

УДК 547.239.1:547.854+4:615.31

© Кушнір О.В.<sup>1</sup>, Гуменна А.В.<sup>2</sup>, Вовк М.В.<sup>3</sup>, 2016<sup>1</sup> Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича, Чернівці<sup>2</sup> Буковинський державний медичний університет, Чернівці<sup>3</sup> Інститут органічної хімії НАН України, Київ**СИНТЕЗ 4-АРИЛ-1,6-ДІАЛКІЛ-3,4-ДИГІДРО-1*H*-ПІРОЛО[3,4-*D*]ПІРИМІДИН-2,5,7-ТРИОНІВ ТА ЇХ БАКТЕРИЦИДНА АКТИВНІСТЬ**

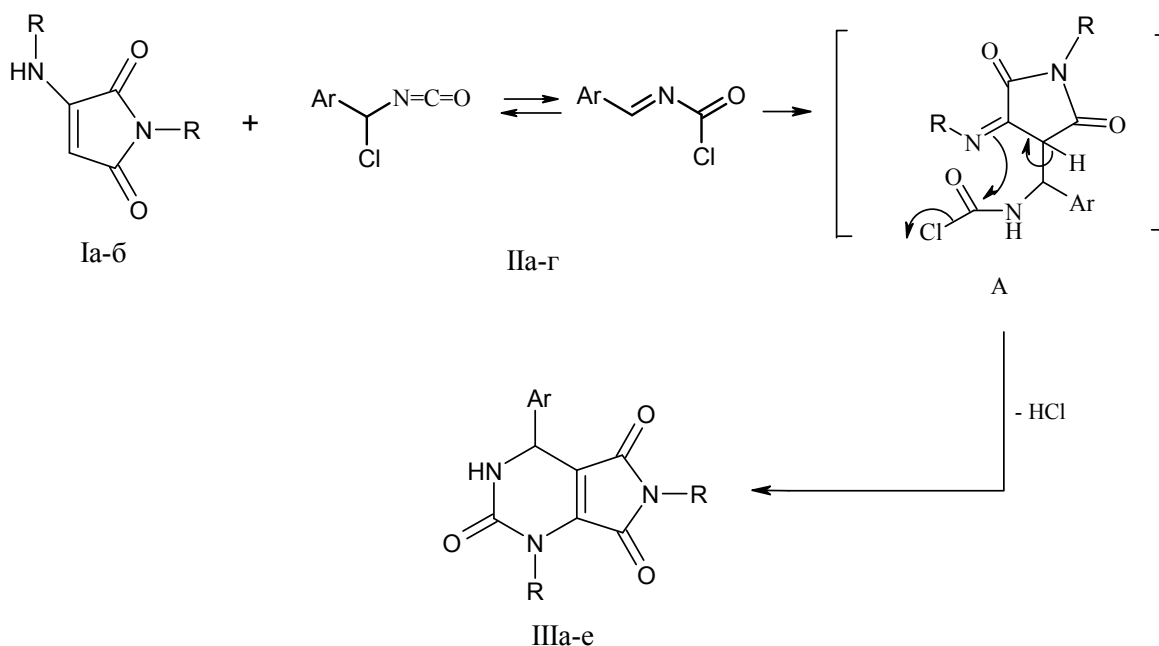
Розроблено метод одержання нових 3,4-дигідро-1*H*-піроло[3,4-*d*]піримідин-2,5,7-трионів, який базується на циклоконденсації пірол-2,5-діонів із 1-хлоробензилізоціанатами. Серед синтезованих сполук знайдені речовини із помірною протигрибковою активністю.

**Ключові слова:** пірол-2,5-діони, 1-хлоробензилізоціанати, піроло[3,4-*d*]піримідин-2,5,7-триони, внутрішньомолекулярна циклоконденсація, протигрибкова активність

Конденсовані піролопіримідини, їх ізомерні та ізостерні аналоги належать до перспективних для біомедичних досліджень систем. Зокрема, в ряду піроло[2,3-*d*]піримідинів знайдені антагоністи допамін D4 рецептора [1], інгібітори HIV-1 зворотної транскриптази [2], інгібітори дигідрофолатредуктази [3,4] антиконвульсанти [5,6]. Натомість, піроло[3,4-*d*]піримідини – відносно маловивчений тип біциклічних конденсованих сполук [7-9], хоча і серед них виявлені антагоністи кортикотропін-релізінг фактора (CRF) [7]. У значній мірі така ситуація зумовлена складністю наявних методів їх отримання, які включають

багатостадійні перетворення 4-карбетокси-1-ацил-3-аміно-3-піроліну [8] або мультикомпонентну пролін-каталізовану реакцію за участю *N*-метил- $\alpha$ -арил(алкіл)аміномалеїніміду, формальдегіду та амінів [9]. Саме тому особливої актуальності набуває проблема створення препаративно простих варіантів синтезу різноманітних типів частково гідрованих піроло[3,4-*d*]піримідинів.

