

А. М. Грозав¹, М. З. Федорів², В. О. Черноус¹, Н. Д. Яковичук¹, С. Є. Дейнека¹,
С. В. Кемський³

¹ ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет»

58000, м. Чернівці, пл. Театральна, 2. E-mail: alinagroza@gmail.com

² Івано-Франківський національний медичний університет

³ Інститут органічної хімії НАН України

Синтез та антимікробна активність 5-арокси-2,6-дигідро-1H-піроло[3,4-d]піридазин-1-онів

Мета роботи – розробка ефективного методу синтезу 5-арокси-2,6-дигідро-1H-піроло[3,4-d]піридазин-1-онів як перспективних об'єктів для дослідження антимікробної активності.

Результати та їх обговорення. Встановлено, що етил 4-форміл-5-хлоро-1H-пірол-3-карбоксилати є зручними субстратами для побудови 5-арокси-2,6-дигідро-1H-піроло[3,4-d]піридазин-1-онових систем. При дослідженні антимікробної активності встановлено, що МБСК (МФСК) для синтезованих піроло[3,4-d]піридазин-1-онів знаходиться в діапазоні концентрацій 31,25-125 мкг/мл.

Експериментальна частина. Здійснено двостадійний синтез 5-арокси-2,6-дигідро-1H-піроло[3,4-d]піридазин-1-онів. Склад та будова сполук підтверджені даними хроматомас-спектрів, ІЧ- та ЯМР ¹H (¹³C) спектрів. Скринінг антимікробної дії з використанням мікрометоду дворазових серійних розведень у рідкому поживному середовищі дозволив виявити сполуки із помірною активністю.

Висновки. Розроблено препаративно зручний варіант синтезу 5-арокси-2,6-дигідро-1H-піроло[3,4-d]піридазин-1-онів, який передбачає нуклеофільне заміщення атома хлору в етил 4-форміл-5-хлоро-1H-пірол-3-карбоксилатах ароксильним фрагментом із подальшим піридазиноанелюванням під дією гідрозин-гідрату. Отримані результати антимікробної активності синтезованих речовин обґрунтовують доцільність подальших поглиблених досліджень у цій області.

Ключові слова: поліфункціональні піроли; гідрозин-гідрат; піридазиноанелювання; 1H-піроло[3,4-d]піридазин-1-они; антибактеріальна та протигрибкова активність

А. М. Grozav¹, М. З. Fedoriv², В. О. Chornous¹, Н. Д. Yakovychuk¹, S. Ye. Deineka¹,
S. V. Kemsyky³

¹ Bukovinian State Medical University

² Ivano-Frankivsk National Medical University

³ Institute of Organic Chemistry of the NAS of Ukraine

The synthesis and antimicrobial activity of 5-aroxy-2,6-dihydro-1H-pyrrolo[3,4-d]pyridazine-1-ones

Aim. To develop an effective method for the synthesis of 5-aroxy-2,6-dihydro-1H-pyrrolo[3,4-d]pyridazine-1-ones as promising objects to be investigated in the context of their antimicrobial activity.

Results and discussion. It has been found that ethyl 4-formyl-5-chloro-1H-pyrrole-3-carboxylates can be used as convenient source substrates for building 5-aroxy-2,6-dihydro-1H-pyrrolo[3,4-d]pyridazine-1-one systems. MBsC (MFsC) and MBcC (MFcC) of the pyrrolo[3,4-d]pyridazine-1-ones synthesized were within the range of 31.25-125 µg/ml.

Experimental part. The two-stage synthesis of 5-aroxy-2,6-dihydro-1H-pyrrolo[3,4-d]pyridazine-1-ones was performed. The chemical composition and the structure of the compounds synthesized were confirmed by chromatography-mass spectra, IR- and NMR ¹H (¹³C) spectra. The screening of the antimicrobial activity using the micromethod of the double series dilutions in the liquid nutrient medium allowed identifying compounds with a moderate activity.

