

© 2015 Мельник О.Я.¹, Черноус В.О.², Яковичук Н.Д.², Вовк М.В.³

¹Івано-Франківський національний медичний університет, Івано-Франківськ

²Буковинський державний медичний університет, Чернівці

³Інститут органічної хімії НАН України, Київ

СИНТЕЗ, ПРОТИМІКРОБНА ТА ПРОТИГРИБКОВА АКТИВНІСТЬ 4-(4-ХЛОРО-5-ІМІДАЗОЛІЛ)ЗАМІЩЕНИХ 2-АМІНО-4Н-ХРОМЕН-3-КАРБОНІТРИЛІВ

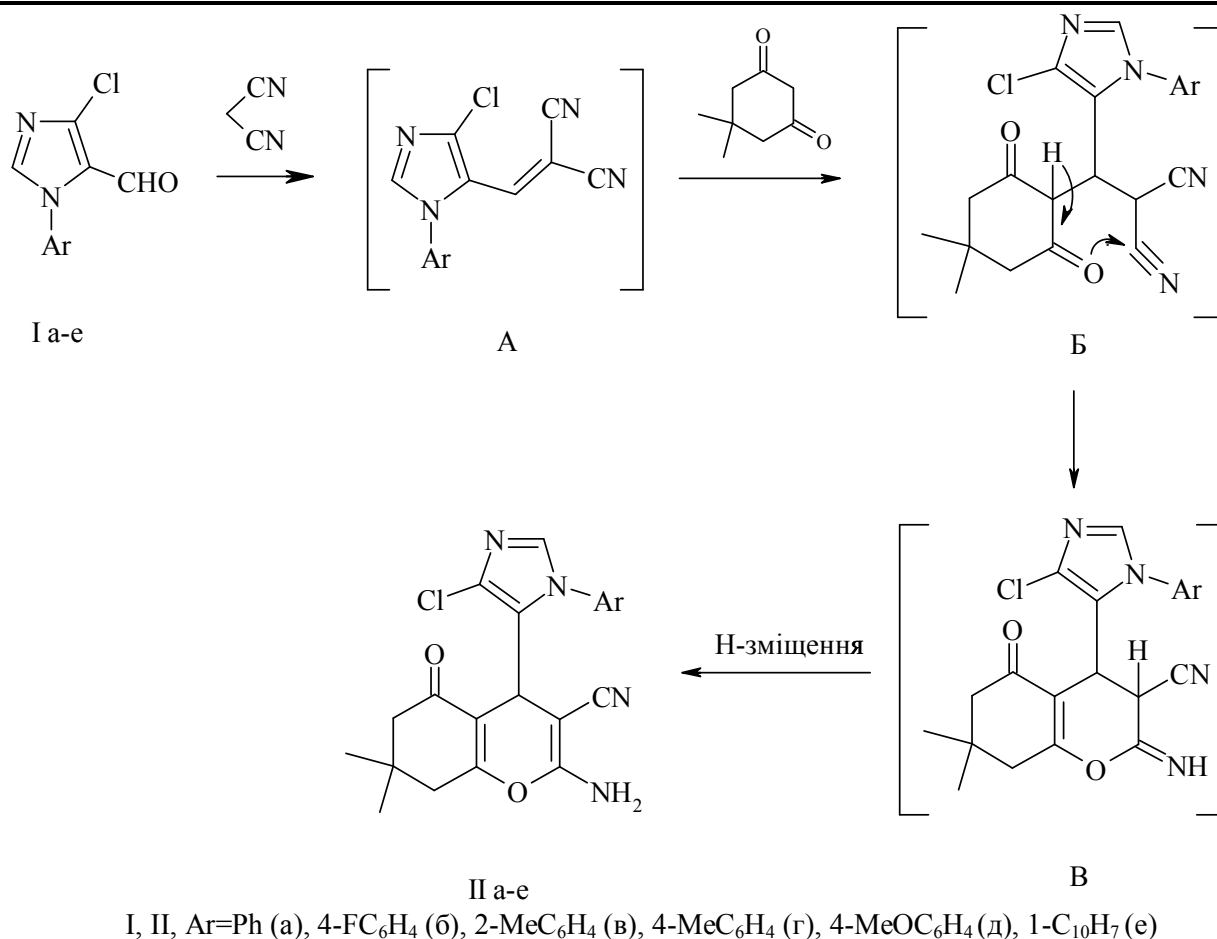
Трикомпонентною конденсацією 4-хлоро-5-формілімідазолів із малонітрилом і димедоном за наявності каталітичних кількостей натрій ацетату синтезовані 2-аміно-4-(4-хлоро-5-імідазоліл)-4Н-хромен-3-карбонітрили. Біоскринінг синтезованих сполук виявив їх високу протимікробну та протигрибкову активність.