Нами розроблено ефективний підхід до одержання нових представників названих сполук, який базується на внутрішньомолекулярній циклоконденсації доступних *N,N*-дизаміщених пірол-2,5-діонів (I а,б) [10] із 1-хлоробензилізоціанатами (II а-г) [11].

I, R = CH<sub>3</sub> (а), PhCH<sub>2</sub> (б);II, A = 3-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (а), 3-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (б), 4-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (в), 3,4-Cl<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>3</sub> (г);III, Ar = 3-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, R = CH<sub>3</sub> (а); Ar = 4-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, R = CH<sub>3</sub> (б), Ar = 3-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, R = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub> (в), Ar = 3-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, R = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub> (г), 4-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, R = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub> (д); 3,4-Cl<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>, R = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub> (е).

Установлено, що взаємодія реагентів (I а,б) та (II а-г), яка гладко перебігає при їх нагріванні в розчині дихлорметану впродовж 8 год, приводить до 4-арил-1,6-діалкіл-3,4-дигідро-1H-піроло[3,4-d]піримідин-2,5,7-трионів (III а-е) з виходами 45-72%.

З урахуванням літературних даних стосовно аніотропного характеру ізоціанатів (II а-г) [12], достовірно допустити, що процес реалізується за схемою первинного аміноалкілювання електронозбагаченого ендочиклічного атома карбону піролу (I) хлорокарбонілімінною формою ізоціанату (II) через інтермедіат А, який потім циклізується до цільового продукту (III).

Структура сполук (III а-е) строго доведена результатами вимірів ІЧ, ЯМР  $^1\text{H}$ , та ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектрів. Зокрема, ІЧ спектри характеризуються смугами поглинання зв'язків  $\text{C}=\text{O}$  піримідинового ( $1690\text{-}1700\text{ см}^{-1}$ ) та пірольного ( $1720\text{-}1745\text{ см}^{-1}$ ) циклів, а також  $\text{NH}$ -зв'язку ( $3320\text{-}3335\text{ см}^{-1}$ ). У спектрах ЯМР  $^1\text{H}$  сигнали протонів  $\text{H}_4$  та  $\text{H}_3$  фіксуються у вигляді дублетів у інтервалах відповідно  $5.38\text{-}5.69$  м.ч. та  $8.05\text{-}8.31$  м.ч. з КССВ  $1.8\text{-}2.4$  Гц, що надійно підтверджує 3,4-дигідропіримідинову структуру отриманих речовин. У спектрах ЯМР  $^{13}\text{C}$  сигнали атомів  $\text{C}_4$  проявляються в характерній для 3,4-дигідропіримідинонів області  $51\text{-}53$  м.ч. [11].

Нами вивчена антимікробна та протигрибкова активність синтезованих сполук за допомогою мікрометоду із використанням одноразових полістиролових планшетів та мікротитраторів Такачі на тест-культури стандартних штамів мікроорганізмів *S.aureus* ATCC 25922 та *C.albicans* ATCC 885-653.

Таблиця 1  
Антимікробна та протигрибкова активність сполук (III а-е) (мкг/мл)

Сполука	<i>S.aureus</i>		<i>C.albicans</i>	
	МІК	МБцК	МІК	МБцК
III а	>500	>500	≤62.5	125
III б	>500	>500	≤62.5	125
III в	250	250	≤62.5	62.5
III г	>500	>500	≤62.5	125
III д	>500	>500	≤62.5	62.5
III е	500	500	≤62.5	62.5

Аналіз отриманих результатів (табл.1) показує, що досліджувані препарати відзначаються помірною антимікробною та протигрибковою активністю у концентраціях від

62,5 до 500 мкг/мл на досліджуваних тест-культурах мікроорганізмів, що робить перспективним їх подальше поглиблене дослідження.

#### Експериментальна хімічна частина

ІЧ спектри сполук у КВг записані на приладі UR-20. Спектри ЯМР  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  в ДМСО- $d_6$  виміряні на приладі Bruker Avance III 600 MHz (600.26, 150.94 МГц відповідно), внутрішній стандарт – ТМС.

