (6H, 2OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ), 2.33 с (3H, CH <sub>3</sub> ), 2.58 м (2H, CH <sub>2</sub> ), 3.49-3.75 м (10H, 4CH <sub>2</sub> морфолін, CH <sub>2</sub> ), 4.09 м (4H, 2OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ), 5.43 дд (1H, CH, <sup>2</sup> J <sub>HP</sub> 17.7 Гц, <sup>3</sup> J <sub>HH</sub> 8.0 Гц), 7.04-7.93 м (12H, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> , <i>n</i> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> , CH, 2NH), 8.23 ш.с (1H, NH)
6г	3286 (N-H), 1649 (C=O), 1250 (P=O), 1025 (P-O-C), 974 (P-O-C-C)	17.0	1.32 м (6H, 2OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ), 3.53 м (2H, NCH <sub>2</sub> , морфолін), 3.66 м (2H, NCH <sub>2</sub> , морфолін), 3.76 м (4H, O(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> , морфолін), 4.17 м (4H, 2OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ), 4.48 с (2H, CH <sub>2</sub> ), 5.52 дд (1H, NH, <sup>2</sup> J <sub>HP</sub> 18.0 Гц, <sup>3</sup> J <sub>HH</sub> 8.6 Гц), 7.75, 7.88 м (4H, <i>o</i> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> ), 7.83 д (1H, NH, <sup>3</sup> J <sub>HH</sub> 8.6 Гц)

Примітка: <sup>1</sup>ІЧ-спектри сполук **3а-д** були записані у розчині CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

суміш нагрівали впродовж 5-6 год при 60-65°C (контроль ТШХ), бензол видаляли у вакуумі, залишок розчиняли в 20 мл бензолу та додавали 7 мл петролейного ефіру (70-100°C), суміш залишали на 2-3 год при 5-10°C, розчин декантували, розчинники видаляли у вакуумі і сполуки **5а-в** аналізували та використовували у наступних перетвореннях без додаткової очистки.

**Діетилові естери 5-алкіламіно-2-[N-[N-бензоїл-(4-метилбензиліден)гліцил]аміноетил]-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти 5г,д** були отримані із сполук **4г,д** подібно до сполук **5а-в**.

**Алкіламіди N-[N-[N-бензоїл-(4-метилбензиліден)гліцил]гліцил]діетоксифосфорилгліцину 6а-в** були отримані із сполук **5а-в** подібно до продуктів **2а-в**.

**Алкіламіди N-[N-[N-бензоїл-(4-метилбензиліден)гліцил]-β-аланіл]діетоксифосфорилгліцину 6г,д** були отримані із сполук **5г,д** подібно до продуктів **2а-в**.

#### Експериментальна біологічна частина

Кільцеві сегменти аорти щурів діаметром 2,5 мм та довжиною 2 мм фіксувались ізометрично в камері з фізіологічним буфером Кребса між сталевим стаціонарним гачком та ізометричним перетворювачем, з'єднаним з самописцем. Експериментальну камеру з судинами перфузували при 37°C буфером Кребса, який містив (в мМ): NaCl – 133; KCl – 4,7; CaCl<sub>2</sub> – 2,5; MgCl<sub>2</sub> – 1,2; NaHCO<sub>3</sub> – 10; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,38; глюкозу – 7,8; HEPES – 10 (pH 7,4).

Вплив сполук на тонус судин досліджували на попередньо скорочених агоністом α<sub>1</sub>-адренорецепторів фенілефрином (1·10<sup>-5</sup> М), рівень якого приймали за 100%, як це було описано нами раніше [4]. Досліджувані сполуки розчиняли в диметилсульфоксиді (ДМСО) та вносили в перфузуючий судинний сегмент буфер Кребса. Об'єм ДМСО відповідних максимальних аліквот сполук не перевищував 0,05% та в контрольних експериментах достовірно не впливав на тонус судин.

Дослідження виявили вазодилатуючу активність сполук у залежності від їх хімічної структури (табл. 3). Найбільшу активність виявили сполуки **5а** та **5в**, які, починаючи з порівняно низької концентрації (1·10<sup>-6</sup> М), достовірно зменшували тонус активованих фенілефрином судин. Інші сполуки виявили активність в порівняно більш високих концентраціях: 5·10<sup>-6</sup> М – **6г** та 1·10<sup>-5</sup> М – **2а**, **5б**, **6б** та **6д**. Сполуки **3а**, **3в** та **2д** на тонус судин не впливали. В табл. 3 також наведені дані впливу на тонус судин інгібітора потенціал-залежних Ca<sup>2+</sup>-каналів L-типу нітрэндипіну. Як видно з табл. 3, концентраційні залежності вазодилатуючої активності синтезованих нами сполук **5а** та **5в** і нітрэндипіну схожі, що може свідчити про опосередкованість виявленого вазодилатуючого ефекту даних сполук пригніченням кальцієвої системи сигналізації.

Враховуючи ключову роль ендотелію в регуляції тонусу судин за рахунок ендотеліальних вазодилатуючих факторів (простацикліну, оксиду

Таблиця 3

Вплив нових сполук на тонус попередньо скорочених фенілефрином ( $1 \cdot 10^{-5}$  М)  
ізолюваних сегментів аорти щурів\*

Сполука	Формула	Концентрація, М		
		% від скорочення, викликаного фенілефрином		
		$1 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$
2a		-	-	77,4±2,8
2д		-	-	-
3a		-	-	-
3в		-	-	-
5a		90,3±2,7	43,5±2,5	22,2±1,0
5б		-	-	81,2±2,7
5в		89,1±2,8	33,3±2,2	27,1±1,1
6б		-	-	71,2±2,5
6г		-	70,6±2,8	45,2±1,8
6д		-	-	85,2±2,9
	Нітрєндипін	89,0±2,7	33,2±2,6	29,1±1,9

Примітки. Показники ( $M \pm m$ ;  $n = 3$ ) розраховані як відсоток від прийнятого за 100% скорочення, викликаного фенілефрином ( $1 \cdot 10^{-5}$  М);  
\* – наведені значення, які достовірно відрізняються від контролю ( $p < 0,05$ ).

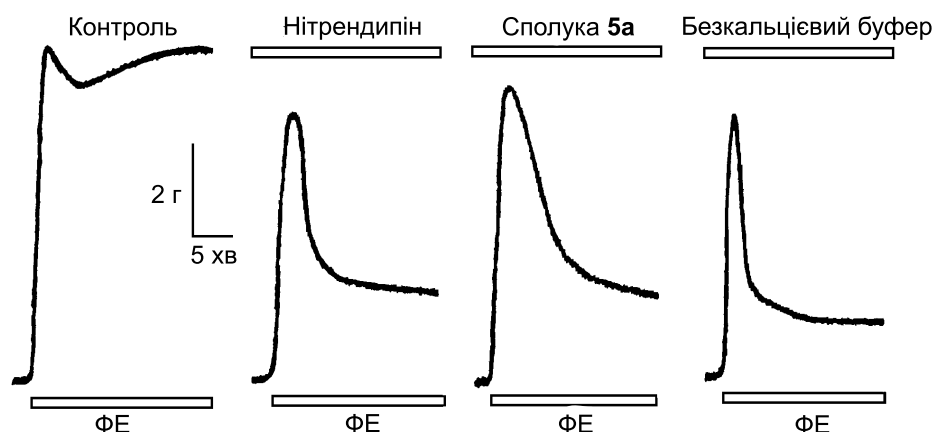


Рис. Типова динаміка ініційованого фенілефрином (ФЕ,  $1 \cdot 10^{-5}$  М) скорочення ізольованих сегментів аорти щурів у контролі на фоні дії нітрендипіну ( $1 \cdot 10^{-5}$  М) або сполуки **5a** ( $1 \cdot 10^{-5}$  М) в стандартному буфері Кребса та в безкальцієвому буфері Кребса.

азоту та ендотеліального гіперполяризуючого фактора), які синтезуються клітинами ендотелію при збільшенні в їх цитозолі концентрації  $\text{Ca}^{2+}$ , нами були проведені додаткові дослідження впливу найбільш активної сполуки **5a** на тонус сегментів аорти щурів з видаленням ендотелієм порівняно з інтактними судинами. Ендотелій попередньо видаляли механічною обробкою внутрішньої поверхні артерій бавовняним тампоном з подальшим контролем відсутності вазодилатації на ацетилхолін, яка є ендотелій-опосередкованою, як описано нами раніше [5]. Дослідження не виявили суттєвих розбіжностей вазодилатуючої активності сполуки **5a** при її дії на судини з видаленням ендотелієм порівняно з інтактними, що свідчить про безпосередній вплив синтезованих сполук на м'язові клітини судин.

Як відомо, судини скорочуються за рахунок підвищення в цитозолі міоцитів вмісту внутрішньоклітинного  $\text{Ca}^{2+}$  в результаті збільшення його входу через  $\text{Ca}^{2+}$ -канали плазматичних мембран, а також вивільнення з внутрішньоклітинних депо. Показано, що початковий транзиторний компонент вазоконстрикції в основному обумовлений вивільненням  $\text{Ca}^{2+}$  саркоплазматичним ретикуломом, а подальший стійкий тонічний компонент скорочення опосередкований збільшенням входу зовнішньоклітинного  $\text{Ca}^{2+}$  через плазматичні мембрани [6]. Тому тонічний компонент, на відміну від транзиторного, не спостерігається при перфузії ізольованих судин буфером, що не містить  $\text{Ca}^{2+}$  [6]. Для більш детального аналізу молекулярного механізму вазодилатативного ефекту синтезованих сполук на кальцієву систему сигналізації нами додатково досліджена динаміка ініційованого фенілефрином скорочення судин в безкальцієвому буфері Кребса, а також на фоні дії нітрендипіну, діетилового естеру 5-алкіламіно-2-[N-[N-бензоіл-(4-метилбензиліден)гліцил]амінометил]-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти **5a**

у стандартному буфері Кребса. При цьому судини попередньо протягом 30 хв до активації фенілефрином ( $1 \cdot 10^{-5}$  М) перфузували буфером Кребса з нітрендипіном ( $1 \cdot 10^{-5}$  М) або з фосфонатом **5a** ( $1 \cdot 10^{-5}$  М). Як видно з рисунка, блокування потенціалзалежних кальцієвих каналів плазматичних мембран нітрендипіном, як і дія сполуки **5a**, мало впливають на початковий транзиторний компонент скорочення судин, викликаючи суттєве пригнічення тонічного компонента. Аналогічна динаміка ініційованої фенілефрином вазоконстрикції спостерігалась за умов попередньої (30 хв) перфузії сегментів аорти безкальцієвим буфером Кребса (рис.). Отримані дані свідчать про можливу опосередкованість виявленої вазодилатуючої активності синтезованих пептидоміметиків інгібуванням потенціал-залежних  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів плазматичних мембран гладеньком'язових клітин судин. Детальні механізми безпосереднього або опосередкованого модифікацією внутрішньоклітинних регуляторних систем інгібування синтезованими сполуками  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів судинних міоцитів можуть бути предметом подальших досліджень.

## Висновки

1. Синтезовані та досліджені нові похідні фосфорильованих пептидоміметиків, серед яких знайдені біологічно активні сполуки, які у діапазоні концентрацій  $1 \cdot 10^{-6}$ - $1 \cdot 10^{-5}$  М викликають вазодилатацію ізольованих сегментів аорти щурів.

2. Найбільшу вазодилатуючу активність серед досліджених сполук виявляють діетилові естери 5-алкіламіно-2-[N-[N-бензоіл-(4-метилбензиліден)гліцил]амінометил]-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти.

3. Падіння тонусу кровоносних судин при дії нових фосфорильованих пептидоміметиків можливо опосередковане інгібуванням активності  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів плазматичних мембран гладеньком'язових клітин.

**Література**

1. Röhr G., Schnell M., Köckritz A. // *Synthesis*. – 1992. – Vol. 10. – P. 1031-1034.
2. Кондратюк К.М., Лукашук Е.И., Головченко А.В. и др. // *ЖОХ*. – 2012. – Т. 82, №4. – С. 556-566.
3. Kondratyuk K.M., Lukashuk O.I., Golovchenko A.V. et al. // *Tetrahedron*. – 2013. – Vol. 69. – P. 6251-6261.
4. Яковенко І.Н., Шабликін О.В., Козаченко О.П., Броварець В.С. // *ЖОФХ*. – 2012. – Т. 10, №3. – С. 56-58.
5. Яковенко И.Н., Жирнов В.В. // *Доп. НАН України*. – 2010. – №7. – С. 163-169.
6. McCarron J.G., Craig J.W., Bradley K.N., Muir T.C. // *J. Cell Sci*. – 2002. – Vol. 115. – P. 2207-2218.

Надійшла до редакції 10.06.2013 р.

УДК 615.212:542.951.1:547.831.7:547.831.9

# СТРОЕНИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА (4-ГИДРОКСИ-1-МЕТИЛ-2-ОКСО-1,2-ДИГИДРОХИНОЛИН-3-ИЛ)УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ СЛОЖНЫХ ЭФИРОВ

И.В.Украинец, Е.В.Моспанова\*, Т.В.Алексеева

Национальный фармацевтический университет  
61002, г. Харьков, ул. Пушкинская, 53. E-mail: uiv@kharkov.ua\* Институт химических технологий Восточно-украинского национального университета  
им. Владимира Даля

**Ключевые слова:** 4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолины; гетарилуксусные кислоты; сложные эфиры; рентгеноструктурный анализ; противовоспалительное действие; анальгетическая активность

Продолжая поиск новых эффективных и безопасных средств борьбы с болью в ряду разнообразных производных 4-гидроксихинолин-2-онов, в круг изучаемых нами объектов были вовлечены (4-гидрокси-1-метил-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-ил)уксусная кислота и серия ее сложных алкиловых эфиров. Все фармакологические эксперименты по изучению противовоспалительной и анальгетической активности синтезированных веществ были поставлены на белых мышах с использованием стандартных скрининговых моделей – «карагениновый отек» и «уксуснокислые корчи» соответственно. Выявлены соединения, не уступающие в антиэкссудативном и обезболивающем действии известному нестероидному противовоспалительному средству – диклофенаку. Кроме того, обнаружены важные структурно-биологические закономерности, представляющие интерес для дальнейших поисковых исследований в качестве исходного базиса. С помощью рентгеноструктурного анализа изучены особенности пространственного строения некоторых синтезированных продуктов. Проведен детальный сравнительный анализ рентгендифракционных данных наиболее активных анальгетиков, выявленных среди подвергнутых тестированию веществ – метил-(4-гидрокси-1-метил-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-ил)ацетата и его этильного аналога. Инструментально доказано, что эти два соединения имеют практически идентичное пространственное строение, однотипную систему межмолекулярных водородных связей и одинаковую кристаллическую упаковку. При этом они проявляют обезболивающий эффект приблизительно одного уровня, однако сильно различаются по выраженности оказываемых противовоспалительных свойств. По результатам проведенного комплексного аналитико-биологического исследования сделан вывод о том, что при всей своей безусловной важности кристаллическое строение веществ – это далеко не единственный фактор, оказывающий существенное влияние на их фармакологические свойства.

## THE STRUCTURE AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF (4-HYDROXY-1-METHYL-2-OXO-1,2-DIHYDROQUINOLIN-3-YL)ACETIC ACID AND ITS ESTERS

I.V.Ukrainets, O.V.Mospanova, T.V.Alexeeva

**Key words:** 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolines; hetarylacetic acids; complex esters; X-ray diffraction analysis; anti-inflammatory action; analgesic activity

Continuing the search of new effective and safe means for pain relief in the range of different derivatives of 4-hydroxyquinoline-2-ones (4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-3-yl)acetic acid and series of its alkyl esters have been involved in the objects of our research. All pharmacological experiments in studying the anti-inflammatory and analgesic activity of the compounds synthesized have been carried out in white mice using standard screening models – «carrageenan edema» and «acetic acid writhing», respectively. Compounds that are not inferior to the anti-exudative and analgesic action of the known non-steroidal anti-inflammatory drug Diclofenac have been identified. In addition, the important structural and biological regularities, which are of interest for further research as a starting basis have been found. With the help of X-ray analysis the peculiarities of the spatial structure of some products synthesized have been studied. A detailed comparative analysis of X-ray diffraction data of the most active analgesics identified among the tested substances – methyl (4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-3-yl) acetate and its ethyl analogue has been performed. It is instrumentally confirmed that these two compounds have a substantially identical spatial structure, the same type of the intermolecular hydrogen bonds system and the same crystalline packing. However, they exhibit an analgesic effect approximately of the same level, but vary greatly in intensity of their anti-inflammatory properties. According to the results of the comprehensive analytical and biological studies the conclusion has been made that for all its undoubted importance the crystalline structure of substances is not the only factor that has a significant impact on their pharmacological properties.

## БУДОВА І БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ (4-ГІДРОКСИ-1-МЕТИЛ-2-ОКСО-1,2-ДИГІДРОХІНОЛІН-3-ИЛ)ОЦТОВОЇ КИСЛОТИ ТА ЇЇ ЕСТЕРІВ

I.V.Українець, О.В.Моспанова, Т.В.Алексеева

**Ключові слова:** 4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохиноліни; гетарилоцтові кислоти; складні естери; рентгеноструктурний аналіз; протизапальна дія; анальгетична активність

Продовжуючи пошук нових ефективних та безпечних засобів боротьби з болем у ряду різноманітних похідних 4-гидроксихінолін-2-онів, до кола досліджуваних об'єктів, нами були залучені (4-гидрокси-1-метил-

2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-іл)оцтова кислота та серія її алкілових естерів. Усі фармакологічні експерименти з вивчення протизапальної та анальгетичної активності синтезованих речовин були поставлені на білих мишах з використанням стандартних скринінгових моделей – «карагеніновий набряк» та «оцтовокислі корчі» відповідно. Виявлені сполуки, що за антиексудативною та знеболюючою дією не поступаються відомому нестероїдному протизапальному засобу – диклофенаку. Крім того, знайдені важливі структурно-біологічні закономірності, що представляють інтерес для подальших пошукових досліджень як вихідний базис. За допомогою рентгеноструктурного аналізу вивчені особливості просторової будови деяких синтезованих продуктів. Проведено детальний порівняльний аналіз рентгенодифракційних даних найбільш активних анальгетиків, виявлених серед підданих тестуванню речовин – метил-(4-гідрокси-1-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-іл)ацетату та його етильного аналога. Інструментально доведено, що ці дві сполуки мають практично ідентичну просторову будову, однотипну систему міжмолекулярних водневих зв'язків та однакову кристалічну упаковку. При цьому вони проявляють знеболюючий ефект приблизно одного рівня, але сильно відрізняються за виразністю спричинених протизапальних властивостей. За результатами проведеного комплексного аналітико-біологічного дослідження зроблено висновок про те, що при всій своїй безумовній важливості кристалічна будова речовин – це далеко не єдиний фактор, що суттєво впливає на їхні фармакологічні властивості.

Боль и воспаление относятся к наиболее распространенным симптомам, которые сопровождают многочисленные заболевания и патологические состояния. Для устранения этих проявлений в настоящее время широко используются лекарственные препараты из группы нестероидных противовоспалительных средства, среди которых важное место занимают производные арил- и гетарилуксусных кислот – Диклофенак, Ацеклофенак, Индометацин, Клинорил, Этодолак и др. [1, 2]. Принимая во внимание этот факт, а также учитывая высокие анальгетические и противовоспалительные свойства многочисленных 4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновых кислот и их производных [3-9], вовлечение в круг проводимого нами поиска новых эффективных средств борьбы с болью (4-гидрокси-1-метил-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-ил)уксусной кислоты и ее сложных эфиров представляется логичным и закономерным.

Синтез исходной (4-гидрокси-1-метил-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-ил)уксусной кислоты (**1**) осуществлен ацилированием метил-*N*-метилантрацилатата β-метоксикарбонил-пропионилхлоридом с последующей обработкой промежуточного анилида натрия метилатом в метиловом спирте. Образующаяся в процессе этой реакции смесь метиловых эфиров (хинолин-3-ил)уксусной и бензазепин-4-карбоновой кислот при обработке водным раствором КОН подвергается гидролизу и рециклизации в один и тот же конечный продукт – целевую (хинолин-3-ил)уксусную кислоту **1** [10]. Катализируемая кислотами этерификация этого соединения первичными алифатическими спиртами с высокими выходами дает соответствующие

алкил-(4-гидрокси-1-метил-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-ил)ацетаты (**2a-i**), представляющие интерес для фармакологических испытаний (схема).

Тестирование противовоспалительных свойств синтезированных соединений проведено на модели каррагенинового отека у мышей [11], позволяющей судить о влиянии исследуемых веществ на экссудативную фазу острого асептического воспаления. В качестве препарата сравнения использовано классическое нестероидное противовоспалительное средство – диклофенак в дозе 8 мг/кг, соответствующей ED<sub>50</sub> этого препарата на данной экспериментальной модели [12]. Изучаемые вещества вводились перорально в виде тонких водных суспензий, стабилизированных твином-80, в эквимолярных диклофенаку дозах и в объемах не более 0,3 мл на 10 г массы животного. Полученные при этом результаты показывают, что исходная (хинолин-3-ил)уксусная кислота **1** в эквимолярной диклофенаку дозе способна снижать величину каррагенинового отека на 23,1% (табл. 1). Несколько более удачно на антиэкссудативных свойствах отразилась этерификация карбоксильной группы. Так, среди изученных эфиров **2a-i** обнаружены вещества примерно одного уровня активности с диклофенаком, причем переход от соединений с нормальными *O*-алкильными цепями к производным *изо*-строения приводит к почти полной утрате противовоспалительного эффекта.

А вот для анальгетических свойств (хинолин-3-ил)уксусной кислоты **1** и ее сложных эфиров **2a-i** эта структурно-биологическая закономерность уже не характерна. Хотя и здесь большинство эфиров оказалось гораздо активнее исход-

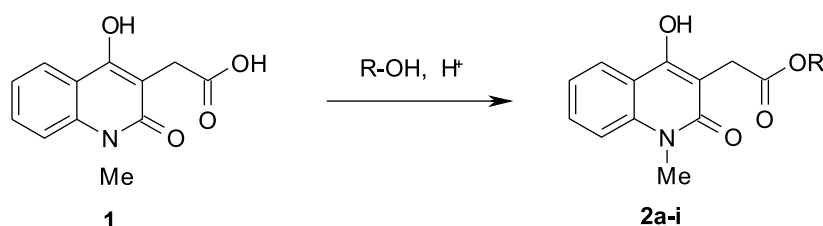


Таблица 1

Биологические свойства (хинолин-3-ил)уксусной кислоты **1** и ее сложных эфиров **2a-i**

Соединение	R	Противовоспалительная активность (снижение отека, %)	Анальгетическая активность (уменьшение количества «уксуснокислых корчей», %)
1	–	23.1	28.5
2a	Me	12.7	64.2
2b	Et	45.5	54.4
2c	All	52.5	24.1
2d	Pr	20.4	33.9
2e	<i>i</i> -Pr	3.1	39.3
2f	Bu	46.2	50.2
2g	<i>i</i> -Bu	27.3	50.2
2h	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	44.5	35.9
2i	<i>i</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	9.6	22.1
<b>Диклофенак</b> (8 мг/кг)		49.8	–
<b>Диклофенак</b> (5 мг/кг)		–	51.6

ной кислоты. В экспериментах использована классическая модель «уксуснокислых корчей» [11]. Испытуемые вещества вводились перорально в виде тонкой водной суспензии, стабилизированной твином-80 в дозе 5 мг/кг, соответствующей ED<sub>50</sub> диклофенака [12].

Рентгеноструктурное исследование пространственного строения самого мощного анальгетика из представленной группы сложных эфиров – метилхинолинилацетата **2a** позволило установить, что хинолоновое ядро в молекуле этого соединения не вполне планарно: торсионный угол C(1)–N(1)–C(9)–C(8) составляет -5.8(2)° (рис. 1, табл. 2, 3). При этом возникает укороченный внутримолекулярный контакт Н(5)...О(2) 2,40 Å (сумма ван-дер-ваальсовых радиусов [13] 2,46 Å). Метоксикарбонильный фрагмент заместителя при атоме С(8) расположен ортогонально плоскости бицикла и несколько развернут относительно связи С(8)–С(10) [торсионные углы C(7)–C(8)–C(10)–C(11) 93,9(1)° и C(8)–C(10)–C(11)–O(3) -19,7(2)°]. Метильная группа этого фрагмента находится в *ар*-кон-

формации относительно связи С(10)–С(11) [торсионный угол C(12)–O(4)–C(11)–C(10) составляет 178,3(1)°].