Ключові слова: 4-хлоро-5-формілімідазоли, малонітрил, димедон, 2-аміно-4-(4-хлоро-5-імідазоліл)-4Н-хромен-3-карбонітрили, конденсація, протимікробна та протигрибкова активність

Сполуки 4Н-хроменового ряду завдяки широкому діапазону синтетичних та біологічних властивостей [1, 2] належать до об'єктів поглибленого зацікавлення фахівців у галузях органічної та медичної хімії. Зокрема, низка полізаміщених представників даних сполук містить фрагменти, які виявлені в речовинах природного походження [3, 4]. Віднедавна предметом особливої уваги стали 2-аміно-5-оксо-5,6,7,8-тетрагідро-4Н-хромен-3-карбонітрили, як потенційні препарати для лікування нейродегенеративних захворювань [5]. Спектр біологічної дії цього класу сполук був значно розширений введенням у положення 4 хроменового ядра гетероциклічних замісників. Установлено, що похідні 2-аміно-5-оксохромен-3-карбонітрилів, 4-функціоналізовані фурильним [6] фрагментом відзначаються молюскоцидною дією, тієнільним, пірольним [7], піразольним [8, 9], індолільним [10] та хінолінільним [11] ядрами – бактерицидною активністю, кумарильним залишком – антидепресантним ефектом [12]. Не менш важливим видається використання деяких 4-заміщених 2-аміно-3-ціанохроменів у ролі будівельних блоків для одержання біоперспективних конденсованих гетероциклів [13-15].

Загалом, арсенал поліфункціональних похідних хромену може бути значно розширений за рахунок ведення в базовий скафолд нових біофорних гетероциклічних фрагментів, до яких у першу чергу слід віднести залишок 4-хлоро-5-імідазолу [16]. Для практичного розв'язку цієї задачі було досліджено циклоконденсацію 1-арил-4-хлоро-5-формілімідазолів **Ia-e** із малонітрилом і димедоном та досліджені бактерицидні властивості одержаних сполук.

Знайдено, що нагрівання еквімолярних кількостей указаних реагентів за наявності каталітичної добавки натрій ацетату впродовж 10 год в етанолі при 55-58 °С приводить до 2-аміно-4-(4-хлоро-5-імідазоліл)-4Н-хромен-3-карбонітрилів **IIa-e** із виходами 73-94%. Зазначимо, що вплив просторових параметрів замісників у альдегідах **Ia-e** практично не позначається на селективності перебігу трикомпонентної циклізації. Із урахуванням допущень авторів праць [7,17], найвірогідніше вона здійснюється через первинну стадію утворення продуктів Кневенагеля **A** із наступною реакцією Міхаеля, яка приводить до інтермедіатів **B**, що схильні до циклізації в цільові сполуки **Ia-e** через прототропне зміщення в інтермедіаті **B**.



Будова синтезованих сполук (табл 1-3) узгоджується із результатами вимірів їх спектральних характеристик. Так, в ІЧ спектрах наявні сильноінтенсивні смуги аміногруп (3327-3331 та 3381-3391 см⁻¹), а також нітрильної (2189-2195 см⁻¹), карбонільної (1683-1687 см⁻¹) та алкенільної (1647-1651 см⁻¹) груп. У спектрах ЯМР ¹H сполук (IIa,б,г,д) поряд із синглетами протонів аміногрупи при 7.04-7.17 м.ч. і протонів Н⁴ при 4.14-4.22 м.ч. наявні дублети діастереотопних метиленових протонів в положенні 6 хроменого циклу при 2.09-2.12 м.ч. та 2.16-2.23 м.ч., а також мультиплети метиленових протонів у положенні 8 при 2.29-2.52 м.ч. А сполуки (IIв,е), які містять у положенні 1 імідазольного циклу просторово утруднені 2-метилфенільний та 2-нафтильний замісники, за рахунок загальмованого обертання створюють передумови для виникнення ефекту атропоізомерії і появи осі хіральності. Це приводить до ускладнення спектральної картини: для сполуки (IIв) протони метиленових і метильних груп хроменого циклу прописуються мультиплетами, а для сполуки (IIе) мультиплети характерні для всіх, без винятку, груп протонів.

