

2015© Братенко М. К.¹, Барус М. М.¹, Ротар Д. В.¹, Вовк М. В.²

¹Буковинський державний медичний університет, Чернівці

²Інститут органічної хімії НАН України, Київ

СИНТЕЗ І ПРОТИМІКРОБНА ДІЯ НОВИХ 4-ПІРАЗОЛОВМІСНИХ

1,4-ДИГІДРОПІРИДИН-3,5-ДИКАРБОКСИЛАТІВ І 3,4-ДИГІДРО-

ПІРИМІДИН-5-КАРБОКСИЛАТІВ

Трикомпонентною циклоконденсацією етил 4-формілпіразол-3-карбоксилатів із етилацетоацетатом та амонію ацетатом або сечовиною отримані відповідно 4-[(3-етоксикарбоніл)-4-піразоліл]-1,4-дигідро-3,5-піридиндикарбоксилати і 4-[(3-етоксикарбоніл)-4-піразоліл]-3,4-дигідропіримідин-5-карбоксилати. Здійснене селективне перетворення етоксикарбонільної групи піразольного цик-лу до карбоксильної, гідразидної та фурилметиленгідразинокарбонільної груп. Біоскринінг синтезованих сполук засвідчив їх помірну протимікробну та протигрибкову активність.

Ключові слова : естери 4-формілпіразол-3-карбонових кислот, етилацетоацетат, амонію ацетат, сечовина, 1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбоксилати, 3,4-дигідропіримідин-5-карбоксилати, конденсація, протибактеріальна та протигрибкова активність.

1,4-Дигідропіридинової та 3,4-дигідропіримідинової цикли належать до одних із найефективніших молекулярних скафолдів для раціонального дизайну нових біоактивних сполук. Таке твердження базується на реальному аналізі фармакологічних профілів їх різноманітних представників. Зокрема, похідні 1,4-дигідропіридину є відомими блокаторами кальцієвих каналів [1, 2], нейропротекторними [3], гепатопротекторними [4], антимутагенними та антидіабетичними [5] агентами. Внаслідок цього, серед 3,4-дигідропіримідинів виявлені антагоністи кальцієвих каналів [6], нейропептиду У [7] та інгібітори транспорту жирних кислот [8].

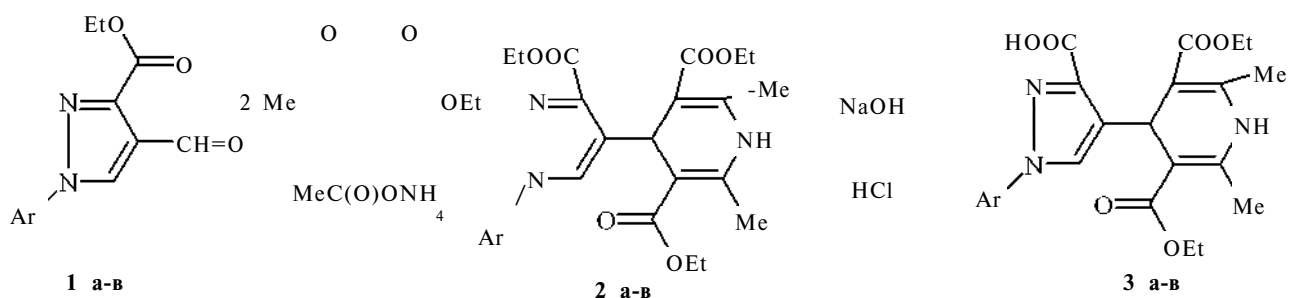
Нещодавно з'явилися повідомлення про розширення спектра біологічної дії вказаних гетероциклічних систем за рахунок функціоналізації у них положення 4 фармакоформним 1,3-діарилпіразольним фрагментом, що дало змогу отримати речовини із протимікробними [9], протитуберкульозними та протипухлинними [10] властивостями. Зазначимо, що такого типу сполуки через відсутність функціональних замісників у піразольному ядрі не спроможні до подальших модифікацій, оскільки етоксикарбонільні групи у дигідропіридиновому та дигідропіримідиновому циклах низькорекційноздатні до дії нуклеофільних реагентів. Це значно обмежує їх роль як базових об'єктів для молекулярного

дизайну. У силу цього для розширення спектра потенційних бактерицидних засобів видавалося доцільним здійснити синтез нових похідних дигідропіридину та дигідропіримідину, легованих піразольним циклом із високореакційною 3-етоксикарбонільною групою, схильною до спрямованої функціоналізації.

Для виконання поставленого завдання ефективними виявилися мультикомпонентні реакції Ганча [12] та Біджінелі [13] за участю 4-формілпіразол-3-карбоксилатів (**1 а-в**). Установлено, що альдегіди (**1 а-в**) реагують із 2-кратним надлишком етилацетоацетату за наявності амонію ацетату під час нагрівання в етанолі з утворенням із виходами 66-71 % діетил 4-[(3-етоксикарбоніл)-4-піразоліл]-1,4-дигідропіридиндикарбоксилатів (**2 а-в**).

Подальша спроба омилення трьох етоксикарбонільних груп дією надлишку натрію гідроксиду завершується тільки гідролізом піразольної естерної групи й утворенням відповідних кислот (**3 а-в**).

