

УДК: 547.583.5'261:547.814:547.391'26

СИНТЕЗ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ І АНТИМІКОТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ 3-ЗАМІЩЕНИХ N-АРИЛ-3,4-ДИГІДРОІЗОХІНОЛОНІВ

В. Туриця¹, О. Метик¹, О. Бліндер² П. Ягодинець³

¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Кирила і Мефодія, 6, 79005 Львів, Україна,
e-mail: victorturytsya@ukr.net

² Інститут екогігієни і токсикології імені Л.І. Медведя,
вул. Коцюбинського, 30, 58022 Чернівці, Україна

³ Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
вул., Лесі Українки, 25, 58012 Чернівці, Україна

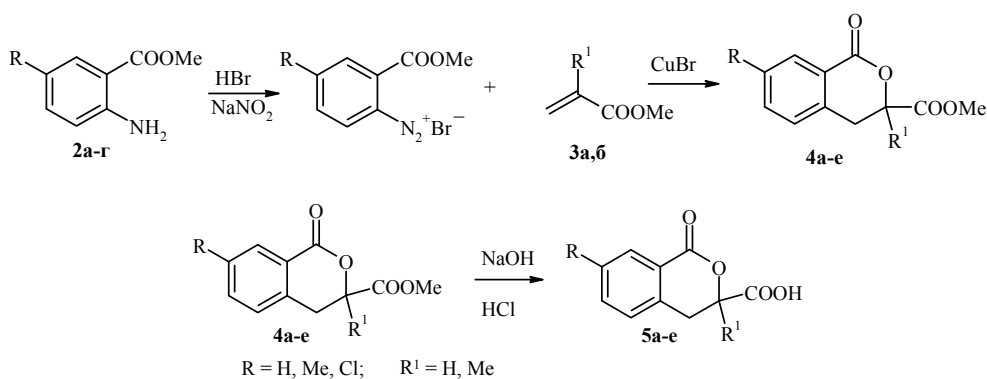
Реакцією ненасичених сполук з арендіазоній бромідами на основі антранілових кислот та їхніх естерів одержано низку заміщених 3,4-дигідроізокумаринів та відповідних ізохінолонів. Виконано *in vitro* дослідження антибактеріальної та антимікотичної активностей. Знайдено кілька сполук, які надалі можна використовувати як сполуки-лідери.

Ключові слова: інтрамолекулярна циклізація, похідні ізокумарину, ізохінолони, арилювання, антранілова кислота.

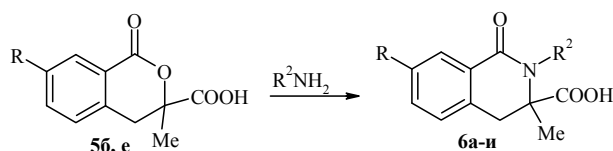
Ізохінолони – важливий клас органічних сполук, багато представників яких належать до алкалоїдів [1–3]. Будова ізохінолонового ядра, яка нагадує жорстко фіксований каркас фенілвісних амінокислот, надає йому біоміметичних властивостей [4]. Серед похідних 1-ізохінолону знайдено сполуки, які виявляють антидепресивну, протизапальну, анальгетичну гіполіпідемічну, аналептичну дію. Також 1-ізохінолони є інгібіторами біосинтезу холестерину, засобами для лікування виразки шлунка та захворювань судин головного мозку. Вони можуть також діяти на центральну нервову систему [5].

Як відомо, синтетичними попередниками ізохінолонів є ізокумарини [6, 7]. Це пояснюють легкістю заміни ендоециклічного атома кисню на відповідний амінний залишок.