Формування в процесі циклізації піранового ядра надійно підтверджується спектрами ЯМР

¹³C, які відзначаються наборами характерних сигналів в діапазонах: С²(158-159 м.ч.), С³(53-54 м.ч.), С⁴(25-26 м.ч.), С^{4a}(108-109 м.ч.), С⁵(195-196 м.ч.) та С^{8a}(162-163 м.ч.).

Скринінг протимікробної дії досліджених сполук (табл.4) показав, що більшість із них проявляє мінімальну бактериостатичну активність у концентраціях 65.5 -31.3 мкг/мл, що відповідно у 2-4 рази перевищує дію взятого як тест-об'єкт антибіотичного препарату Лораксон. При цьому найвиразнішим ефектом по відношенню до всіх типів клінічних штамів відзначаються сполуки IIa,б, які у положенні 1 імідазольного циклу містять фенольний або 4-фторофенільний замісники. Фунгістатична дія щодо грибів *S. albicans* 815 сполук IIa-г,е також виявилася високою і сягає рівня 31.3 мкг/мл.

Отримані експериментальні результати доволі обнадійливі для подальшого спрямованого пошуку в ряду 4-імідазолізаміщених похідних 2-аміно-3-ціанохроменів ефективних бактерицидних препаратів

Експериментальна частина

ІЧ-спектри сполук у таблетках КВг записані на прикладі UR-20. Спектри ЯМР

¹H виміряні на прикладі Bruker Avance DRX (500.13 МГц), внутрішній стандарт – ТМС. Хроматомас-спектри одержані на приладі PE SCXAPI 150 EX, детектори UV (250 нм) та ELSOJ.

2-Аміно-4(1-арил-4-хлоро-1H-імідазол-5-іл)-7,7-диметил-5-оксо-5,6,7,8-тетрагідро-4H-хромен-3-карбонітрили (Па-е). До суміші 0.165 г (2.5 ммоль) малононітрилу, 0.35 г (2.5 ммоль) димедону та 0.05 г (0.6 ммоль) ацетату натрію в 5 мл 20%-ного водного етанолу додавали при перемішуванні розчин 2.5 ммоль імідазол-5-карбальдегіду **Ia-e** в 10 мл 20%-ного водного етанолу. Реакційну суміш нагрівали впродовж 10 год при 55-58°C, охолоджували і нейтралізували розведеною хлоридною кислотою до рН 5. Утворений осад відфільтровували, промивали 20%-ним етанолом, сушили і кристалізували із 60%-ного водного етанолу.

Антибактеріальну та протигрибкову активність сполук **Па-е** визначали модифікованим мікрометодом дворазових серійних розведень в одноразових полістиролових 96-лункових планшетах із використанням 8-канального титратора [18]. Для вивчення антимікотичної та протимікробної активності використовували клінічні штами бактерій *S.aureus* 25923, *E.faecalis* 6783, *E. coli* 25922, *B. Subtilis* *P. aeruginosa* 27853 та грибів *C. albicans* 815. Із досліджуваних сполук готували дворазові серійні розведення (від 500мкг/мл до 7,8 мкг/мл). Визначення мінімальної інгібуючої концентрації сполук щодо *S.aureus* 25923 оцінювали після 24 год інкубації, а щодо *C. albicans* 815 – після 48-72 год. Мінімальну бактеріостатичну (МБсК) і мінімальну фунгістатичну (МФсК) концентрації оцінювали за найменшими розведеннями сполуки, за наявності якої відбувалося пригнічення росту тест-культури мікроорганізму.

Висновки

Розроблено препаративно зручний метод синтезу нових 2-аміно-4-(4-хлоро-5-імідазоліл)-4H-хромен-3-карбонітрилів, який передбачає каталітичну трикомпонентну конденсацію 4-хлоро-5-формілімідазолів із малононітрилом та димедоном.

Знайдено, що синтезовані імідазолілітмісні

похідні 2-амінохромен-3-карбонітрилів характеризуються високою протибактеріальною та протигрибковою активністю.