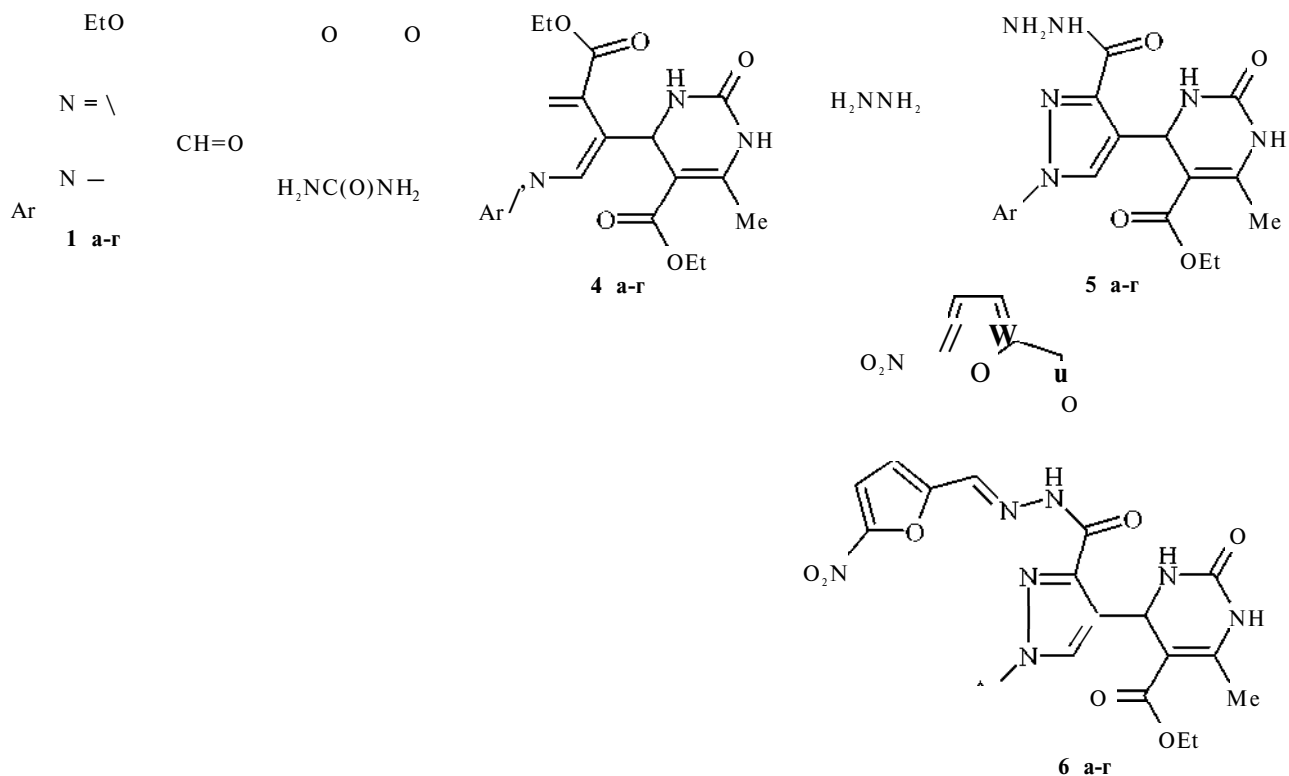
Будова 4-піразоліл-1,2-дигідропіридинів (**2 а-в**, **3 а-в**) (табл. 1.2) строго доведена комплексом фізико-хімічних методів, серед яких достатньо доказовими є спектри ЯМР ¹H із характерними син-глетами протонів у положенні 4 дигідропіридинового циклу при 5.39-5.41 м. ч.



1-3, Ar=Ph (а), 4-MeC₆H₄ (б), 4-BrC₆H₄ (в)

Кислотнокаталізована конденсація альдегідів (**1 а-в**) із еквімолярною кількістю етилацето-ацетату та надлишком сечовини у киплячому етанолі дозволила отримати із виходами 79-91 % етил 4-[3-(етоксикарбоніл)-4-піразоліл]-1,2,3,4-тетрагідро-5-

піримідинкарбоксилати (**4 а-г**). Взаємодія останніх із надлишком гідразин-гідрату також реалізується за участю лише естерної групи піразольного циклу і приводить до гідразидів (**5 а-г**), конденсацією яких із 5-нітрофурфуолом одержані гідразони (**6 а-г**).



1, 4-6, Ar=Ph (а), 4-MeC₆H₄ (б), 4-BrC₆H₄ (в), 4-ClC₆H₄ (г)

Структура синтезованих 4-піразоліліпіримідинів (**4 а-г**, **5 а-г** та **6 а-г**) (табл. 1,2) підтверджена спектрами ЯМР ¹H, в яких поряд із типовими сигналами всіх замісників наявні синглети протонів у положенні 4 піримідинового циклу в діапазоні 5.46-5.76 м.ч.

