

© 2013 Ташук К.Г., Братенко М.К., Черноус В.О.

Буковинський державний медичний університет, Чернівці

СИНТЕЗ І БАКТЕРИЦИДНА АКТИВНІСТЬ ТІОСЕМІКАРБАЗОНІВ ПІРАЗОЛ-4-КАРБАЛЬДЕГІДІВ

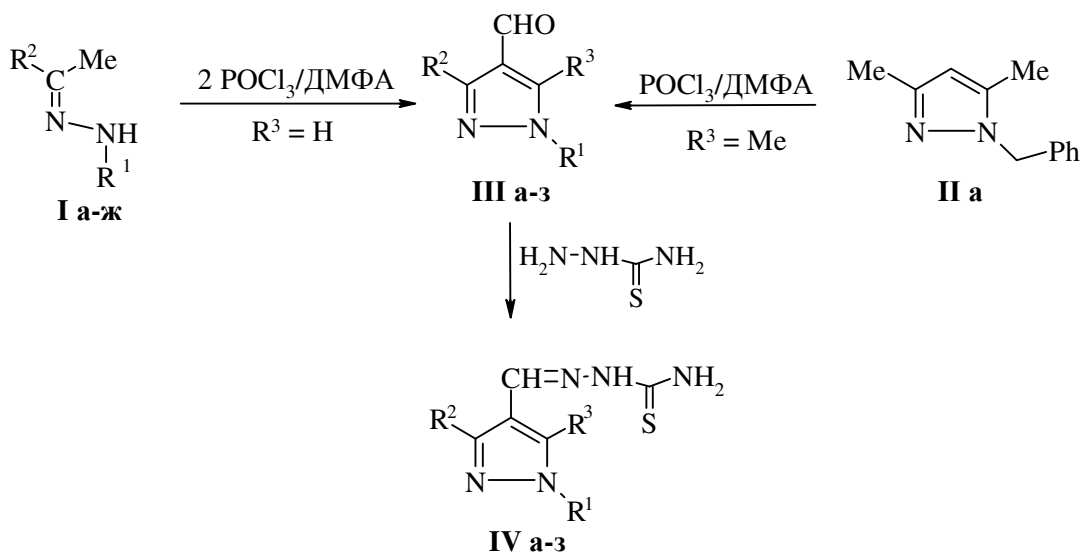
При взаємодії семікарбазонів та гідразонів метилкетонів з реагентом Вільсмейєра-Хаака синтезовано нові типи 1,3,5-заміщених піразол-4-карбальдегідів, конденсація яких з тіосемікарбазидом приводить до утворення тіосемікарбазонів з помірною бактерицидною активністю.

Ключові слова: 4-формілпіразоли, тіосемікарбазони, бактерицидна активність.

4-Карбофункціоналізовані похідні піразолу належать до класу гетероциклічних нітрогеновмісних сполук з широким спектром біологічної дії [1]. Серед них знайдено речовини з гербіцидною [2, 3], гіпоглікемічною [4], протизапальною [5, 6], мембраностабілізуючою [7] активністю. Особливу зацікавленість викликають системи з $\text{CH}=\text{N}$ зв'язком у положенні 4 піразольного циклу. Зокрема, в ряду тіосемікарбазонів та азинів 1-ціанетил-3-арилпіразол-4-карбальдегідів виявлено ряд сполук [8, 9] з вираженою антимікробною та протигрибковою дією. Встановлено, що бактерицидна дія досліджуваних сполук суттєво залежить від типу замісника в азиновому фрагменті. Разом з тим, вплив замісників у піразольному циклі на біологічну активність таких систем практично не досліджувався.