Между атомами метильной группы при атоме N(1), соседней карбонильной группой C(9)–O(1) и атомом водорода в *peri*-положении бензольной части хинолонового кольца обнаружено достаточно сильное отталкивание, о чем свидетельствуют укороченные внутримолекулярные контакты Н(2)...С(13) 2,53 Å (2,87 Å), Н(2)...Н(13с) 2,27 Å (2,34 Å), Н(13с)...С(2) 2,74 Å (2,87 Å) и Н(13а)...О(1) 2,24 Å (2,46 Å).

В кристалле молекулы метилового эфира (4-гидрокси-1-метил-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-ил)уксусной кислоты (**2a**) образуются бесконечные зигзагообразные цепочки (рис. 2) вдоль кристаллографического направления [0 0 1] за счет межмолекулярной водородной связи O(2)–Н...O(1)' (x, 0,5 – y, 0,5 + z) Н...О 1,76 Å, О–Н...О 160°. Образование этой водородной связи, по-видимому, обуславливает удлинение связи С(9)–O(1) до 1,251(1) Å по сравнению с ее средним значением [14] 1,210 Å.

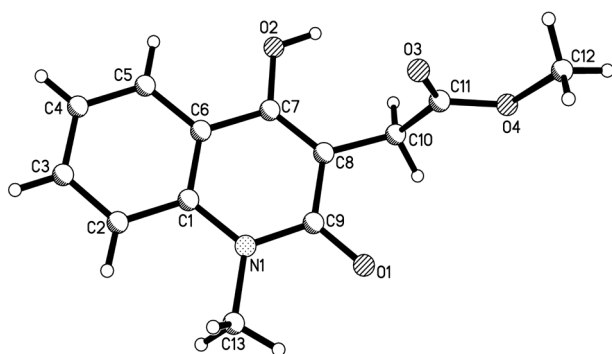


Рис. 1. Строение молекулы метилхинолинилацетата **2a** с нумерацией атомов.

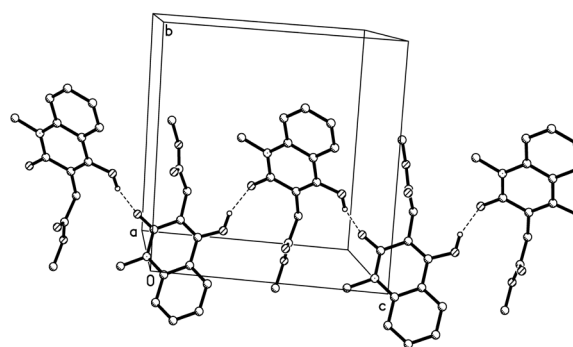


Рис. 2. Бесконечные цепочки, образованные в кристалле молекулами метилхинолинилацетата **2a**. Пунктирными линиями обозначены межмолекулярные водородные связи.

Таблица 2

Длины связей (Å) в структуре метилхинолинилацетата **2a**

Связь	<i>l</i> , Å	Связь	<i>l</i> , Å
N(1)-C(9)	1.375(2)	N(1)-C(1)	1.394(2)
N(1)-C(13)	1.465(2)	O(1)-C(9)	1.251(1)
O(2)-C(7)	1.345(1)	O(3)-C(11)	1.196(1)
O(4)-C(11)	1.335(1)	O(4)-C(12)	1.438(2)
C(1)-C(6)	1.400(2)	C(1)-C(2)	1.402(2)
C(2)-C(3)	1.377(2)	C(3)-C(4)	1.379(2)
C(4)-C(5)	1.366(2)	C(5)-C(6)	1.405(2)
C(6)-C(7)	1.433(2)	C(7)-C(8)	1.357(2)
C(8)-C(9)	1.437(2)	C(8)-C(10)	1.502(2)
C(10)-C(11)	1.498(2)		

Также в кристалле обнаружена система межмолекулярных С–Н...π водородных связей: C(12)–H(12a)...C(5)' (*x*, 0,5 - *y*, -0,5 + *z*) Н...π 2,78 Å, С–Н...π 172°; C(13)–H(13a)...C(11)' (*x*, 0,5 - *y*, -0,5 + *z*) Н...π 2,84 Å, С–Н...π 138° и C(13)–H(13b)...C(5)' (-*x*, 1 - *y*, 1 - *z*) Н...π 2,81 Å, С–Н...π 148°.

Сравнительный анализ рентгенодифракционных данных метилхинолинилацетата **2a** и его изученного ранее этильного аналога **2b** [15] обнаруживает удивительное сходство не только особенностей пространственного строения этих соединений, но и их кристаллической упаковки. В связи с этим и с учетом описанных ранее примеров существенного влияния кристаллического строения 4-гидроксихинолин-2-онов на их биологическую активность [16–18] близкие анальгетические свойства метил-(4-гидрокси-1-метил-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-ил)ацетата (**2a**) и его этильного аналога **2b** представляются вполне закономерными. Вместе с тем, значительные различия в оказываемом этими веществами противовоспалительном действии служат убедительным доказательством того, что кристаллическое строение хоть и важный, но далеко не единственный фактор, влияющий на фармакологические свойства субстанции.

### Экспериментальная часть

Подробные методики получения, физико-химические и спектральные характеристики (4-гидрокси-1-метил-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-ил)уксусной кислоты (**1**) и ее сложных эфиров **2a-i** приведены в работе [10].

**Рентгеноструктурное исследование.** Кристаллы метилхинолинилацетата **2a** моноклинные (метиловый спирт), при 20°C *a* = 9,079(1), *b* = 11,490(1), *c* = 11,407(1) Å, β = 105,27(1)°, *V* = 1147,9(3) Å<sup>3</sup>, *M<sub>r</sub>* = 247,24, *Z* = 4, пространственная группа P2<sub>1</sub>/c, *d<sub>выч</sub>* = 1,431 г/см<sup>3</sup>, μ(МоК<sub>α</sub>) = 0,107 мм<sup>-1</sup>, F(000) = 520. Параметры элементарной ячейки и интенсивности

Таблица 3

Валентные углы (град.) в структуре метилхинолинилацетата **2a**

Валентный угол	ω, град.	Валентный угол	ω, град.
C(9)-N(1)-C(1)	122.2(1)	C(9)-N(1)-C(13)	117.9(1)
C(1)-N(1)-C(13)	119.9(1)	C(11)-O(4)-C(12)	116.5(1)
N(1)-C(1)-C(6)	119.3(1)	N(1)-C(1)-C(2)	121.6(1)
C(6)-C(1)-C(2)	119.1(1)	C(3)-C(2)-C(1)	119.9(1)
C(2)-C(3)-C(4)	121.1(1)	C(5)-C(4)-C(3)	119.9(1)
C(4)-C(5)-C(6)	120.7(1)	C(1)-C(6)-C(5)	119.4(1)
C(1)-C(6)-C(7)	118.7(1)	C(5)-C(6)-C(7)	121.9(1)
O(2)-C(7)-C(8)	125.3(1)	O(2)-C(7)-C(6)	113.6(1)
C(8)-C(7)-C(6)	121.2(1)	C(7)-C(8)-C(9)	119.8(1)
C(7)-C(8)-C(10)	124.2(1)	C(9)-C(8)-C(10)	116.1(1)
O(1)-C(9)-N(1)	119.5(1)	O(1)-C(9)-C(8)	121.8(1)
N(1)-C(9)-C(8)	118.7(1)	C(11)-C(10)-C(8)	114.0(1)
O(3)-C(11)-O(4)	124.1(1)	O(3)-C(11)-C(10)	125.9(1)
O(4)-C(11)-C(10)	110.0(1)		

11982 отражений (3335 независимых, *R<sub>int</sub>* = 0,031) измерены на дифрактометре Xcalibur-3 (МоК<sub>α</sub> излучение, CCD-детектор, графитовый монохроматор, ω-сканирование, 2θ<sub>макс</sub> = 60°).

Структура расшифрована прямым методом по комплексу программ SHELXTL [19]. Положения атомов водорода выявлены из разностного синтеза электронной плотности и уточнены по модели «наездника» с *U<sub>изо</sub>* = *n U<sub>эkv</sub>* (*n* = 1,5 для метильных и гидроксильной групп и *n* = 1,2 для остальных атомов водорода). Атом водорода, участвующий в образовании водородной связи, уточнен изотропно. Структура уточнена по *F<sup>2</sup>* полноматричным МНК в анизотропном приближении для неводородных атомов до *wR<sub>2</sub>* = 0.082 по 3295 отражениям (*R<sub>1</sub>* = 0,035 по 1454 отражениям с *F* > 4σ(*F*), *S* = 0,723). Межатомные расстояния и валентные углы приведены в табл. 2 и 3 соответственно.

Полная кристаллографическая информация о структуре метилового эфира (4-гидрокси-1-метил-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-ил)уксусной кислоты (**2a**) приведена в работе [20].

### Выводы

1. Изучены противовоспалительная и анальгетическая активность (4-гидрокси-1-метил-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-ил)уксусной кислоты и серии ее сложных эфиров.

2. Экспериментально доказано, что имея практически идентичные пространственное строение, систему межмолекулярных водородных связей и кристаллическую упаковку, некоторые из алкил-(4-гидрокси-1-метил-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-ил)ацетатов могут довольно сильно различаться в биологических свойствах.



**Литература**

1. Kleemann A., Engel J., Kutscher B., Reichert D. *Pharmaceutical Substances: Syntheses, Patents, Applications of the most relevant APIs; 5th Revised edition.* – Stuttgart: Thieme, 2008. – 1800 p.
2. Машковский М.Д. *Лекарственные средства.* – М.: РИА «Новая волна»: Издатель Умеренков, 2008. – 1206 с.
3. Collin X., Robert J.M., Duflos M. et al. // *J. Pharm. Pharmacol.* – 2001. – Vol. 53, №3. – P. 417-423.
4. Ukrainets I.V., Davidenko A.A., Mospanova E.V. et al. // *Chem. Heterocycl. Comp.* – 2010. – Vol. 46, №5. – P. 559-568.
5. Ukrainets I.V., Mospanova E.V., Davidenko A.A., Shishkina S.V. // *Chem. Heterocycl. Comp.* – 2010. – Vol. 46, №9. – P. 1084-1095.
6. Ukrainets I.V., Bezv O.V., Mospanova E.V. et al. // *Chem. Heterocycl. Comp.* – 2012. – Vol. 48, №2. – P. 320-326.
7. Ukrainets I.V., Gorokhova O.V., Andreeva X.V., Sim G. // *Int. J. Pharm. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 1, №3. – P. 34-40.
8. Ukrainets I.V., Gorokhova O.V., Andreeva K.V., Kravchenko V.N. // *Chem. Heterocycl. Comp.* – 2012. – Vol. 48, №12. – P. 1809-1816. – DOI: 10.1007/s10593-013-1213-5
9. Ukrainets I.V., Gorokhova O.V., Andreeva K.V. // *Russ. J. Org. Chem.* – 2013. – Vol. 49, №6. – P. 867-871.
10. Ukrainets I.V., Mospanova E.V., Davidenko A.A. et al. // *Chem. Heterocycl. Comp.* – 2010. – Vol. 46, №8. – P. 947-956.
11. Vogel H.G. *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays.* – Berlin: Springer; 2008. – 2071 p.
12. Сигидин Я.А., Шварц Г.Я., Арзамасцев А.П., Либерман С.С. *Лекарственная терапия воспалительного процесса.* – М.: Медицина, 1988. – С. 60-63.
13. Зефиоров Ю.В. // *Кристаллография.* – 1997. – Т. 42, №5. – С. 936-958.
14. Burgi H.-B., Dunitz J.D. *Structure correlation.* – Weinheim: VCH, 1994. – Vol. 2. – P. 741-784.
15. Ukrainets I.V., Shishkina S.V., Shishkin O.V. et al. // *Acta Crystallogr. Sect. E.* – 2009. – Vol. E65. – P. o968.
16. Ukrainets I.V., Mospanova E.V., Davidenko A.A., Shishkina S.V. // *Chem. Heterocycl. Comp.* – 2010. – Vol. 46, №11. – P. 1371-1379.
17. Українець І.В., Моспанова О.В., Гриневич Л.О., Колісник О.В. // *Медична хімія.* – 2010. – Т. 12, №2 (43). – С. 68-72.
18. Українець І.В., Моспанова Е.В., Баумер В.Н. // *ЖОФХ.* – 2012. – Т. 10, вып. 1 (37). – С. 66-71.
19. Sheldrick G.M. // *Acta Crystallogr., Sect. A.* – 2008. – Vol. A64. – P. 112-122.
20. Shishkina S.V., Shishkin O.V., Ukrainets I.V., Mospanova E.V. // *Acta Crystallogr. Sect. E.* – 2010. – Vol. E66. – P. o3195.

Надійшла до редакції 12.06.2013 р.

# ГЕТЕРОЦИКЛІЗАЦІЇ НА ОСНОВІ ЕТИЛ 1-АРИЛ-4-(БРОМАЦЕТИЛ)-5-МЕТИЛ-1H-ПИРАЗОЛ- 3-КАРБОКСИЛАТІВ

М.А.Потопник, В.С.Матійчук, М.Д.Обушак

Львівський національний університет ім. Івана Франка  
79005, м. Львів, вул. Кирила і Мефодія, 6. E-mail: obushak@in.lviv.ua

**Ключові слова:** піразол; 1-арилпіразоли; гетероциклізації; тiazол; імідазо[1,2-а]піридин; імідазо[2,1-б][1,3]тіазол; [1,2,4]тріазоло[3,4-б][1,3,4]тіадіазин

Гетероциклізаціями етил 1-арил-4-(бромацетил)-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилатів з тіобензамідом, (6-метилпіридин-2-іл)тіосечовиною або гуанідилтіосечовиною, 2-амінопіридином, 2-амінотіазолом та 4-аміно-5-арил(гетарил)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-тріазол-3-тіонами синтезовано етил 1-арил-5-метил-4-(2-R-1,3-тіазол-4-іл)-1H-піразол-3-карбоксилати, етил 1-арил-4-(імідазо[1,2-а]піридин-2-іл)-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилати, етил 1-арил-4-(імідазо[2,1-б][1,3]тіазол-6-іл)-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилати та етил 1-арил-4-{3-арил(гетарил)-7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-б][1,3,4]тіадіазин-6-іл}-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилати відповідно.

## HETEROCYCLISATION ON THE BASIS OF ETHYL 1-ARYL-4-(BROMOACETYL)-5-METHYL-1H-PYRAZOLE-3-CARBOXYLATES

M.A.Potopnyk, V.S.Matiychuk, M.D.Obushak

**Key words:** pyrazole; 1-arylpyrazoles; heterocyclisations; thiazole; imidazo[1,2-a]pyridine; imidazo[2,1-b][1,3]thiazole; [1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine

Ethyl 1-aryl-5-methyl-4-(2-R-1,3-thiazol-4-yl)-1H-pyrazole-3-carboxylates, ethyl 1-aryl-4-(imidazo[1,2-a]pyridin-2-yl)-5-methyl-1H-pyrazole-3-carboxylates, ethyl 1-aryl-4-(imidazo[2,1-b][1,3]thiazol-6-yl)-5-methyl-1H-pyrazole-3-carboxylates, ethyl 1-aryl-4-{3-aryl(hetaryl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazin-6-yl}-5-methyl-1H-pyrazole-3-carboxylates have been synthesized by heterocyclisations of ethyl 1-aryl-4-(bromoacetyl)-5-methyl-1H-pyrazole-3-carboxylates with thiobenzamide, 1-(6-methylpyridin-2-yl)thiourea or 1-carbamidoylthiourea, pyridin-2-amine, 1,3-thiazol-2-amine and 4-amino-5-aryl(hetaryl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thiones, respectively.

## ГЕТЕРОЦИКЛІЗАЦІЇ НА ОСНОВЕ ЕТИЛ 1-АРИЛ-4-(БРОМАЦЕТИЛ)-5-МЕТИЛ-1H-ПИРАЗОЛ-3-КАРБОКСИЛАТІВ

М.А.Потопник, В.С.Матійчук, М.Д.Обушак

**Ключевые слова:** пиразол; 1-арилпиразоли; гетероциклізації; тiazол; імідазо[1,2-а]піридин; імідазо[2,1-б][1,3]тіазол; [1,2,4]тріазоло[3,4-б][1,3,4]тіадіазин

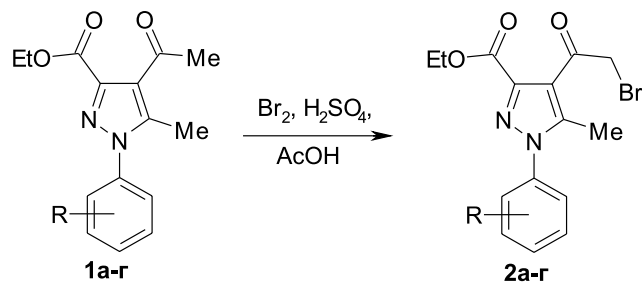
Гетероциклізаціями етил 1-арил-4-(бромацетил)-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилатів з тіобензамідом, (6-метилпіридин-2-іл)тіомочовиною или гуанідилтіомочовиною, 2-амінопіридином, 2-амінотіазолом и 4-аміно-5-арил(гетарил)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-тріазол-3-тіонами получені етил 1-арил-5-метил-4-(2-R-1,3-тіазол-4-іл)-1H-піразол-3-карбоксилати, етил 1-арил-4-(імідазо[1,2-а]піридин-2-іл)-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилати, етил 1-арил-4-(імідазо[2,1-б][1,3]тіазол-6-іл)-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилати и етил 1-арил-4-{3-арил(гетарил)-7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-б][1,3,4]тіадіазин-6-іл}-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилати соответственно.

Функціоналізовані 1-арилпіразоли широко використовують як прекурсори в синтезі біологічно активних препаратів [1-8]. У дизайні піразоловмісних гетероциклічних систем важливе значення має введення в піразольне кільце таких функціональних груп, які здатні формувати фармакофорні фрагменти. В цьому контексті, на наш погляд, синтетично привабливими є 1-арил-4-бром-ацетилпіразоли.

В попередніх працях ми показали, що 1-арил-4-бромацетилпіразоли є зручними алкілюючими реагентами в реакціях з *O*- та *S*-нуклеофілами [8-10]. Предметом цієї роботи було дослідження етил 1-арил-4-(бромацетил)-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилатів (**2**) у процесах гетероциклізацій. Вихідні речовини ми отримали за допомогою кислотного-каталітичного бромовання етил 1-арил-4-

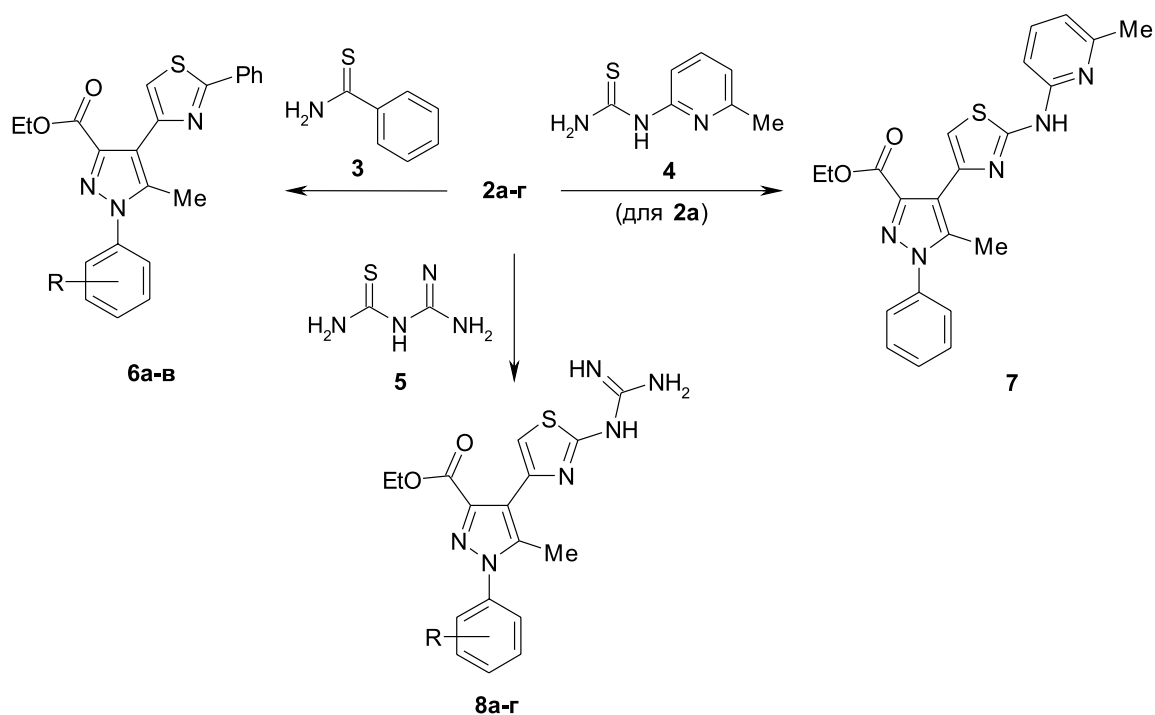
ацетил-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилатів (**1a-g**) (схема 1).

Відомо, що в реакціях тіоамідів або тіосечовин з  $\alpha$ -галогенкетонами утворюються похідні тiazолу [11, 12]. Ми дослідили взаємодію бромкетонів



1, 2: R = H (a), 3-Cl (б), 4-Cl (в), 4-Br (г)

Схема 1

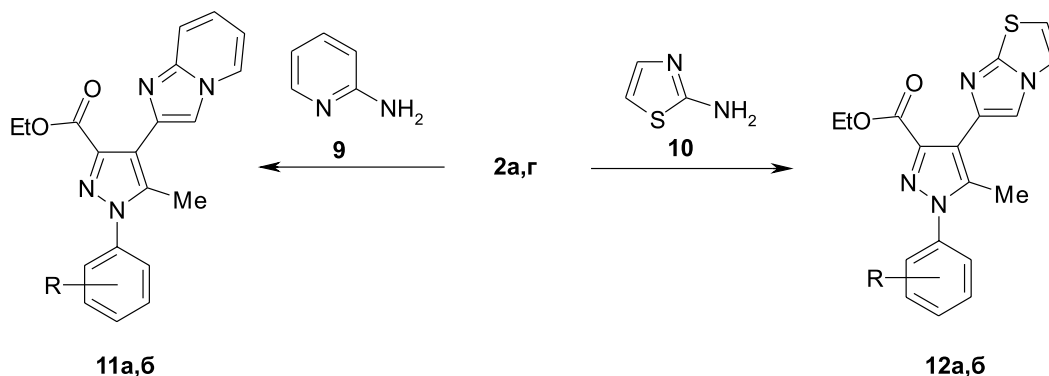


**6, 8:** R = H (а), 3-Cl (б), 4-Cl (в), 4-Br (г)

Схема 2

**2** з тиобензамідом (**3**), (6-метилпіридин-2-іл)тіосечовиною (**4**) та гуанідилтіосечовиною (**5**). Тіазольний цикл утворюється в усіх випадках, в результаті чого отримано низку заміщених 1-арил-4-(1,3-тіазол-4-іл)-1*H*-піразолів **6a-v**, **7** та **8a-г** (схема 2).

Взаємодія  $\alpha$ -галогенкетонів з 2-амінопіридином (**9**) та 2-амінотіазолом (**10**) супроводжується анілюванням імідазольного циклу та утворенням похідних імідазо[1,2-*a*]піридину [13, 14] та імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазолу [15, 16] відповідно. Ми з'ясували, що в реакції 1-арил-4-бромацетилпіразолів **2a** та **2г** з амінами **9** та **10** утворюються етил 1-арил-4-(імідазо[1,2-*a*]піридин-2-іл)-5-метил-1*H*-піразол-3-карбоксилати (**11a, б**) та етил 1-арил-4-(імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазол-6-іл)-5-метил-1*H*-піразол-3-карбоксилати (**12a, б**) (схема 3).



**11, 12:** R = H (а), 4-Br (б)

Схема 3

Перспективними реагентами для конструювання фармакофорних гетероциклічних фрагментів є 4-аміно-2,4-дигідро-3*H*-1,2,4-триазол-3-тіони [17-19]. При взаємодії цих бінуклеофілів з  $\alpha$ -галогенкетонами утворюються похідні [1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину [19, 20]. Наші дослідження показали, що сполуки (**2a-г**) реагують з 4-аміно-5-арил(гетарил)-2,4-дигідро-3*H*-1,2,4-триазол-3-тіонами (**13-15**) із формуванням 1,3,4-тіадіазинового циклу. Продуктами такої циклізації є етил 1-арил-4-{3-арил(гетарил)-7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл}-5-метил-1*H*-піразол-3-карбоксилати (**16-18**) (схема 4).