Аналіз результатів мікробіологічного дослідження синтезованих сполук (табл. 3, 4) показує наявність у кожній з них широкого спектру антимікробної активності. При цьому

найвища чутливість до інгібуючої дії препаратів характерна для грамнегативних бактерій, найчутливішим виявляється клінічний капсулоутворюючий штам *Kl. pneumonia*. Особливо варто виділити 4-піразоліліпіримідини (**4 а-г**) та (**5 а-г**), які містять у 3-му положенні піразольного циклу естерне та гідразидне угруповання і виявляють найвищу мінімальну інгібуючу дію (МБСК - 31.25 мкг/мл) проти *Kl. pneumonia*.

Штам *P. vulgaris* виявляється найбільш

чутливим до сполук **5a** (МБсК - 62.5 мкг/мл) та **5в** (МБсК - 62.5 мкг/мл), *Ps. aeruginosa* - до **2a** (МБсК - 62.5 мкг/мл), *E. coli* - до **4г** (МБсК - 62.5 мкг/мл). У цілому ентеробактерії виявляють найбільшу чутливість до чотирьох сполук (*Ps. aeruginosa* - до **2a**, *Kl. pneumonia* - **4a**, *P. vulgaris* - **5a** та *Kl. pneumonia* - **5a**), які містять фенільний замісник у положенні 1 піразольного ядра.

Під час дослідження активності препаратів щодо клінічного штаму грамположитивного мікроорганізму *S. aureus* встановлено, що сполуки **5a** і **6a**, які також містять фенільну групу у положенні 1 піразольного циклу мають МБсК - 62,5 мкг/мл. Цікаве також те, що введення в структуру досліджуваних молекул 5-нітрофурильного циклу сполук (**6 a-г**) не приводить до очікуваного посилення антимікробної активності. Протистафілококова дія коливається в межах від МБсК - 62,5 мкг/мл до МБсК - 500 мкг/мл.

Експерименти щодо виявлення чутливості культур референтного музейного та клінічних штамів дріжджоподібних грибів роду *Candida* до синтезованих сполук (табл.4) демонструють, що сполуки **5a** (МФсК, МФцК - 31,25мкг/мл), **5в**, **6a**, **6б**, **6г** (МФсК, МФцК - 62,5мкг/мл), **2a-3в** (МФсК, МФцК - 125 мкг/мл) показали найвищі значення фунгістатичної та фунгіцидної дії, а решта проявляють помірну протигрибкову активність з МФсК і МФцК від 250 мкг/мл та вище відносно *C. albicans* ATCC 885-653. Клінічний штам *C. albicans* I виявляється чутливим до сполук **2a**, **2в**, **3a**, **4б** та **4г** (МФсК, МФцК - 62,5мкг/мл). Другий клінічний тест-штам дріжджоподібного гриба більш резистентний, МФсК та МФцК коливається від 125 мкг/мл до >500 мкг/мл.

Експериментальна частина

ІЧ-спектри сполук у таблетках КВг записані на прикладі UR-20. Спектри ЯМР ¹H виміряли на прикладі Bruker Avance DRX (500.13 МГц), внутрішній стандарт - ТМС. Хроматомас-спектри одержують на приладі PE SCXAPI 150 EX, детектори UV (250 нм) та ELSOJ.

Діетил 4-[1-арил-(3-етоксикарбоніл)-1H-піразол-4-іл]-2,6-диметил-1,4-гідро-3,5-піридин-дикарбоксилати (2 a-в). Суміш 0.005 моль альдегіду (**1 a-в**), 1.3 г (0.01 моль) етилацетоацетату та 0.85 г (0.011 моль) амонію ацетату в 15 мл спирту кип'ятять 1 год. Розчинник випаровують у вакуумі, залишок обробляють водою (2×50 мл), відфільтровують, сушать і кристалізують із етанолу.

4-[3,5-Біс(етоксикарбоніл)-2,6-диметил-1,4-дигідро-4-піридиніл]-1-арил-1H-піразол-3-кар-бонові кислоти (3 a-в). До нагрітої до 50°C суспензії 0.001 моля естеру (**2 a-в**) в 20 мл етанолу додають 10 мл 0.5M розчину натрію гідроксиду. Реакційну суміш перемішують за 60°C протягом трьох годин. Додають 20 мл води і ще перемішують за цієї ж температури дві години. Охолоджують, підкислюють 1M розчином хлоридної кислоти до рН=2. Осад відфільтровують, промивають водою, сушать, кристалізують із суміші оцтова кислота-етанол (1:1).

Етил 4-[1-арил-3-(етоксикарбоніл)-1H-піразол-4-іл]-6-метил-2-оксо-1,2,3,4-тетрагідро-5-піримідинокарбоксилати (4 a-з). До суміші 0.005 моль альдегіду (**1 a-г**), 0.7 г (0.0054 моль) етилацетоацетату, 0.45 г (0.0075 моль) сечовини в 15 мл спирту додають 3 краплі концентрованої хлоридної кислоти і кип'ятять 5 год. Утворений після охолодження осад відфільтровують, промивають водою, етанолом, сушать, і кристалізують із етанолу.

Етил 4-[1-арил-3-(гідразинокарбоніл)-1H-піразол-4-іл]-6-метил-2-оксо-1,2,3,4-тетрагідро-5-піримідинокарбоксилати (5 a-з). До 0.001 моль піримідинокарбоксилату (**4 a-г**) додають 0.5 г (0.01 моль) 91 % гідразин-гідрату в 10 мл спирту і кип'ятять 5 год. Реакційну суміш охолоджують, утворений осад відфільтровують, промивають водою, етанолом і кристалізують із етанолу.