#### 4-Арил-1,6-діалкіл-3,4-дигідро-1H-піроло[3,4-d]піримідин-2,5,7-триони (III а-е).

До розчину 20 ммоль ізоціанату (II а-г) в 20 мл сухого дихлорметану додавали 20 ммоль пірол-2,5-діону (I а-б) і нагрівали при кип'ятінні впродовж 8 год. Реакційну суміш охолоджували, розчинник відганяли, залишок кристалізували з етанолу.

**4-(3-Бромфеніл)-1,6-диметил-3,4-дигідро-1H-піроло[3,4-d]піримідин-2,5,7-трион (III а).** Вихід 49 %, т.топл.  $180\text{-}182$  °С. ІЧ-спектр,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 1690, 1725 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 3325 (NH). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м.ч.: 2.82 с (3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.27 с (3H,  $\text{CH}_3$ ), 5.38 д ( $\text{C}^4\text{H}$ ,  $J$  1.8 Гц), 7.28-7.38 м ( $2\text{H}_{\text{аром.}}$ ), 7.44-7.47 м ( $1\text{H}_{\text{аром.}}$ ), 7.53 д ( $1\text{H}_{\text{аром.}}$ ,  $J$  1.8 Гц), 8.05 д (NH,  $J$  1.8 Гц). Знайдено, %: С 48.06; Н 3.50; N 11.95.  $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{BrN}_3\text{O}_3$ . Вираховано, %: С 48.02; Н 3.45; N 12.00.

**1,6-Диметил-4-(4-нітрофеніл)-3,4-дигідро-1H-піроло[3,4-d]піримідин-2,5,7-трион (III б).** Вихід 45 %, т.топл.  $192\text{-}194$  °С. ІЧ-спектр,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 1690, 1720 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 3320 (NH). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м.ч.: 2.80 с (3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.28 с (3H,  $\text{CH}_3$ ), 5.41 д ( $\text{C}^4\text{H}$ ,  $J$  1.8 Гц), 7.64-7.68 м ( $2\text{H}_{\text{аром.}}$ ), 7.95-8.01 м ( $2\text{H}_{\text{аром.}}$ ), 8.25 д (NH,  $J$  1.8 Гц). Знайдено, %: С 53.06; Н 3.69; N 17.95.  $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_5$ . Вираховано, %: С 53.17; Н 3.82; N 17.71.

**1,6-Дибензил-4-(3-бромфеніл)-3,4-дигідро-1H-піроло[3,4-d]піримідин-2,5,7-трион (III в).** Вихід 65 %, т.топл.  $220\text{-}221$  °С. ІЧ-спектр,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 1695, 1740 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 3335 (NH). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м.ч.: 4.48 с (2H,  $\text{CH}_2$ ), 5.17 с (2H,  $\text{CH}_2$ ), 5.50 д ( $\text{C}^4\text{H}$ ,  $J$  2.4 Гц), 7.17-7.37 м ( $12\text{H}_{\text{аром.}}$ ), 7.49-7.55 м ( $2\text{H}_{\text{аром.}}$ ), 8.21 д (NH,  $J$  2.4 Гц). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$ , м.ч.: 41.09 ( $\text{CH}_2$ ), 44.77 ( $\text{CH}_2$ ), 51.96 ( $\text{C}^4$ ), 107.12, 122.39, 126.54, 127.25, 127.53, 127.73, 127.84, 128.87, 128.98, 131.36, 131.51, 137.14, 138.66, 140.21, 144.92 ( $\text{C}_{\text{аром.}}$ ), 151.76 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 164.56 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 167.15 ( $\text{C}=\text{O}$ ). Знайдено, %: С 62.06; Н 3.99; N 8.45.  $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{BrN}_3\text{O}_3$ . Вираховано, %: С 62.16; Н 4.01; N 8.36.

**1,6-Дибензил-4-(3-нітрофеніл)-3,4-дигідро-1*H*-піроло[3,4-*d*]піримідин-2,5,7-трион (III з).** Вихід 52 %, т.топл. 214-216 °С. ІЧ-спектр,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 1690, 1735 (C=O), 3325 (NH). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м.ч.: 4.48 с (2H, CH<sub>2</sub>), 5.16 с (2H, CH<sub>2</sub>), 5.61 д (C<sup>4</sup>H, *J* 2.4 Гц), 7.19-7.38 м (11H<sub>аром.</sub>), 7.49-7.55 м (3H<sub>аром.</sub>), 8.28 д (NH, *J* 2.4 Гц). Знайдено, %: С 66.46; Н 4.33; N 12.02. C<sub>26</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>. Вирахувано, %: С 66.66; Н 4.30; N 11.96.