Тому нашою метою було за розробленою раніше методикою [8], отримати ряд 3,4-дигідроізокумарин-3-карбонових кислот, які введені в реакцію з ароматичними амінами (анілін, п-толуїдин, п-хлоранілін, стрептоцид, анестизин) в середовищі етанолу. У цьому разі відбувається заміщення ендоециклічного атома кисню аміним фрагментом і утворюються такі сполуки **6**:



5	а	б	в	г	д	е
R	H	H	Me	Me	Cl	Cl
R ¹	H	Me	H	Me	H	Me



R = H, R² = Ph (**6a**); R² = 4-MeC₆H₄ (**6б**); R² = 4-ClC₆H₄ (**6в**); R² = 4-NH₂SO₂C₆H₄ (**6г**); R² = 4-EtOOC₆H₄ (**6д**);
R = Cl, R² = Ph (**6е**); R² = 4-MeC₆H₄ (**6е**); R² = 4-ClC₆H₄ (**6ж**); R² = 4-NH₂SO₂C₆H₄ (**6з**); R² = 4-EtOOC₆H₄ (**6и**)

З огляду на можливості варіювання структури (замісники R, R¹, R²) можна стверджувати, що запропонований метод є зручним для одержання комбінаторних бібліотек ізохінолонів з 3,4-дигідроізокумаринів типу **5**. З можливої бібліотеки 3,4-дигідроізохінолонів ми одержали сполуки **6 а-и**, які дослідили *in vitro* на антибактеріальну та антимікотичну активності.

Як тест-штами використано п'ять штамів бактерій та два штами мікроскопічних грибків:

- 1) *S. typhimurium* 4414;
- 2) *P. mirabilis* 410;
- 3) *S. aureus* ATCC № 25 923;
- 4) *P. aeruginosa* ATCC № 27 853;
- 5) *B. subtilis* ATCC № 6 633;
- 6) *C. albicans*;
- 7) *S. cerevisiae* 61.

Штами 1 і 2 належать до родини ентеробактерій і можуть викликати інфекційні захворювання шлунково-кишкового тракту людини. Золотистий стафілокок (штам 3) часто є причиною гнійно-запальних захворювань. На відміну від попередніх штамів, які є грамнегативними, він належить до грампозитивних бактерій. Псевдомонади (штам 4) часто трапляються в навколишньому середовищі, проте можуть спричинити захворювання у імуноскомпрометованих людей. Штам 5 є сапрофітом, який не завдає

шкоди здоров'ю людини. Однак він здатний утворювати спори, як і деякі високопатогенні для людини бактерії. Штами 6 і 7 належать до мікроскопічних грибків. Кандиди (6) є патогенними для людини, а сахароміцети (7) належать до "істинних" грибів і не патогенні.

Отримані дані антибактеріальної та антимікотичної активності наведені у таблиці.

Антибактеріальна та антимікотична активність деяких речовин

Речовина	1	2	3	4	5	6	7
6 а	н/а	н/а	н/а	500	н/а	н/а	н/а
6 б	н/а	н/а	н/а	500	н/а	500	н/а
6 в	н/а	н/а	н/а	500	н/а	н/а	н/а
6 г	н/а	500	125	31,3	250	500	н/а
6 д	н/а	500	н/а	500	н/а	500	н/а
6 е	н/а	500	500	500	500	500	н/а
6 є	н/а	н/а	н/а	500	н/а	500	н/а
6 ж	500	н/а	500	500	н/а	500	н/а
6 з	500	500	125	15,6	250	500	н/а
6 и	н/а	500	500	500	500	250	н/а

Штам 1 – *S.typhimurium* 4414; штам 2 – *P.mirabilis* 410; штам 3 – *S.aureus* ATCC № 25 923; штам 4 – *P.aeruginosa* ATCC № 27 853; штам 5 – *B.subtilis* ATCC № 6 633; штам 6 – *C.albicans*; штам 7 – *S.cerevisiae* 61.

н/а – речовина не виявила дії у найвищій застосованій концентрації – 500 мкг/мл.

Цифри в таблиці означають найнижчу концентрацію речовини (мкг/мл), яка повністю пригнітила ріст тест-штаму, тобто виявила як мінімум бактеріо- або мікостатичну дію.