Етил 6-метил-4-[3-(2-[1-арил(5-нітро-2-фурил)метилен]гідразино)карбоніл)-1H-піразол-4-іл]-2-оксо-1,2,3,4-тетрагідро-5-піримідинокарбоксилати (6 a-з). Суміш 0.00025 моль гідразиду (**5 a-г**) і 0.053 г (0.000375 моль) 5-нітрофурфуролу в 5 мл етанолу і 1 мл оцтової кислоти кип'ятять 5 год. Реакційну суміш охолоджують, утворений осад відфільтровують, промивають водою, етанолом і кристалізують із оцтової кислоти.

Дослідження протибактеріальної та протигрибкової активностей

Для дослідження використовують 8 тест-штамів мікроорганізмів: з них 5 тест-культур бактерій *S. aureus*, *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *Kl. pneumonia*, 1 тест-штам референтного дріжджоподібного гриба роду *Candida C. albicans* ATCC 885-653 та 2 клінічних штами цього ж виду.

За допомогою класичного мікрометоду двократних серійних розведень з використанням одноразових полістирольних планшет та мікротитраторів Такачі проводять

вивчення мінімальних бактеріостатичних та фунгістатичних концентрацій вищезгаданих сполук.

У 96 лункові полістирольні планшети вносять по 0,05 мл 4-годинної культури мікроорганізмів (1 мл МПБ містив 10^5 КУО бактерій; для *C. albicans* використовують розведення мікроорганізмів 1:100 КУО у рідкому середовищі Сабуро).

Платиновою корзинкою об'ємом 0,05 мл відбирають матричний розчин досліджуваної сполуки і вносять в першу лунку. Розведення сполук від 1:2 до 1:256 (від 500 мкг/мл до 0,97 мкг/мл) здійснюють за допомогою переміщення вмісту луночок платиновими корзинками, розводячи об'єм у кожній наступній лунці удвічі. Аналогічно проводять експеримент на інших планшетах з наступними тест-культурами мікроорганізмів. Після цього планшети поміщають у вологу камеру термостату за температури 37° С, інкубують 24 год (для грибів – 28° С, 48 год відповідно). Облік результатів проводять враховуючи відсутність і наявність зростання мікроорганізмів, мінімальною статичною концентрацією вважають те розведення, при якому відбувалася затримка зростання мікроорганізму. Експеримент повторюють тричі з метою отримання достовірних результатів.

Визначення мінімальних бактерицидних і фунгіцидних концентрацій проводять шляхом вилучення тест-культури із луночок з відсутністю зростання та наступним пересівом їх на МПА для бактерій та на агар Сабуро для дріжджеподібних грибів роду *Candida*, з наступною інкубацією 24 год за температури 37°С (для грибів – 28° С, 48 год відповідно). Мінімальною цидною концентрацією вважають те розведення, яке повністю блокує життєздатність мікроорганізмів, не даючи зростання на твердих живильних середовищах.

Висновки

Розроблено методи синтезу 4-[(3-етоксикарбоніл)-4-піразоліл]-1,4-дигідро-3,5-піридиндикар-боксилатів та 4-[(3-етокси-карбоніл)-4-піразоліл]-3,4-дигідропіримідин-5-карбоксилатів, які ґрунтуються на циклоконденсаціях етил 4-формілпіразол-3-карбоксилатів і етилацетоацета-том і амонію ацетатом або сечовиною та здійснено їх хімічну модифікацію.

Установлено, що синтезовані сполуки характеризуються помірними проти-бактеріальною та протигрибковою активністю.

Список літератури

1. Loev B., Goodman M., Snader K. et.al. Hantzschtype dihydropyridine hypotensive agents // J. Med. Chem. -1974.- Vol.17, №9.- P.956-965.
2. Bossert F., Meyer H., Wehinder E. 4-Aryldihydropyridines, a new class of highly active calcium antagonists // Angew Chem. - 1981.- Vol.20, №9.- P.762.
3. Klusa V. Cerebrocrast neuroprotectant cognition enhancer // Drugs Future. -1995.- Vol.20, №2.- P.135.
4. Sausins S. A., Duburs G. Synthesis of 1,4-dihydropyridines by cyclocondensation reactions // Heterocycles. -1988.- Vol.27, №1.- P.269-289.
5. Godfraind T., Miller R., Wibo M. Calcium antagonism and calcium entry blockade // Pharmacol. Rev. -1986.- Vol. 38, №4 - P.321-416.
6. Atwal K. S., Swanson B. N., Unger S. E. et. al. Dihydropyridine calcium channel blockers. 3,3-Car-bomoyl-4-aryl-1,2,3,4-tetrahydro-6-methyl-5-pyridinecarboxylic acid esters as orally effective antihypertensive agents // J. Med. Chem. -1991.- Vol. 34, №2 - P.806-811.
7. Kappe C. O. Recent Advances in the Biginelly dihydropyrimidine synthesis. New tricks from olddog // Acc. Chem. Res. -2000.- Vol. 33, №12 - P.879-888.
8. Bluckbum C., Gnan B., Brown J. et. al. Identification and characterization of 4-aryl-3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones as inhibitors of the fatty acid transporter FaTP4 // Bioorg. Med. Chem. Lett. -2006.- Vol. 16, №3 - P.3504-3509.
9. Prakash O., Hussein K., Kumar R. Synthesis and antimicrobial evaluation of new 1,4-dihydro-4-pyrazolylpyridines and 4-pyrazolylpyridines // Org. Med. Chem. Lett. - 2011.- Vol. 1, №5 - P.1-7.
10. Trivedi A. R., Dodiya D. K., Dholariya B. H. et. al. Synthesis and biological evaluation of some novel N-aryl-1,4-dihydropyridines as potential antitubercular agents // Bioorg. Med. Chem. Lett. -2011.- Vol.21, №18 - P.5181-5183.
11. Yadlapalli R. K., Chourasia O. P., Vemuri K. et. al. Synthesis and antitubercular activity of diarylpyrazole ligated dihydropyrimidines possessing lipophilic carbamoyl group // Bioorg. Med. Chem. Lett. -2012.- Vol.22, №8 - P.2708-2711.
12. Saini A., Kumar S., Sandhu J. S. Hantzsch reaction: Recent advances in Hantzsch 1,4-dihydropyridines // J. Scientific Ind. Research.