Conclusions. A preparative convenient synthesis of 5-aroxy-2,6-dihydro-1H-pyrrolo[3,4-d]pyridazine-1-ones has been developed. This method assumes the nucleophilic substitution of the chlorine atom in ethyl 4-formyl-5-chloro-1H-pyrrole-3-carboxylates with an aroxy fragment followed by the subsequent pyridazinoanellation of ethyl 5-aroxy-4-formyl-1H-pyrrole-3-carboxylates by hydrazine hydrate. The results of the antimicrobial activity of the substances synthesized substantiate the feasibility of further in-depth studies in this area.

Key words: polyfunctional pyrroles; hydrazine hydrate; pyridazinoanellation; 1H-pyrrolo[3,4-d]pyridazine-1-one; antimicrobial activity

А. Н. Грозав¹, М. З. Федорив², В. А. Черноус¹, Н. Д. Яковичук¹, С. Е. Дейнека¹,
С. В. Кемский³

¹ ГВУЗ Украины «Буковинский государственный медицинский университет»

² Ивано-Франковский национальный медицинский университет

³ Институт органической химии НАН Украины

Синтез и противомикробное действие 5-арокси-2,6-дигидро-1H-пирроло[3,4-d]пиридазин-1-онов

Цель работы – разработка эффективного метода синтеза 5-арокси-2,6-дигидро-1H-пирроло[3,4-d]пиридазин-1-онов как перспективных объектов для исследования противомикробного действия.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что этил 4-формил-5-хлор-1H-пиррол-3-карбоксилаты могут быть удобными субстратами для построения 5-арокси-2,6-дигидро-1H-пирроло[3,4-d]пиридазин-1-оновых систем. При исследовании противомикробной активности установлено, что МБСК (МФСК) для синтезированных пирроло[3,4-d]пиридазин-1-онов находятся в диапазоне концентраций 31,25-125 мкг/мл.

Експериментальная часть. Осуществлен двухстадийный синтез 5-арокси-2,6-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*d*]пиридазин-1-онов. Состав и строение соединений подтверждены данными хроматомасспектров, ИК- и ЯМР ^1H (^{13}C) спектров. Скрининг противомикробного действия с использованием микрометода двухкратных серийных разведений в жидкой питательной среде позволил выявить соединения с умеренной активностью.

Выводы. Разработан препаративно удобный вариант синтеза 5-арокси-2,6-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*d*]пиридазин-1-онов, который предусматривает нуклеофильное замещение атома хлора в этил 4-формил-5-хлор-1*H*-пиррол-3-карбоксилатах ароксильным фрагментом с последующим пиридазиноаннелированием под действием гидразин-гидрата. Полученные результаты противомикробной активности синтезированных веществ обосновывают целесообразность дальнейших углубленных исследований в этой области.

Ключевые слова: полифункциональные пирролы; гидразин-гидрат; пиридазиноаннелирование; 1*H*-пирроло[3,4-*d*]пиридазин-1-оны; противобактериальное и противогрибковое действие

Піроло[3,4-*d*]піридазинони належать до біциклічних азотовмісних систем із двома фармакофорно привабливими структурними фрагментами. В силу цього останнім часом значно зросла увага дослідників до такого типу сполук [1-7], хоча загалом їх синтетичний та фармакологічний потенціал залишається розкритим далеко не в повній мірі. Разом з тим вже отримані результати медико-біологічних досліджень дозволяють констатувати виявлення серед них ефективних антимікробних I [1], протиракових I-II [1-6] та аналгетичних агентів III [7] (схема 1).

Для конструювання більшості описаних у літературі піроло[3,4-*d*]піридазинонових сполук, як правило, використовують циклоконденсацію піролів, які містять у положеннях 3 та 4 карбонільні функції, із гідразинами [8]. Аналіз структур біологічно активних піроло[3,4-*d*]піридазинонів I-III засвідчує, що в більшості випадків для їх синтезу застосовувались відносно доступні пірольні субстрати з метильними групами в положеннях 2 та 5 циклу, що в певній мірі ускладнює можливість подальшої спрямованої функціоналізації піролопіридазинового скафолда і відповідно звужує коло перспективних для біоскринінгу об'єктів.