З метою вивчення залежності бактерицидної дії тіосемікарбазонів 4-формілпіразо-

лів від характеру замісників у положенні 1, 3 та 5 піразольного циклу нами синтезовано серію сполук (IV a-з). Вихідні 1,3,5-тризаміщені 4-формілпіразоли отримані за удосконаленим методом, розробленим Братенком М.К. та співробітниками [10], який полягає у формілюванні гідразонів або семікарбазонів метилкетонів подвійною кількістю реагента Вільсмейєра-Хаака з наступним замиканням піразольного циклу та одночасним введенням формільної групи в положення 4 ядра. Сполука (III e) отримана безпосереднім формілюванням 1-бензил-3,5-диметилпіразолу комплексом $\text{POCl}_3/\text{DMFA}$ у розчині диметилформаміду (ДМФА). Конденсацією альдегідів (III a-з) з тіосемікарбазидом при 2-х годинному кип'ятінні в етанолі у присутності каталітичних кількостей оцтової кислоти з виходом 88-94% отримано відповідні тіосемікарбазони (IV a-з).



I, $\text{R}^1 = \text{H}$, $\text{R}^2 = \text{Me}$ (а); $\text{R}^2 = 4\text{-MeC}_6\text{H}_4$ (б); $\text{R}^2 = 2\text{-тієніл}$ (в); $\text{R}^1 = \text{Me}$, $\text{R}^2 = 3\text{-піридил}$ (г); $\text{R}^2 = 4\text{-піридил}$ (д); $\text{R}^1 = \text{Bn}$, $\text{R}^2 = i\text{-Pr}$ (е); $\text{R}^1 = \text{Ph}$, $\text{R}^2 = i\text{-Pr}$, (є); $\text{R}^1 = 4\text{-ClC}_6\text{H}_4$, $\text{R}^2 = i\text{-Pr}$, (ж).

III, **IV**, $\text{R}^1, \text{R}^3 = \text{H}$, $\text{R}^2 = \text{Me}$ (а); $\text{R}^2 = 4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ (б); $\text{R}^2 = 2\text{-тієніл}$ (в); $\text{R}^1 = \text{Me}$, $\text{R}^3 = \text{H}$, $\text{R}^2 = 3\text{-піридил}$ (г); $\text{R}^2 = 4\text{-піридил}$ (д); $\text{R}^1 = \text{Bn}$, $\text{R}^2 = i\text{-Pr}$, $\text{R}^3 = \text{H}$ (е); $\text{R}^1 = \text{Bn}$, $\text{R}^2, \text{R}^3 = \text{Me}$ (є); $\text{R}^1 = \text{Ph}$, $\text{R}^2 = i\text{-Pr}$, $\text{R}^3 = \text{H}$ (ж); $\text{R}^1 = 4\text{-ClC}_6\text{H}_4$, $\text{R}^2 = \text{Me}$, $\text{R}^3 = \text{H}$ (з).

Альдегіди (**III а-з**) - білі або світло-жовті кристалічні низькоплавкі речовини, добре розчинні у етанолі, оцтовій кислоті та інших полярних органічних розчинниках. Їх склад підтверджено результатами кількісного елементного аналізу, а будова - даними ІЧ- та ЯМР¹H-спектрів. В ІЧ-спектрах сполук (**III а-з**) спостерігаються характеристичні смуги поглинання груп СН=О та N-H (для сполук **III а-в**) в області 1710-1715 та 3245-3250 см⁻¹ відповідно. У спектрах ЯМР¹H присутні сигнали протону альдегідної групи (8.99-9.10 м.ч.) та протону в положенні 5 піразольного циклу (8.10-8.21 м.ч.).

Тіосемікарбазони (**IV а-з**) – жовті кристалічні речовини з високими температурами топлення, погано розчинні у воді та більшості органічних розчинників. Їх склад і структура узгоджуються з результатами вимірів ІЧ та хромато-мас спектрів. Зокрема ІЧ спектри характеризуються смугами поглинання груп С=N (1660-1670 см⁻¹) і N-H (3260-3350 см⁻¹).

Експериментальна хімічна частина

ІЧ спектри сполук у КВг записані на приладі UR-20. Спектри ЯМР¹H в ДМСО-d₆ виміряні на спектрометрі Bruker Avance DRX-500 (500.13 і 125.75 МГц відповідно), внутрішній стандарт – ТМС.