Варто зазначити, що сполуки **18a-г** характеризуються фіолетовим забарвленням.

Таким чином, проведені дослідження показали широкі синтетичні можливості 1-арил-4-бром-

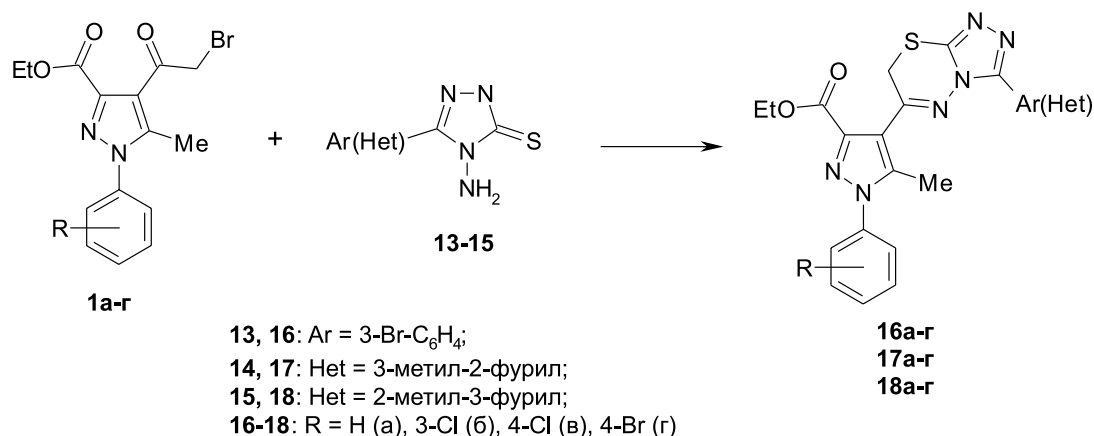


Схема 4

ацетилпіразолів у конструюванні сполук з новими ансамблями гетероциклів.

### Експериментальна частина

Спектри ЯМР <sup>1</sup>H та ЯМР <sup>13</sup>C отриманих сполук записували на приладах Varian Gemini 200 Dual та Varian Mercury 400 (робочі частоти для спектрів ЯМР <sup>1</sup>H – 200 та 400 МГц, для спектрів ЯМР <sup>13</sup>C – 50 та 100 МГц відповідно). Розчинник – CDCl<sub>3</sub> або ДМСО-*d*<sub>6</sub>. Внутрішній стандарт – ТМС, або ж хімізміщення наводили відносно сигналу розчинника (CDCl<sub>3</sub> – 7,27 та 77,0 м.ч. для спектрів ЯМР <sup>1</sup>H та ЯМР <sup>13</sup>C відповідно, ДМСО – 2,50 та 39,5 м.ч. для спектрів ЯМР <sup>1</sup>H та ЯМР <sup>13</sup>C відповідно). Константи спин-спінової взаємодії (*J*) наведені в герцах.

**Синтез етил 4-(бромацетил)-5-метил-1-феніл-1H-піразол-3-карбоксилату (2а).** До розчину 1,05 г (3 ммоль) сполуки **1а** у 80 мл крижаної оцтової кислоти додавали три краплі концентрованої сульфатної кислоти. Прикrapували 1,55 мл (3 ммоль) бром, розчиненого в 20 мл АсОН. Після завершення додавання розчину бром суміш продовжували перемішувати ще впродовж 5 год. Додали 300 мл води і екстрагували метиленхлоридом (3×300 мл). Органічну фазу промивали водою, розчином карбонату калію та хлориду натрію. Сушили сульфатом магнію, концентрували і очищали за допомогою колонкової хроматографії. Елюент: гексан-етилацетат, 8:1. Вихід – 82%. Т. пл. – 65°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>), δ: 1,43 (т, *J* 7,1, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2,43 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 4,47 (к, *J* 7,1, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4,60 (с, 2H, CH<sub>2</sub>Br), 7,41-7,56 (м, 5H, Ar), Спектр <sup>13</sup>C ЯМР (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>), δ: 12,1, 14,2, 35,6, 62,0, 119,3, 125,9 (2C), 129,4 (2C), 129,5, 137,8, 141,9, 145,3, 162,4, 190,1. Знайдено, %: C 51,18; H 4,39; N 7,84. C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Обчислено, %: C 51,30; H 4,31; N 7,98.

Синтез і характеристика сполук **2б, в** описані в статті [7]. За аналогічною методикою отримували сполуку **2г**.

**Етил 4-(бромацетил)-1-(4-бромофеніл)-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилат (2г).** Вихід – 77%.

Т. пл. – 149°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (200 МГц, CDCl<sub>3</sub>), δ: 1,44 (т, *J* 7,2, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 2,43 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 4,47 (к, *J* 7,2, 2H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 4,58 (с, 2H, CH<sub>2</sub>Br), 7,33 (д, *J* 8,4, 2H, Ar), 7,67 (д, *J* 8,4, 2H, Ar). Знайдено, %: C 41,72; H 3,31; N 6,57. C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Обчислено, %: C 41,89; H 3,28; N 6,51.

**Загальна методика синтезу сполук 6-8, 11, 12, 16-18.** До розчину бромкетону **2а-г** (1 ммоль) в 10 мл етанолу додавали тиобензамід **3**, (6-метилпіридин-2-іл)тіосечовину **4**, 1-карбамідоїлтіосечовину **5**, 2-амінопіридин **9**, 2-амінотіазол **10**, 4-аміно-5-(3-бромофеніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіон **13**, 4-аміно-5-(3-метилфуран-2-іл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіон **14** або 4-аміно-5-(2-метилфуран-3-іл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіон **15** (1 ммоль) і кип'ятили протягом 3-4 год. Після охолодження додавали 20 мл води і 2% розчин аміаку до рН~8. Утворений осад відфільтровували і перекристалізували зі спирту.

**Етил 5-метил-4-(2-феніл-1,3-тіазол-4-іл)-1-феніл-1H-піразол-3-карбоксилат (6а).** Вихід – 68%. Т. пл. – 124°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>), δ: 1,34 (т, *J* 7,1, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2,50 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 4,39 (к, *J* 7,1, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 7,38-7,74 (м, 8H, Ph), 7,74 (с, 1H, H-тіазол), 8,01 (д, *J* 2,1, 7,7, 2H, Ph), Спектр ЯМР <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>), δ: 12,3, 14,2, 61,0, 117,5, 118,2, 125,9 (2C), 126,4 (2C), 128,8, 128,9 (2C), 129,2 (2C), 129,9, 133,7, 139,0, 140,5, 141,0, 147,4, 162,7, 166,4. Знайдено, %: C 67,67; H 4,86; N 10,91. C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S. Обчислено, %: C 67,85; H 4,92; N 10,79.

**Етил 5-метил-4-(2-феніл-1,3-тіазол-4-іл)-1-(3-хлорофеніл)-1H-піразол-3-карбоксилат (6б).** Вихід – 81%. Т. пл. – 107°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (200 МГц, CDCl<sub>3</sub>), δ: 1,34 (т, *J* 6,8, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 2,53 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 4,39 (к, *J* 6,8, 2H, CH<sub>2</sub>), 7,44 (ш. с, 6H, Ar), 7,57 (с, 1H, Ar), 7,74 (с, 1H, Ar), 7,97-8,06 (м, 2H, Ar), Знайдено, %: C 62,61; H 4,16; N 9,78. C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S. Обчислено, %: C 62,33; H 4,28; N 9,91.

**Етил 5-метил-4-(2-феніл-1,3-тіазол-4-іл)-1-(4-хлорофеніл)-1H-піразол-3-карбоксилат (6в).** Вихід – 71%. Т. пл. – 99°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (200 МГц, CDCl<sub>3</sub>), δ: 1,33 (т, *J* 7,1, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 2,50 (с, 3H, CH<sub>3</sub>),

4,38 (к,  $J$  7,1, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7,36-7,54 (м, 7H, Ar), 7,73 (с, 1H, H-тіазол), 7,96-8,04 (м, 2H, Ar). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  NMR (50 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 12,3, 14,2, 61,1, 118,3, 126,4 (2С), 127,0 (2С), 128,3, 128,9 (2С), 129,4 (2С), 129,9, 133,6, 134,7, 137,5, 140,5, 141,4, 147,1, 162,5, 166,5. Знайдено, %: С 62,18; Н 4,19; N 9,83.  $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ . Обчислено, %: С 62,33; Н 4,28; N 9,91.

**Етил 4-{2-[(6-метилпіридин-2-іл)аміно]-1,3-тіазол-4-іл}-5-метил-1-феніл-1H-піразол-3-карбоксилат (7)**. Вихід – 70%. Т. пл. – 163°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ : 1,19 (т,  $J$  7,0, 3H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 2,40 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,47 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4,23 (к,  $J$  7,0, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 6,77 (д,  $J$  8,1, 1H, піридин), 6,89 (д,  $J$  8,1, 1H, піридин), 7,06 (с, 1H, тіазол), 7,50-7,63 (м, 6H, Ph + піридин), 11,21 (с, 1H, NH). Знайдено, %: С 63,17; Н 5,13; N 16,45.  $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ . Обчислено, %: С 62,99; Н 5,05; N 16,69.

**Етил 4-(2-карбамідамідо-1,3-тіазол-4-іл)-5-метил-1-феніл-1H-піразол-3-карбоксилат (8а)**. Вихід – 72%. Т. пл. – 247°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ : 1,21 (т,  $J$  7,0, 3H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 2,35 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4,23 (к,  $J$  7,0, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 6,77 (с, 1H, тіазол), 6,85 (ш. с, 4H, NH), 7,49-7,63 (м, 5H, Ph), Знайдено, %: С 55,03; Н 4,97; N 22,82.  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}$ . Обчислено, %: С 55,12; Н 4,90; N 22,69.

**Етил 4-(2-карбамідамідо-1,3-тіазол-4-іл)-5-метил-1-(3-хлорофеніл)-1H-піразол-3-карбоксилат (8б)**. Вихід – 87%. Т. пл. – 203°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 1,32 (т,  $J$  7,2, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 2,37 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4,35 (к,  $J$  7,2, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,68 (ш. с, 4H, NH), 6,91 (с, 1H, тіазол), 7,34-7,50 (м, 3H, Ar), 7,53 (с, 1H, Ar). Знайдено, %: С 50,26; Н 4,12; N 20,57.  $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{ClN}_6\text{O}_2\text{S}$ . Обчислено, %: С 50,43; Н 4,23; N 20,76.

**Етил 4-(2-карбамідамідо-1,3-тіазол-4-іл)-5-метил-1-(4-хлорофеніл)-1H-піразол-3-карбоксилат (8в)**. Вихід – 72%. Т. пл. – 218°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ : 1,22 (т,  $J$  7,1, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 2,37 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4,24 (к,  $J$  7,1, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,79 (с, 1H, тіазол), 6,86 (ш. с, 4H, NH), 7,65 (с, 4H, Ar). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (50 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ : 11,8, 14,0, 60,4, 106,2, 117,7, 127,0 (2С), 129,4 (2С), 133,2, 137,5, 138,8, 140,6, 141,6, 156,9, 162,5, 174,2. Знайдено, %: С 50,65; Н 4,14; N 20,61.  $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{ClN}_6\text{O}_2\text{S}$ . Обчислено, %: С 50,43; Н 4,23; N 20,76.

**Етил 1-(4-бромофеніл)-4-(2-карбамідамідо-1,3-тіазол-4-іл)-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилат (8г)**. Вихід – 79%. Т. пл. – 207°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ : 1,21 (т,  $J$  7,0, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 2,36 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4,23 (к,  $J$  7,0, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,78 (с, 1H, тіазол), 6,82 (ш. с, 4H, NH), 7,57 (д,  $J$  8,2, 2H, Ar), 7,78 (д,  $J$  8,2, 2H, Ar). Знайдено, %: С 45,21; Н 3,93; N 18,47.  $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{BrN}_6\text{O}_2\text{S}$ . Обчислено, %: С 45,44; Н 3,81; N 18,70.

**Етил 4-(імідазо[1,2-а]піридин-2-іл)-5-метил-1-феніл-1H-піразол-3-карбоксилат (11а)**. Вихід – 61%. Т. пл. – 133°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 1,38 (т,  $J$  7,1, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 2,59 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4,42 (к,  $J$  7,1, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,77 (д, д, д,  $J$  6,8, 6,8, 1,1, 1H, піридин), 7,15 (д, д, д,  $J$  6,8, 6,7, 1,1, 1H, піридин),

7,42-7,64 (м, 6H, Ph, піридин), 8,16 (д, т,  $J$  6,8, 1,1, 1H, піридин), 8,20 (с, 1H, імідазол). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (50 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 12,4, 14,3, 60,9, 112,0, 113,0, 117,2, 124,0, 125,5, 125,8, 125,9 (2С), 128,7, 129,1 (2С), 137,3, 139,1, 140,6, 140,8, 144,4, 162,9. Знайдено, %: С 69,61; Н 5,12; N 16,03.  $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2$ . Обчислено, %: С 69,35; Н 5,24; N 16,17.

**Етил 1-(4-бромофеніл)-4-(імідазо[1,2-а]піридин-2-іл)-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилат (11б)**. Вихід – 73%. Т. пл. – 105°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$ : 1,25 (т,  $J$  7,2, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 2,56 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4,29 (к,  $J$  7,2, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,90 (д, д,  $J$  7,0, 6,8, 1H, піридин), 7,23 (д, д,  $J$  7,0, 8,8, 1H, піридин), 7,57 (д,  $J$  8,8, 1H, піридин), 7,61 (д,  $J$  8,0, 2H, Ar), 7,80 (д,  $J$  8,0, 2H, Ar), 8,28 (с, 1H, імідазол), 8,62 (д,  $J$  6,8, 1H, піридин). Знайдено, %: С 56,65; Н 4,16; N 13,02.  $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{BrN}_4\text{O}_2$ . Обчислено, %: С 56,48; Н 4,03; N 13,17.

**Етил 4-(імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазол-6-іл)-5-метил-1-феніл-1H-піразол-3-карбоксилат (12а)**. Вихід – 58%. Т. пл. – 135°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 1,38 (т,  $J$  7,1, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 2,54 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4,41 (к,  $J$  7,1, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,81 (д,  $J$  4,4, 1H, тіазол), 7,42-7,56 (м, 6H, Ph + тіазол), 8,09 (с, 1H, імідазол). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (50 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 12,4, 14,3, 60,9, 112,0, 113,0, 116,8, 118,5, 125,8 (2С), 128,7, 129,1 (2С), 138,6, 139,1, 140,2, 140,3, 148,6, 162,9. Знайдено, %: С 61,03; Н 4,65; N 15,77.  $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ . Обчислено, %: С 61,35; Н 4,58; N 15,90.

**Етил 1-(4-бромофеніл)-4-(імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазол-6-іл)-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилат (12б)**. Вихід – 67%. Т. пл. – 139°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 1,38 (т,  $J$  7,1, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 2,54 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4,41 (к,  $J$  7,1, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,82 (д,  $J$  4,4, 1H, тіазол), 7,38 (д,  $J$  8,5, 2H, Ar), 7,45 (д,  $J$  4,4, 1H, тіазол), 7,64 (д,  $J$  8,5, 2H, Ar), 8,08 (с, 1H, імідазол). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (50 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 12,4, 14,3, 61,0, 112,1, 113,1, 117,1, 118,5, 122,5, 127,3 (2С), 132,3 (2С), 138,0, 138,3, 140,2, 140,5, 148,6, 162,7. Знайдено, %: С 50,37; Н 3,39; N 13,14.  $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{BrN}_4\text{O}_2\text{S}$ . Обчислено, %: С 50,13; Н 3,51; N 12,99.

**Етил 4-{3-(3-бромофеніл)-7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]гіадіазин-6-іл}-5-метил-1-феніл-1H-піразол-3-карбоксилат (16а)**. Вихід – 78%. Т. пл. – 206°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 1,41 (т,  $J$  7,0, 3H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 2,41 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,98 (с, 2H,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 4,45 (к,  $J$  7,0, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 7,33 (т,  $J$  7,9, 1H, Ar), 7,43-7,60 (м, 6H, Ar), 8,02 (д,  $J$  7,9, 1H, Ar), 8,24 (с, 1H, Ar). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 12,2, 14,3, 27,5, 61,9, 118,0, 122,4, 125,8 (2С), 126,7, 127,9, 129,5 (2С), 129,6, 130,1, 130,7, 133,1, 138,1, 141,6, 142,1, 143,4, 151,1, 151,4, 162,0. Знайдено, %: С 52,93; Н 3,57; N 16,18.  $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{BrN}_6\text{O}_2\text{S}$ . Обчислено, %: С 52,78; Н 3,66; N 16,06.

**Етил 4-{3-(3-бромофеніл)-7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]гіадіазин-6-іл}-5-метил-1-(3-хлорофеніл)-1H-піразол-3-карбоксилат (16б)**. Вихід – 85%. Т. пл. – 196°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц,

$\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 1,43 (т,  $J$  7,1, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 2,45 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4,00 (с, 2H,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 4,47 (к,  $J$  7,1, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 7,30-7,63 (м, 6H, Ar), 8,03 (д,  $J$  7,0, 1H, Ar), 8,25 (с, 1H, Ar). Знайдено, %: С 49,39; Н 3,40; N 14,93.  $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{BrClN}_6\text{O}_2\text{S}$ . Обчислено, %: С 49,52; Н 3,25; N 15,07.

**Етил 4-{3-(3-бромофеніл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]гіадіазин-6-іл)}-5-метил-1-(4-хлорофеніл)-1H-піразол-3-карбоксилат (16в).** Вихід – 71%. Т. пл. – 203°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 1,43 (т,  $J$  7,2, 3H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 2,42 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,98 (с, 2H,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 4,47 (к,  $J$  7,2, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 7,34 (т,  $J$  7,9, 1H, Ar), 7,39-7,63 (м, 5H, Ar), 8,03 (д,  $J$  7,4, 1H, Ar), 8,24 (с, 1H, Ar). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (50 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 12,2, 14,4, 27,6, 62,1, 118,3, 122,4, 126,7, 127,0 (2С), 127,9, 129,7 (2С), 130,1, 130,7, 133,1, 135,6, 136,6, 141,9, 142,1, 143,3, 151,12, 151,14, 161,8. Знайдено, %: С 49,67; Н 3,16; N 15,19.  $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{BrClN}_6\text{O}_2\text{S}$ . Обчислено, %: С 49,52; Н 3,25; N 15,07.

**Етил 1-(4-бромофеніл)-4-{3-(3-бромофеніл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]гіадіазин-6-іл)}-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилат (16г).** Вихід – 89%. Т. пл. – 208°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 1,43 (т,  $J$  7,0, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 2,44 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4,03 (с, 2H,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 4,47 (к,  $J$  7,0, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 7,32-7,55 (м, 3H, Ar), 7,60 (д,  $J$  7,3, 1H, Ar), 7,69 (д,  $J$  7,8, 2H, Ar), 8,04 (ш. с, 1H, Ar), 8,25 (с, 1H, Ar). Знайдено, %: С 46,08; Н 3,14; N 13,77.  $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{Br}_2\text{N}_6\text{O}_2\text{S}$ . Обчислено, %: С 45,87; Н 3,01; N 13,95.

**Етил 4-{3-(3-метилфуран-2-іл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]гіадіазин-6-іл)}-5-метил-1-феніл-1H-піразол-3-карбоксилат (17а).** Вихід – 74%. Т. пл. – 167°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 1,42 (т,  $J$  7,1, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 2,39 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,46 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,97 (с, 2H,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 4,46 (к,  $J$  7,1, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 6,42 (д,  $J$  1,6, 1H, 4-Н-фуран), 7,40-7,62 (м, 6H, Ph, 5-Н-фуран). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (50 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 11,1, 11,8, 14,3, 27,6, 61,8, 114,6, 117,9, 124,9, 125,8 (2С), 129,4 (2С), 129,5, 136,9, 138,2, 141,5, 142,2, 142,4, 143,6, 146,2, 150,9, 161,6. Знайдено, %: С 58,71; Н 4,56; N 18,56.  $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{O}_3\text{S}$ . Обчислено, %: С 58,92; Н 4,49; N 18,74.

**Етил 4-{3-(3-метилфуран-2-іл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]гіадіазин-6-іл)}-5-метил-1-(3-хлорофеніл)-1H-піразол-3-карбоксилат (17б).** Вихід – 84%. Т. пл. – 183°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 1,42 (т,  $J$  7,1, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 2,40 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,48 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,96 (с, 2H,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 4,47 (к,  $J$  7,1, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 6,44 (д,  $J$  1,6, 1H, 4-Н-фуран), 7,35-7,55 (м, 5H, Ar, 5-Н-фуран). Знайдено, %: С 54,48; Н 3,86; N 17,62.  $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{ClN}_6\text{O}_3\text{S}$ . Обчислено, %: С 54,71; Н 3,97; N 17,40.

**Етил 5-метил-1-(4-хлорофеніл)-4-{3-(3-метилфуран-2-іл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]гіадіазин-6-іл)}-1H-піразол-3-карбоксилат (17в).** Вихід – 85%. Т. пл. – 147°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 1,42 (т,  $J$  7,2, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 2,40 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,46 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,96 (с, 2H,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 4,46 (к,  $J$  7,2, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 6,43 (д,  $J$  1,6, 1H, 4-Н-фуран), 7,43 (д,  $J$  9,0,

2H, Ar), 7,45 (ш. с, 1H, 5-Н-фуран), 7,52 (д,  $J$  9,0, 2H, Ar). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (50 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 11,1, 11,8, 14,3, 27,6, 62,0, 114,6, 118,2, 125,1, 127,0 (2С), 129,6 (2С), 135,5, 136,7, 136,9, 138,3, 142,2, 142,4, 143,6, 146,2, 150,8, 161,8. Знайдено, %: С 54,53; Н 4,09; N 17,16.  $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{ClN}_6\text{O}_3\text{S}$ . Обчислено, %: С 54,71; Н 3,97; N 17,40.

**Етил 1-(4-бромофеніл)-4-{3-(3-метилфуран-2-іл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]гіадіазин-6-іл)}-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилат (17г).** Вихід – 73%. Т. пл. – 178°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 1,42 (т,  $J$  7,1, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 2,40 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,46 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,96 (с, 2H,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 4,46 (к,  $J$  7,1, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 6,43 (ш. с, 1H, 4-Н-фуран), 7,37 (д,  $J$  7,6, 2H, Ar), 7,46 (ш. с, 1H, 5-Н-фуран), 7,68 (д,  $J$  7,6, 2H, Ar). Знайдено, %: С 49,89; Н 3,75; N 15,78.  $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{BrN}_6\text{O}_3\text{S}$ . Обчислено, %: С 50,10; Н 3,63; N 15,94.

**Етил 4-{3-(2-метилфуран-3-іл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]гіадіазин-6-іл)}-5-метил-1-(3-хлорофеніл)-1H-піразол-3-карбоксилат (18а).** Вихід – 75%. Т. пл. – 162°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 1,42 (т,  $J$  7,1, 3H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 2,40 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,68 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,95 (с, 2H,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 4,46 (к,  $J$  7,1, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 6,87 (д,  $J$  1,9, 1H, фуран), 7,33 (д,  $J$  1,9, 1H, фуран), 7,46-7,58 (м, 5H, Ph). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 12,0, 13,8, 14,3, 27,7, 61,8, 107,0, 109,9, 118,3, 125,7 (2С), 129,4 (2С), 129,5, 138,2, 140,6, 141,2, 141,5, 141,9, 148,3, 150,4, 154,4, 162,0. Знайдено, %: С 58,71; Н 4,56; N 18,59.  $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{O}_3\text{S}$ . Обчислено, %: С 58,92; Н 4,49; N 18,74.

**Етил 4-{3-(2-метилфуран-3-іл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]гіадіазин-6-іл)}-5-метил-1-(3-хлорофеніл)-1H-піразол-3-карбоксилат (18б).** Вихід – 83%. Т. пл. – 158°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 1,42 (т,  $J$  7,1, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 2,42 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,68 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,95 (с, 2H,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 4,46 (к,  $J$  7,1, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 6,86 (д,  $J$  1,7, 1H, 4-Н-фуран), 7,34 (д,  $J$  1,7, 1H, 5-Н-фуран), 7,36-7,55 (м, 4H, Ar). Знайдено, %: С 54,53; Н 4,09; N 17,26.  $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{ClN}_6\text{O}_3\text{S}$ . Обчислено, %: С 54,71; Н 3,97; N 17,40.