Нещодавно [9] ми синтезували низку поліфункціональних піролів із трьома електрофільними центрами **1a-d**, які можуть бути ефективними структурними блоками в процесі лінійної екзофункціоналізації як за рахунок нуклеофільного заміщення атома хлору, так і циклофункціоналізації за

участю формільної та естерної груп. Практична реалізація такого завдання передбачала можливість використання сполук **1a-d** в синтезі піроло [3,4-*d*]піридазинонів, додатково функціоналізованих у пірольному ядрі фармакофорними угрупованнями як речовин із потенційною антимікробною дією. В ролі таких фармакофорів видавалось доцільним використати фенольні фрагменти, оскільки низка похідних фенолів (ферезолу, резорцину, фенілсаліцилату) належить до широковживаних антимікробних лікарських засобів [10]. Саме тому наявність ароксильних замісників у структурі цільових сполук може чинити суттєвий вплив на силу та характер їх антимікробної активності.

Експериментальним шляхом встановлено, що заміщення атома хлору на ароксильну групу в етил 4-форміл-5-хлоро-1*H*-пірол-3-карбоксилатах **1a-d** відбувається в досить жорстких умовах при 3-годинному кип'ятінні останніх з фенолами **2a-d** в ДМФА в присутності безводного калію карбонату і приводить з виходами 80-89 % до відповідних 5-арокси-4-форміл-1*H*-пірол-3-карбоксилатів **3a-j**. Отримані результати є свідченням регіоселективного перебігу процесу, оскільки в реакційних сумішах не виявлено продуктів заміщення у сполуках **1a-d** етоксильної групи на ароксильні замісники. Склад та будова сполук **3a-j** підтверджені даними елементного аналізу, хроматомас-спектрів (табл. 1), ІЧ- та ЯМР ^1H (^{13}C) спектрів (табл. 2).

Реакція 5-арокси-4-форміл-1*H*-пірол-3-карбоксилатів **3a-j** із гідразин-гидратом гладко перебігає при кип'ятінні в етанолі і є прикладом ефективного пі-

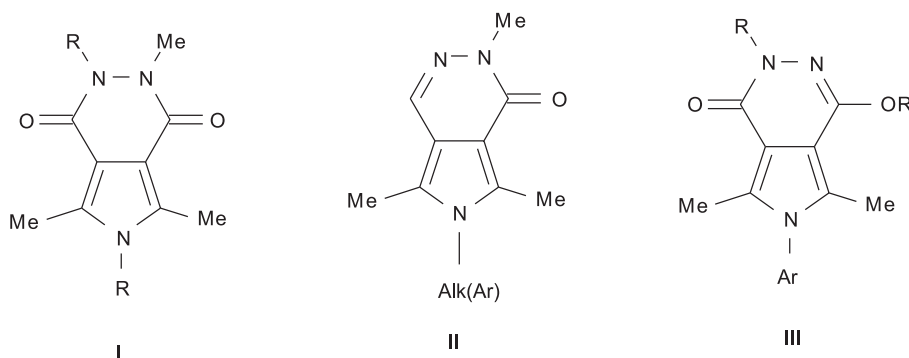


Схема 1

Таблиця 1

Виходи, температури плавлення, мас-спектри та результати елементного аналізу сполук **3a-j** та **4a-j**