Список літератури

1. Foye W.O. Principi di Chimica Farmaceutica. Padova, Italy: Piccin, 1991. – 416 p.
2. Bonsignore L., Loy G., Secci D., Calignano A. Synthesis and pharmacological activity of 2-oxo-(2H)-1-benzopyran-3-carboxamide derivatives // Eur. J. Med. Chem. – 1993. – Vol. 28. – P. 517-520.
3. Hatakeyama S., Ochi N., Numata H., Takano S. A new route to substituted 3-methoxycarbonyldihydropyrans; enantioselective synthesis of (-)-methyl elenolate // J. Chem. Soc. Chem. Commun. – 1988. – Vol. 17. – P. 1202-1204.
4. Gonzalez R., Martín N., Seoane C et al. The first asymmetric synthesis of polyfunctionalized 4H-pyrans via Michael addition of malononitrile to 2-acyl acrylates // Tetrahedron lett. – 1992. – Vol. 33. – P. 3809-3812.
5. Pat. Int. Appl WO 2000075123 A1. Substituted 5-oxo-5,6,7,8-tetrahydro-4h-1-benzopyrans and benzothiopyrans and the use thereof as potentiators of AMPA / Konkoy C.S., Fick D.B., Cai S.X. et al. (15.08.2000) // Chem. Abstr. – 2001. – Vol. 134. – 29313a.
6. Abdelrazek F.M., Metz P, Kataeva O. et al. Synthesis and molluscicidal activity of new chromene and pyrano[2,3-c]pyrazole derivatives // Arch. Pharm. – 2007. – Vol. 340, № 10. – P. 543-548.
7. Paliwal P.K., Jetli S.R., Jain S. Green approach towards the facile synthesis of dihydropyrano(c)chromene and pyrano[2,3-d]pyrimidine derivatives and their biological evaluation // Med. Chem. Res. – 2013. – Vol. 22. – P. 2984-2990.
8. Sangani C.B., Shah N.M., Patel M.P., Patel R.G. Microwave-assisted synthesis of novel 4H-chromene derivatives bearing phenoxy pyrazole and their antimicrobial activity assessment // J. Serb. Chem. Soc. – 2012. – Vol. 77, № 9. – P. 1165-1174.
9. Kalaria P.N., Satasia S.P., Raval D.K. Synthesis, characterization and biological screening of novel 5-imidazopyrazole incorporated fused pyran motifs under microwave irradiation // New J. Chem. – 2014. – Vol. 38, № 4. – P. 1512-1521.
10. Kathrotiya H.G., Patel M.P. Microwave-assisted synthesis of 3'-indolyl substituted 4H-chromenes catalyzed by DMAP and their antimicrobial activity // Med. Chem. Res. –

2012. – Vol. 21. – P. 3406–3416.
11. Sangani C.B., Shah N.M., Patel M.P., Patel R.G. Microwave-assisted synthesis of novel 4H-chromene derivatives bearing 2-aryloxyquinoline and their antimicrobial activity assessment // *Med. Chem. Res.* – 2013. – Vol. 22. – P. 3831-3842.
 12. Sashidhara K.V., Modukuri R.K., Singh S. et al. Design and synthesis of new series of coumarin-aminopyran derivatives possessing potential anti-depressant-like activity // *Bioorg. Med. Chem. Let.* – 2015. – Vol. 25. – P. 337-341.
 13. Wamhoff H., Kroth E., Strauch C. Dihalogentriphenylphosphorane in der heterocyclensynthese; 27 1 : Heterokondensierte 1,2,4-triazolo[1,5-c]pyrimidine aus enamionitrilen via O-ethylformimide // *Synthesis* – 1993. – Vol. 11. – P. 1129-1132.
 14. Wang Z.-X., Li B., Xing Z. et al. Synthesis of novel 9,9-dimethyl-8,12-dihydro-9H-chromeno[3,2-e][1,2,4]triazolo[1,5-c]pyrimidin-11(10H)-one derivatives // *J. Chem. Res.(S)*. – 2014.– Vol. 38, № 8. – P. 480-485.
 15. Marco-Contelles J., Leon R., Ríos C. et al. New multipotent tetracyclic tacrines with neuroprotective activity // *Bioorg. Med. Chem.* – 2006. – Vol. 14. – P. 8176–8185
 16. Черноус В.А., Грозав А.Н., Вовк М.В. Химия и биологическая активность азолов. Ред. В. Броварец и В. Зебров. LAP Lambert Acad. Publ. – 2014. – P. 75-101.
 17. Kumar D., Reddy V.B., Sharad S. at al. A facile one-pot green synthesis and antibacterial activity of 2-amino-4H-pyrans and 2-amino-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydro-4H-chromenes // *Eur. J. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 44. – P. 3805–3809.
 18. Лабинская А.С., Блинкова Л.П., Ешхина А.С. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований. Москва: Медицина - 2010.