Загалом досліджені речовини мають невисоку антибактеріальну та антимікотичну активність. Однак сполука **6 з** виявила достатню активність. Різною мірою вона впливала майже на всі тест-штами, за винятком істинних грибів – сахароміцетів. Вона є перспективною як хімотерапевтичний засіб проти синьогнійної палички. Найчутливішою до дії вивчених речовин виявилась саме *P.aeruginosa* ATCC № 27 853 – на неї впливали всі речовини.

Експериментальна частина. Спектри ЯМР ¹H записували на приладах Bruker, внутрішній стандарт – ТМС.

Синтез метил 3-R-7-R¹-3,4-дигідроізокумарин-3-карбоксилатів **4 а–е** описано у праці [8]. 3-R-7-R¹-3,4-Дигідроізокумарин-3-карбонові кислоти **5 а–е** синтезували за методиками, наведеними у статтях [9, 10].

2-Арил-3-карбокси-3,4-ізохінолін-1-они (загальна методика). Нагрівали 0,001 моль 3,4-дигідроізокумарин-3-карбонової кислоти з еквівалентною кількістю відповідного аміну протягом 3–5 год. Суміш охолоджували, розводили водою. Осад відфільтровували та перекристалізували із суміші етанол–вода.

3-Метил-2-феніл-3,4-дигідроізохінолон-3-карбонова кислота 6 а. Вихід 76 %; $T_{пл}$ 149–150 °С. Знайдено, %: С 72,70; Н 5,30%; N 4,85. C₁₇H₁₅NO₃. Обчислено, %: С 72,58; Н 5,37; N 4,98.

3-Метил-2-(4-метилфеніл)-3,4-дигідроізохінолон-3-карбонова кислота б б. Вихід 72 %; $T_{\text{пл}}$ 151–152 °С. Спектр ^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ (м.ч.): 1,66 (с, 3H, CH_3), 2,12 (с, 3H, CH_3), 3,28–3,36 (м, 2H, CH_2), 6,50 (д, 2H, Ar, $J = 7,7$ Гц), 6,83 (д, 2H, Ar, $J = 7,1$ Гц), 7,36 (д, 1H, Ar, $J = 7,1$ Гц), 7,42 (т, 1H, Ar, $J = 7,1$ Гц), 7,59 7,42 (т, 1H, Ar, $J = 7,1$ Гц), 7,90 (д, 1H, Ar, $J = 7,1$ Гц). Знайдено, %: С 73,28; Н 5,90; N 4,80. $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{NO}_3$. Обчислено, %: С 73,20; Н 5,80; N 4,74.

3-Метил-2-(4-хлорофеніл)-3,4-дигідроізохінолон-3-карбонова кислота б в. Вихід 71 %; $T_{\text{пл}}$ 153–154 °С. Знайдено, %: С 64,75; Н 4,38; N 4,52. $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{ClNO}_3$. Обчислено, %: С 64,67; Н 4,47; N 4,44.

3-Метил-2-(4-аміносульфонілметилфеніл)-3,4-дигідроізохінолон-3-карбонова кислота б г. Вихід 79 %; $T_{\text{пл}}$ 119–120 °С. Знайдено, %: С 55,64; Н 4,54; N 7,68. $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$. Обчислено, %: С 55,56; Н 4,47; N 7,77.

3-Метил-2-(4-етоксикарбонілфеніл)-3,4-дигідроізохінолон-3-карбонова кислота б д. Вихід 80 %; $T_{\text{пл}}$ 144–145 °С. Знайдено, %: С 68,10; Н 5,32; N 4,02. $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{NO}_5$. Обчислено, %: С 67,98; Н 5,42; N 3,96.

3-Метил-7-хлоро-2-феніл-3,4-дигідроізохінолон-3-карбонова кислота б е. Вихід 72 %; $T_{\text{пл}}$ 184–185 °С. Знайдено, %: С 64,80; Н 4,35; N 4,36. $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{ClNO}_3$. Обчислено, %: С 64,67; Н 4,47; N 4,44.