Сполука	Вихід, %	Т. пл., °C	[M+1] ⁺	Знайдено, %			Формула	Розраховано, %		
				C	H	N		C	H	N
3a	89	100-101	288	67,07	6,03	4,76	C ₁₆ H ₁₇ BrNO ₄	66,89	5,96	4,87
3b	80	88-89	318	64,15	5,94	4,33	C ₁₇ H ₁₉ NO ₅	64,34	6,03	4,41
3c	82	91-92	367	52,23	4,48	3,92	C ₁₆ H ₁₆ BrNO ₄	52,48	4,40	3,82
3d	87	83-84	316	68,75	6,62	4,53	C ₁₈ H ₂₁ NO ₄	68,55	6,71	4,44
3e	86	85-86	395	55,01	5,01	3,63	C ₁₈ H ₂₀ BrNO ₄	54,84	5,11	3,55
3f	83	92-93	330	69,52	6,95	4,34	C ₁₉ H ₂₃ NO ₄	69,28	7,04	4,25
3g	85	101-102	344	70,15	7,40	3,99	C ₂₀ H ₂₅ NO ₄	69,95	7,34	4,08
3j	88	110-11	392	73,83	6,55	3,66	C ₂₄ H ₂₅ NO ₄	73,64	6,44	3,58
4a	83	216-217	256	66,03	5,23	16,59	C ₁₄ H ₁₃ N ₃ O ₂	65,87	5,13	16,46
4b	88	180-181	286	62,94	5,22	14,64	C ₁₅ H ₁₅ N ₃ O ₃	63,15	5,30	14,73
4c	90	251-252	335	50,08	3,53	12,76	C ₁₄ H ₁₂ BrN ₃ O ₂	50,32	3,62	12,57
4d	87	240-241	284	68,03	5,96	14,97	C ₁₆ H ₁₇ N ₃ O ₂	67,83	6,05	14,83
4e	88	238-239	363	52,83	4,56	11,77	C ₁₆ H ₁₆ BrN ₃ O ₂	53,05	4,45	11,60
4f	87	188-189	298	68,53	6,53	13,97	C ₁₇ H ₁₉ N ₃ O ₂	68,67	6,44	14,13
4g	85	139-140	312	69,63	6,90	13,67	C ₁₈ H ₁₂ N ₃ O ₂	69,43	6,80	13,49
4j	89	228-229	360	73,33	5,99	11,87	C ₂₂ H ₂₁ N ₃ O ₂	73,52	5,89	11,69

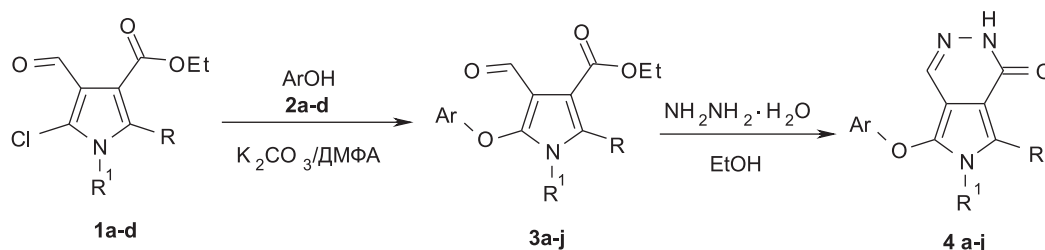
ридазиноанелювання, що приводить до цільових 5-арокси-2,6-дигідро-1*H*-піроло[3,4-*d*]піридазин-1-онів **4a-j** з виходами 83-90 % (табл. 1) (схема 2).

ІЧ-спектри сполук **4a-j** відзначаються смугами поглинання груп C=O в діапазоні 1665-1671 см⁻¹ та N-H в діапазоні 3329-3342 см⁻¹. У спектрах ЯМР ¹H наявні типові сигнали протонів Н⁴ та N-H піридазинового циклу відповідно при 7,37-7,60 м.ч. та 11,28-11,48 м.ч. (табл. 2).

Антимікробну активність синтезованих речовин оцінювали за величиною мінімальної бактеріостатичної та фунгістатичної (МБСК та МФСК), а також бактерицидної та фунгіцидної концентрацій (МБЦК та МФЦК) по відношенню до деяких грам-позитивних та грам-негативних бактерій, а також грибів роду *Candida*. Проведені мікробіоло-

гічні дослідження дозволяють охарактеризувати піроло[3,4-*d*]піридазин-1-они **4a-j** як речовини з помірно антимікробною активністю, МБСК (МФСК) та МБЦК (МФЦК) яких знаходяться в діапазоні концентрацій 31,25-125 мкг/мл (табл. 3).