**Етил 4-{3-(2-метилфуран-3-іл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]гіадіазин-6-іл)}-5-метил-1-(4-хлорофеніл)-1H-піразол-3-карбоксилат (18в).** Вихід – 75%. Т. пл. – 178°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 1,42 (т,  $J$  7,1, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 2,40 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,67 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,94 (с, 2H,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 4,45 (к,  $J$  7,1, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 6,85 (ш. с, 1H, 4-Н-фуран), 7,27-7,60 (м, 5H, Ar, 5-Н-фуран). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (50 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 11,8, 13,8, 14,3, 27,7, 61,9, 96,9, 107,0, 109,9, 118,6, 126,9 (2С), 129,6 (2С), 135,5, 136,7, 140,6, 141,1, 141,9, 148,3, 150,2, 154,4, 161,7. Знайдено, %: С 54,95; Н 4,18; N 17,02.  $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{ClN}_6\text{O}_3\text{S}$ . Обчислено, %: С 54,71; Н 3,97; N 17,40.

**Етил 1-(4-бромофеніл)-4-{3-(2-метилфуран-3-іл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]гіадіазин-6-іл)}-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилат (18г).** Вихід – 72%. Т. пл. – 196°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 1,42 (т,  $J$  7,1, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 2,40 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,68 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,95 (с, 2H,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 4,45 (к,  $J$  6,8, 2H,

CH<sub>2</sub>O), 6,86 (ш. с, 1H, 4-Н-фуран), 7,33 (ш. с, 1H, 5-Н-фуран), 7,38 (д, J 8,2, 2H, Ar), 7,68 (д, J 8,2, 2H, Ar). Знайдено, %: С 50,26; Н 3,78; N 15,81. C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>BrN<sub>6</sub>O<sub>3</sub>S. Обчислено, %: С 50,10; Н 3,63; N 15,94.

### Висновки

Взаємодією етил 1-арил-4-(бромацетил)-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилатів з тіобензамідом,

(6-метилпіридин-2-іл)тіосечовиною, 1-гуанідилтіосечовиною, 2-амінопіридином, 2-амінотіазолом, 4-аміно-5-арил(гетарил)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіонами одержано 1-арилпіразоли з тіазольними, імідазо[1,2-*a*]піридиновими, імідазо[2,1-*b*][1,3]тіазольними, [1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадазиновими замісниками у положенні 4 піразольного циклу.

### Література

1. Hwang S.H., Wagner K.M., Morisseau C. et al. // *J. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 54, №8. – P. 3037-3050.
2. Donohue S.R., Dannals R.F., Halldin C., Pike V.W. // *J. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 54, №8. – P. 2961-2970.
3. Uddin Md.J., Crews B.C., Ghebreselasie K. et al. // *Med. Chem. Lett.* – 2011. – Vol. 2. – P. 160-164.
4. Lenzi O., Colotta V., Catarzi D. et al. // *Bioorg. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 19, №11. – P. 3757-3768.
5. Вовк М.В., Братенко М.К., Черноус В.О. 4-Функціональнозаміщені піразоли. – Чернівці: Прут, 2008. – 283 с.
6. Потопник М.А., Боднар Н.Є., Обушак М.Д., Матійчук В.С. // *Ukrainica Bioorganica Acta.* – 2009. – Vol. 7, №2. – P. 42-46.
7. Потопник М.А., Матійчук В.С., Обушак М.Д. // *Фармац. журн.* – 2009. – Вип. 4. – С. 86-89.
8. Потопник М.А., Скробала В.Є., Матійчук В.С., Обушак М.Д. // *Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація.* – 2009. – №3-4. – С. 161-165.
9. Потопник М., Матійчук В., Обушак М. // *Вісн. Львів. ун-ту. Сер. хім.* – 2011. – Вип. 52. – С. 233-237.
10. Матійчук В.С., Потопник М.А., Обушак М.Д. // *ЖОрХ.* – 2010. – Т. 46, №10. – С. 1544-1551.
11. Bramley S.E., Dupplin V., Goberdhan D.G.C., Meakins G.D. // *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1.* – 1987. – №2. – P. 639-643.
12. Chaubet G., Maillard L.T., Martinez J., Masurier N. // *Tetrahedron.* – 2011. – Vol. 67, №26. – P. 4897-4904.
13. Chaouni-Benabdallah A., Galtier C., Allouchi H. et al. // *Chem. Pharm. Bull.* – 2001. – Vol. 49, №12. – P. 1631-1635.
14. Cupido T., Rack P.G., Firestone A.J. et al. // *Angew. Chem., Int. Ed.* – 2009. – Vol. 48, №13. – P. 2321-2324.
15. Meakins G.D., Musk S.R.R., Robertson C.A., Woodhouse L.S. // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.* – 1989. – №3. – P. 643-648.
16. Kamal A., Dastagiri D., Ramaiah M.J. et al. // *Chem. Med. Chem.* – 2010. – Vol. 5, №11. – P. 1937-1947.
17. Ibrahim D.A. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 44, №7. – P. 2776-2781.
18. Avaji P.G., Patil S.A. // *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 24, №1. – P. 140-150.
19. Holla B.S., Rao B.S., Sarojini B.K. et al. // *Eur. J. Med. Chem.* 2006. – Vol. 41, №5. – P. 657-663.
20. Delferro M., Marchiò L., Tegoni M. et al. // *Dalton Trans.* – 2009. – №19. – P. 3766-3773.

Надійшла до редакції 12.06.2013 р.

# ДОСЛІДЖЕННЯ ЗВ'ЯЗКУ МІЖ СТРУКТУРОЮ 4-ТІАЗОЛІДИНОНІВ ТА ЇХ ПРОТИПУХЛИННОЮ АКТИВНІСТЮ ЗА ДОПОМОГОЮ БАГАТОВИМІРНИХ АДАПТИВНИХ РЕГРЕСІЙНИХ СПЛАЙНІВ

О.Т.Девіняк\*, Р.Б.Лесик

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького  
79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69. E-mail: dr\_r\_lesyk@org.lviv.net

\* Державний вищий навчальний заклад «Ужгородський національний університет»

*Ключові слова:* 4-тіазолідинони; протипухлинна активність; QSAR; багатовимірні адаптивні регресійні сплайни; MARS; молекулярні дескриптори

*Використовуючи комбінування методу бэггінгу та багатовимірних адаптивних регресійних сплайнів отримано комплексну QSAR-модель протипухлинної активності 4-тіазолідинонів, яка містить 200 суб-моделей і перевищує прогностичну здатність існуючих моделей. Інтерпретація найбільш значимих дескрипторів QSAR-моделі виявила перспективні шаблони для дизайну сполук із протипухлинною активністю. Підтверджено раніше одержаний висновок, що невеликі розміри молекул та відсутність зв'язків, які характеризуються сильними дипольними моментами, підвищують шанси щодо прояву протипухлинної активності в ряду 4-тіазолідинонів. Встановлено вплив значень 3D-MoRSE дескрипторів на здатність сполук до інгібування росту клітин пухлини.*

## THE STUDY OF THE STRUCTURE – ANTICANCER ACTIVITY RELATIONSHIP OF 4-THIAZOLIDINONE DERIVATIVES USING MULTIVARIATE ADAPTIVE REGRESSION SPLINES

O.T.Devinyak, R.B.Lesyk

**Key words:** 4-thiazolidinones; anticancer activity; QSAR; multivariate adaptive regression splines; MARS; molecular descriptors

*Combining the bagging method with multivariate adaptive regression splines the complex QSAR-model that incorporates 200 submodels has been developed. The predictive ability of the new model has the superiority over already known 4-thiazolidinones anticancer activity models. The interpretation of the most significant descriptors used in the model reveals promising templates for the design of new anticancer agents. The earlier conclusion that small sizes of molecules together with the absence of bonds with high dipole moments increase the antitumor activity has been confirmed. The influence of 3D-MoRSE descriptors values on the capability of compounds to inhibit the cancer cells growth has been found.*

## ИССЛЕДОВАНИЕ СВЯЗИ МЕЖДУ СТРУКТУРОЙ 4-ТИАЗОЛИДИНОНОВ И ИХ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ С ПОМОЩЬЮ МНОГОМЕРНЫХ АДАПТИВНЫХ РЕГРЕССИОННЫХ СПЛАЙНОВ

О.Т.Девиняк, Р.Б.Лесык

**Ключевые слова:** 4-тиазолидиноны; противоопухолевая активность; QSAR; багатомерные адаптивные регрессионные сплайны; MARS; молекулярные дескрипторы

*Используя комбинирование метода бэггинга и многомерных адаптивных регрессионных сплайнов получено комплексную QSAR-модель, которая содержит 200 субмоделей и превышает прогностическую способность известных моделей противоопухолевой активности 4-тиазолидинонов. Интерпретация наиболее значимых дескрипторов QSAR-модели обнаружила перспективные шаблоны для дизайна соединений с противораковым действием. Подтвержден ранее полученный вывод о том, что небольшие размеры молекул и отсутствие связей, что характеризуются сильными дипольными моментами, повышают шансы проявления противоопухолевой активности в ряду 4-тиазолидинонов. Установлено влияние значений 3D-MoRSE дескрипторов на способность соединений к ингибированию роста клеток опухоли.*

Тіазолідинове ядро є перспективною матрицею для створення нових сполук із високим потенціалом біологічної активності [1-4], в тому числі з протипухлинним ефектом [5-9]. Завдяки численним дослідженням науковців кафедри біоорганічної, органічної та фармацевтичної хімії ЛНМУ ім. Данила Галицького вдалося зібрати значну за обсягом базу даних «структура-дія» серед 4-тіазолідинонів та їх похідних. Ці результати стали підґрунтям для ряду обчислювальних наукових праць, що стосуються ідентифікації можливих ме-

ханізмів протипухлинної активності [10], моделювання ймовірної фармакофорної групи [11] та взаємодії з білками-мішенями [5, 12], а також QSAR-аналізу [13-17]. Розглядаючи питання опису зв'язків між структурою та протипухлинною активністю 4-тіазолідинонів, ми встановили, що апроксимація зв'язків лінійними функціями є адекватною для окремих класів сполук [13-15], однак не підходить у випадку використання всієї доступної бази даних протипухлинної активності [16]. Проведені QSAR-моделювання із використанням



гнучких алгоритмів, таких як Random Forest [16] та регресія Гаусівських процесів [17] показали свою спроможність та прогностичну здатність, однак отримані моделі містять деякі обмеження для застосування. Так, класифікаційна модель *Random Forest* здатна лише прогнозувати наявність чи відсутність протипухлинної активності без повідомлення навіть приблизного її значення, а модель Гаусівських процесів характеризується помірною точністю, що дає можливість для подальшого удосконалення. Тому метою даної роботи є створення та інтерпретація нелінійної *QSAR*-моделі, здатної прогнозувати чітке значення протипухлинної активності і в той же час характеризуватись кращими статистичними показниками, ніж існуюча модель Гаусівських процесів.

### 1. Створення моделі

Для досягнення поставленої мети було вирішено здійснити комбінування сильних сторін раніше використовуваних алгоритмів – *Random Forest* та регресії Гаусівських процесів. *Random Forest* – алгоритм машинного навчання, запропонований Лео Брейманом і Адель Катлер, що полягає у використанні комітету (ансамблю) дерев рішень [18]. Кожне з дерев рішень будується на випадковій субвибірці, отриманій з вихідної вибірки за допомогою сполучення з повтореннями (така процедура називається бутстрапом, *bootstrap*) на основі використання лише обмеженого підпростору факторів, причому побудова триває до повного вичерпання субвибірки і отримане дерево не підлягає процедурі підрізання (*pruning*). Класифікація об'єктів проводиться шляхом голосування: кожне дерево ансамблю відносить досліджуваній об'єкт до одного з класів, і перемагає клас, за який проголосувало найбільше число дерев. Таким чином, хоч одиничне дерево рішення (особливо те, що не зазнало підрізання) є слабкою моделлю, узагальнення багатьох слабких моделей, отриманих шляхом бутстрапу вихідної вибірки, дозволяє досягти високої точності. Такий підхід є сильною стороною алгоритму *Random Forest* і носить назву «беггінг», що є скороченням словосполучення англійською: *bootstrap aggregating* → *bagging*. Крім того, процедура беггінгу дозволяє встановити прогностичну здатність ансамблю на сполуках, що не були включені у ряд окремих бутстрапових моделей (*out-of-bag*). Такі статистичні показники зазвичай є досить подібними до результатів зовнішнього тестування і можуть використовуватись для вибору параметрів моделі. З іншого боку, замість дерева рішень як базової моделі ансамблю можна використати різні нелінійні регресійні моделі, що дасть змогу отримувати кількісний прогноз активності. У якості базового алгоритму в даному до-

слідженні було вибрано багатомірні адаптивні регресійні сплайни (*multivariate adaptive regression splines* – *MARS*). Цей метод здатен описати складні нелінійні зв'язки між структурою молекул та їх активністю і довів свою ефективність у багатьох дослідженнях [19-23]. Алгоритм *MARS* створює адитивну нелінійну модель наступного вигляду:

$$\hat{y} = a_0 + \sum_{m=1}^M a_m B_m(x),$$

де:  $\hat{y}$  – прогнозоване значення активності;  $a_0$  – зсув моделі;  $M$  є кількістю базисних функцій, а  $B_m$  та  $a_m$  є  $m$ -ою базисною функцією та її коефіцієнтом [24]. Кожна базисна функція, в свою чергу, є двосторонньою ступеневою функцією, що описується рівняннями:

$$\begin{aligned} [+(x-t)]_+^q &= \begin{cases} (t-x)^q, & \text{якщо } x \geq t, \\ 0, & \text{у іншому випадку} \end{cases} \\ [-(x-t)]_+^q &= \begin{cases} (t-x)^q, & \text{якщо } x < t, \\ 0, & \text{у іншому випадку} \end{cases} \end{aligned}$$

де:  $t$  є координатою вузла (точки спряження),  $q(\geq 0)$  є ступенем сплайну, а запис  $[\ ]_+$  означає додатню частину аргументу. Створення моделі *MARS* здійснюється за допомогою двох проходів: прямого і зворотного. Під час прямого проходу дескриптори додаються в модель «жадібним» чином (підключись лише про оптимальність наступного кроку), що створює модель, занадто підіграну під дані. В подальшому ця модель спрощується при зворотному проході шляхом вилучення малозначимих дескрипторів та створених на їх основі базисних функцій. Деталі роботи алгоритму *MARS* можна почерпнути з основоположної роботи *J. Friedman* [24] або інших, більш сучасних джерел [19, 22, 23].

Для проведення *QSAR*-аналізу протипухлинної активності 4-тіазолідинонів за допомогою багатомірних адаптивних регресійних сплайнів використовувались 694 сполуки, протиракова активність яких була перевірена *in vitro* на 60 лініях ракових клітин у рамках програми *DTP* Національного Інституту Раку США (*NCI*). Визначення активності проводилось за стандартною процедурою *NCI* методом флуоресцентного зафарбовування (барвник – сульфородамін Б) [25, 26] і виражалось у формі відсотків росту *GP* 60 різних ліній ракових клітин (*NCI-60 panel*) порівняно із контрольним дослідом. Виходячи із вимірних значень оптичної густини на початку експерименту ( $T_z$ ), оптичної густини у контрольному досліді ( $C$ ) та досліді в присутності речовини у концентрації  $10^{-5}$ М ( $T_i$ ), значення *GP* були обчислені за формулами:

$$\frac{T_i - T_z}{C - T_z} \times 100\%, \text{ якщо } T_i \geq T_z,$$

$$\frac{T_i - T_z}{T_z} \times 100\%, \text{ якщо } T_i < T_z$$

Таким чином, значення  $GP=100\%$  свідчить про відсутність будь-якого впливу на ріст зазначеної лінії, значення  $GP=0\%$  позначає повну зупинку росту клітин пухлини, а усі значення  $GP<0\%$  означають зменшення кількості ракових клітин порівняно з їхньою кількістю на початку експерименту. Як залежна змінна, що описує активність речовини, використовувалось середнє арифметичне відсотків росту,  $\overline{GP}$ . Біля 5,2% даних щодо відсотків росту були відсутні. Ці значення зазнали відновлення шляхом багатовимірної доповнення за допомогою ланцюгових рівнянь (*Multivariate Imputations by Chained Equations – MICE*) [27]. Більше 1600 молекулярних дескрипторів обчислювались для досліджуваних сполук з використанням *E-DRAGON* [28] з попередньою оптимізацією геометрії молекул програмою *CORINA*. Враховуючи досвід попередніх *QSAR*-аналізів [15, 17], нами було додано до масиву дескрипторів ще одну індикаторну змінну, яка дорівнює одиниці, якщо кількість самовертаючих обходів 9-го порядку дорівнює 3006, і нулю в іншому випадку. Дані розподілялись на навчальну та тестову вибірки з метою перевірки прогностичної здатності майбутньої *QSAR*-моделі. Розподіл залежної змінної є сильно асиметричним із відносно малою кількістю високоактивних молекул. Тому, щоб зберегти достатньо сполук-хітів у навчальній вибірці, пропорція розмірів навчальної до тестової вибірки була встановлена на рівні 4:1. Розподіл на вибірки проводився випадковим чином. У такий спосіб розмір навчальної вибірки склав 555 сполук, а тестової – 139. Всі подальші обчислення проводились у середовищі для статистичного аналізу *R 3.0.1* [29] із використанням додаткових пакетів «*caret*» [30] та «*earth*» [31]. Кількість бутстрапових моделей у ансамблі складала 200. З метою суттєвої економії обчислювального часу проводилась процедура попереднього відбору 50 найбільш впливових дескрипторів. Для цього було використано більш швидкий алгоритм *Random Forest*. Процедуру побудови ансамблю було виконано при різних значеннях ступеня сплайну та максимальної кількості змінних у спрощеній моделі як вхідних параметрів алгоритму *MARS*. Вибір кращої комбінації параметрів проводився на основі оцінки показника  $R^2_{out-of-bag}$ . Порівнюючи отримані комплексні моделі, ми встановили, що лінійний сплайн має перевагу над квадратичним. Найкраща *QSAR* модель (рис. 1), що є ансамблем із 200 багатовимірних адаптивних регресійних сплайнів, була отримана при ступені сплайну  $q=1$  та кількості змінних у спрощеній моделі  $nprune=5$  і характеризується наступними статистичними по-

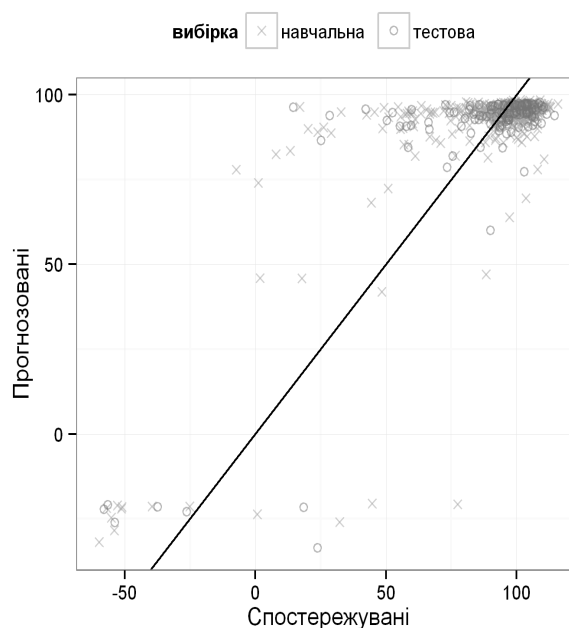


Рис. 1. Спостережувані та прогнозовані за допомогою *QSAR*-моделі значення середніх відсотків росту клітин пухлини при дії досліджуваних сполук.

казниками:  $R^2=0,687$ ,  $R^2_{out-of-bag}=0,572$ ,  $R^2_{ext}=0,675$ . Вказані значення переважають показники моделі Гаусівських процесів ( $R^2=0,656$  та  $R^2_{ext}=0,602$  після видалення декількох викидів) і підтверджують її прогностичну здатність.

## 2. Аналіз та інтерпретація моделі

При здійсненні зворотного проходу алгоритму *MARS* на кожному кроці видаляється найменш значимий дескриптор із тих, що залишились у моделі. Спрощуючи кожного учасника ансамблю – бутстрапову модель *MARS* із кількістю змінних, рівною 5, до вилучення останнього дескриптора, можна підрахувати кількість субмоделей, у яких зберігається кожен з дескрипторів –  $nsubsets$ . Так, для першого дескриптора, який буде виключено із бутстрапової моделі  $nsubsets=1$ , для другого – 2, а дескриптор, що залишиться останнім, отримає значення  $nsubsets=5$ . Сума показників  $nsubsets$  для окремого дескриптора при спрощуванні кожної бутстрапової моделі ансамблю може слугувати показником відносної важливості цього дескриптора [24]. Оскільки ансамбль містить 200 бутстрапових моделей, максимальне значення  $nsubsets$ , якого може досягти дескриптор, рівне  $5 \times 200 = 1000$ . А за допомогою частки цього дескриптора у загальній сумі  $nsubsets$  всіх дескрипторів, що були використані хоча б в одній бутстраповій моделі, можна оцінити відносний вклад кожного дескриптора (табл. 1).

Для того, щоб оцінити напрям та силу впливу дескрипторів на активність, була проведена побудова додаткової однієї моделі *MARS* із тими ж дескрипторами та параметрами алгоритму і вико-

Таблиця 1

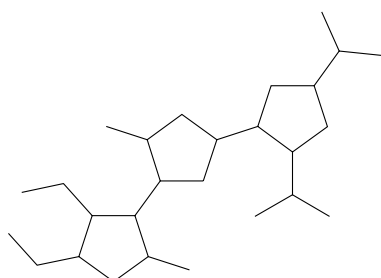
Важливості та вклади топ-10 дескрипторів у отриману комплексну QSAR-модель

Дескриптор	nsubsets	Частка, %
<i>SRW09=3006</i> (індикаторна змінна)	919	37.14
<i>nArCO</i> (кількість ароматичних кето-груп)	479	19.36
<i>EEig02d</i> (друге власне значення матриці суміжності ребер, зваженої дипольними моментами)	158	6.39
<i>Mor12v</i> (3D-MoRSE дескриптор із параметром розсіювання $11 \text{ \AA}^{-1}$ , зважений ван-дер-Ваальсовими об'ємами атомів)	153	6.18
<i>Mor11v</i> (3D-MoRSE дескриптор із параметром розсіювання $10 \text{ \AA}^{-1}$ , зважений ван-дер-Ваальсовими об'ємами атомів)	140	5.66
<i>MATS4m</i> (автокореляційний коефіцієнт Морана із зсувом 4, зважений атомними масами)	101	4.08
<i>R8v</i> (автокореляційний коефіцієнт <i>R</i> із зсувом 8, зважений ван-дер-Ваальсовими об'ємами атомів)	82	3.31
<i>Mor12u</i> (3D-MoRSE дескриптор із параметром розсіювання $11 \text{ \AA}^{-1}$ , не зважений)	65	2.63
<i>Mor16e</i> (3D-MoRSE дескриптор із параметром розсіювання $15 \text{ \AA}^{-1}$ , зважений атомними електронегативностями Сандерсона)	63	2.54
<i>EEig03d</i> (третє власне значення матриці суміжності ребер, зваженої дипольними моментами)	58	2.34

ристанням всієї навчальної вибірки (табл. 2). Ця модель містить 4 дескриптори і має статистичні показники  $R^2=0,546$ ,  $R^2_{\text{ext}}=0,638$ , які є нижчими за показники ансамблю, що підтверджує успішність вибраної стратегії щодо беггінгу багатьох моделей MARS.

Найбільш важливим дескриптором виявилась індикаторна змінна «*SRW09=3006*» із *nsubsets*=919 (табл. 1), що узгоджується із попередніми дослідженнями [15, 17]. Кількість самоповертаючих обходів 9-го порядку є топологічним дескриптором і залежить від взаємного розташування та локального оточення циклів з непарною кількістю атомів (у нашому випадку – п'ятичленних). Специфічна кількість самоповертаючих обходів 9-го порядку – 3006 відображає структурний шаблон, наведений на рис. 2. Цей структурний шаблон зустрічається у ряду кон'югатів 4-тіазолідинону, ізатину та діарилзаміщеного піразоліну (рис. 3), які у більшості випадків проявляють високу протипухлинну активність.

Другим дескриптором за важливістю є кількість ароматичних кето-груп у структурі молеку-

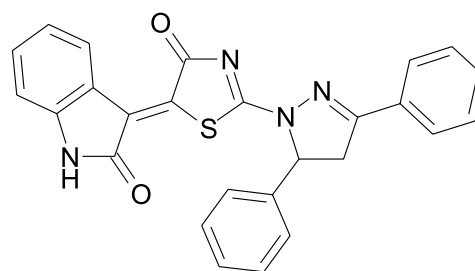
Рис. 2. Мінімальний структурний шаблон, що забезпечує *SRW09* рівний 3006.