Таблица 1

Характеристики сполук **IIa-e**

Сполука	Формула	[M+1] ⁺	Знайдено, % Вирахувано, %			T _{топл.} , °C	Вихід, %
			C	H	N		
IIa	C ₂₁ H ₁₉ ClN ₄ O ₂	395	<u>64.15</u> 63.88	<u>4.71</u> 4.85	<u>13.95</u> 14.19	259-261	73
IIб	C ₂₁ H ₁₈ ClFN ₄ O ₂	413	<u>61.34</u> 61.10	<u>4.50</u> 4.39	<u>13.42</u> 13.57	274-276	88
IIв	C ₂₂ H ₂₁ ClN ₄ O ₂	409	<u>64.81</u> 64.62	<u>5.07</u> 5.18	<u>13.79</u> 13.70	230-232	73
IIг	C ₂₂ H ₂₁ ClN ₄ O ₂	409	<u>64.47</u> 64.62	<u>5.03</u> 5.18	<u>13.86</u> 13.70	277-279	79
IIд	C ₂₂ H ₂₁ ClN ₄ O ₃	425	<u>62.21</u> 62.19	<u>4.94</u> 4.98	<u>13.21</u> 13.19	270-272	91
IIe	C ₂₅ H ₂₁ ClN ₄ O ₂	445	<u>67.25</u> 67.49	<u>4.93</u> 4.76	<u>12.74</u> 12.59	191-193	94

Таблица 2

Спектри ІЧ та ЯМР ¹H сполук **IIa-e**

Сполука	ІЧ спектри, ν, см ⁻¹				Спектри ЯМР ¹ H, δ, м.ч. (JГц)
	C=C	C=O	C≡N	NH ₂	
IIa	1650	1686	2194	3329 3387	1.01 с (6H, 2CH ₃), 2.09 д (1H, J 16.0), 2.16 д (1H, J 16.0), 2.35-2.52 м (2H, CH ₂), 4.20 с (1H, H ⁴ _{піран}), 7.17 с (2H, NH ₂), 7.54-7.59 м (5H _{аром.}), 7.70 с (1H, H ² _{імідазол})
IIб	1651	1685	2191	3330 3386	1.01 с (6H, 2CH ₃), 2.12 д (1H, J 15.6), 2.23 д (1H, J 15.6), 2.33-2.48 м (2H, CH ₂), 4.16 с (1H, H ⁴ _{піран}), 7.12 с (2H, NH ₂), 7.44-7.62 м (4H _{аром.}), 7.71 с (1H, H ² _{імідазол})
IIв	1648	1683	2190	3327 3381	0.94 с, 0.98 с, 1.00 с (6H, 2CH ₃), 2.03-2.26 м (7H, CH ₃ +2CH ₂), 4.22 с (1H, H ⁴ _{піран}), 7.04 с (2H, NH ₂), 7.27-7.48 м (4H _{аром.}), 7.64 с (1H, H ² _{імідазол})
IIг	1651	1687	2195	3331 3392	1.01 с (6H, 2CH ₃), 2.09 д (1H, J 16.0), 2.22 д (1H, J 16.0), 2.29-2.44 м (2H, CH ₂), 2.40 с (3H, CH ₃), 4.17 с (1H, H ⁴ _{піран}), 7.11 с (2H, NH ₂), 7.37-7.42 м (4H _{аром.}), 7.65 с (1H, H ² _{імідазол})
IIд	1650	1685	2193	3328 3391	1.00 с (6H, 2CH ₃), 2.09 д (1H, J 15.2), 2.22 д (1H, J 15.2), 2.33-2.50 м (2H, CH ₂), 3.82 с (3H, CH ₃ O), 4.14 с (1H, H ⁴ _{піран}), 7.08 с (2H, NH ₂), 7.11 д (2H _{аром.} , J7.2), 7.49 ш.с (2H _{аром.}), 7.62 с (1H, H ² _{імідазол})
IIe	1647	1683	2189	3330 3385	0.65-2.14 м (9H, CH ₃ +2CH ₂ +2CH), 4.36-4.49 м (1H, H ⁴ _{піран}), 6.67-6.92 м (2H, NH ₂), 7.34-7.70 м (5H _{аром.}), 7.77 с (1H, H ² _{імідазол}), 8.04-8.17 м (2H _{аром.})