Слід звернути увагу на те, що протигрибкова дія в порівнянні з антибактеріальною є більш вираженою і проявляється при концентрації 31,25 мкг/мл. Також цікавим є той факт, що МФСК та МФЦК по відношенню до грибів роду *Candida* виявились однаковими, тобто при концентрації 31,25 мкг/мл відбувається не тільки зупинка росту тест-штамів грибів, а й повна їх загибель, чого не спостерігається при дії контролю. Провівши аналіз залежності «структура – активність» можна зробити висновок, що характер замісників в 5, 6 та 7 по-



1, R = Me, R¹ = Me (a), Pr (b), Bu (c); R = Ph, R¹ = Pr (d). **2**, Ar = Ph (a), *m*-MeOC₆H₄ (b), *p*-MeC₆H₄ (c), *p*-BrC₆H₄ (d). **3**, **4**, R = Me, R¹ = Me, Ar = Ph (a), R = Me, R¹ = Me, Ar = *m*-MeOC₆H₄ (b), R = Me, R¹ = Me, Ar = *p*-BrC₆H₄ (c), R = Me, R¹ = Pr, Ar = Ph (d), R = Me, R¹ = Pr, Ar = *p*-BrC₆H₄ (e), R = Me, R¹ = Bu, Ar = Ph (f), R = Me, R¹ = Bu, Ar = *p*-MeC₆H₄ (g), R = Ph, R¹ = Pr, Ar = *p*-MeC₆H₄ (j)