Таблиця 2

Структура моделі MARS для визначення впливу дескрипторів

Базисні функції	Коефіцієнт
Зсув	93.61571
« <i>SRW09=3006</i> »	-117.621
$[+(nArCO) - 1]_+^1$	-54.9801
$[-(EEig02d - 3,641)]_+^1$	-38.3857
$[+(Mor12u - 0,085)]_+^1$	-43.5887
$[+(EEig02d - 4,347)]_+^1$	18.55004

ли. Так, згідно з табл. 1 відсутність цих груп або наявність однієї групи не чинить істотного впливу на активність, тоді як сполуки з двома кето-групами мають значний приріст активності (прогнозований середній відсоток росту клітин пухлини зменшується на 54,98). Серед досліджуваної бібліотеки сполук двома ароматичними кето-групами володіють декілька похідних тіопірано

Рис. 3. Спільна основа кон'югатів 4-тіазолідинону, ізатину та діарилзаміщеного піразоліну, яка володіє *SRW09=3006*.

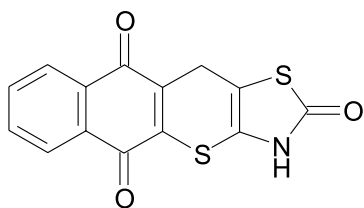


Рис. 4. Перспективний структурний шаблон похідних тіопірано[2,3-*d*][1,3]тіазол-2-ону.

[2,3-*d*][1,3]тіазол-2-онів, що є іншим перспективним шаблоном для пошуку високоактивних протипухлинних засобів (рис. 4).

Наступним за важливістю дескриптором є *EEig02d* – друге власне значення матриці суміжності ребер, зваженої дипольними моментами. Цей дескриптор відігравав істотну роль у моделі Гаусівських процесів, згідно з якою молекули з меншими значеннями *EEig02d* проявляють кращу протипухлинну активність [17]. У табл. 1 *EEig02d* зустрічається у двох базисних функціях. Згідно з функцією  $[-(EEig02d - 3,641)]_+^1$  та її коефіцієнтом, що дорівнює -38,3857, якщо значення *EEig02d* менше 3,64, то кожна одиниця різниці між поточним значенням *EEig02d* та числом 3,64 зменшує прогнозований середній відсоток росту клітин пухлини на 38,39. Якщо ж *EEig02d* спостерігається більшим, ніж 3,641, то зміни активності не відбувається. Інша базисна функція  $[(EEig02d - 4,347)]_+^1$  має додатній коефіцієнт 18,55. Це означає, що якщо значення *EEig02d* перевищує 4,347, то за кожен одиницю перевищення прогнозований відсоток росту клітин пухлини збільшується на 18,55. Узагальнюючи обидві базисні функції, можна зазначити, що при низьких значеннях *EEig02d* активність сполуки підвищується, при середніх значеннях – не змінюється, а при високих значеннях *EEig02d* протипухлинна активність зменшується. Таким чином, цей висновок співпадає із результатом регресії Гаусівських процесів, що засвідчує узгодженість обох моделей. В свою чергу, низькі значення *EEig02d* пов'язані з невеликими розмірами молекул та відсутністю зв'язків, які характеризуються сильними дипольними моментами.

Четвертий за важливістю фактор – *Mor12v* не потрапив до моделі *MARS* для визначення впливу дескрипторів, однак він тісно пов'язаний (і корельований:  $r = 0,860$ ) із *Mor12u*. Обидва фактори належать до класу *3D-MoRSE* дескрипторів і мають спільний параметр розсіювання, лише доданки дескриптора *Mor12v* зважені ван-дер-ваальсівським об'ємом атомів, а дескриптора *Mor12u* мають однакову вагу, рівні одиниці для всіх атомів.

*3D-MoRSE* дескриптори базуються на ідеї отримання інформації із *3D*-координат атомів у молекулі, використовуючи трансформацію, подібну до тієї, що застосовується при дослідженнях електронної дифракції [32-34]. Ці дескриптори обчислюються за формулою:

$$I(s) = \sum_{i=2}^N \sum_{j=1}^{i-1} A_i A_j \frac{\sin sr_{ij}}{sr_{ij}},$$

де:  $s$  – параметром розсіювання, що може набувати цілочисельних значень від 0 до  $31 \text{ \AA}^{-1}$  (тобто цифра 12 у записі *Mor12v* відображає параметр розсіювання  $11 \text{ \AA}^{-1}$ );  $r_{ij}$  – Евклідовою відстанню між  $i$ -им та  $j$ -им атомами;  $N$  – загальна кількість атомів;  $A_i$  та  $A_j$  – різними характеристиками атомів, які використовуються як ваги доданків. Таким чином, *3D-MoRSE* дескриптори відображають взаємне просторове розміщення атомів у тривимірній молекулярній структурі. Від'ємний коефіцієнт базисної функції  $[-(Mor12u - 0,085)]_+^1$ , що дорівнює -43,59, свідчить, що менші значення вказаного *3D-MoRSE* дескриптора (і, так само, дескриптора *Mor12v*, оскільки між ними існує сильна позитивна кореляція) підвищують здатність сполуки інгібувати ріст клітин пухлини.

## Висновки

1. За допомогою комбінування методу беггінгу та багатовимірних адаптивних регресійних сплайнів отримано комплексну *QSAR*-модель з високою прогностичною здатністю, яка дозволяє удосконалити підходи до раціонального дизайну потенційних протипухлинних агентів серед 4-тіазолідинонів та їх похідних.

2. Інтерпретація найбільш значимих дескрипторів моделі виявила, крім відомого перспективного структурного шаблону, представленого 3-[2-(3,5-діарил-4,5-дигідропіразол-1-іл)-4-оксо-4,5-дигідро-1,3-тіазол-5-іліден]-2,3-дигідро-1*H*-індол-2-оном, ще одну матрицю для дизайну сполук із протипухлинною активністю – тіопірано[2,3-*d*][1,3]тіазол-2-оновий фрагмент.

3. Підтверджено, що невеликі розміри молекул та відсутність зв'язків, які характеризуються сильними дипольними моментами, підвищують шанси щодо прояву протипухлинної активності в ряду 4-тіазолідинонів.

4. Встановлено вплив *3D-MoRSE* дескрипторів із параметром розсіювання  $11 \text{ \AA}^{-1}$  на здатність 4-тіазолідинонів та їх похідних до інгібування росту клітин пухлини.

**Література**

1. Lesyk R.B., Zimenkovsky B.S. // *Current Org. Chem.* – 2004. – Vol. 16. – P. 1547-1577.
2. Verma A., Saraf S.K. // *Eur. J. of Medicinal Chem.* – 2008. – Vol. 5. – P. 897-905.
3. Lesyk R., Zimenkovsky B., Kaminsky D. et al. // *Biopolymers and Cell.* – 2011. – Vol. 2. – P. 107-117.
4. Jain A., Vaidya A., Ravichandran V. et al. // *Bioorg. & Med. Chem.* – 2012. – Vol. 11. – P. 3378.
5. Lesyk R., Zimenkovsky B., Atamanyuk D. et al. // *Bioorg. & Med. Chem.* – 2006. – Vol. 15. – P. 5230-40.
6. Subtel'na I., Atamanyuk D., Szymanska E. et al. // *Bioorg. & Med. Chem.* – 2010. – Vol. 14. – P. 5090-102.
7. Kaminsky D., Khylyuk D., Vasylenko O. et al. // *Sci. Pharm.* – 2011. – Vol. 4. – P. 763-77.
8. Havrylyuk D., Zimenkovsky B., Vasylenko O. et al. // *J. of Med. Chem.* – 2012. – Vol. 20. – P. 8630-41.
9. Kryshchyshyn A., Atamanyuk D., Lesyk R. // *Sci. Pharm.* – 2012. – Vol. 3. – P. 509-29.
10. Зіменковський Б.С., Девіняк О.Т., Гаврилюк Д.Я., Лесик Р.Б. // *ЖОФХ.* – 2011. – №3. – P. 64-71.
11. Зіменковський Б.С., Девіняк О.Т., Лесик Р.Б. // *ЖОФХ.* – 2012. – №4. – P. 76-82.
12. Крищишин А.П., Драпак І.В., Зіменковський Б.С. та ін. // *Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація.* – 2011. – №1-2. – P. 190-198.
13. Мирко І.І., Огурцов В.В., Камінський Д.В. // *Фармац. журн.* – 2010. – №4. – P. 50-54.
14. Огурцов В.В., Зіменковський Б.С., Олійник І.І. та ін. // *Фармац. журн.* – 2010. – №4. – P. 50-54.
15. Девіняк О.Т., Гаврилюк Д.Я., Зіменковський Б.С., Лесик Р.Б. // *Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація.* – 2011. – №3-4. – P. 163-168.
16. Зіменковський Б.С., Девіняк О.Т., Лесик Р.Б. // *ЖОФХ.* – 2012. – №2. – P. 43-49.
17. Devinyak O., Zimekovsky B., Lesyk R. // *Current Topics in Med. Chem.* – 2012. – Vol. 24. – P. 2763-2784.
18. Breiman L. // *Machine Learning.* – 2001. – Vol. 1. – P. 5-32.
19. Nguyen-Cong V., Van Dang G., Rode B.M. // *Eur. J. of Med. Chem.* – 1996. – Vol. 10. – P. 797-803.
20. Jalali-Heravi M., Mani-Varnosfaderani A. // *QSAR & Combinatorial Sci.* – 2009. – Vol. 9. – P. 946-958.
21. Alamdari R.F., Mani-Varnosfaderani A., Asadollahi-Baboli M., Khalafi-Nezhad A. // *SAR and QSAR in Environmental Res.* – 2012. – Vol. 7-8. – P. 665-682.
22. Deconinck E., Xu Q.S., Put R. et al. // *J. of Pharmac. and Biomed. Analysis.* – 2005. – Vol. 5. – P. 1021-1030.
23. Xu Q.S., Daszykowski M., Walczak B. et al. // *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems.* – 2004. – Vol. 1. – P. 27-34.
24. Friedman J.H. // *The Annals of Statistics.* – 1991. – P. 1-67.
25. Boyd M.R., Paull K.D. // *Drug Development Res.* – 1995. – Vol. 2. – P. 91-109.
26. Shoemaker R.H. // *Nature Reviews Cancer.* – 2006. – Vol. 10. – P. 813-823.
27. Buuren van S., Groothuis-Oudshoorn K. // *J. of Statistical Software.* – 2011. – Vol. 3. – P. 98-101.
28. Tetko I., Gasteiger J., Todeschini R. et al. // *J. of Computer-Aided Molecular Design.* – 2005. – Vol. 6. – P. 453-463.
29. *R: a language and environment for statistical computing / Core Team R. – Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2012.*
30. Kuhn M. // *J. of Statistical Software.* – 2008. – Vol. 5. – P. 1-26.
31. Milborrow S. // *R Software Package.* – 2009. – P. 38-45.
32. Gasteiger J., Sadowski J., Schuur J. et al. // *J. of Chemical Information and Computer Sci.* – 1996. – Vol. 5. – P. 1030-1037.
33. Schuur J.H., Selzer P., Gasteiger J. // *J. of Chemical Information and Computer Sci.* – 1996. – Vol. 2. – P. 334-344.
34. Todeschini R., Consonni V. *Handbook of Molecular Descriptors.* – Wiley-VCH, 2008. – 688 p.

Надійшла до редакції 12.06.2013 р.

УДК 547.362 + 547.751 + 547.759.32

# СИНТЕЗ 1-(ТРИЕТИЛСИЛІЛ)-3-[4-(ГЕТАРИЛ)ФЕНІЛ]-5-(ТРИМЕТИЛСИЛІЛ)ПЕНТА-1,4-ДІІН-3-ОЛІВ

Я.В.Баглай, В.Мараваль\*, З.В.Войтенко, Ю.М.Воловенко, Р.Шовен\*

Київський національний університет ім. Тараса Шевченка

01601, м. Київ, вул. Володимирська, 64. E-mail: iaroslav.baglai@gmail.com

\* Університет Поля Сабатьє, лабораторія координаційної хімії, м. Тулуза, Франція

*Ключові слова:* індол; карбазол; *n*-бутиллітій; синтез; 1-(триетилсиліл)-3-[4-(гетарил)феніл]-5-(триметилсиліл)пента-1,4-діін-3-ол

*Розроблено метод синтезу 1-(триетилсиліл)-3-[4-(гетарил)феніл]-5-(триметилсиліл)пента-1,4-діін-3-олів, що базується на взаємодії літієвих похідних 1-(4-бромфеніл)-1H-індолу та 9-(4-бромфеніл)-9H-карбазолу з 1-(триетилсиліл)-5-(триметилсиліл)пента-1,4-діін-3-оном.*

## THE SYNTHESIS OF 1-(TRIETHYLSILYL)-3-[4-(HETARYL)PHENYL]-5-(TRIMETHYLSILYL)PENTA-1,4-DIYN-3-OLS

Iaroslav Baglai, Valérie Maraval, Z.V.Voitenko, Yu.M.Volovenko, Remi Chauvin

**Key words:** indole; carbazole; *n*-butyllithium; synthesis; 1-(triethylsilyl)-3-[4-(hetaryl)phenyl]-5-(trimethylsilyl)penta-1,4-diyne-3-ol

*The method of synthesis of 1-(triethylsilyl)-3-[4-(hetaryl)phenyl]-5-(trimethylsilyl)penta-1,4-diyne-3-ols based on the interaction between 1-(triethylsilyl)-5-(trimethylsilyl)penta-1,4-diyne-3-one and lithium derivatives of 1-(4-bromophenyl)-1H-indole or 9-(4-bromophenyl)-9H-carbazole has been developed.*

## СИНТЕЗ 1-(ТРИЕТИЛСИЛІЛ)-3-[4-(ГЕТАРИЛ)ФЕНІЛ]-5-(ТРИМЕТИЛСИЛІЛ)ПЕНТА-1,4-ДИІН-3-ОЛІВ

Я.В.Баглай, В.Мараваль, З.В.Войтенко, Ю.М.Воловенко, Р.Шовен

**Ключевые слова:** индол; карбазол; *n*-бутиллитий; синтез; 1-(триэтилсиліл)-3-[4-(гетарил)феніл]-5-(триметилсиліл)пента-1,4-диин-3-ол

*Разработан метод синтеза 1-(триэтилсиліл)-3-[4-(гетарил)феніл]-5-(триметилсиліл)пента-1,4-диин-3-олов, основанный на взаимодействии литиевых производных 1-(4-бромфеніл)-1H-индола и 9-(4-бромфеніл)-9H-карбазола с 1-(триэтилсиліл)-5-(триметилсиліл)пента-1,4-диин-3-оном.*

Ацетиленовий фрагмент давно використовується як важливий функціональний інструмент у синтетичній органічній хімії. За останні роки він набув статусу особливого структурного елемента в хімії поліацетилену, як чітко визначеної області наукових досліджень [1]. Природні ацетиленові спирти та їхні похідні, що були виділені з грибів, овочів та морських безхребетних, показали цікаві хімічні та фармакологічні властивості, зокрема, антимікробні, цитотоксичні, протипухлинні, протівірусні, імунодепресантні [2-6]. Деякі з них виявили протипухлинні властивості по відношенню до клітин кишечника людини. Відомі поліацетиленові спирти, які є потужними інгібіторами  $\alpha$ -глюкозидази і можуть сприяти обмеженню розвитку діабету за рахунок зниження перетравлювання і всмоктування вуглеводів [7].

У свою чергу похідні індолу входять до складу багатьох важливих терапевтичних препаратів: протипухлинних, антиоксидантних протиревматичних, протівірусних [8-11]. Деякі з них, зокрема, мелатонін та серотонін є антиоксидантами, які відіграють важливу роль в імунній системі [12-14]. Похідні карбазолу також проявляють різноманітну біологічну активність; наприклад, вони чинять протидепресантну, протизапальну, протисудомну, кардіотонічну та знеболюючу дію,

а також характеризуються бактерицидними, протівірусними та протигрибковими властивостями [15-17]. Таким чином, можна стверджувати, що сполуки, які одночасно містять у своєму складі гетероциклічні та ацетиленові фрагменти, є перспективними як для хімічних, так і для біологічних досліджень.

1-(Триетилсиліл)-3-[4-(гетарил)феніл]-5-(триметилсиліл)пента-1,4-діін-3-оли є перспективними синтетичними блоками і можуть виступати попередниками для отримання поліацетиленів з 4-(гетарил)фенільними замісниками. Характерною особливістю цих сполук є наявність різних захисних груп біля потрійних зв'язків, що створює передумови для їх контрольованого зняття [18, 19], тобто, подальша модифікація може відбуватись як одночасно по обох ацетиленових зв'язках, так і послідовно, добудовуючи кожен з них. Наявність потрійних зв'язків є важливою умовою для їх участі в реакціях Дільса-Альдера та Міхаеля [20, 21].

В літературі описані приклади синтезу такого типу ацетиленових спиртів взаємодією реактивів Гриньяра [22-27] або феніллітію [27] із ацетиленікетонами. Наші спроби отримати реактив Гриньяра на основі 9-(4-бромфеніл)-9H-карбазолу не мали успіху, і саме тому був розроблений

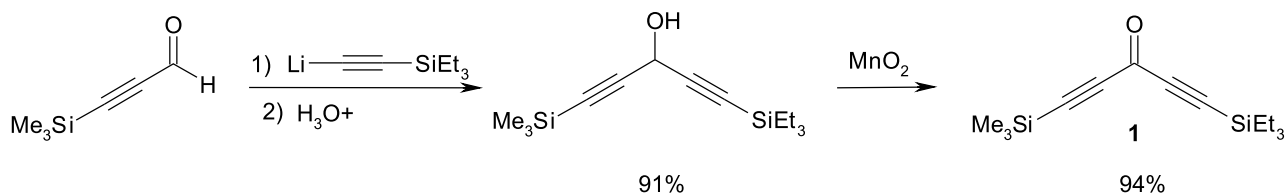


Схема 1. Схема синтезу 1-(триетилсиліл)-5-(триметилсиліл)пента-1,4-діїн-3-ону **1**.

підхід, який базується на використанні літієвих похідних 1-(4-бромофеніл)-1*H*-індолу та 9-(4-бромофеніл)-9*H*-карбазолу.

1-(Триетилсиліл)-5-(триметилсиліл)пента-1,4-діїн-3-он **1** був одержаний з високим виходом у дві стадії із комерційно доступних 3-(триметилсиліл)-2-пропіналю та (триетилсиліл)ацетилену за описаними раніше методиками [18] (схема 1).

Літієві похідні феніліндолу **3a** та фенілкарбазолу **3b** були синтезовані при взаємодії відповідно 1-(4-бромофеніл)-1*H*-індолу **2a** та 9-(4-бромофеніл)-9*H*-карбазолу **2b** із 2,5 М розчином *n*-бутиллітію в тетрагідрофурані в атмосфері аргону при  $-78^{\circ}\text{C}$  і використанні *in situ* для реакції з кетоном **1**. Подальший гідроліз реакційної суміші насиченим розчином амонію хлориду при  $-10^{\circ}\text{C}$  приводив до утворення 1-(триетилсиліл)-3-[4-(гетарил)феніл]-5-(триметилсиліл)пента-1,4-діїн-3-олів **5a,b** із виходами 54-65% (схема 2). Слід відзначити, що розроблений метод є загальним і може бути успішно використаний для синтезу цикло-

октадека-2,5,8,11,14,17-гексаїн-1,10-діолів з гетероциклічними замісниками [28].

Будова синтезованих речовин була доведена за допомогою ЯМР  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  спектроскопії, мас-спектрометрії та ІЧ-спектроскопії. У спектрах ЯМР  $^1\text{H}$  сполук **5a,b** при 7.98-8.08 м.ч. спостерігається дублет інтенсивністю 2*H*, який відповідає ароматичним *ortho*-протонам до карбону (C-OH), та синглет протона OH-групи при 2.94-3.02 м.ч. (рис.).

Підтвердженням перебігу реакції є відсутність у спектрах ЯМР  $^{13}\text{C}$  сполук **5a,b** характерного сигналу карбону карбонільної групи вихідного кетону **1** при 159.8 м.ч. і поява сигналу четвертинного атома карбону (C-OH) при 65.2-65.3 м.ч., а також відсутність в ІЧ-спектрах інтенсивної смуги поглинання карбонільної групи при  $1629\text{ cm}^{-1}$ .

#### Експериментальна частина

Всі реакції були проведені в атмосфері аргону з використанням колби Шленка та вакуум-аргонової лінії. Колонкова хроматографія була прове-

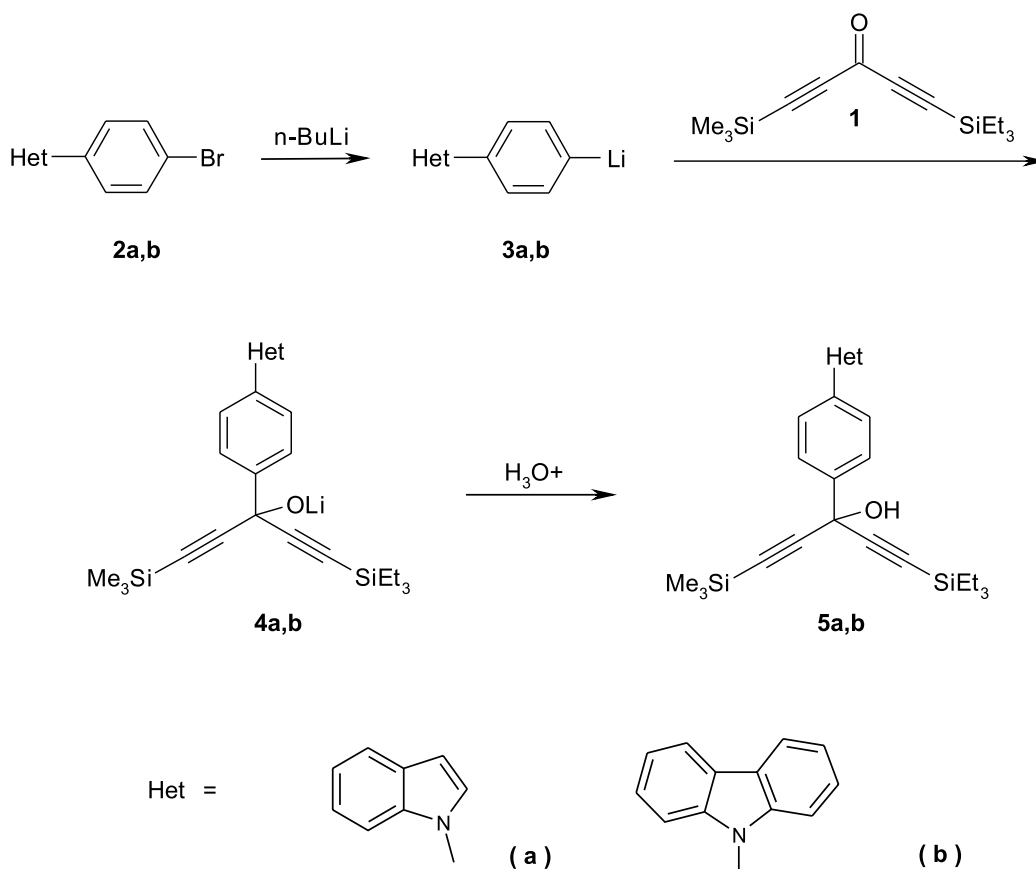
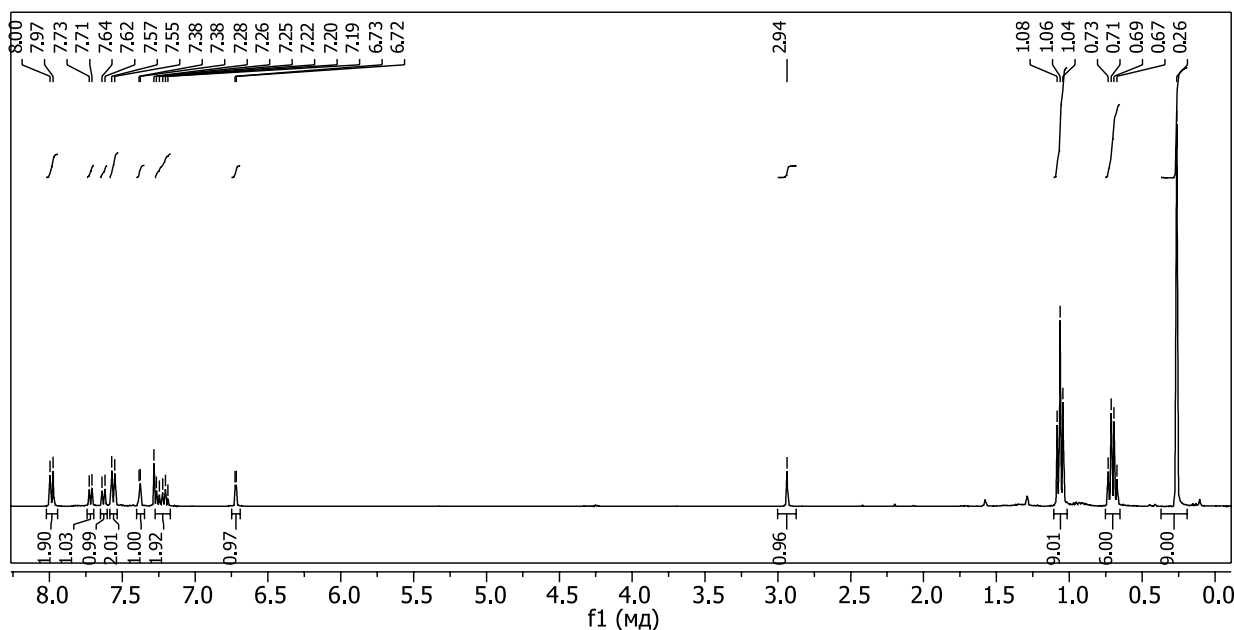


Схема 2. Схема синтезу 1-(триетилсиліл)-3-[4-(гетарил)феніл]-5-(триметилсиліл)пента-1,4-діїн-3-олів **5**.