Спектри ЯМР ^{13}C сполук **Па-е**

Сполука	δ , м.ч.														Ar
	CH_3	C^4	C^7	C^8	C^6	C^3	C^{4a}	$\text{C}^{5\text{a}}$	$\text{C}\equiv\text{N}$	$\text{C}^{2\text{a}}$	$\text{C}^{4\text{b}}$	C^2	C^{8a}	C^5	
Па	24.46	26.69	27.98	31.60	49.85	53.88	108.83	119.63	120.53	135.23	128.29	159.90	162.88	196.05	127.06, 129.24, 135.40, 145.86
Пб	24.85	26.67	28.08	31.65	49.85	53.78	108.82	119.61	120.74	135.69	128.17	158.8	163.07	195.44	116.14д ($^2J_{\text{C-F}}$ 27.3Гц), 131.63, 131.65, 162.74 д ($^1J_{\text{C-F}}$ 281.4 Гц)
Пв	24.94	25.11 25.32	27.71	31.67 31.77	49.93 50.06	53.65	108.76 109.16	119.29	120.04	136.19	128.07	158.91 159.19	162.70 163.55	195.55 195.26	17.35, 126.05, 126.39, 126.81, 129.31, 130.96, 135.85
Пг	24.65	25.44	28.24	31.58	49.85	53.88	108.84	119.62	120.57	136.41	128.31	158.88	162.85	196.00	20.18, 127.11, 129.77, 132.86, 138.78
Пд	24.78	26.79	28.22	31.56	49.87	53.95	108.86	119.43	119.57	136.20	128.48	158.84	162.80	195.98	15.37, 114.76, 126.20, 127.97, 159.57
Пе	24.91 25.59	26.08 26.29	28.31	31.27 31.65	49.44 49.87	54.96	108.48	119.79	119.03	137.10	128.15	158.71	162.50	195.47	125.47, 126.34, 126.71, 127.25, 129.71, 130.23, 131.29, 131.54, 133.47, 133.76

Таблиця 4

Антибактеріальна та протигрибкова активність сполук **Па-е**

Сполука	Тест-культури мікроорганізмів											
	<i>S. aureus</i> 25923		<i>E. faecalis</i> 6783		<i>E. coli</i> 25922		<i>B. subtilis</i>		<i>P. aeruginosa</i> 27853		<i>C. albicans</i> 815	
	Концентрація препаратів (в мкг/мл)											
	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МФсК	МФцК
Па	62,5	125	31,3	62,5	31,3	62,5	31,3	62,5	62,5	125	31,3	62,5
Пб	62,5	125	62,5	125	31,3	62,5	62,5	125	62,5	125	31,3	62,5
Пв	62,5	125	31,3	62,5	62,5	125	31,3	62,5	62,5	125	31,3	62,5
Пг	250	500	62,5	125	31,3	62,5	62,5	125	62,5	125	31,3	62,5
Пд	250	500	62,5	125	62,5	125	62,5	125	62,5	125	62,5	125
Пе	62,5	125	31,3	62,5	31,3	62,5	31,3	62,5	62,5	125	31,3	62,5
Лораксон	62,5	125	62,5	125	62,5	125	62,5	125	125	250	-	-

Summary

Mel'nyk O.Ya., Chornous V.O., Yakovychuk N.D., Vovk M. V.

SYNTHESIS, ANTIMICROBIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITY OF 4-(4-CHLORO-5-IMIDAZOLYL)SUBSTITUTED 2-AMINO-4H-CHROMEN-3-CARBONITRILES

2-Amino-4-(4-chloro-5-imidazolyl)-4H-chromen-3-carbonitriles were obtained by three component cyclization of 4-chloro-5-formylimidazoles with malononitrile and dimedone in the presence of catalytic amounts of sodium acetate. The bioscreening of synthesized compounds shown their high antimicrobial and antifungal activity.

Key words: 4-chloro-5-formylimidazoles, malononitrile, dimedone, 2-Amino-4-(4-chloro-5-imidazolyl)-4H-chromen-3-carbonitriles, condensation, antimicrobial and antifungal activity. УДК 541.183:622.33 + 622.693