Схема 2

Таблиця 2

Дані спектрів ІЧ, ЯМР ^1H та ^{13}C сполук **3a-j** та **4a-j**

Сполука	ІЧ-спектр, ν , cm^{-1}		ЯМР ^1H спектр, δ , м.ч. (J , Гц)
	C=O	NH	
3a	1672, 1701	–	^1H : 1,30 т (3H, CH_3 , $J = 7,2$), 2,49 с (3H, CH_3), 3,35 с (3H, NCH_3), 4,27 к (2H, OCH_2), 6,89 д (2H _{аром} , $J = 8,0$), 7,08 т (1H _{аром} , $J = 8,0$), 7,32 т (2H _{аром} , $J = 8,0$), 10,07 с (1H, $\text{CH}=\text{O}$). ^{13}C : 10,9, 14,2, 28,6, 39,5, 59,8, 108,4, 109,1, 115,0, 123,2, 129,8, 132,9, 142,2, 156,7, 164,0, 164,2, 185,2
3b	1670, 1702	–	^1H : 1,29 т (3H, CH_3 , $J = 7,2$), 2,46 с (3H, CH_3), 3,35 с (3H, NCH_3), 3,73 с (3H, OCH_3), 4,25 к (2H, OCH_2 , $J = 7,2$), 6,39 д (1H _{аром} , $J = 8,4$), 6,50 с (1H _{аром}), 6,67 д (1H _{аром} , $J = 8,4$), 7,21 т (1H _{аром} , $J = 8,4$), 10,08 с (1H, $\text{CH}=\text{O}$). ^{13}C : 10,8, 14,4, 28,3, 39,1, 56,5, 59,7, 108,9, 109,4, 114,8, 123,6, 129,2, 131,9, 143,7, 163,5, 164,3, 164,6, 184,8
3c	1671, 1705	–	^1H : 1,30 т (3H, CH_3 , $J = 7,2$), 2,50 с (3H, CH_3), 3,36 с (3H, NCH_3), 4,27 к (2H, OCH_2 , $J = 7,2$), 6,88 д (2H _{аром} , $J = 8,8$), 7,51 д (2H _{аром} , $J = 8,8$), 10,07 с (1H, $\text{CH}=\text{O}$). ^{13}C : 10,9, 14,2, 28,6, 39,5, 59,8, 108,4, 108,9, 132,5, 133,0, 144,7, 156,0, 163,9, 185,3
3d	1668, 1704	–	^1H : 0,78 т (3H, CH_3 , $J = 7,2$), 1,30 т (3H, CH_3 , $J = 7,6$), 1,54 к (2H, CH_2 , $J = 7,2$), 2,54 с (3H, CH_3), 3,74 т (2H, NCH_2 , $J = 7,2$), 4,27 к (2H, OCH_2 , $J = 7,6$), 6,89 д (2H _{аром} , $J = 8,0$), 7,09 т (1H _{аром} , $J = 7,6$), 7,34 т (2H _{аром} , $J = 7,6$), 10,05 с (1H, $\text{CH}=\text{O}$). ^{13}C : 10,5, 10,6, 13,4, 22,4, 43,2, 59,5, 108,4, 108,9, 114,7, 122,9, 129,5, 131,9, 141,8, 156,5, 163,7, 185,0
3e	1666, 1704	–	^1H : 0,79 т (3H, CH_3 , $J = 7,2$), 1,29 т (3H, CH_3 , $J = 7,2$), 1,52 к (2H, CH_2 , $J = 7,2$), 2,42 с (3H, CH_3), 3,74 т (2H, NCH_2 , $J = 7,2$), 4,25 к (2H, OCH_2 , $J = 7,2$), 6,88 д (2H _{аром} , $J = 8,8$), 7,49 д (2H _{аром} , $J = 8,8$), 10,06 с (1H, $\text{CH}=\text{O}$). ^{13}C : 10,8, 11,3, 14,2, 22,7, 43,5, 59,9, 108,8, 109,0, 114,8, 117,3, 132,3, 132,5, 141,6, 156,6, 163,9, 185,4
3f	1668, 1701	–	^1H : 0,77 т (3H, CH_3 , $J = 7,2$), 1,06-1,18 м (2H, CH_2), 1,29 т (3H, CH_3 , $J = 7,2$), 1,49-1,50 м (2H, CH_2), 2,54 с (3H, CH_3), 3,77 т (2H, NCH_2 , $J = 7,2$), 4,27 к (2H, OCH_2 , $J = 7,2$), 6,89 д (2H _{аром} , $J = 8,0$), 7,09 т (1H _{аром} , $J = 8,0$), 7,33 т (2H _{аром} , $J = 8,0$), 10,08 с (1H, $\text{CH}=\text{O}$). ^{13}C : 11,5, 13,5, 14,0, 19,2, 31,6, 48,1, 60,0, 115,5, 123,4, 129,2, 133,1, 135,4, 141,9, 155,8, 163,9, 164,5, 184,6
3g	1670, 1705	–	^1H : 0,86 т (3H, CH_3 , $J = 7,2$), 1,19-1,27 м (5H, $\text{CH}_3 + \text{CH}_2$), 1,49 к (2H, CH_2 , $J = 7,2$), 2,24 с (3H, CH_3), 2,40 с (3H, CH_3), 3,72 т (2H, NCH_2 , $J = 7,2$), 4,25 к (2H, OCH_2 , $J = 6,8$), 6,76 д (2H _{аром} , $J = 8,0$), 7,12 д (2H _{аром} , $J = 8,0$), 10,06 с (1H, $\text{CH}=\text{O}$). ^{13}C : 10,8, 13,3, 14,2, 19,2, 20,1, 31,3, 41,6, 59,8, 108,7, 109,2, 114,7, 130,0, 132,0, 132,1, 142,4, 154,8, 164,0, 185,2