1-Н(Алкіл, арил)-3-алкіл(арил)піразол-4-карбальдегіди (III а-з). До 20мл сухого ДМФА при перемішуванні і охолодженні (0-5°C) прикапували 3,1г (0,02 моль) РОСІ₃. Після завершення процедури, при цій же температурі до реакційної суміші порціями додавали 3,1г (0,01 моль) відповідного семікарбазону (**I а-г**), гідазону (**I д-з**), або піразолу (**II а**). Через 20 хв. суміш нагрівали до 60°C і перемішували 2год. (у випадку сполуки (**II а**) нагрівання продовжували 6 годин). Після завершення нагрівання реакційну суміш виливали у 100мл холодної води, нейтралізували содою, твердий продукт відфільтровували, сушили і кристалізували із етанолу. У випадку сполуки (**III е**) олієподібний продукт після нейтралізації екстрагувати метиленхлоридом, сушили і переганяли у вакуумі.

3-Метил-1Н-піразол-4-карбальдегід (III а). Вихід 67 %, т.пл. 117-118°C. ІЧ спектр, см⁻¹: 1715 (С=О), 3250 (NH). Спектр ЯМР¹H, δ, м.д.: 2,73 с (3H, CH₃), 8,04 с (1H, H⁵), 9,05с (1H, CHO), 13,3 с (1H, NH). Знайдено, %: С 54,59; Н 5,40; N 25,39. С₅H₆N₂O. Вираховано, %: С 54,54; Н 5,49; N 25,44.

3-(4-Метилфеніл)-1Н-піразол-4-карбальдегід (III б). Вихід 75 %, т.пл. 125-126°C. ІЧ спектр, см⁻¹: 1710 (С=О), 3245 (NH). Спектр ЯМР¹H, δ, м.д.: 2,36 с (3H, CH₃), 7,58-7,90м (4H_{аром.}), 8,15 с (1H, H⁵), 9,01с (1H, CHO), 13,8 с (1H, NH). Знайдено, %: С 70,83; Н 5,37; N 15,09. С₁₁H₁₀N₂O. Вираховано, %: С 70,95; Н 5,41; N 15,04.

3-(Тієніл-2)-1Н-піразол-4-карбальдегід (III в). Вихід 71 %, т.пл. 123-124°C. ІЧ спектр, см⁻¹: 1715 (С=О), 3245 (NH). Спектр ЯМР¹H, δ, м.д.: 7,61-8,14м (3H_{тієніл.}), 8,10 с (1H, H⁵), 9,04с (1H, CHO), 13,2 с (1H, NH). Знайдено, %: С 53,85; Н 3,41; N 15,78. С₈H₆N₂OS. Вираховано, %: С 53,92; Н 3,39; N 15,72.

1-Метил-3-(піридил-3)-1Н-піразол-4-карбальдегід (III г). Вихід 68 %, т.пл. 80-81°C. ІЧ спектр, см⁻¹: 1715 (С=О). Спектр ЯМР¹H, δ, м.д.: 3,66с (3H, CH₃) 7,43-8,33м (3H_{піридил.}), 7,95с (1H_{піридил.}), 8,18с (1H, H⁵), 9,10с (1H, CHO). Знайдено, %: С 64,21; Н 4,88; N 22,38. С₁₀H₉N₃O. Вираховано, %: С 64,16; Н 4,85; N 22,45.

1-Метил-3-(піридил-4)-1Н-піразол-4-карбальдегід (III д). Вихід 61 %, т.пл. 138-139°C. ІЧ спектр, см⁻¹: 1715 (С=О). Спектр ЯМР¹H, δ, м.д.: 3,65с (3H, CH₃) 7,49-8,56м (4H_{піридил.}), 8,20с (1H, H⁵), 9,09с (1H, CHO). Знайдено, %: С 64,20; Н 4,84; N 22,39. С₁₀H₉N₃O. Вираховано, %: С 64,16; Н 4,85; N 22,45.