Таблиця 1

Характеристики сполук 2 а-в, 3 а-в, 4 а-г, 5 а-г, 6 а-г

Сполуки	Формула	[M+1] ⁺	Знайдено, % Вираховано			Топл °C	Вихід, %
			C	H	N		
2а	C ₂₅ H ₂₉ N ₃ O ₆	468	<u>64.51</u> 64.23	<u>6.11</u> 6.25	<u>9.21</u> 8.99	168-170	68
2б	C ₂₆ H ₃₁ N ₃ O ₆	482	<u>65.00</u> 64.85	<u>6.61</u> 6.49	<u>8.88</u> 8.73	178-180	71
2в	C ₂₅ H ₂₈ BrN ₃ O ₆	547	<u>55.16</u> 54.95	<u>5.33</u> 5.17	<u>7.78</u> 7.69	200-202	66
3а	C ₂₃ H ₂₅ N ₃ O ₆	440	<u>63.04</u> 62.86	<u>5.79</u> 5.73	<u>9.73</u> 9.56	208-210	78
3б	C ₂₄ H ₂₇ N ₃ O ₆	454	<u>63.82</u> 63.57	<u>6.14</u> 6.00	<u>9.46</u> 9.27	218-220	71
3в	C ₂₃ H ₂₄ BrN ₃ O ₆	519	<u>53.46</u> 53.29	<u>4.73</u> 4.67	<u>8.25</u> 8.11	205-207	69
4а	C ₂₀ H ₂₂ N ₄ O ₅	399	<u>60.56</u> 60.29	<u>5.68</u> 5.57	<u>13.88</u> 14.06	220-222	84
4б	C ₂₁ H ₂₄ N ₄ O ₅	413	<u>60.94</u> 61.16	<u>5.71</u> 5.87	<u>13.78</u> 13.58	225-227	79
4в	C ₂₀ H ₂₁ BrN ₄ O ₅	478	<u>50.61</u> 50.33	<u>4.37</u> 4.43	<u>11.99</u> 11.74	258-260	91
4г	C ₂₀ H ₂₁ ClN ₄ O ₅	433	<u>55.29</u> 55.50	<u>4.95</u> 4.89	<u>13.09</u> 12.94	245-247	85
5а	C ₁₈ H ₂₀ N ₆ O ₄	385	<u>56.74</u> 56.24	<u>5.19</u> 5.24	<u>22.00</u> 21.86	210-212	81
5б	C ₁₉ H ₂₂ N ₆ O ₄	399	<u>56.99</u> 57.28	<u>5.71</u> 5.57	<u>20.99</u> 21.09	188-190	88
5в	C ₁₈ H ₁₉ BrN ₆ O ₄	464	<u>46.39</u> 46.67	<u>3.98</u> 4.13	<u>18.30</u> 18.14	218-220	90
5г	C ₁₈ H ₁₉ ClN ₆ O ₄	419	<u>51.35</u> 51.62	<u>4.42</u> 4.57	<u>19.88</u> 20.06	227-229	79
6а	C ₂₃ H ₂₁ N ₇ O ₇	508	<u>54.73</u> 54.44	<u>4.03</u> 4.17	<u>19.50</u> 19.32	213-215	89
6б	C ₂₄ H ₂₃ N ₇ O ₇	522	<u>54.98</u> 55.28	<u>4.56</u> 4.45	<u>18.61</u> 18.80	220-221	84
6в	C ₂₃ H ₂₀ BrN ₇ O ₇	587	<u>47.41</u> 47.11	<u>3.32</u> 3.44	<u>16.95</u> 16.72	310-312	78
6г	C ₂₃ H ₂₀ ClN ₇ O ₇	542	<u>51.08</u> 50.98	<u>3.99</u> 3.72	<u>17.89</u> 18.09	305-307	87