3j	1667, 1701	–	^1H : 0,55 т (3H, CH_3 , $J = 7,2$), 0,93 т (3H, CH_3 , $J = 7,2$), 1,32 к (2H, CH_2 , $J = 7,2$), 2,26 с (3H, CH_3), 3,58 т (2H, NCH_2 , $J = 7,2$), 4,00 к (2H, OCH_2 , $J = 7,2$), 6,89 д (2H _{аром} , $J = 8,4$), 7,15 д (2H _{аром} , $J = 8,4$), 7,42-7,49 м (5H _{аром}), 10,08 с (1H, $\text{CH}=\text{O}$). ^{13}C : 10,4, 13,3, 19,8, 22,2, 43,9, 59,3, 108,9, 110,2, 114,7, 127,8, 128,6, 129,9, 130,0, 130,4, 131,9, 133,1, 142,7, 154,2, 162,6, 184,6
4a	1663	3340	^1H : 2,68 с (3H, CH_3), 3,51 с (3H, NCH_3), 6,93 д (2H _{аром} , $J = 7,8$), 7,11 т (1H _{аром} , $J = 7,8$), 7,33 т (2H _{аром} , $J = 7,8$), 7,51 с (1H, $\text{HC}=\text{N}$), 11,40 с (1H, NH). ^{13}C : 10,2, 29,0, 102,7, 107,4, 115,7, 123,5, 123,7, 130,6, 130,8, 132,6, 157,4, 158,7
4b	1665	3335	^1H : 2,60 с (3H, CH_3), 3,49 с (3H, NCH_3), 3,74 с (3H, OCH_3), 6,50 д (1H _{аром} , $J = 8,0$), 6,63 с (1H _{аром}), 6,74 д (1H _{аром} , $J = 8,0$), 7,26 т (1H _{аром} , $J = 8,0$), 7,56 с (1H, $\text{HC}=\text{N}$), 11,41 с (1H, NH). ^{13}C : 10,5, 18,5, 50,1, 102,4, 103,0, 107,7, 109,5, 123,8, 129,8, 130,7, 130,9, 132,7, 158,6, 159,2, 160,8
4c	1668	3329	^1H : 2,60 с (3H, CH_3), 3,49 с (3H, NCH_3), 6,87 д (2H _{аром} , $J = 8,8$), 7,56 д (2H _{аром} , $J = 8,8$), 7,60 с (1H, $\text{HC}=\text{N}$), 11,38 с (1H, NH). ^{13}C : 10,2, 29,1, 103,1, 107,6, 115,5, 117,9, 124,7, 130,5, 132,1, 133,8, 158,9, 159,4
4d	1670	3334	^1H : 0,81 т (3H, CH_3 , $J = 7,6$), 1,62 к (2H, CH_2 , $J = 7,6$), 2,63 с (3H, CH_3), 3,89 т (2H, NCH_2 , $J = 7,6$), 7,04 д (2H _{аром} , $J = 8,0$), 7,17 т (1H _{аром} , $J = 8,0$), 7,41 т (2H _{аром} , $J = 8,0$), 7,51 с (1H, $\text{HC}=\text{N}$), 11,36 с (1H, NH). ^{13}C : 10,4, 10,9, 22,8, 44,2, 102,8, 107,9, 116,1, 123,1, 124,1, 130,3, 130,9, 156,9, 158,1, 159,2
4e	1668	3340	^1H : 0,79 т (3H, CH_3 , $J = 7,6$), 1,60 к (2H, CH_2 , $J = 7,6$), 2,62 с (3H, CH_3), 3,88 т (2H, NCH_2 , $J = 7,6$), 7,01 д (2H _{аром} , $J = 8,8$), 7,52 с (1H, $\text{HC}=\text{N}$), 7,56 д (2H _{аром} , $J = 8,8$), 11,41 с (1H, NH). ^{13}C : 10,1, 10,9, 22,8, 44,2, 103,0, 107,9, 115,6, 118,2, 123,5, 130,7, 132,3, 154,0, 159,0, 159,2
4f	1671	3342	^1H : 0,81 т (3H, CH_3 , $J = 7,2$), 1,24 к (2H, CH_2 , $J = 7,2$), 1,54-1,59 м (2H, CH_2), 2,63 с (3H, CH_3), 3,91 т (2H, NCH_2 , $J = 7,2$), 7,03 д (2H _{аром} , $J = 8,8$), 7,18 т (1H _{аром} , $J = 8,0$), 7,39 т (2H _{аром} , $J = 8,0$), 7,44 с (1H, $\text{HC}=\text{N}$), 11,34 с (1H, NH). ^{13}C : 10,4, 13,3, 19,2, 31,4, 42,3, 102,9, 107,9, 116,0, 123,0, 124,0, 130,2, 130,9, 132,9, 157,4, 159,2
4g	1665	3336	^1H : 0,82 т (3H, CH_3 , $J = 7,6$), 1,23 т (2H, CH_2 , $J = 7,6$), 1,60 к (2H, CH_2 , $J = 7,6$), 2,50 с (3H, CH_3), 2,64 с (3H, CH_3), 3,91 т (2H, NCH_2 , $J = 7,6$), 6,92 д (2H _{аром} , $J = 8,4$), 7,18 д (2H _{аром} , $J = 8,4$), 7,37 с (1H, $\text{HC}=\text{N}$), 11,28 с (1H, NH). ^{13}C : 10,5, 13,6, 19,8, 20,9, 31,0, 44,7, 102,4, 107,5, 116,8, 122,8, 123,3, 129,7, 130,4, 133,5, 157,8, 159,9
4j	1667	3339	^1H : 0,60 т (3H, CH_3 , $J = 7,6$), 1,47 к (2H, CH_2 , $J = 7,6$), 2,29 с (3H, CH_3), 3,92 т (2H, NCH_2 , $J = 7,6$), 7,05 д (2H _{аром} , $J = 8,4$), 7,23 д (2H _{аром} , $J = 8,4$), 7,45 с (1H, $\text{HC}=\text{N}$), 7,47-7,54 м (5H _{аром}), 11,48 с (1H, NH). ^{13}C : 10,7, 20,2, 20,8, 44,9, 103,2, 108,9, 116,5, 125,4, 127,9, 128,3, 129,7, 130,6, 130,7, 131,0, 133,6, 135,4, 155,6, 157,9, 158,0