Рис. Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР сполуки **5a**.

дена на силікагелі (60P). Перебіг реакцій та ефективність розділення продуктів контролювали методом ТШХ на пластинках (60F<sub>254</sub>) в системі гептан-етилацетат (8:2). Спектри ЯМР  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  в  $\text{CDCl}_3$  виміряні на приладі Bruker Avance 400, внутрішній стандарт – ТМС. ІЧ-спектри сполук були записані на приладі PerkinElmer GX FTIR. Мас-спектри одержані на приладі Quadrupolar Nermag R10-10Н спектрометр.

**1-(Триетилсиліл)-3-[4-(гетарил)феніл]-5-(триметилсиліл)пента-1,4-дїїн-3-оли 5a,b.** 84 (0,21 ммоль) мікролітра 2,5 М розчину *n*-бутилїтію в ТНФ додали до розчину 1-(4-бромофеніл)-1*H*-індолу (60 мг, 0,22 ммоль) або 9-(4-бромофеніл)-9*H*-карбазолу (71 мг, 0,22 ммоль) в 15 мл ТНФ при температурі  $-78^\circ\text{C}$  та перемішуванні. Реакційну суміш перемішували впродовж однієї години при температурі  $-78^\circ\text{C}$  і додавали розчин кетону **1** (53 мг, 0,2 ммоль) в 3 мл ТНФ. Реакційну суміш перемішували впродовж 3 год у бані з ацетоном (температура протягом 3 год повільно підвищувалась до  $-10^\circ\text{C}$ ), потім додали 3 мл насиченого водного розчину  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Суміш екстрагували діетиловим етером, органічний шар промивали насиченим водним розчином  $\text{NaCl}$ , водою, висушували над  $\text{MgSO}_4$ . Розчинник випарили при зниженому тиску, залишок очистили за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (елюент пентан – етилацетат (9:1)).

**1-Триетилсиліл)-3-[4-(1*H*-індол-1-їл)феніл]-5-(триметилсиліл)пента-1,4-дїїн-3-ол (5a).** Вихід – 65% (60 мг).  $R_f$  ( $\text{EtOAc}/\text{C}_7\text{H}_{16} = 2/8$ ) = 0.41. ІЧ (ATR):  $\nu_{\text{O-H}} = 3467 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu_{\text{C=C}} = 2160 \text{ cm}^{-1}$ .  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.26$  (s, 9 H, TMS), 0.7 (q, J 7.8 Гц, 6 H,  $3^*\text{CH}_2$  – TES), 1.06 (t, J 7.8 Гц, 9 H,  $3^*\text{CH}_3$  – TES), 2.94 (s, 1 H, OH), 6.72 (d, J 3.25 Гц, 1 H,  $\text{H}_3$ -індол), 7.17-7.28 (m, 2 H,

$\text{H}_5$ ,  $\text{H}_6$ -індол), 7.38 (d, J 3.25 Гц, 1 H,  $\text{H}_2$ -індол), 7.56 (d, J 8.4 Гц, 2 H, *o*-N-Ar), 7.63 (d, J 8.4 Гц, 1 H,  $\text{H}_7$ -індол), 7.72 (d, J 8.4 Гц, 1 H,  $\text{H}_4$ -індол), 7.99 (d, J 8.4 Гц, 2 H, *m*-N-Ar).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = -0.30$  (TMS), 4.28 ( $\text{CH}_2$ , TES), 7.47 ( $\text{CH}_3$ , TES), 65.22 (C-OH), 88.43, 90.40 (C-TMS, C-TES), 103.90 ( $\text{C}(\text{H}_3)$ -індол), 104.48, 105.86 ( $\text{C}\equiv\text{C-TMS}$ ,  $\text{C}\equiv\text{C-TES}$ ), 110.58 ( $\text{C}(\text{H}_8)$ -індол), 120.51, 121.18, 122.50 ( $\text{C}(\text{H}_4)$ ,  $\text{C}(\text{H}_5)$ ,  $\text{C}(\text{H}_6)$ -індол), 123.98 (C-*o*-N-Ar), 127.52 (C-*m*-N-Ar), 127.82 ( $\text{C}(\text{H}_2)$ -індол), 129.43 (C-четв. індол), 135.76 (C-четв.-N-індол), 139.47 (C(Ar)-C-OH), 140.08 (C(Ar)-N). HRMS (DCI- $\text{CH}_4$ ):  $m/z$  розраховано для  $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{NOSi}_2$  [ $\text{MH}$ ] $^+$ : 458.2335. Знайдено: 458.2348.

**1-(Триетилсиліл)-3-[4-(9*H*-карбазол-9-їл)феніл]-5-(триметилсиліл)пента-1,4-дїїн-3-ол (5b).** Вихід – 54% (55 мг).  $R_f$  ( $\text{EtOAc}/\text{C}_7\text{H}_{16} = 2/8$ ) = 0.33.  $\nu_{\text{O-H}} = 3518 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu_{\text{C=C}} = 2162 \text{ cm}^{-1}$ .  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.29$  (s, 9 H, TMS), 0.72 (q, J 7.8 Гц, 6 H,  $3^*\text{CH}_2$  – TES), 1.08 (t, J 7.8 Гц, 9 H,  $3^*\text{CH}_3$  – TES), 3.02 (s, 1 H, OH), 7.29-7.36 (t, J 7.2 Гц, 2 H,  $\text{H}_3, \text{H}_6$ -карбазол), 7.41-7.52 (m, 4 H,  $\text{H}_1, \text{H}_2, \text{H}_7, \text{H}_8$ -карбазол), 7.63 (d, J 8.4 Гц, 2 H, *o*-Ar-N), 8.08 (d, J 8.4 Гц, 2 H, *m*-N-Ar), 8.18 (d, J 7.9 Гц, 2 H,  $\text{H}_4, \text{H}_5$ -карбазол).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = -0.28$  (TMS), 4.29 ( $\text{CH}_2$ , TES), 7.49 ( $\text{CH}_3$ , TES), 65.32 (C-OH), 88.60, 90.53 (C-TMS, C-TES), 104.47, 105.89 ( $\text{C}\equiv\text{C-TMS}$ ,  $\text{C}\equiv\text{C-TES}$ ), 109.85 ( $\text{C}(\text{H}_1)$ ,  $\text{C}(\text{H}_8)$ -карбазол), 120.07, 120.33 ( $\text{C}(\text{H}_3)$ ,  $\text{C}(\text{H}_4)$ ,  $\text{C}(\text{H}_5)$ ,  $\text{C}(\text{H}_6)$ -карбазол), 123.48 (C-четв.-карбазол), 126.00 (C-*o*-N-Ar), 126.83 ( $\text{C}(\text{H}_2)$ ,  $\text{C}(\text{H}_7)$ -карбазол), 127.78 (C-*m*-N-Ar), 138.06 (C-четв.-N-карбазол), 140.39 (C(Ar)-C-OH), 140.75 (C(Ar)-N). HRMS (DCI- $\text{CH}_4$ ):  $m/z$  розраховано для  $\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{NOSi}_2$  [ $\text{MH}$ ] $^+$ : 508.2492. Знайдено: 508.2494.

## Висновки

Розроблено метод синтезу 1-(триетилсиліл)-3-[4-(гетарил)феніл]-5-(триметилсиліл)пента-1,4-



діїн-3-олів, що базується на взаємодії літієвих похідних 1-(4-бромофеніл)-1H-індолу та 9-(4-бромофеніл)-9H-карбазолу з 1-(триетилсиліл)-5-(триметилсиліл)пента-1,4-діїн-3-оном.

## Література

1. Maraval V., Chauvin R. // *Chem. Rev.* – 2006. – Vol. 106. – 5317 p.
2. Fusetani N., Li H.Y., Tamura K., Matsunaga S. // *Tetrahedron.* – 1993. – Vol. 49. – 1203 p.
3. Leray Claude. *Introduction to Lipidomics: From Bacteria to Man.* – 2012. – P. 72-73.
4. Patil A.D., Kokke W.C., Cochran S. et al. // *J. Nat. Prod.* – 1992. – Vol. 55. – 1170 p.
5. Isaacs S., Kashman Y., Loya S. et al. // *Tetrahedron.* – 1993. – Vol. 49. – 10435 p.
6. Lim Y.J., Kim J.S., Im K.S. et al. // *J. Nat. Prod.* – 1999. – Vol. 62. – 1215 p.
7. Chan H.-H., Sun H.-D., Bhaskar Reddy M.V., Wu T.-S. // *Phytochemistry.* – 2010. – Vol. 71 (11-12). – 1360 p.
8. Chen I., Safe S., Bjeldanes L. // *Biochem. Pharmacol.* – 1996. – Vol. 51 (8). – 1069 p.
9. Suzen S., Buyukbingol E. // *Il Farmaco.* – 2000. – Vol. 55(4). – 246 p.
10. Giagoudakis G., Markantonis S.L. // *Pharmacotherapy.* – 2005. – Vol. 25 (1). – 18 p.
11. Suzen S., Buyukbingol E. // *Il Farmaco.* – 1998. – Vol. 53 (7). – 525 p.
12. Valko M., Morris H., Cronin M.T.D. // *Current Med. Chem.* – 2005. – Vol. 12 (10). – 1161 p.
13. Poon A.M.S., Liu Z.M., Pang C.S. et al. // *Biol. Signals.* – 1994. – Vol. 3 (2). – 107 p.
14. Liebmann P.M., Wölfler A., Felsner P. et al. // *Intern. Archives of Allergy and Immunol.* – 1997. – Vol. 112 (3). – 203 p.
15. Zhang F.F., Gan L.L., Zhou C.H. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2010. – Vol. 20. – 1881 p.
16. Randelia B.E., Patel B.P.J. // *Experientia.* – 1982. – Vol. 38. – 529 p.
17. Ramsewak R.S., Nair M.G., Strasburg G.M. et al. // *J. Agric. Food Chem.* – 1999. – Vol. 47. – 444 p.
18. Anthony J., Boldia A.M., Rubin Y. et al. // *Helvetica Chimica Acta.* – 1995. – Vol. 78. – 13 p.
19. Zou C., Duhayon C., Maraval V., Chauvin R. // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2007. – Vol. 46. – 4337 p.
20. Voitenko Z.V., Halaev O.I., Samoilenko V.P. et al. // *Tetrahedron.* – 2010. – Vol. 66 (41). – 8214 p.
21. Ковтуненко В.А., Войтенко З.В. // *Успехи химии.* – 1994. – №63 (12). – 1064 с.
22. Leroyer L., Zou C., Maraval V., Remi Chauvin // *C. R. Chimie.* – 2009. – Vol. 12. – 412 p.
23. Suzuki R. // *Tetrahedron.* – 1998. – Vol. 54. – 2477 p.
24. Kuwatani Y., Watanabe N., Ueda I. // *Tetrahedron Lett.* – 1995. – Vol. 36 (1). – 119 p.
25. Leroyer L., Lepetit C., Rives A. et al. // *Chem. Eur. J.* – 2012. – Vol. 18. – 3226 p.
26. Saccavini C., Tedeschi C., Maurette L. et al. // *Chem. Eur. J.* – 2007. – Vol. 13. – 4895 p.
27. Petit M., Aubert C., Malacria M. // *Tetrahedron.* – 2006. – Vol. 62. – 10582 p.
28. Rives A., Baglai I., Malytskyi V. et al. // *Chem. Commun.* – 2012. – Vol. 48. – 8763 p.

Надійшла до редакції 30.04.2013 р.

# ОДНОРЕАКТОРНИЙ СИНТЕЗ ЗАМІЩЕНИХ ІМІДАЗОЛІДИН-2-ОНІВ ЗА УЧАСТЮ ТІОБАРБІТУРОВОЇ КИСЛОТИ, АРИЛГЛЮКСАЛІВ ТА СЕЧОВИН

Н.М.Колос, Л.Л.Замігайло\*, Н.В.Чечина

Харківський національний університет ім. В.Н.Каразіна  
61077, м. Харків, пл. Свободи, 4. E-mail: kolos\_n@mail.ru

\* НТК «Інститут монокристалів» НАН України

*Ключові слова:* імідазолідин-2-они; одnoreакторний синтез; таутомерія; тіобарбітурова кислота; арилглюксалі; сечовини

*Трикомпонентною конденсацією гідратів арилглюксалів, тіобарбітурової кислоти і сечовин синтезовано похідні імідазолідин-2-ону із залишком піримідинтіонного фрагменту в положенні 4. Встановлено, що отримані сполуки існують у розчині ДМСО-d<sub>6</sub> як суміш двох таутомерних форм: для продуктів, одержаних на основі N-заміщених сечовин, переважає імідазолідинова форма, тоді як у випадку сечовини імідазолідинова та імідазолінова форми присутні у співвідношенні 1:1.*

## **ONE-POT SYNTHESIS OF THE SUBSTITUTED IMIDAZOLIDIN-2-ONES WITH PARTICIPATION OF THIOBARBITURIC ACID, UREAS AND ARYLGLYOXALS**

**N.M.Kolos, L.L.Zamigaylo, N.V.Chechina**

**Key words:** imidazole-2-ones; one-pot synthesis; tautomerism; thiobarbituric acid; arylglyoxals; ureas

*Derivatives of imidazole-2-ones containing the pyrimidinethionic moiety in position 4 have been synthesized by three-component one-pot condensation of thiobarbituric acid, arylglyoxal hydrates and ureas. It has been found that these compounds exist in the solution of DMSO-d<sub>6</sub> as a mixture of two tautomeric forms: for products obtained from N-substituted ureas the imidazolidin form predominates; and in the case of urea the imidazolidin and imidazolin forms are present in the ratio of 1:1.*

## **ОДНОРЕАКТОРНИЙ СИНТЕЗ ЗАМЕЩЕННЫХ ИМИДАЗОЛИДИН-2-ОНОВ С УЧАСТИЕМ ТИОБАРБИТУРОВОЙ КИСЛОТЫ, АРИЛГЛЮКСАЛЕЙ И МОЧЕВИН**

**Н.М.Колос, Л.Л.Замігайло, Н.В.Чечина**

**Ключевые слова:** имидазолидин-2-оны; одnoreакторный синтез; таутомерия; тиобарбитуровая кислота; арилглюксали; мочевины

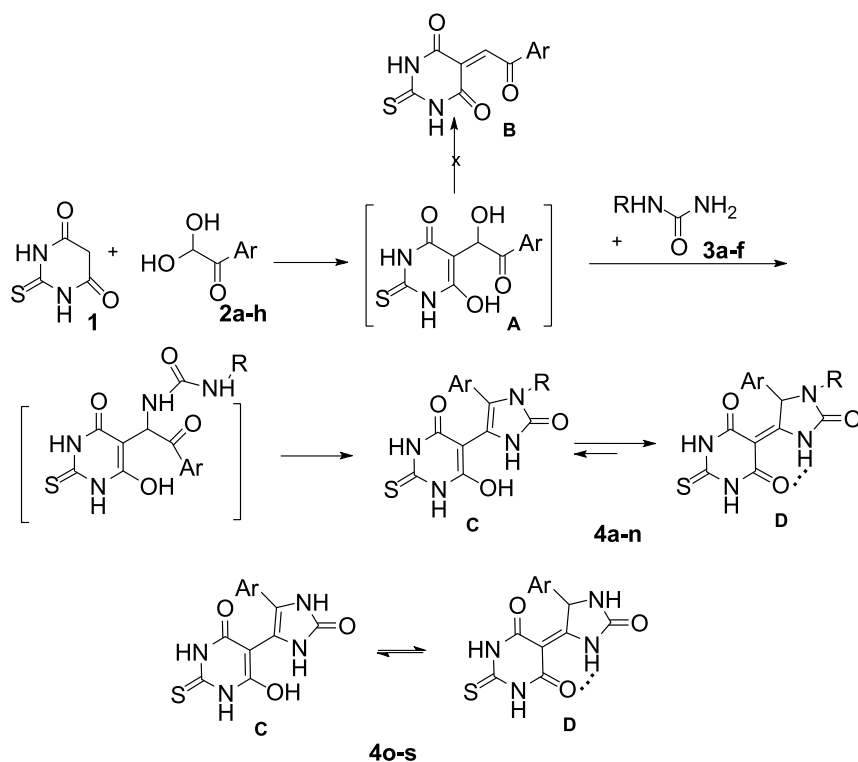
*Трехкомпонентной конденсацией тиобарбитуровой кислоты, гидратов арилглюксалей и мочевины синтезированы производные имидазолидин-2-онов, содержащие остаток пиридинтионного фрагмента в положении 4. Установлено, что эти соединения существуют в растворе ДМСО-d<sub>6</sub> в виде смеси двух таутомерных форм: для продуктов, полученных на основе N-замещенных мочевины, преобладает имидазолидиновая форма, тогда как в случае мочевины имидазолидиновая и имидазолиновая формы присутствуют в соотношении 1:1.*

Похідні імідазолу входять до складу біологічно важливих систем (ДНК, РНК, білків). Імідазолний гетероцикл є складовою багатьох лікарських препаратів різноманітної дії: аналгетиків [1-3], кардіоваскулярних [4], антивірусних, антимікробних [5-8] і протипухлинних засобів [9-11], антидепресантів [12]. Ряд похідних імідазолідин-2-ону проявляють локальну анестезуючу і антиаритмічну дію [13], виступають інгібіторами мускаринових рецепторів [14] і протеїнових кіназ [15, 16].

Раніше нами були розроблені зручні one-pot синтези 4,5-ди- і 1,4,5-тризаміщених імідазолін-2-онів на основі циклічних β-дикетонів (1,3-диметилбарбітурова кислота, циклогександіон-1,3, 4-гідроксикумарин), арилглюксалів і сечовин [17, 18]. Для вивчення і розширення синтетичного потенціалу знайденого підходу до функціоналізованих похідних імідазоліну та з'ясування впливу β-дикарбонільної компоненти на перебіг реакції ми дослідили продукти трикомпонентної

конденсації тіобарбітурової кислоти **1**, гідратів арилглюксалів **2a-h** і сечовин **3a-f**. Взаємодія вихідних компонент здійснювалась шляхом кип'ятіння еквімолярних кількостей реагентів в етанолі з каталітичними домішками АсОН протягом 30-40 хв до початку випадіння осаду. Синтезовані продукти **4a-s** виявилися високоплавкими кристалічними сполуками білого кольору добре розчинними в полярних розчинниках.

Будову сполук **4a-s** встановлено з використанням спектральних методів і даних елементного аналізу. Так, у спектрах ЯМР <sup>1</sup>H продуктів **4a-j** виявляються мультиплети протонів ароматичних ядер глюксалевого і N-арилсечовинного фрагментів, синглет метинового протону при 6.85-7.04 м.ч., розширений синглет обмінного протону в області 12.30 м.ч., а також двопротонний синглет NH протонів піримідинтіонного циклу в області більш сильного поля, тоді як у випадку сполук **4i-n** на спектрограмах спостерігаються два синглетні сиг-



2a-h: Ar = Ph (a), 4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (b), 4-OMeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (c), 4-FC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (d), 4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (e), 4-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (f), 4-IC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (g), 4-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (h); 3a-f: R = Ph (a), 2-FC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (b), (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OMe (c), Me (d), H (e), CH<sub>3</sub>CO(f); 4a-h: R = Ph, Ar = Ph (a), 4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (b), 4-OMeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (c), 4-FC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (d), 4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (e), 4-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (f), 4-IC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (g), 4-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (h); 4i,j: R = 2-FC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, Ar = Ph (i), 4-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (j); 4k,l: R = (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OMe, Ar = Ph (k), 4-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (l); 4m,n: R = Me, Ar = 4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (m), 4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (n); 4o-s: R = H, Ar = Ph (o), 4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (p), Ar = 4-FC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (r), 4-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (s).

#### Схема

нали NH протонів залишку тіобарбітурової кислоти, а однопротонний синглет метинового протону зміщується в область більш сильного поля. Спектри ЯМР <sup>13</sup>C свідчать про збереження всіх атомів карбону в кінцевій молекулі, а використання процедури ДЕРТ-135 дозволило встановити наявність третинного sp<sup>3</sup> гібридного атома карбону близько 65-66 м.ч. і виключити із спектрів четвертинні атоми карбону. Отримані результати, а також дані елементного аналізу дозволили нам ідентифікувати сполуки **4a-n** як 1-арил(алкіл)-5-арилімідазолідин-2-они, що вміщують у положенні 4 залишок тіобарбітурової кислоти. Наявність арильного замісника саме в положенні 5 циклу підтверджена за допомогою ЯЕО, проведеного для імідазолідину **4n**. Насичення сигналу протонів N-метильної групи приводить до відклику на орто-протонах бромобенільного радикала, що свідчить про їх просторове зближення. Зазначимо, що хімічний зсув слабкого обмінного протона близько 12,3 м.ч. в сполуках **4a-n** практично не змінюється від характеру замісників у положеннях 1 чи 5 циклу, що ми пов'язуємо з існуванням внутрішньомолекулярного водневого зв'язку в цих молекулах.

Утворення імідазольного циклу в трикомпонентних конденсаціях за участю β-дикарбоніль-

них сполук, арилглюксалів та 1,3-бінуклеофільних реагентів було обговорено раніше і включає формування проміжного α-гідрокисетону **A** або продукту його дегідратації – фенациліденопохідного **B**. Такі похідні були описані нами раніше для 1,3-диметилбарбітурової кислоти [19]. Однак для тіобарбітурової кислоти більш характерним є утворення в слабкислому або нейтральному середовищах біс-адуктів складу 2:1 [20]. Подальше нуклеофільне заміщення за участю найбільш нуклеофільного центру і конденсація ведуть до утворення імідазолонів типу **4** (таутомерна форма **C**). Трансформація в таутомерну форму **D** реалізується в результаті 1,5-сигматропного зсуву атома водню. Такий процес є термодинамічно вигідним, оскільки нова таутомерна форма вміщує фрагмент спряженої α,β-карбонільної сполуки і додатково стабілізована внутрішньомолекулярним водневим зв'язком. Близька за будовою таутомерна форма була зафіксована нами в кристалічному стані (дані PCA) для імідазолідин-2-тіонів, одержаних у реакції монометилтіосечовини, гідратів арилглюксалів і 1,3-диметилбарбітурової кислоти, тоді як у розчинах ці сполуки існують практично повністю в імідазолін-2-тіольній формі [21] (схема).