1-Бензил-3-ізопропіл-1Н-піразол-4-карбальдегід (III е). Вихід 76 %, олієподібна речовина, т.кип. 172-174°C/5мм.рт.ст. ІЧ спектр, см⁻¹: 1710 (С=О). Спектр ЯМР¹H, δ, м.д.: 1,26с (6H, CH₃), 3,64-3,74м (1H, CH), 5,15с (2H, CH₂), 6,99-7,52м (5H_{аром.}), 8,21с (1H, H⁵), 9,02с (1H, CHO). Знайдено, %: С 73,59; Н 7,10; N 12,19. С₁₄H₁₆N₂O. Вираховано, %: С 73,66; Н 7,06; N 12,27.

1-Бензил-3,5-диметил-1Н-піразол-4-карбальдегід (III є). Вихід 81 %, т.пл. 78-79°C. ІЧ спектр, см⁻¹: 1710 (С=О). Спектр ЯМР¹H, δ, м.д.: 2,52с (3H, CH₃), 2,56с (3H, CH₃), 5,10с (2H, CH₂), 6,99-7,52м (5H_{аром.}), 8,99с (1H, CHO). Знайдено, %: С 72,81; Н 6,61; N 13,01. С₁₃H₁₄N₂O. Вираховано, %: С 72,87; Н 6,59; N 13,07.

1-Феніл-3-ізопропіл-1Н-піразол-4-карбальдегід (III ж). Вихід 76 %, т.пл. 121-122°C. ІЧ спектр, см⁻¹: 1715 (С=О). Спектр ЯМР¹H, δ, м.д.: 1,27с (6H, CH₃), 3,62-3,72м (1H, CH), 6,91-7,50м (5H_{аром.}), 8,20с (1H, H⁵), 9,03с (1H, CHO). Знайдено, %: С 72,80; Н

6.62; N 13.12. $C_{13}H_{14}N_2O$. Вирахувано, %: C 72.87; H 6.59; N 13.07.

1-(4-Хлорофеніл)-3-метил-1H-піразол-4-карбальдегід (III з). Вихід 77 %, т.пл. 119-120°C. ІЧ спектр, cm^{-1} : 1715 (C=O). Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 1.28с (3H, CH_3), 6.95-7.52м (4H_{аром.}), 8.21с (1H, H^5), 9.03с (1H, CHO). Знайдено, %: C 59.80; H 4.14; N 12.65. $C_{11}H_9ClN_2O$. Вирахувано, %: C 59.88; H 4.11; N 12.70.

Тіосемікарбазони 1-H-(Алкіл,арил)-3-алкіл(арил)піразол-4-карбальдегідів (IV а-з). До розчину (0,005 моль) відповідного альдегіду (II а-є) у 5мл 70% оцтової кислоти додавали 0,47г (0,0052 моль) тіосемікарбазону. Отриману суміш кип'ятили 2 год. Осад, що утворився після охолодження, фільтрували, промивали водою, сушили на повітрі.

Тіосемікарбазон 3-метил-1H-піразол-4-карбальдегіду (IV а). Вихід 88 %, т.пл. 237-238°C. ІЧ спектр, cm^{-1} : 1665 (C=N), 3250-3325 (NH). Масс-спектр $[M+1]^+$ 167.

Тіосемікарбазон 3-(4-метилфеніл)-1H-піразол-4-карбальдегіду (IV б). Вихід 94%, т.пл. >250°C. ІЧ спектр, cm^{-1} : 1660 (C=N), 3250-3320 (NH). Масс-спектр $[M+1]^+$ 243.

Тіосемікарбазон 3-(тісніл-2)-1H-піразол-4-карбальдегіду (IV в). Вихід 92%, т.пл. 247-248°C. ІЧ спектр, cm^{-1} : 1670 (C=N), 3255-3320 (NH). Масс-спектр $[M+1]^+$ 235.

Тіосемікарбазон 1-метил-3-(піридил-3)-1H-піразол-4-карбальдегіду (IV г). Вихід 90%, т.пл. 228-229°C. ІЧ спектр, cm^{-1} : 1670 (C=N), 3255-3325 (NH). Масс-спектр $[M+1]^+$ 260.

Тіосемікарбазон 1-метил-3-(піридил-4)-1H-піразол-4-карбальдегіду (IV д). Вихід 89%, т.пл. 207-208°C. ІЧ спектр, cm^{-1} : 1660 (C=N), 3255-3320 (NH). Масс-спектр $[M+1]^+$ 260.