Спектри ІЧ та ЯМР ¹Н сполук 2 а-в, 3 а-в, 4 а-г, 5 а-г, 6 а-г

Сполуки	ІЧ спектр, ν, см ⁻¹	Спектри ЯМР ¹ Н, δ. м.ч.(J, Гц)
2а	1735 (C=O), 3275 (N-H)	1.08 т (6H, 2CH ₃ , J 7.0 Гц), 1.35 т (3H, CH ₃ , J 7.2 Гц), 2.23 с (6H, 2CH ₃), 3.95 к (4H, 2CH ₂ O, J 7.0 Гц), 4.31 к (2H, CH ₂ O, J 7.2 Гц), 5.41 с (1H, H ⁴ _{піримідин}), 7.31-7.49 м (3H _{аром.}), 7.82 д (2H _{аром.} , J 7.6 Гц), 8.12 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 8.77 с (1H, NH)
2б	1730 (C=O), 3280 (N-H)	1.07 т (6H, 2CH ₃ , J 7.2 Гц), 1.33 т (3H, CH ₃ , J 6.8 Гц), 2.23 с (6H, 2CH ₃), 2.33 с (3H, CH ₃), 3.94 к (4H, 2CH ₂ O, J 7.2 Гц), 4.30 к (2H, CH ₂ O, J 6.8 Гц), 5.40 с (1H, H ⁴ _{піримідин}), 7.28 д (2H _{аром.} , J 8.4 Гц), 7.70 д (2H _{аром.} , J 8.4 Гц), 8.06 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 8.76 с (1H, NH)
2в	1730 (C=O), 3280 (N-H)	1.07 т (6H, 2CH ₃ , J 7.2 Гц), 1.33 т (3H, CH ₃ , J 7.0 Гц), 2.33 с (6H, 2CH ₃), 3.94 к (4H, 2CH ₂ O, J 7.2 Гц), 4.31 к (2H, CH ₂ O, J 7.0 Гц), 5.40 с (1H, H ⁴ _{піримідин}), 7.66 д (2H _{аром.} , J 8.4 Гц), 7.82 д (2H _{аром.} , J 8.4 Гц), 8.17 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 8.75 с (1H, NH)
3а	1725 (C=O), 2510-2840 (COOH)	1.11 т (6H, 2CH ₃ , J 7.2 Гц), 2.23 с (6H, 2CH ₃), 3.95 к (4H, CH ₂ O, J 7.2 Гц), 5.41 с (C ⁴ _{піримідин}), 7.32-7.49 м (3H _{аром.}), 7.82 д (2H _{аром.} , J 7.8 Гц), 8.07 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 8.74 с (1H, NH), 12.55 с (1H, COOH)
3б	1725 (C=O), 2515-2840 (COOH)	1.10 т (6H, 2CH ₃ , J 6.8 Гц), 2.23 с (6H, 2CH ₃), 2.33 с (3H, CH ₃), 3.94 к (4H, 2CH ₂ O, J 6.8 Гц), 5.41 с (1H, H ⁴ _{піримідин}), 7.27 д (2H _{аром.} , J 8.0 Гц), 7.70 д (2H _{аром.} , J 8.0 Гц), 8.01 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 8.73 с (1H, NH), 12.51 с (1H, COOH)
3в	1730 (C=O), 2520-2850 (COOH)	1.08 т (6H, 2CH ₃ , J 6.8 Гц), 2.23 с (6H, 2CH ₃), 3.94 к (4H, CH ₂ O, J 6.8 Гц), 5.39 с (1H, H ⁴ _{піримідин}), 7.66 д (2H _{аром.} , J 8.8 Гц), 7.82 д (2H _{аром.} , J 8.8 Гц), 8.16 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 8.75 с (1H, NH), 12.47 с (1H, COOH)
4а	1730, 1705 (C=O), 3280 (N-H)	1.03 т (3H, CH ₃ , J 6.8 Гц), 1.34 т (3H, CH ₃ , J 6.8 Гц), 2.32 с (3H, CH ₃), 3.95 т (2H, CH ₂ O, J 6.8 Гц), 4.37 к (2H, CH ₂ O, J 6.8 Гц), 5.76 с (1H, H ⁴ _{піримідин}), 7.26 с (1H, NH), 7.38 т (1H _{аром.} , J 7.4 Гц), 7.53 т (2H _{аром.} , J 7.2 Гц), 7.89 д (2H _{аром.} , J 7.6 Гц), 8.36 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 9.25 с (1H, NH)
4б	1725, 1700 (C=O), 3265 (N-H)	1.03 т (3H, CH ₃ , J 6.6 Гц), 1.35 т (3H, CH ₃ , J 6.6 Гц), 2.32 с (3H, CH ₃), 2.35 с (3H, CH ₃), 3.94 к (2H, CH ₂ O, J 6.6 Гц), 4.41 к (2H, CH ₂ O, J 6.6 Гц), 5.75 с (1H, CH, H ⁴ _{піримідин}), 7.24 с (1H, NH), 7.31 д (2H _{аром.} , J 8.4 Гц), 7.79 д (2H _{аром.} , J 8.4 Гц), 8.31 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 9.24 с (1H, NH)
4в	1725, 1695 (C=O), 3275 (N-H)	1.02 т (3H, CH ₃ , J 6.8 Гц), 1.35 т (3H, CH ₃ , J 6.8 Гц), 2.32 с (3H, CH ₃), 3.94 к (2H, CH ₂ O, J 6.8 Гц), 4.36 к (2H, CH ₂ O, J 6.6 Гц), 5.75 с (1H, CH, H ⁴ _{піримідин}), 7.23 с (1H, NH), 7.70 д (2H _{аром.} , J 8.2 Гц), 7.94 д (2H _{аром.} , J 8.2 Гц), 8.41 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 9.22 с (1H, NH)