Водночас на спектрограмах ЯМР <sup>1</sup>H продуктів **4a-n**, одержаних на основі N-заміщених сечо-

Таблиця

Хімічні зсуви NH протонів таутомерної форми **C** та співвідношення таутомерних форм **C** і **D**

Сполука	R	Ar	Сигнали протонів мінорної форми <b>C</b> сполук <b>4a-l</b>			Відсотки таутомерних форм <b>D:C</b> (%)
			$\delta_{(NH)}$	$\delta_{(NHбарб.)}$	$\delta_{(NHбарб)}$	
4a	Ph	Ph	10.12	11.58	11.89	95:5
4b	Ph	4-Me-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	10.07	11.57	11.90	95:5
4c	Ph	4-MeO-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	10.13	11.58	11.90	95:5
4d	Ph	4-F-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	10.02	11.20	11.97	90:10
4e	Ph	4-Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	10.21	11.60	11.98	90:10
4f	Ph	4-Br-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	10.18	11.59	12.00	95:5
4g	Ph	4-I-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	10.16	11.60	11.97	90:10
4h	Ph	4-NO <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	10.42	11.41	11.98	75:25
4i	2-F-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	Ph	10.07	11.62	11.95	70:30
4j	2-F-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	4-Br-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	10.10	11.58	11.97	65:35
4k	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OMe	Ph	9.90	11.55	11.92	90:10
4l	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OMe	4-Br-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	9.92	11.60	11.90	90:10

вин, проявляються також додаткові сигнали обмінних протонів в області слабого поля, що свідчить про наявність у розчинах DMSO-d<sub>6</sub> і мінорної таутомерної форми **C**. Їх інтегрування дозволило оцінити відсоток цієї форми. Як видно з даних табл., в більшості випадків вміст таутомерної форми **C** складає 5-10%. Однак, наявність сильних електроакцепторних груп в арильному або амідному фрагментах молекули суттєво підвищує її відсоток (сполуки **4h-j**). Так, о-фторофенільний радикал у сполуках **4i,j** сприяє кращому спряженню 5-арильної групи з π-системою молекули, що приводить до появи 30-35% мінорного таутомера в розчині. Цікаво, що для продуктів **4m,n**, синтезованих за участю монометилсечовини, в розчинах присутня виключно імідазолідинова форма **D**.

Використання в одnoreакторному трикомпонентному синтезі сечовини або ацетилсечовини **3f** (синтез сполук **4r-s**) приводить до продуктів **4o-s**, які існують у розчині DMSO-d<sub>6</sub> як суміш двох таутомерних форм **C** і **D** у співвідношенні 1:1. Таким чином, у випадку N-ацетилсечовини прослідковується процес деацільювання вихідного 1,3-бі-нуклеофілу. Так, у спектрах ЯМР <sup>1</sup>H сполук **4o-s** окрім сигналів протонів, характерних для таутомерної форми **D**, наявні однопротонні синглети протонів в області 9.70-9.87 і 10.35-10.51 м.ч., які віднесені до NH груп форми **C**. Таке віднесення пояснюється більшим впливом електронного характеру замісника в арильному радикалі на хімічні зсуви сигналів протонів іміногруп циклу [18], причому якраз сигнал N<sup>3</sup>H протону виявляється найбільш чутливим (порівняй сполуки **4o** і **4r**). Сигнал протону гідроксильної групи таутомерної форми **C** не виявляється в спектрі вна-

слідок швидкого обміну з водою, присутньою в дейтеророзчиннику. Таке явище є характерним для синтезованих раніше тіазолів [22] і імідазолів, одержаних аналогічно з використанням 4-гідроксикумарину [17] або димедону [18], гідратів арилглюксалів і сечовин.

Зазначимо, що в конденсаціях за участю димедону або 4-гідроксикумарину, гідратів арилглюксалів і сечовин були одержані виключно імідазол-2-они (таутомерна форма **C**), що зумовлено існуванням відповідних β-дикарбонільних сполук переважно в енольній формі.

Раніше нами було показано, що формування сполук типу **4** не може бути наслідком проміжного утворення гідантоїну – продукту взаємодії глюксалів з сечовинами [23], так як навіть при довготривалому кип'ятінні останнього з димедоном [18] або 1,3-диметилбарбітуровою кислотою [19] цільові продукти не були одержані.

### Експериментальна частина

Спектри ЯМР <sup>1</sup>H записані на приладі Varian VX-200 Mercury (200 МГц), спектри ЯМР <sup>13</sup>C – на спектрометрі Bruker AM-400 (100 МГц) в розчинах DMSO-d<sub>6</sub>, внутрішній стандарт – ТМС. Мас-спектри виміряні на приладі Hewlett-Packard LC/MSD 1100 методом іонізації електронним ударом (потенціал іонізації – 70 еВ). Елементний аналіз виконано на приладі LECO CHNS-900. Температури плавлення визначені на столику Кофлера. Контроль за перебігом реакції і чистотою одержаних продуктів здійснювався за допомогою ТШХ на пластинках Silufol UV-254 в системах: толуол/етил-ацетат (1:1), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/i-PrOH (10:1), проявник – пари йоду.

**Загальна методика синтезу похідних імідазолідин-2-онів (4a-s).** Еквімолярну суміш (по 1 ммоль)

кислоти **1**, гідрату арилглюксалю **2a-h** і сечовини **3a-f** в 10 мл етанолу витримували при температурі кипіння впродовж 30-40 хв. Реакційну суміш охолоджували, утворений осад відфільтровували, послідовно промивали 20 мл води і 5 мл етанолу, відфільтровували та сушили.

**5-(2-Оксо-1,5-дифенілімідазолідин-4-іліден)-2-тіодигідропіримідин-4,6(1H,5H)-діон (4a)**. Вихід – 82%. Т. пл. >300°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 6.89 с (1H, C<sup>5</sup>H), 7.08-7.32 м (8H<sub>аром</sub>), 7.46 д (2H<sub>аром</sub>, J 7.6 Гц), 11.98 с (2H, NH), 12.29 с (1H, N<sup>3</sup>H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м.ч.: 66.5 (C<sup>5</sup>), 91.8 (C<sup>5</sup>), 122.7, 125.3 (2C), 128.0, 128.4 (2C), 128.7 (2C), 131.5 (2C), 134.5, 135.0 (C<sub>аром</sub>), 151.8 (C<sup>4</sup>), 159.3, 169.2, 169.9 (C=O), 177.3 (C=S). Знайдено, %: С 60.36; Н 3.68; N 14.75. C<sub>19</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S. Вирахувано, %: С 60.31; Н 3.73; N 14.81.

**5-(2-Оксо-1-феніл-5-(4-метилфеніл)імідазолідин-4-іліден)-2-тіодигідропіримідин-4,6(1H,5H)-діон (4b)**. Вихід – 79%. Т. пл. >300°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 2.15 с (3H, CH<sub>3</sub>), 6.86 с (1H, C<sup>5</sup>H), 7.06-7.11 м (3H<sub>аром</sub>), 7.19 д (2H<sub>аром</sub>, J 8.2 Гц), 7.29 д (2H<sub>аром</sub>, J 8.2 Гц), 7.47 д (2H<sub>аром</sub>, J 8.0), 11.98 с (2H, NH), 12.28 с (1H, N<sup>3</sup>H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м.ч.: 20.6 (CH<sub>3</sub>), 66.2 (C<sup>5</sup>), 91.7 (C<sup>5</sup>), 122.5, 125.4 (2C), 128.2, 128.5 (2C), 128.8 (2C), 131.4 (2C), 135.0, 137.8 (C<sub>аром</sub>), 151.7 (C<sup>4</sup>), 159.2, 163.0, 169.4 (C=O), 177.3 (C=S). Знайдено, %: С 61.36; Н 4.18; N 14.35. C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S. Вирахувано, %: С 61.21; Н 4.11; N 14.28.

**5-(2-Оксо-1-феніл-5-(4-метоксифеніл)імідазолідин-4-іліден)-2-тіодигідропіримідин-4,6(1H,5H)-діон (4c)**. Вихід – 69%. Т. пл. >300°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 3.63 с (3H, OCH<sub>3</sub>), 6.75 д (2H<sub>аром</sub>, J 8.2 Гц), 6.85 с (1H, C<sup>5</sup>H), 7.06-7.11 м (1H<sub>аром</sub>), 7.22-7.33 м (4H<sub>аром</sub>), 7.48 д (2H<sub>аром</sub>, J 8.2 Гц), 11.99 с (2H, NH), 12.29 с (1H, N<sup>3</sup>H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м.ч.: 57.2 (OCH<sub>3</sub>), 66.0 (C<sup>5</sup>), 91.6 (C<sup>5</sup>), 122.5, 125.4 (2C), 128.4, 128.9 (2C), 129.1 (2C), 131.6 (2C), 135.1, 138.0 (C<sub>аром</sub>), 151.4 (C<sup>4</sup>), 159.1, 163.0, 169.0 (C=O), 177.2 (C=S). Знайдено, %: С 58.92; Н 4.03; N 13.80. C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S. Вирахувано, %: С 58.81; Н 3.95; N 13.72.

**5-(2-Оксо-1-феніл-5-(4-фторофеніл)імідазолідин-4-іліден)-2-тіодигідропіримідин-4,6(1H,5H)-діон (4d)**. Вихід – 88%. Т. пл. >300°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 6.90 с (1H, C<sup>5</sup>H), 7.03 т (2H<sub>аром</sub>, J 7.6 Гц), 7.06-7.11 м (1H<sub>аром</sub>), 7.26-7.36 м (4H<sub>аром</sub>), 7.44 т (2H<sub>аром</sub>, J 7.6 Гц), 11.97 с (2H, NH), 12.28 с (1H, N<sup>3</sup>H). Знайдено, %: С 57.53; Н 3.29; N 4.11. C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S. Вирахувано, %: С 57.57; Н 3.31; N 14.13.

**5-(2-Оксо-1-феніл-5-(4-хлорофеніл)імідазолідин-4-іліден)-2-тіодигідропіримідин-4,6(1H,5H)-діон (4e)**. Вихід – 65%. Т. пл. >300°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 6.90 с (1H, C<sup>5</sup>H), 7.09 т (1H<sub>аром</sub>, J 7.6 Гц), 7.24-7.37 м (6H<sub>аром</sub>), 7.47 д (2H<sub>аром</sub>, J 7.8 Гц), 12.02 с (2H, NH), 12.32 с (1H, N<sup>3</sup>H). Знайдено, %: С 55.32; Н 3.23; N 13.64. C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S. Вирахувано, %: С 55.28; Н 3.17; N 13.57.

**5-(2-Оксо-1-феніл-5-(4-бромофеніл)імідазолідин-4-іліден)-2-тіодигідропіримідин-4,6(1H,5H)-діон (4f)**. Вихід – 87%. Т. пл. >300°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 6.85 с (1H, C<sup>5</sup>H), 7.11 т (1H<sub>аром</sub>, J 7.2 Гц), 7.22-7.30 м (4H<sub>аром</sub>), 7.40 д (2H<sub>аром</sub>, J 8.0 Гц), 7.46 д (2H<sub>аром</sub>, J 8.0), 12.00 с (2H, NH), 12.30 с (1H, N<sup>3</sup>H). Знайдено, %: С 49.87; Н 2.83; N 12.21. C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>BrN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S. Вирахувано, %: С 49.90; Н 2.87; N 12.25.

**5-(2-Оксо-1-феніл-5-(4-йодофеніл)імідазолідин-4-іліден)-2-тіодигідропіримідин-4,6(1H,5H)-діон (4g)**. Вихід – 85%. Т. пл. >300°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 6.88 с (1H, C<sup>5</sup>H), 7.10-7.15 м (3H<sub>аром</sub>), 7.26-7.33 м (2H<sub>аром</sub>), 7.46 д (2H<sub>аром</sub>, J 7.9 Гц), 7.56 д (2H<sub>аром</sub>, J 7.9), 11.98 с (2H, NH), 12.28 с (1H, N<sup>3</sup>H). Знайдено, %: С 45.27; Н 2.63; N 11.21. C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>IN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S. Вирахувано, %: С 45.25; Н 2.60; N 11.11.

**5-(2-Оксо-1-феніл-5-(4-нітрофеніл)імідазолідин-4-іліден)-2-тіодигідропіримідин-4,6(1H,5H)-діон (4h)**. Вихід – 80%. Т. пл. >300°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 7.04 с (1H, C<sup>5</sup>H), 7.26-7.34 м (3H<sub>аром</sub>), 7.48 д (2H<sub>аром</sub>, J 7.2 Гц), 7.62 д (2H<sub>аром</sub>, J 8.0), 8.04 д (2H<sub>аром</sub>, J 8.0), 12.03 с (2H, NH), 12.34 с (1H, N<sup>3</sup>H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м.ч.: 65.7 (C<sup>5</sup>), 92.7 (C<sup>5</sup>), 123.2 (2C), 126.7 (2C), 129.0, 130.2 (2C), 134.5 (2C), 141.1, 147.1, 149.4 (C<sub>аром</sub>), 151.8 (C<sup>4</sup>), 161.3, 163.0, 167.6 (C=O), 177.4 (C=S). Мас-спектр, *m/z* (I, %): 432 (M<sup>+</sup>, 100). Знайдено, %: С 53.87; Н 3.03; N 16.51. C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S. Вирахувано, %: С 53.90; Н 3.09; N 16.54.

**5-(2-Оксо-1-(2-фторофеніл)-5-фенілімідазолідин-4-іліден)-2-тіодигідропіримідин-4,6(1H,5H)-діон (4i)**. Вихід – 88%. Т. пл. >300°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 6.67 с (1H, C<sup>5</sup>H), 7.17-7.27 м (6H<sub>аром</sub>), 7.26-7.33 м (2H<sub>аром</sub>), 7.44 т (1H<sub>аром</sub>, J 7.6 Гц), 11.97 с (1H, NH), 12.07 с (1H, NH), 12.32 с (1H, N<sup>3</sup>H). Мас-спектр: *m/z* (I, %): 396 (M<sup>+</sup>, 100). Знайдено, %: С 57.53; Н 3.38; N 14.06. C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S. Вирахувано, %: С 57.57; Н 3.31; N 14.13.

**5-(2-Оксо-1-(2-фторофеніл)-5-(4-бромофенілімідазолідин-4-іліден)-2-тіодигідропіримідин-4,6(1H,5H)-діон (4j)**. Вихід – 83%. Т. пл. >300°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 6.66 с (1H, C<sup>5</sup>H), 6.83-6.87 м (1H<sub>аром</sub>), 7.14 д (2H<sub>аром</sub>, J 8.2), 7.16-7.28 м (2H<sub>аром</sub>), 7.40 д (2H<sub>аром</sub>, J 8.2 Гц), 7.48 т (1H<sub>аром</sub>, J 7.6 Гц), 11.98 с (1H, NH), 12.04 с (1H, NH), 12.35 с (1H, N<sup>3</sup>H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м.ч.: 66.0 (C<sup>5</sup>), 91.7 (C<sup>5</sup>), 117.0, 121.8, 122.5, 125.6, 130.0, 130.5 (2C), 132.0, 132.3 (2C), 137.8, 160.4 (C<sub>аром</sub>), 151.3 (C<sup>4</sup>), 159.2, 162.9, 170.2 (C=O), 177.2 (C=S). Мас-спектр, *m/z* (I, %): 474 (M<sup>+</sup>, 100), 476 (98). Знайдено, %: С 48.13; Н 2.38; N 14.06. C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>FBrN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S. Вирахувано, %: С 48.01; Н 2.54; N 11.79.

**5-(2-Оксо-1-(2-метоксиетил)-5-фенілімідазолідин-4-іліден)-2-тіодигідропіримідин-4,6(1H,5H)-діон (4k)**. Вихід – 83%. Т. пл. – 244-246°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 2.74 дд (2H, CH<sub>2</sub>), 3.28 с (3H, OCH<sub>3</sub>), 3.54 дд (2H, CH<sub>2</sub>), 6.21 с (1H, C<sup>5</sup>H), 7.28-7.32 м (5H<sub>аром</sub>), 11.71 с (1H, NH), 11.85 с (1H,

NH), 12.09 с (1H, N<sup>3</sup>H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м.ч.: 39.4 (CH<sub>2</sub>), 58.0 (OCH<sub>3</sub>), 66.1 (C<sup>5</sup>), 69.4 (CH<sub>2</sub>), 91.8 (C<sup>5</sup>), 128.5, 128.9 (2C), 130.3 (2C), 134.6 (C<sub>аром</sub>), 153.1 (C<sup>4</sup>), 159.3, 162.9, 170.0 (C=O), 177.3 (C=S). Знайдено, %: C 53.35; H 4.50; N 15.51. C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S. Вираховано, %: C 52.32; H 4.47; N 15.55.

**5-(2-Оксо-1-(2-метоксietил)-5-(4-бромофеніл)імідазолідин-4-іліден)-2-тіодигідропіримідин-4,6(1H,5H)-діон (4l).** Вихід – 80%. Т. пл. – 264°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 2.70 дд (2H, CH<sub>2</sub>), 3.17 с (3H, OCH<sub>3</sub>), 3.52 дд (2H, CH<sub>2</sub>), 6.18 с (1H, C<sup>5</sup>H), 7.21 д (2H<sub>аром</sub>, J 8.0), 7.53 д (2H<sub>аром</sub>, J 8.0), 11.77 с (1H, NH), 11.93 с (1H, NH), 12.24 с (1H, N<sup>3</sup>H). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м.ч.: 39.4 (CH<sub>2</sub>), 57.9 (OCH<sub>3</sub>), 66.3 (C<sup>5</sup>), 69.4 (CH<sub>2</sub>), 91.9 (C<sup>5</sup>), 122.0, 130.7 (2C), 132.1 (2C), 137.4 (C<sub>аром</sub>), 153.2 (C<sup>4</sup>), 161.0, 163.0, 170.0 (C=O), 177.4 (C=S). Мас-спектр, m/z (I,%): 438 (M<sup>+</sup>, 100, 440 (98). Знайдено, %: C 43.73; H 3.50; N 12.71. C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>BrN<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S. Вираховано, %: C 43.75; H 3.44; N 12.75.

**5-(1-Метил-2-оксо-5-(4-метилфеніл)імідазолідин-4-іліден)-2-тіоксодигідропіримідин-4,6(1H,5H)-діон (4m).** Вихід – 81%. Т. пл. – 232-234°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 2.25 с (3H, CH<sub>3</sub>), 3.42 с (3H, N-CH<sub>3</sub>), 6.22 с (1H, C<sup>5</sup>H), 7.15 д (2H<sub>аром</sub>, J 8.0), 7.38 д (2H<sub>аром</sub>, J 8.0), 11.70 с (1H, NH), 11.87 с (1H, NH), 12.21 с (1H, N<sup>3</sup>H). Знайдено, %: C 54.73; H 4.40; N 16.71. C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S. Вираховано, %: C 54.53; H 4.27; N 16.96.

**5-(1-Метил-2-оксо-5-(4-хлорофеніл)імідазолідин-4-іліден)-2-тіоксодигідропіримідин-4,6(1H,5H)-діон (4n).** Вихід – 79%. Т. пл. – 237-238°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 3.40 с (3H, N-CH<sub>3</sub>), 6.25 с (1H, C<sup>5</sup>H), 7.20 д (2H<sub>аром</sub>, J 7.8), 7.40 д (2H<sub>аром</sub>, J 7.8), 11.68 с (1H, NH), 11.85 с (1H, NH), 12.20 с (1H, N<sup>3</sup>H). Знайдено, %: C 47.73; H 3.10; N 15.71. C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S. Вираховано, %: C 47.94; H 3.16; N 15.97.

**5-(2-Оксо-5-фенілімідазолідин-4-іліден)-2-тіоксодигідропіримідин-4,6(1H,5H)-діон (4o).** Вихід – 70%, Т. пл. – 213-214°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 7.14–7.34 м (5H<sub>аром</sub>), таутомерна форма С: 9.74 с (1H, N<sup>1</sup>H), 10.35 с (1H, N<sup>3</sup>H), 11.57 с (1H, NH), 11.87 с (1H, NH); таутомерна форма Д: 6.16 с (1H,

C<sup>5</sup>H), 9.15 с (1H, N<sup>1</sup>H), 11.99 с (2H, NH), 12.19 с (1H, N<sup>3</sup>H). Знайдено, %: C 51.73; H 3.20; N 18.71. C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S. Вираховано, %: C 51.65; H 3.33; N 18.53.

**5-(2-Оксо-5-(4-метилфеніл)імідазолідин-4-іліден)-2-тіоксодигідропіримідин-4,6(1H,5H)-діон (4p).** Вихід – 72%, Т. пл. – 217-218°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 2.22 с (3H, CH<sub>3</sub>), 7.05–7.21 м (4H<sub>аром</sub>), таутомерна форма С: 9.70 с (1H, N<sup>1</sup>H), 10.31 с (1H, N<sup>3</sup>H), 11.55 с (1H, NH), 11.86 с (1H, NH); таутомерна форма Д: 6.11 с (1H, C<sup>5</sup>H), 9.11 с (1H, N<sup>1</sup>H), 11.96 с (2H, NH), 12.21 с (1H, N<sup>3</sup>H). Знайдено, %: C 53.13; H 3.70; N 17.61. C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S. Вираховано, %: C 53.16; H 3.82; N 17.71.

**5-(2-Оксо-5-(4-фторофеніл)імідазолідин-4-іліден)-2-тіоксодигідропіримідин-4,6(1H,5H)-діон (4r).** Вихід – 75%, Т. пл. – 218-219°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: таутомерна форма С: 7.10–7.25 м (4H<sub>аром</sub>), 9.87 с (1H, N<sup>1</sup>H), 10.51 с (1H, N<sup>3</sup>H), 11.56 с (1H, NH), 11.88 с (1H, NH); таутомерна форма Д: 7.23–7.35 м (4H<sub>аром</sub>), 6.17 с (1H, C<sup>5</sup>H), 9.14 с (1H, N<sup>1</sup>H), 11.98 с (2H, NH), 12.22 с (1H, N<sup>3</sup>H). Знайдено, %: C 48.63; H 2.70; N 17.61. C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S. Вираховано, %: C 48.75; H 2.83; N 17.49.

**5-(2-Оксо-5-(4-бромофеніл)імідазолідин-4-іліден)-2-тіоксодигідропіримідин-4,6(1H,5H)-діон (4s).** Вихід – 78%. Т. пл. – 225-226°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: таутомерна форма С: 7.26 д (2H<sub>аром</sub>, J 7.8), 7.60 д (2H<sub>аром</sub>, J 7.8), 9.81 с (1H, N<sup>1</sup>H), 10.39 с (1H, N<sup>3</sup>H), 11.60 с (1H, NH), 11.90 с (1H, NH); таутомерна форма Д: 6.14 с (1H, C<sup>5</sup>H), 7.17 д (2H<sub>аром</sub>, J 8.0), 7.44 д (2H<sub>аром</sub>, J 8.0), 9.13 с (1H, N<sup>1</sup>H), 11.95 с (2H, NH), 12.20 с (1H, N<sup>3</sup>H); Знайдено, %: C 40.63; H 2.70; N 14.61. C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>BrN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S. Вираховано, %: C 40.96; H 2.83; N 14.70.

## Висновки

Запропоновано новий одностадійний метод синтезу похідних 5-(2-оксо-5-арилімідазолідин-4-іліден)-2-тіодигідропіримідин-4,6-діону. Показано, що в розчинах DMSO-d<sub>6</sub> синтезовані сполуки існують як суміш імідазолідинової та імідазонової таутомерних форм.

## Література

- Bellina F., Causeruccio S., Rossi R. // *Tetrahedron*. – 2007. – Vol. 63, №22. – P. 4571-4624.
- Sharma D., Narasimhan B., Kumar P. et al. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 44, №6. – P. 2347-2353.
- Puratchikodya A., Doble M. // *Bioorg. Med. Chem.* – 2007. – Vol. 15. – P. 1083-1090.
- Malhotra V., Pathak S.R., Nath R. et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2011. – Vol. 21, №3. – P. 936-939.
- Gupta P., Hameed S., Jain R. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2004. – Vol. 39. – P. 895-814.
- Sharma S.D., Hazarika P., Konwar D. // *Tetrahedron Lett.* – 2008. – Vol. 49, №14. – P. 2216-2220.
- Khalafi-Nezhad A., Soltani M.N., Hakimelahi G.H., Mokhtari B. // *Tetrahedron*. – 2002. – Vol. 58, №52. – P. 10341-10344.
- Robert J.H., Sabourina C., Alvarez N. et al. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2003. – Vol. 38. – P. 711-718.
- Özkay Y., Iskar I., Incesu Z., Akalin G. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2010. – Vol. 45. – P. 1-9.
- Refaat H.M. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2010. – Vol. 45. – P. 2949-2956.