3-Метил-7-хлоро-2-(4-метилфеніл)-3,4-дигідроізохінолон-3-карбонова кислота б є. Вихід 70 %; $T_{\text{пл}}$ 126–127 °С. Знайдено, %: С 65,65; Н 5,00; N 4,18. $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{NO}_3$. Обчислено, %: С 65,56; Н 4,89; N 4,25.

3-Метил-7-хлоро-2-(4-хлорофеніл)-3,4-дигідроізохінолон-3-карбонова кислота б ж. Вихід 73 %; $T_{\text{пл}}$ 178–179 °С. Знайдено, %: С 58,22; Н 3,85; N 3,90. $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{NO}_3$. Обчислено, %: С 58,31; Н 3,74; N 4,00.

3-Метил-7-хлоро-2-(4-аміносульфонілметилфеніл)-3,4-дигідроізохінолон-3-карбонова кислота б з. Вихід 71 %. $T_{\text{пл}}$ 138–139 °С. Знайдено, %: С 51,80; Н 3,35; N 6,98. $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}_5\text{S}$. Обчислено, %: С 51,71; Н 3,43; N 7,10.

3-Метил-7-хлоро-2-(4-етоксикарбонілфеніл)-3,4-дигідроізохінолон-3-карбонова кислота б и. Вихід 79 %; $T_{\text{пл}}$ 167–168 °С. Знайдено, %: С 62,02; Н 4,75; N 3,70; N 4,02. $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{NO}_5$. Обчислено, %: С 61,94; Н 4,68; N 3,61.

Методика вивчення біологічної активності. Антимікробну активність отриманих сполук вивчали за допомогою мікрометоду з використанням одноразових 96-лункових стерильних полістиролових планшет і мікротитраторів Такачі. Тест-штами бактерій вирощували протягом 4 год у поживному бульйоні (ПБ) за температури +37 °С. Грибки культивували в рідкому середовищі Сабуро 18–20 год за температури +30 °С. Отримані вихідні суспензії розведені до робочої концентрації – $1 \cdot 10^3$ колонієутворювальних одиниць (КУО) в 1 мл з використанням рідких поживних середовищ – ПБ (для бактерій) та рідкого середовища Сабуро (для грибків).

У лунки одоразового стерильного полістиролового планшета вносили по 0,05 мл робочих суспензій. За допомогою титраторів Такачі готували розведення досліджуваних речовин від 1:1 (500 мкг/мл) до 1:256 (3,9 мкг/мл).

Планшети з тест-штамами бактерій інкубували у вологій камері при 37 °С протягом 18–20 год., з тест-штамами грибків при 30 °С протягом 42–44 год, після чого проведено облік результатів.

1. Юнусов С.Ю. Алкалоиды. Ташкент. 1981.
2. Shamma M., Foy J.E. A controlled oxidation of bisbenzylisoquinolines // *Tetrahedron Lett.* 1975. Vol. 16, N 27. P. 2249–2252.
3. Ralph I., Bick C., Bremner J.B. et al. Photo-Oxidative Cleavage: An Alternative Method for Degrading Bisbenzylisoquinoline Alkaloids // *J. Nat. Prod.* 1986. Vol. 49. N 3. P. 373–385.
4. Глушков В.А., Шкляев Ю.В. Синтез 1-(2H)-изохинолонов // *Химия гетероцикл. соединений.* 2001. № 6. С. 723–747.
5. Semple J.E., Rydzewski G., Gardner G. An efficient synthetic route to ethyl 2-aryl-4-hydroxy-1,3(2H,4H)-dioxoisoquinoline-4-carboxylates // *J. Org. Chem.* 1996. Vol. 61, N 22. P. 7967–7972.
6. Jones J.B., Pinder A.N. Some synthetical investigations in isocoumarins chemistry // *J. Chem. Soc.* 1958. P. 2612–2618.
7. Каневская С.И., Малинина С.И. Исследования в области гетероциклических соединений. III. Синтез 7,8-диметоксиизокумарин-3-карбоновой кислоты // *Журн. общей химии.* 1955. Т. 25, № 4. С. 761–763.
8. Obushak M.D., Matiychuk V.S., Turytsya V.V. A new approach to the synthesis of isocoumarin derivatives // *Tetrahedron Lett.* 2009. Vol. 50. N 45. P. 6112–6115.
9. Туриця В., Матійчук В., Обушак М. 2-Метоксикарбоніл(карбокси)бензолдіазоній галогеніди в реакціях арилювання ненасичених сполук // *Вісн. Львів. ун-ту. Сер. хім.* 2004. Вип. 44. С. 148–152.
10. Туриця В., Матійчук В., Обушак М. Метилловий естер 3-метил-3,4-дигідроізокумарин-3-карбоної кислоти: метод одержання та застосування у синтезі гетероциклів // *Вісн. Львів. ун-ту. Сер. хім.* 2005. Вип. 46. С. 157–163.