**1,6-Дибензил-4-(4-нітрофеніл)-3,4-дигідро-1*H*-піроло[3,4-*d*]піримідин-2,5,7-трион (III д).** Вихід 68 %, т.топл. 207-208 °С. ІЧ-спектр,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 1700, 1745 (C=O), 3330 (NH). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м.ч.: 4.47 с (2H, CH<sub>2</sub>), 5.17 с (2H, CH<sub>2</sub>), 5.69 д (C<sup>4</sup>H, *J* 2.4 Гц), 7.16-7.34 м (10H<sub>аром.</sub>), 7.66 д (2H<sub>аром.</sub>, *J* 9.0 Гц), 8.23 д (2H<sub>аром.</sub>, *J* 9.0 Гц), 8.31 д (NH, *J* 2.4 Гц). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$ , м.ч.: 41.11 (CH<sub>2</sub>), 44.88 (CH<sub>2</sub>) 52.11 (C<sup>4</sup>), 106.53, 124.35, 127.25, 127.52, 127.78, 127.86, 128.88, 128.98, 137.08, 138.57, 140.40, 147.77, 149.14 (C<sub>аром.</sub>), 151.75 (C=O), 164.44 (C=O), 167.07 (C=O). Знайдено, %: С 66.77; Н 4.26; N 11.82. C<sub>26</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>. Вирахувано, %: С 66.66; Н 4.30; N 11.96.

**1,6-Дибензил-4-(3,4-дихлорофеніл)-3,4-дигідро-1*H*-піроло[3,4-*d*]піримідин-2,5,7-трион (III е).** Вихід 72 %, т.топл. 194-195 °С. ІЧ-спектр,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 1695, 1735 (C=O), 3325 (NH). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м.ч.: 4.48 с (2H, CH<sub>2</sub>), 5.16 с (2H, CH<sub>2</sub>), 5.55 д (C<sup>4</sup>H, *J* 2.4 Гц), 7.17-7.38 м (11H<sub>аром.</sub>), 7.63-7.65 м (2H<sub>аром.</sub>), 8.22 д (NH, *J* 2.4 Гц). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$ , м.ч.: 41.09 (CH<sub>2</sub>), 44.85 (CH<sub>2</sub>) 51.62 (C<sup>4</sup>), 106.55, 127.27, 127.52, 127.75, 127.82, 127.92, 128.86, 128.97, 131.26, 131.36, 131.75, 137.12, 138.62, 140.45, 143.20 (C<sub>аром.</sub>), 151.65 (C=O), 164.54 (C=O), 167.16 (C=O). Знайдено, %: С 63.47; Н 3.96; N 8.42. C<sub>26</sub>H<sub>19</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>. Вирахувано, %: С 63.43; Н 3.89; N 8.53.

#### Експериментальна біологічна частина

Антимікробну активність досліджуваних речовин вивчали за допомогою мікрометоду з використанням одноразових полістиролових планшет та мікротитраторів Такачі. У 96 лункові полістиролові планшети вносили по 0,05 мл 4-годинної культури мікроорганізмів (1 мл середовища містив 10<sup>5</sup> КУО; для *S. albicans* використовували розведення мікроорганізмів 1:100 у рідкому середовищі Сабуро).

Платиновою корзинкою об'ємом 0,05 мл набирали матричний розчин дослідної речовини, концентрація якого дорівнювала

1000 мкг/мл і вносили в першу лунку. Подібним чином в інші лунки першого ряду вносили наступні дослідні зразки. Послідовно повертаючи корзинки, отримували розведення у всіх лунках від 500 мкг/мл до 3,9 мкг/мл. Аналогічно проводили експеримент на інших планшетах з наступними тест-культурами мікроорганізмів. Після цього планшети поміщали у вологу камеру в термостат при температурі 37 °С, інкубували 24 год (для грибів – відповідно 28 °С, 48 год) [13].

#### Висновки

1. Циклоконденсацією *N,N*-дизаміщених пірол-2,5-діонів з 1-хлоробензилізоціанатами синтезовано низку нових піроло[3,4-*d*]піримідин-2,5,7-трионів.
2. Скринінг синтезованих сполук виявив серед них речовини з помірною антимікробною та протигрибковою активністю.