11. Congiu C., Cocco M.T., Onnis V. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2008. – Vol. 18, №3. – P. 989-993.
12. Hadizadeh F., Hosseinzadeh H., Motamed-Shariaty V. et al. // *Iran. J. Pharm. Res.* – 2008. – Vol. 7, №1. – P. 29-33.
13. Librowski T., Filipex B., Czamecki R. // *Act. Pol. Pharm.* – 2000. – Vol. 57, №5. – P. 391-396.
14. Peretto I., Fortani R., Fossati G. et al. // *J. Med. Chem.* – 2007. – Vol. 50, №7. – P. 1693-1697.
15. Jablonowski A.J., Ly K.S., Bogenstaetter M. et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2009. – Vol. 19, №3. – P. 903-907.
16. Laufer S., Hauser D., Stegmiller T. et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2010. – Vol. 20, №22. – P. 6671-6675.
17. Kolos N.N., Gozalishvili L.L., Sivokon E.N., Knyazeva I.V. // *Russ. J. Org. Chem.* – 2009. – Vol. 45, №1. – P. 119-125.
18. Замігайло Л.Л., Колос Н.М. // *Вісник ХНУ ім. В.Н.Каразіна.* – 2008. – №820. – Вип. 16 (39). – С. 241-245.
19. Gozalishvili L.L., Beryozkina T.V. et al. // *Tetrahedron.* – 2008. – Vol. 64. – P. 8759-8765.
20. Moskvina A.V., Polcovnikova I.I., Ivin B.A. // *Russ. J. Org. Chem.* – 1998. – Vol. 68. – P. 801-805.
21. Колос Н.Н., Замігайло Л.Л., Чечина Н.В. и др. // *ХГС.* – 2012. – №12. – С. 1461-1467.
22. Колос Н.Н., Замігайло Л., Мусатов В.И. // *ХГС.* – 2009. – №8. – С. 1220-1226.
23. Fisher H.J., Ekeley J.B., Ronzio A.R. // *J. Am. Chem. Soc.* – 1942. – Vol. 64. – P. 1434-1436.

Надійшла до редакції 02.04.2013 р.

# НОВИЙ СТЕРОЇДНИЙ ГЛІКОЗИД СУПЛІДЬ *ALLIUM CYRILLII*

Н.В.Толкачова, О.С.Шашков\*, В.Я.Чирва\*\*

Нікітський ботанічний сад – Національний науковий центр, Україна,  
98648, Україна, АР Крим, м. Ялта, сел. Нікіта. E-mail: tolkacheva\_n@mail.ru

\* Інститут органічної хімії ім. М.Д.Зелінського РАН, Росія

\*\* Таврійський національний університет ім. В.І.Вернадського, Україна

**Ключові слова:** супліддя *Allium cyrillii* Ten.; стероїдні глікозиди; комбінації двовимірних спектрів TOCSY і COSY

Стероїдні глікозиди є великим класом природних сполук із групи сапонінів, які привертають увагу дослідників завдяки широкому спектру біологічної активності та екологічній безпеці. Перспективними в плані пошуку сапоніновмісних видів є рослини роду *Allium*, які виростають у Криму. У результаті дослідження стероїдних глікозидів суплідь *Allium cyrillii* Ten. виділено новий спіростаноловий глікозид. Дані <sup>1</sup>H- та <sup>13</sup>C ЯМР-спектрів свідчать про те, що сполука є похідною ряду спіростану. Після кислотного гідролізу за допомогою ТШХ шляхом порівняння з наперед відомими зразками моносахаридів було ідентифіковано тільки глюкозу. Хімічні зсуви всіх протонів вуглеводного залишку були встановлені за допомогою комбінації двовимірних спектрів TOCSY і COSY. <sup>13</sup>C-хімічні зсуви сигналів їхніх відповідних атомів однозначно співвіднесені за допомогою двовимірного спектра HSQC. З'ясування положення гідроксильних груп при С-2 і С-6 атомах аглікону було виконано шляхом аналізу хімічних зсувів сигналу С-атома порівняно з літературними даними для незаміщених агліконних частин та з урахуванням значних позитивних α-ефектів гідроксилування і невеликих, зазвичай негативних, β-ефектів. Аналіз спектрів ЯМР <sup>13</sup>C виділеної сполуки та 24-гідроксипохідних засвідчив, що сигнал С-24 зазнає парамагнітного зміщення на +10,8 м.ч. Також спостерігається сильнопольний зсув сигналів С-23 і С-25. Кореляція між сигналом аномерного протона глюкози та С-24 аглікону у спектрі HMBC підтверджує місце приєднання залишку глюкози до аглікону. Таким чином, глікозид, виділений із суплідь *Allium cyrillii*, являє собою (24S,25S)-5α-спиростан-2α,3β,6β,24-тетраол-24-О-β-D-глюкопіранозид і є новою сполукою.

## NEW STEROIDAL GLYCOSIDE OF *ALLIUM CYRILLII* RACEMES

N.V.Tolkachova, O.S.Shashkov, V.Ya.Chyryva

**Key words:** *Allium cyrillii* Ten. racemes; steroidal glycosides; combination of two-dimensional TOCSY and COSY spectra

Steroidal glycosides are the vast class of natural compounds from the group of saponins that attract attention of researchers due to the wide spectrum of their biological activity and ecological safety. Plants from *Allium* genus growing in the Crimea are promising as to search of species with saponins. As a result of research of steroidal glycosides of *Allium cyrillii* Ten. racemes a new spirostanol glycoside has been isolated. The <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR spectral data testify that this compound is a derivative of spirostan series. After acidic hydrolysis with the help of TLC only glucose has been identified by comparing to the samples of monosaccharides known beforehand. The chemical shifts of all protons of the carbohydrate residue have been determined by means of combination of two-dimensional TOCSY and COSY spectra. The <sup>13</sup>C-chemical shifts of signals of their corresponding atoms are simply taken by means of the HSQC spectrum. The hydroxy groups position at C-2 and C-6 atoms of aglycone have been determined by the analysis of chemical shifts of C-atom signal comparing to the literary data for unsubstituted for aglycon parts and taking into account considerable positive α-effects of hydroxylation and little, usually negative, β-effects. Analysis of NMR <sup>13</sup>C spectra of the compound isolated and 24 hydroxy derivative has shown that the signal of C-24 undergoes paramagnetic displacement in +10.8 ppm. The strong field change of signals of C-23 and C-25 also takes place. Correlation between the signal of the anomeric proton of glucose and C-24 aglycone in the HMBC spectrum confirms the site of addition of the glucose residue to aglycone. Thus, the glycoside isolated from *Allium cyrillii* racemes is (24S,25S)-5α-spirostan-2α,3β,6β,24-tetraol-24-O-β-D-glucopyranoside and it is a new compound.

## НОВЫЙ СТЕРОИДНЫЙ ГЛИКОЗИД СОПЛОДИЙ *ALLIUM CYRILLII*

Н.В.Толкачёва, А.С.Шашков, В.Я.Чирва

**Ключевые слова:** соплодия *Allium cyrillii* Ten.; стероидные гликозиды; комбинации двумерных спектров TOCSY и COSY

Стероидные гликозиды являются обширным классом природных соединений из группы сапонинов, которые привлекают внимание исследователей благодаря широкому спектру биологической активности и экологической безопасности. Перспективными в плане поиска сапониносодержащих видов являются растения рода *Allium*, произрастающие в Крыму. В результате исследования стероидных гликозидов соплодий *Allium cyrillii* Ten. выделен новый спиростаноловый гликозид. Данные <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C ЯМР-спектров свидетельствуют о том, что соединение является производным ряда спиростана. После кислотного гидролиза с помощью ТСХ путем сравнения с заранее известными образцами моносахаридов была идентифицирована только глюкоза. Химические сдвиги всех протонов углеводного остатка были установлены с помощью комбинации двумерных спектров TOCSY и COSY. <sup>13</sup>C-химические сдвиги сигналов их соответствующих атомов однозначно отнесены с помощью двумерного спектра HSQC. Установление положения гидроксильных групп у С-2 и С-6 атомов аглікона было выполнено путем



анализа химических сдвигов сигнала С-атома в сравнении с литературными данными для незамещенных агликонных частей и с учетом значительных положительных  $\alpha$ -эффектов гидроксирования и небольших, обычно отрицательных,  $\beta$ -эффектов. Анализ спектров ЯМР  $^{13}\text{C}$  выделенного соединения и 24-гидроксипроизводных показал, что сигнал С-24 испытывает парамагнитное смещение на +10,8 м.д. Также имеет место сильнополюсный сдвиг сигналов С-23 и С-25. Корреляция между сигналом аномерного протона глюкозы и С-24 агликона в спектре НМВС подтверждает место присоединения остатка глюкозы к агликону. Таким образом, гликозид, выделенный из соплодий *Allium cyrillii*, представляет собой (24S,25S)-5 $\alpha$ -спиростан-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,6 $\beta$ ,24-тетраол-24-О- $\beta$ -D-глюкопиранозид и является новым соединением.

Стероїдні глікозиди є великим класом природних сполук із групи сапонінів, які привертають увагу дослідників завдяки широкому спектру біологічної активності та екологічній безпеці [1].

Екстракти з різних рослин, які належать до родин *Amaryllidaceae*, *Dioscoreaceae*, *Alliaceae*, *Scrophulariaceae*, *Solanaceae*, що містять стероїдні глікозиди, використовуються в традиційній медицині як протипухлинні, фунгіцидні, контрацептивні, антивірусні та цитотоксичні засоби [2-6]. Відомо також, що ці сполуки знижують рівень холестерину в крові та мають антиоксидантну активність [7, 8]. Крім того, стимулювання росту і фітоімунітету рослин стероїдними глікозидами дозволяє розглядати ці речовини як природні адаптогени [9].

Перспективними в плані пошуку сапоніновмісних видів є рослини роду *Allium*, які виростають у Криму, до того ж у літературі дані про стероїдні глікозиди більшості видів кримської цибулі відсутні. Саме тому вивчення хімічної структури стероїдних глікозидів представників родини *Alliaceae* є актуальним.

Продовжуючи вивчення стероїдних глікозидів цибулі Кирила (збільшеної) *Allium cyrillii* Ten. [10, 11], ми виділили із суплідь 0,015 г хроматографічно чистого глікозиду спіростанолового ряду. Після кислотного гідролізу за допомогою ТШХ шляхом порівняння з наперед відомими зразками моносахаридів було ідентифіковано тільки глюкозу.

Спектр сполук містить 27 сигналів атомів Карбону аглікону (табл. 1): 4 метильних (13,5; 14,9; 16,6; 17,6), 8 метиленових, 20 метинових та 3 четвертинних (37,7; 40,9; 111,6) атомів.

Дані  $^1\text{H}$ - та  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектрів свідчать про те, що сполука є похідною ряду спіростану, величина  $^{13}\text{C}$  хімічного зсуву для атома С-22 дорівнює 111,6 м.д. Величини хімічних зсувів С-5 ( $\delta$  48,5) С-9 (54,8) і С-19 (17,6) свідчать про *цис*-сполучення кілець А і В.

У спектрі ПМР глікозиду в області сильного поля чітко вирізняються сигнали чотирьох метильних груп:  $\delta$  0,79 (3H, s, Me-18), 1,43 (3H, s, Me-19), 1,14 (3H, d,  $J = 6,6$  Hz, Me-27) і 1,07 (3H, d,  $J = 7,2$  Hz, Me-21), відповідно. Також є один сигнал аномерного протона з  $\delta$  4,91 (1H, d,  $J = 7,8$  Hz). Хімічні зсуви всіх протонів вуглецевого залишку були встановлені за допомогою комбінації двовимірних спектрів TOCSY і COSY.  $^{13}\text{C}$ -хімічні зсуви сиг-

налів їхніх відповідних атомів однозначно співвіднесені за допомогою двовимірного спектра HSQC. Ці дані, наведені в табл. 2, свідчать про наявність одного залишку  $\beta$ -D-глюкопиранози.

У НМВС-спектрі спостерігається кореляція між сигналом атома Гідрогену при  $\delta$  1,14 м.д. (Me-27) та значеннями сигналів атомів Карбону С-24 (81,5), С-25 (38,2) і С-26 (65,1). Хімічні зсуви дублета  $\text{CH}_3$ -27, а також двох сигналів метиленових протонів з  $\delta$  3,57 (1H, H-26a) і 3,63 (1H, H-26e) однозначно вказують на екваторіальну орієнтацію  $\text{CH}_3$ -27. Таким чином, аглікон належить до спіростанів (25S)-ряду. Крім того, 25S-конфігурація підтверджується значеннями хімічних зсувів С-20, С-21, С-23, С-24, С-25 і С-27 в порівнянні з літературними даними [12, 13]. 5 $\alpha$ -Конфігурацію було визначено за допомогою кореляції між сигналом атома Гідрогену при  $\delta$  1,43 м.д. (Me-19) та значеннями сигналів атомів Карбону при  $\delta$  (м.д.) 37,7 (С-10), 54,8 (С-9), 48,5 (С-5) і 48,1 (С-1) у двовимірному спектрі НМВС. Резонансний сигнал при 4,01 м.д. у спектрі ПМР відповідає протонів при С-24, який діаксіально взаємодіє з протоном при С-25, а також діаксіально та аксіально-екваторіально – з протонами при С-23. Це підтверджується величиною

Таблиця 1

Хімічні зсуви атомів вуглецю глікозиду

С-атом	Хімічний зсув	С-атом	Хімічний зсув
1	48,1	18	16,6
2	73,2	19	17,6
3	77,4	20	42,2
4	35,0	21	14,9
5	48,5	22	111,6
6	70,4	23	40,9
7	40,9	24	81,5
8	30,0	25	38,2
9	54,8	26	65,1
10	37,7	27	13,5
11	21,5		
12	40,2	Glc-1	106,5
13	40,9	2	75,7
14	56,3	3	78,7
15	32,1	4	71,7
16	81,6	5	78,1
17	62,9	6	62,9

Таблиця 2

## Наявні кореляції в спектрах HSQC і HMBC глікозиду

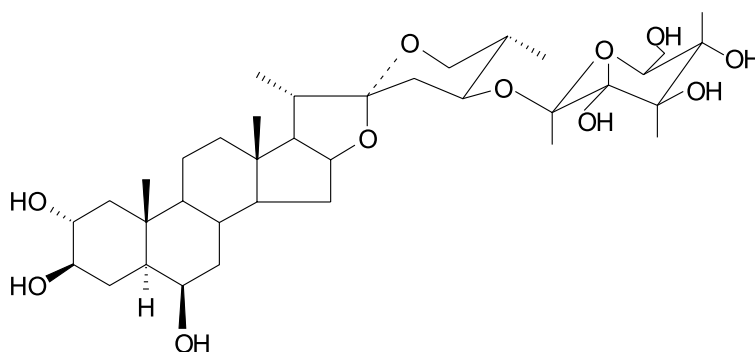
№ атома	$\delta_H$ HSQC	HMBC	№ атома	$\delta_H$ HSQC	HMBC
1a	2,27 dd	C-2, 3, 5, 10	16	4,54 m	C-13, 17
1b	1,36 m	C-2, 9, 10, 19	17	1,80 t	C-13, 16, 18, 21
2	4,18 m		18	0,79 s	C-12, 13, 14, 17
3	3,96 m	C-2	19	1,43 s	C-1, 5, 9, 10
4a	2,54 q	C-3, 5	20	1,94 m	C-17, 21, 22
4b	2,10 m	C-2, 3, 5, 10	21	1,07 d	C-17, 20, 22
5	1,41 m	C-1, 4, 9, 10	22		
6	4,08 m	C-8, 10	23e	2,64 dd	C-22, 24, 25
7a	2,02 m		23a	1,95 t	C-22, 24
7b	1,22m	C-5	24	4,01 m	C-25, C-1 Glc
8	2,19 m		25	1,91 m	C-23, 24
9	0,82 m	C-12, 14	26e	3,63 dd	C-22, 24, 25
10			26a	3,57 t	C-24
11a	1,65 m	C-9	27	1,14 d	C-24, 25, 26
11b	1,44 m	C-19	1'-Glc	4,91 d	C-24
12a	1,68 m		2'	4,07 m	C-1', 3'
12b	1,12 m	C-13, 17, 18	3'	4,22 m	C-2', 4'
13			4'	4,27 m	C-3', 5', 6'
14	1,13 m	C-13, 17, 18	5'	3,87 m	C-2'
15a	2,04 m	C-13,17	6'a	4,52 m	C-4'
15b	1,38 m	C-14, 16	6'e	4,39 dd	C-5'

ми КССВ Н-23: 1,95 (1H, t,  $J = 12,2$  Hz, Н-23a) і 2,64 (1H, dd,  $J = 4,7, 12,2$  Hz). Отже, протон при С-24 є аксіальним, а хіральний центр С-24 має S-конфігурацію.

З'ясування положення гідроксильної групи при С-2 атомі аглікону було виконано шляхом аналізу хімічних зсувів сигналу С-атома порівняно з літературними даними [14, 15] для незаміщених агліконних частин та з урахуванням значних позитивних  $\alpha$ -ефектів гідроксилування (до 10 м.ч.) і невеликих, зазвичай негативних,  $\beta$ -ефектів.  $2\alpha,3\beta$ -Конфігурації визначені на підставі аналізу констант спин-спінової взаємодії протонів при атомах С-2 і С-3 з протонами при сусідніх С-атомах.

У  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектрі глікозиду атом С-3, який має вторинну гідроксильну групу, резонує за 77,4 м.ч., що дозволяє говорити про відсутність вуглецевого залишку, зв'язаного з агліконом через цю гідроксигрупу (схема).

Раніше було показано, що в цибулях виявлені 24-гідроксипохідні (25S)-рускогеніну [16], юккагеніну [15], анзурогеніну А [13], а також 24-O- $\beta$ -D-глюкопіранозиди: каратавіозид F [17], сапонін з *A. giganteum* [18], chinenoside VI [19], сапоніни 9, 10 [12] та анзурозид [13]. Внаслідок порівняння цих спектрів ЯМР глікозиду та зазначених сапонінів виявлено, що величини хімічних зсувів атомів вуглецю, які утворюють кільце F, є прак-



Схема

тично ідентичними. Крім того, аналіз спектрів ЯМР  $^{13}\text{C}$  виділеної сполуки та 24-гідрокси-підних засвідчив, що сигнал С-24 зазнає парамагнітного зміщення на +10,8 м.ч. Також спостерігається сильнополюсний зсув сигналів С-23 і С-25 на 1,0 і 1,8 м.ч., відповідно. Кореляція між сигналом аномального протона глюкози ( $\delta$  4,91) та С-24 аглікону ( $\delta$  81,5) у спектрі НМВС підтверджує місце приєднання вуглецевого залишку до аглікону. Отже, молекула глюкози в глікозиді приєднується до гідроксигрупи при С-24.

Таким чином, глікозид, виділений із суплідь *Allium cyrillii*, являє собою (24S,25S)-5 $\alpha$ -спіростан-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,6 $\beta$ ,24-тетраол-24-О- $\beta$ -D-глюкопіранозид і є новою сполукою.

### Експериментальна частина

Об'єктом дослідження слугував сапонін, виділений з суплідь *Allium cyrillii* Ten. (род. *Alliaceae*), зібраного на північно-східному схилі гори Паратильмен у 2011 р.

Свіжозібрані та подрібнені супліддя (850 г) тричі екстрагували 70%-ним етиловим спиртом. Екстракцію проводили шляхом нагрівання сировини на водяній бані зі зворотним холодильником протягом трьох годин. Отриманий екстракт випарювали на роторному випаровувачі за 50°C до водного залишку, з якого добували суму стероїдних глікозидів *n*-бутиловим спиртом. Бутанольний екстракт випарювали до сухого залишку. ТШХ проводили в системах хлороформ-метанол-вода (65:35:7) та хлороформ-метанол (7:3). Для хроматографії використовували силікагельні пластинки Sorbfil АФ-В, товщина шару – 110 мкм. Хроматограми обприскували реактивом Ерліха [20] та реактивом Санье [21], після чого нагріва-

ли до 120°C. Кислотний гідроліз виконували таким чином: 10 мг чистого глікозиду нагрівали за 110°C в 5 мл 1%-ного розчину сульфатної кислоти в етиловому спирті впродовж 2 год. Після охолодження гідролізат розводили водою та екстрагували аглікон хлороформом. Екстракт промивали водою до нейтральної реакції та концентрували у вакуумі до сухого залишку. Водний залишок нейтралізували аніонітом і упарювали. Моносахариди ідентифікували в системі бутанол-ацетон-вода 4:5:1. Лужний гідроліз проводили шляхом обробки 10 мг глікозиду 10 мл 10%-ного розчину NaOH протягом 2 год за 50°C. Гідролізат нейтралізували катіонітом, промивали метанолом та упарювали. ТШХ-аналіз проводили в системі розчинників етанол-амоніак-вода (1:1:2), пров'язник – 0,05%-ний розчин бромкрезолу.

Колонкову хроматографію було проведено при використанні колонки 100 мм із фазою Supelcosean C18 (150-200 мкм, Supelco). ВЕРХ-розділення проводилося на хроматографі Agilent 1100, обладнаному детектором за світлорозсіюванням (ELSD) та колонкою Zorbax SB-C18 (150 $\times$ 2,1 мм). ЯМР-експерименти здійснювалися зі зразками, розчиненими в 0,6 мл дейтеропіридину (400 МГц для  $^1\text{H}$ ; 100 МГц для  $^{13}\text{C}$ ) на приладі Varian AS 400, стандарт – ТМС.

### Висновки

Із суплідь цибулі Кирила *Allium cyrillii* Ten. було виділено новий стероїдний глікозид спіростанового ряду. На підставі хімічних та спектральних методів було встановлено, що сполука має структуру (24S,25S)-5 $\alpha$ -спіростан-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,6 $\beta$ ,24-тетраол-24-О- $\beta$ -D-глюкопіранозиду, раніше не описану в літературі.

### Література

1. Кинтя П.К., Лазурьевский Г.В., Балашова Н.Н. и др. *Строение и биологическая активность стероидных гликозидов ряда спиростана и фуростана.* – Кишинев: Штиинца, 1987. – 142 с.
2. Васильева И.С., Пасешниченко В.А. // *Прикладная биохим. и микробиол.* – 1995. – Т. 31. – С. 238-242.
3. Берсукер И.Б., Димогло А.С., Чобан И.Н. и др. // *Хим.-фарм. журн.* – 1983. – №12. – С. 1467-1471.
4. Yang C.-R., Zhang Y., Jacob M.R. et al. // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* – 2006. – Vol. 50, №5. – P. 1710-1714.
5. Mskhiladze L., Legault J., Lavoie S. et al. // *Molecules.* – 2008. – Vol. 13. – P. 2925-2934.
6. Oleszek W., Marston A. // *Phytochemical Society of Europe.* – 2000. – Vol. 45. – P. 241-254.
7. Кинтя П.К., Бурцева С.А., Ковальчук Л.П. и др. // *Хим.-фарм. журн.* – 1982. – №1. – С. 95-97.
8. Sauvaire Y., Baissac Y., Leconte O. // *Adv. in Exp. Med. and Biol. N.Y. – London: Plenum Press.* – 1996. – Vol. 405. – P. 37-46.
9. Васильева И.С., Удалова Ж.В., Зиновьева С.В., Пасешниченко В.А. // *Прикладная биохим. и микробиол.* – 2009. – Т. 45, №5. – С. 517-526.
10. Толкачева Н.В., Шашков А.С., Чирва В.Я. // *Химия природ. соедин.* – 2012. – №2. – С. 243-246.
11. Толкачева Н.В., Зайцев Г.П., Качала В.В. и др. // *Ученые записки ТНУ, Серия «Биология, химия».* – 2011. – Т. 24 (63), №2. – С. 390-395.
12. Mimaki Y., Kuroda M., Fukasawa T., Sashida Y. // *Chem. Pharm. Bull.* – 1999. – Vol. 47. – P. 738-743.

13. Воллернер Ю.С., Кравец С.Д., Шашков А.С. и др. // *Химия природ. соедин.* – 1989. – №4. – С. 505-510.
14. Morita T., Ushiroguchi T., Hayashi N. et al. // *Chem. Pharm. Bull.* – 1988. – Vol. 36. – P. 3480-3486.
15. Воллернер Ю.С., Абдуллаев Н.Д., Горовиц М.Б., Абубакиров Н.К. // *Химия природ. соедин.* – 1983. – №6. – С. 736-740.
16. Кравец С.Д., Воллернер Ю.С., Шашков А.С. и др. // *Химия природ. соедин.* – 1987. – №6. – С. 843-849.
17. Воллернер Ю.С., Абдуллаев Н.Д., Горовиц М.Б., Абубакиров Н.К. // *Химия природ. соедин.* – 1984. – №1. – С. 69-73.
18. Kawashima K., Mimaki Y., Sashida Y. // *Phytochemistry.* – 1991. – Vol. 30, №9. – P. 3063-3067.
19. Jiang Y., Wang N.-L., Yao X.-S., Kitanaka S. // *Studies in Plant Sci.* – 1999. – Vol. 6. – P. 201-211.
20. Kiyosawa S., Huton M. // *Chem. Pharm. Bull.* – 1968. – Vol. 16. – P. 1162-1164.
21. Sannie M., Lapin H. // *Bull. Soc. Chem. France.* – 1957. – Vol. 10. – P. 1237-1241.

Надійшла до редакції 25.04.2013 р.