SYNTHESIS AND ANTIBACTERIAL AND ANTIMICOTIC ACTIVITY OF 3-SUBSTITUTED N-ARYL-3,4-DIHYDROISOQUINOLONES

V. Turytsya¹, O. Metyk¹, O. Blinder², P. Yagodinets³

¹ Ivan Franko National University of Lviv,
Kyryla & Mefodiya Str. 6, 79005 Lviv, Ukraine,
e-mail: victorturytsya@ukr.net

² Medved's Institute of Ecohygiene and Toxicology,
Kotsyunskogo Str., 30, 58022 Chernivtsi, Ukraine

³ Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University,
Lesya Ukrainka Str., 25, 58012 Chernivtsi, Ukraine

A series of substituted 3,4 dihydroisocoumarins were obtained by the reaction of unsaturated compounds with arenediazonium bromides based on methyl anthranilates. 3,4-Dihydroisocoumarin-3-carboxylic acids were synthesized by alkaline hydrolysis of corresponding esters. A series of N-aryl

substituted 3,4-dihydroisoquinolones were obtained by the substitution of endocyclic oxygen atom to the amine residues. *In vitro* screening of antibacterial and antimicrobial activities is conducted. Several substances that can be used as lead compounds were found.

In whole, studied isoquinolones have low antibacterial and antimicrobial activities. However, 3-methyl-7-chloro-2-[4-(aminosulfonyl)phenyl]-3,4-dihydroisoquinolone-3-carboxylic acid display sufficient activity. In a different measure it influenced almost to all of test cultures. It is perspective as a chemotherapeutics drug. *P. aeruginosa* of ATCC 27853 was most sensible to the action of all studied compounds.

Key words: intramolecular cyclization, isocoumarins derivatives, isoquinolones, arylation, anthranilic acid.

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ И АНТИМИКОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ 3-ЗАМЕЩЕННЫХ N-АРИЛ-3,4-ДИГИДРОИЗОХИНОЛОНОВ

В. Туреця¹, О. Метик¹, О. Блиндер², П. Ягодинец³

¹Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Кирилла и Мефодия, 6, 79005 Львів, Украина
e-mail: victorturytsya@ukr.net

²Институт экологии и токсикологии имени Л.И. Медведя,
ул. Коцюбинского, 30, 58022 Черновцы, Украина

³Черновицкий национальный университет имени Юрия Федьковича,
ул. Леси Украинки 25, 58012 Черновцы, Украина

Реакцией ненасыщенных соединений с арендиазоний бромидами на основе антралиловых кислот и их эфиров получено ряд замещенных 3,4-дигидроизокумаринов и соответствующих изохинолонов. Проведено *in vitro* исследования антибактериальной и антимикотической активностей. Найдено несколько соединений, которые в дальнейшем можно использовать как соединения-лидеры.

Ключевые слова: интрамолекулярная циклизация, производные изокумарина, изохинолоны, арилирование, антралиловая кислота.

Стаття надійшла до редколегії 31.10.2013

Прийнята до друку 19.12.2013