#### Список літератури

1. Linz S., Troschutz R Synthesis of 5-[(4-phenyl-piperazin-1-yl)methyl]-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine derivatives as potential dopamine D4 receptor ligands // J. Het. Chem – 2007. – Vol. 44, №2. – P. 349-354.
2. Seela F., Muth H.-P. 3-Substituted and 2,3-unsaturated 7-deazaguanine 2,3-dideoxynucleozides: synthesis and inhibition of HIV-1 reverse transcriptase // Helv. Chim. Acta. – 1991. – Vol. 74, № 5. – P. 1081-1090.
3. Gangjee A., Jain H.D., Queener S.F. Design, synthesis and biological evaluation of 2,4-diamino-6-methyl-5-substituted pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidines as dihydrofolate reductase inhibitors // J. Het. Chem. – 2005. – Vol.42, № 4. – P. 589-594.
4. Vaidja C., Wrigth J.E., Rosowsky A. Synthesis and antifolate activity of new pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine and thieno[2,3-*d*]pyrimidine inhibitors of dihydrofolate reductase // J. Het. Chem. – 2004. – Vol. 41, № 5. – P. 787-793.
5. Powers D.L., Sowell J.W., Freeman J.J., Kosh J.W. Anticonvulsant properties of selected pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine-2,4-diones and intermediates // J. Pharm. Sci. – 1980. V.69, № 4. – P. 473-475.
6. Awazu Y., Mizutani A., Nagase Y., Iwata H., Oguro Y., Miki H., Imamura S., Hori A. A novel pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine derivatives as a vascular endothelial growth factor receptor and platelet-derived growth factor

- receptor tyrosine kinase inhibitor, shows potent antitumor activity by suppression of tumor angiogenesis // *Cancer Sci.* – 2012. – Vol. 103, №5. – P. 939-944.
7. US Patent 6,734. Pyrrolo[3,4-*d*]pyrimidines as Corticotropin releasing factor (CRF) antagonist / Bakthavatchalam R. 2004, 185.
  8. Sheradsky T., Southwick P.L. The synthesis of 6,7-dihydro-5*H*-pyrrolo[3,4-*d*]pyrimidines // *J. Het. Chem.* – 1967. – Vol. 4, № 1. – P. 1-7.
  9. Chen Z.-P., Wang H.B., Zhu Q.-H., Xie Y., Liu S.-W. Synthesis of fused pyrrolo[3,4-*d*]tetrahydropyrimidine derivatives by proline-catalized multicomponent reaction // *Tetrahedron.* – 2014. – Vol. 70. – P. 4379-4385.
  10. Chepyshev S.V., Mazurkevich Y.N., Lebed O.S., Prosyaniuk A.V. Synthesis of 1-alkyl-3-arylamino-pyrrolo-2,5-diones // *Chem. Het. Comp.* – 2007. – Vol. 43, № 7. – P. 844-849.
  11. Vovk M.V., Kushnir O.V., Mel'nichenko N.V., Tsybmal I.F.. Syntesis of alkyl hexahydropyrazino[1,2-*c*]pyrimidine-9-carboxylates // *Chem. Het. Comp.* – 2011. – Vol. 47, № 8. – P.989-995.
  12. Gorbatenko V.I., Samarai L.I. Synthesis and reactions of  $\alpha$ -haloalkyl isocyanates // *Synthesis.* - 1980.- №1.- P.85-110.
  13. А.В. Гуменна, О.М. Букачук, С.Є. Дейнека, П.І. Ягодинець, О.В. Скрипська. Синтез та антимікробна активність гетерилзаміщених фосфонієвих солей // *Фармацевтичний журнал.* – 2010. – №2. – С.49-56.

#### Summary

Kushnir O.V., Humenna A.V., Vovk M.V.

#### **SYNTHESIS OF 4-ARYL-1,6-DIALKYL-3,4-DIHYDRO-1*H*-PYRROLO[3,4-*D*]PYRIMIDINE-2,5,7- TRIONES AND THEIR ANTIFUNGAL ACTION**

4-Aryl-1,6-dialkyl-3,4-dihydro-1*H*-pyrrolo[3,4-*d*]pyrimidine-2,5,7-triones have been synthesized by cyclocondensation of pyrrolo-2,5-diones with 1-chlorobenzylisocyanates and their antimicrobial, and antifungal action has been investigated.