Тіосемікарбазон 1-бензил-3-ізопропіл-1H-піразол-4-карбальдегіду (IV е). Вихід 90%, т.пл. 179-180°C. ІЧ спектр, cm^{-1} : 1665 (C=N), 3250-3325 (NH). Масс-спектр $[M+1]^+$ 301.

Тіосемікарбазон 1-бензил-3,5-диметил-1H-піразол-4-карбальдегіду (IV є). Вихід 92%, т.пл. 249-250°C. ІЧ спектр, cm^{-1} : 1670 (C=N), 3250-3320 (NH). Масс-спектр $[M+1]^+$ 287.

Тіосемікарбазон 1-феніл-3-ізопропіл-1H-піразол-4-карбальдегіду (IV ж). Вихід 90%,

т.пл. 206-207°C. ІЧ спектр, cm^{-1} : 1670 (C=N), 3250-3325 (NH). Масс-спектр $[M+1]^+$ 287.

Тіосемікарбазон 1-(4-хлорофеніл)-3-метил-1H-піразол-4-карбальдегіду (IV з). Вихід 89%, т.пл. 219-220°C. ІЧ спектр, cm^{-1} : 1660 (C=N), 3250-3320 (NH). Масс-спектр $[M+1]^+$ 294.

Експериментальна біологічна частина

Протимікробну та протигрибкову активність синтезованих сполук оцінювали за мінімальними бактериостатичною (МБсК), бактерицидною (МБцК), фунгістатичною (МФсК) та фунгіцидною (МФцК) концентраціями відповідно по відношенню до еталонних штамів *S.aureus* 209, *E.coli* 055, *B.subtilis* 6633, *B.anthracaides* 297, *C.albicans* за методом [11].

Мінімальну бактериостатичну концентрацію визначали методом серійних подвійних розведень у рідкому оптимальному живильному середовищі. Бактерицидну концентрацію встановлювали шляхом висіву бактериологічною петлею із пробірок, де був відсутній видимий ріст відповідного мікроорганізму, на сектори чашки Петрі з оптимальним твердим живильним середовищем.

Результати досліджень показали, що сполуки (IV а-з), в діапазоні концентрацій 1-10 ммоль/л, мають широкий спектр протимікробної та протигрибкової дії. Встановлено, що на величину антимікробної активності в більшій мірі впливає характер замісника в положенні 1 піразольного циклу ніж у положенні 3. Зокрема для сполук (IV а-в), незаміщених в положенні 1 піразольного циклу, мінімальна бактериостатична концентрація становить 1.25-2.50 ммоль/л. Такі ж результати отримані і для сполуки (IV з) з 4-хлорофенільним замісником. У випадку інших замісників протимікробна активність зменшується у 2-5 разів. Характерно, що протигрибкова активність досліджуваних сполук у 1,5-2 рази менша ніж бактерицидна.

Висновки

1. Розроблено препаративні методи синтезу нових тіосемікарбазонів 1,3,4-тризаміщених піразол-4-карбальдегідів.
2. Отримані результати біологічних досліджень свідчать про перспективність пошуку в ряду синтезованих сполук нових бактерицидних та протигрибкових препаратів.

Результати вивчення бактерицидної активності синтезованих сполук (IV а-з)

№ сполуки	Тест-культури мікроорганізмів									
	S.aureus 209		E.coli 055		B.subtilis 6633		B.anthracidis 297		C.albicans	
	Концентрація препаратів (в ммоль/л)									
	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК	МФсК	МФцК
IVа	1.25	2.5	1.25	2.5	2.5	5.0	5.0	>10	5.0	>10
IVб	1.25	2.5	2.5	5.0	2.5	5.0	5.0	>10	5.0	>10
IVв	1.25	2.5	1.25	2.5	1.25	5.0	5.0	>10	5.0	>10
IVг	2.5	5.0	5.0	>10	5.0	>10	5.0	>10	5.0	>10
IVд	1.25	2.5	5.0	>10	5.0	>10	5.0	>10	5.0	>10
IVе	2.5	5.0	5.0	>10	5.0	>10	5.0	>10	5.0	>10
IVє	2.5	5.0	2.5	5.0	5.0	>10	5.0	>10	5.0	>10
IVж	2.5	5.0	5.0	>10	5.0	>10	5.0	>10	5.0	>10
IVз	1.25	2.5	1.25	2.5	1.25	5.0	5.0	>10	5.0	>10
Фурацилін	0.625	1.25	0.625	1.25	1.25	2.5	1.25	2.5	1.25	2.5