4г	1725, 1700 (C=O), 3270 (N-H)	1.03 т (3H, CH ₃ , J 6.6 Гц), 1.35 т (3H, CH ₃ , J 6.6 Гц), 2.32 с (3H, CH ₃), 3.94 к (2H, CH ₂ O, J 6.6 Гц), 4.36 к (2H, CH ₂ O, J 6.6 Гц), 5.76 с (1H, CH, H ⁴ _{піримідин}), 7.24 с (1H, NH), 7.56 д (2H _{аром.} , J 8.4 Гц), 7.94 д (2H _{аром.} , J 8.4 Гц), 8.40 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 9.23 с (1H, NH)
5а	1730, 1695, 1665 (C=O) 3310-3345 (N-H)	1.06 т (3H, CH ₃ , J 6.8 Гц), 2.34 с (3H, CH ₃), 3.99 к (2H, CH ₂ O, J 6.8 Гц), 4.57 с (2H, NH ₂), 5.47 с (1H, H ⁴ _{піримідин}), 7.09 с (1H, NH), 7.36-7.90 м (5H _{аром.}), 8.47 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 9.31 с (1H, NH), 9.87 с (1H, NH)
5б	1730, 1695, 1665 (C=O) 3320-3440 (N-H)	1.06 т (3H, CH ₃ , J 6.8 Гц), 2.34 с (6H, 2CH ₃), 3.99 к (2H, CH ₂ O, J 6.8 Гц), 4.58 с (2H, NH ₂), 5.46 с (1H, H ⁴ _{піримідин}), 7.10 с (1H, NH), 7.31 д (2H _{аром.} , J 7.8 Гц), 7.83 д (2H _{аром.} , J 7.8 Гц), 8.19 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 9.30 с (1H, NH), 9.82 с (1H, NH)
5в	1735, 1695, 1655 (C=O) 3310-3345 (N-H)	1.05 т (3H, CH ₃ , J 6.8 Гц), 2.34 с (3H, CH ₃), 4.00 к (2H, CH ₂ O, J 6.8 Гц), 4.60 с (2H, NH ₂), 5.46 с (1H, H ⁴ _{піримідин}), 7.27 с (1H, NH), 7.68 д (2H _{аром.} , J 8.2 Гц), 7.95 д (2H _{аром.} , J 8.2 Гц), 8.58 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 9.30 с (1H, NH), 9.90 с (1H, NH)
5г	1735, 1695, 1660 (C=O) 3315-3340 (N-H)	1.06 т (3H, CH ₃ , J 6.8 Гц), 2.34 с (3H, CH ₃), 4.00 к (2H, CH ₂ O, J 6.8 Гц), 4.60 с (2H, NH ₂), 5.46 с (1H, H ⁴ _{піримідин}), 7.08 с (1H, NH), 7.57 д (2H _{аром.} , J 8.0 Гц), 8.01 д (2H _{аром.} , J 8.0 Гц), 8.28 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 9.31 с (1H, NH), 9.89 с (1H, NH)
6а	1725, 1695, 1665 (C=O), 1640 (C=N), 3315-3340 (N-H)	1.05 т (3H, CH ₃ , J 6.8 Гц), 2.34 с (3H, CH ₃), 3.99 к (2H, CH ₂ O, J 6.8 Гц), 5.68 с (1H, H ⁴ _{піримідин}), 7.04 с (1H _{аром.}), 7.28 с (1H _{фуран}), 7.40-8.01 м (6H, 4H _{аром.} +1NH), 8.38 с (1H, HC=), 8.55 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 9.30 с (1H, NH), 12.32с (1H, NH)
6б	1730, 1700, 1665 (C=O), 1645 (C=N), 3325-3350 (N-H)	1.05 т (3H, CH ₃ , J 6.6 Гц), 2.33 с (3H, CH ₃), 2.36 с (3H, CH ₃), 4.00 к (2H, CH ₂ O, J 6.6 Гц), 5.64 с (1H, H ⁴ _{піримідин}), 7.03 с (1H, H _{фуран}), 7.28 с (1H, H _{фуран}), 7.38 д (2H _{аром.} , J 8.0 Гц), 7.82 с (1H, NH), 7.90 д (2H _{аром.} , J 7.6 Гц), 8.33 с (1H, HC=), 8.55 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 9.29 с (1H, NH), 12.34 с (1H, NH)
6в	1730, 1700, 1660 (C=O), 1645 (C=N), 3320-3340 (N-H)	1.06 т (3H, CH ₃ , J 6.8 Гц), 2.33 с (3H, CH ₃), 3.98 к (2H, CH ₂ O, J 6.8 Гц), 5.67 с (1H, H ⁴ _{піримідин}), 7.05 с (1H _{аром.}), 7.29 с (1H _{фуран}), 7.55-7.82 м (3H, 2H _{аром.} +1NH), 8.00 д (2H _{аром.} , J 8.2 Гц), 8.41 с (1H, HC=), 8.55 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 9.31 с (1H, NH), 12.34 с (1H, NH)
6г	1730, 1695, 1665 (C=O), 1640 (C=N), 3325-3340 (N-H)	1.05 т (3H, CH ₃ , J 6.6 Гц), 2.33 с (3H, CH ₃), 3.98 к (2H, CH ₂ O, J 6.6 Гц), 5.67 с (1H, H ⁴ _{піримідин}), 7.05 с (1H, H _{фуран}), 7.29 с (1H, H _{фуран}), 7.62 д (2H _{аром.} , J 7.6 Гц), 7.82 с (1H, NH), 8.05 д (2H _{аром.} , J 7.6 Гц), 8.43 с (1H, HC=), 8.54 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 9.31 с (1H, NH), 12.34 с (1H, NH)

Протибактеріальна активність сполук **2 а-в**, **3 а-в**, **4 а-г**, **5 а-г** та **6 а-г** (1000 мкг/мл)

Сполуки	Тест-культури (клінічні штами)									
	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>Ps. aeruginosa</i>		<i>P. vulgaris</i>		<i>Kl. pneumonia</i>	
	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК
2а	250	500	250	250	62,5	125	125	125	250	250
2б	125	250	250	250	250	250	125	125	125	125
2в	125	500	250	250	125	125	125	125	125	125
3а	125	500	250	250	125	125	125	125	125	125
3б	125	250	125	250	250	250	125	125	125	125
3в	125	500	250	500	125	125	125	125	125	125
4а	250	250	250	250	125	125	125	500	62,5	62,5
4б	250	250	125	125	125	125	250	>500	62,5	125
4в	125	250	250	250	125	125	125	250	125	125
4г	125	250	62,5	125	125	125	250	250	31,25	62,5
5а	62,5	125	250	250	125	125	62,5	250	62,5	62,5
5б	125	125	250	250	250	250	125	125	125	125
5в	125	125	250	250	250	250	62,5	250	31,25	62,5
5г	125	125	500	500	250	250	125	125	125	125
6а	62,5	125	250	250	125	125	500	500	250	250
6б	250	250	250	250	125	125	500	500	250	250
6в	125	125	250	250	125	125	125	125	250	250
6г	125	125	500	500	125	125	125	125	250	250

Примітка:

«МБсК» - мінімальна бактеріостатична концентрація

«МБцК» - мінімальна бактеріоцидна концентрація

Таблиця 4

Противіробкова активність сполук **2 а-в**, **3 а-в**, **4 а-г**, **5 а-г** та **6 а-г** (1000 мкг/мл)

Сполуки	Тест-культури					
	<i>C. albicans</i> ATCC 885-653		<i>C. albicans I</i> (клінічний штамп)		<i>C. albicans II</i> (клінічний штамп)	
	МФсК	МФцК	МФсК	МФцК	МФсК	МФцК
2а	125	125	62,5	62,5	250	250
2б	125	125	250	250	250	250
2в	125	125	62,5	62,5	500	500
3а	125	125	62,5	62,5	250	250
3б	125	125	125	125	250	250
3в	125	125	125	125	250	250
4а	>500	>500	125	125	500	500
4б	125	125	62,5	62,5	125	125
4в	250	250	125	125	500	500
4г	125	125	62,5	62,5	125	125
5а	31,25	31,25	125	125	250	250
5б	250	250	125	125	500	500
5в	62,5	62,5	125	125	500	500
5г	>500	>500	250	250	500	500
6а	62,5	62,5	125	125	250	250
6б	62,5	62,5	125	125	>500	>500
6в	500	500	125	125	>500	>500
6г	62,5	62,5	125	125	>500	>500

Примітка:

«МФсК» - мінімальна фунгістатична концентрація

«МФцК» - мінімальна фунгіцидна концентрація

Summary

Bratenko M. K., Barus M. M., Rotar D. V., Vovk M. V.

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTION OF NEW 4-PYRAZOLOCONTAINING 1,4-DI-HYDROPYRIDIN-3,5-DYCARBOXYLATES AND 3,4-DIHYDROPYRIMIDIN-5-CARBOXYLATES

4-[(3-Ethoxycarbonyl)-4-pyrazolyl]-1,4-dihydro-3,5-pyridindicarboxylates and 4-[(3-ethoxycarbonyl)-4-pyrazolyl]-3,4-dihydropyrimidin-5-carboxylates are obtained by three component cyclization of ethyl 4-formylpyrazol-3-carboxylates with ethyl acetoacetates and acetate ammonium or urea. Selective conversion of ethoxycarbonyl group of pyrazole cycle in carboxyl, hydrazide and furylmethylenhydrazincarbonyl groups was carried out. The bioscreening of synthesized compositions proved their antimicrobial and antifungal activity.

Key words: esters 4-formylpyrazol-3-carboxylic acid, acetoacetic ester, ammonium acetat, urea, 1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylates, 3,4-dihydropyrimidin-5-carboxylates, condensation, antimicrobial and antifungal activity.