Список літератури

- Vovk M.V., Bratenko M.K., Chornous V.A. 4-Functionally substituted pyrazoles. – Chernivtsi: Prut, 2008. – 286p.
- Pat. 24589. Japan. Preparation of pyrazole derivatives as herbicides / K.Marimoto, T.Ogura, T.Nagooka, H. (15.08.1996) // C.A. – 1996. – Vol.125. – 247809x.
- Pat. 4230481. USA. Pyrazole derivatives useful a herbicidal component / R.Nishijama, Kimura, T.Haga et al. (28.10.1980) // РЖХИМ. – 1981. – 130349П.
- Synthesis and hypoglycemic evaluation of substituted pyrazole-4-carboxylic acids / V.Cottineau, P.Toto, Ch.Marot et al. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2002. – №12. – P.2105-2108.
- Pat. 200498590 USA. Preparation of 4-brom-5-(2-chlorobenzoylamino)-1H-pyrazole -3-carboxylic acid [1-(aminocarbonyl) ethyl]-amide derivatives and related compounds as bradikinin B1-receptor antagonists for the treatment of inflammatory diseases / J.S.Tung, A.W.Garofalo, M.A.Pfeiss et al. (18.10.2004) // C.A. – 2004. – Vol.141. – 424184t.
- Desing and synthesis of some substituted 1H-pyrazolilthiazolo[4,5-d]pyrimidines as antiinflammatory and antimicrobial agents / A.A.Bekhit, H.T.Y.Fahmy, S.A.F.Rostom, A.M.Baraka // Eur. J. Med. Chem. – 2003. – Vol.38, №1. – P.27-36.
- Synthesis, membrane stabilizing and bactericidal activity of quaternary salts of N, N-dimethyl-N-(pyrazol-4-yl)methylamines / V.O. Chornous, O.I. Panimarchuk, M.K. Bratenko, I.P. Burdenyuk, F. Meschyshen, M.V. Vovk // J. Org. Pharm. Chem. 2007. – Vol. 5, № 3 (19). - P. 16-21.
- Synthesis, antimicrobial and antifungal activity of hydrazones and azines 1-phenyl-3-R-4-formylpyrazoles / M.K. Bratenko, M.V. Vovk, I.I. Sydorhuk // Pharm. Journal. - 1999. - № 1. - P. 68-71.
- Fanghaly A.A., Bekhit A.A., Park J.Y. Design and synthesis of some oxadiazolyl, thiadiazolyl, thiazolidinyl and thiazolyl derivatives of 1H-pyrazoles as antiinflammatory antimicrobial agents // Arch. Pharm. – 2000. – Bd.333, №2-3. – P.53-57.
- Bratenko MK, Chernyuk I.N., Vovk M.V. 4-Functionally substituted 3-heterylpyrazoles. I. 3-Hetero-4-formylpyrazoles. // J. Org. chem. – 1997. – Vol. 33, №.9. – P.1368-1370.
- Pershyn G.N. Methods of experimental chemoterapii. – M., 1959. – P. 109-111.

Summary

Taschuk K.G., Bratenko M.K., Chornous V.O.

SYNTHESIS AND BACTERICIDAL ACTIVITY THIOSEMICARBAZONES PYRAZOLE-4-CARBALDEHYDES

New thiosemicarbazones pyrazole-4-carbaldehydes have been synthesized by the condensation of pyrazole-4-carbaldehydes with thiosemicarbazide. Has been investigated antimicrobic and antifungal activity the obtained substances.