Таблиця 3

Антимікробна активність 5-арокси-2,6-дигідро-1*H*-піроло[3,4-*d*]піридазин-1-онів **4a-j**

Сполука	<i>Staphylococcus aureus</i> 25923		<i>Escherichia coli</i> 25922		<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10702		<i>Candida krusei</i> ATCC 6258		<i>Candida albicans</i> ATCC 885/653	
	БКсК (мкг/мл)	БКцК (мкг/мл)	БКсК (мкг/мл)	БКцК (мкг/мл)	БКсК (мкг/мл)	БКцК (мкг/мл)	БКсК (мкг/мл)	БКцК (мкг/мл)	БФсК (мкг/мл)	БФцК (мкг/мл)
4a	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	31,25	31,25	31,25	31,25
4b	62,5	125	62,5	62,5	62,5	62,5	31,25	31,25	31,25	31,25
4c	62,5	125	62,5	62,5	62,5	62,5	31,25	31,25	31,25	31,25
4d	62,5	125	62,5	62,5	62,5	62,5	31,25	31,25	31,25	31,25
4e	62,5	125	62,5	62,5	62,5	62,5	31,25	31,25	31,25	31,25
4f	62,5	125	62,5	62,5	62,5	62,5	31,25	31,25	31,25	31,25
4j	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	31,25	31,25	31,25	31,25
4g	62,5	125	62,5	62,5	62,5	62,5	31,25	31,25	31,25	31,25
Контроль	7,81	7,81	3,906	3,906	7,81	7,81	7,81	7,81	15,62	62,5

Примітка: * – при визначенні протигрибкової активності як контроль використовували препарат «Біфоназол», розчин для зовнішнього застосування 1 % по 15 мл у флаконах виробництва «Торон GmbH»; «Bayer AG» та «Bayer HealthCare AG», Іспанія/Німеччина; при визначенні антибактеріальної активності як контроль використовували препарат «Доксициклін» виробництва ПАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод».

ложеннях піроло[3,4-*d*]піридазинового циклу в цілому не впливає та величину та характер антимікробної активності останніх.

Експериментальна хімічна частина

¹H-спектри сполук у таблетках або в пластинах КВг записані на приладі Bruker Vertes 70. Спектри ЯМР ¹H одержані на спектрометрі Varian VXR-400 (399,97 МГц) в імпульсному Фур'є-режимі у розчинах CDCl₃, спектри ¹³C отримані на спектрометрі Varian VXR-400 (125,74 МГц) в імпульсному Фур'є-режимі у розчинах CDCl₃, внутрішній стандарт – ТМС. Хроматомаспектри одержані на приладі Agilent LC/MSD SL; колонка Zorbax SB-C18, 4,6 × 15 мм, 1,8 мкм (PN 82(c)75-932); розчинник ДМСО, іонізація електророзпиленням при атмосферному тиску. Елементний аналіз здійснений на приладі PerkinElmer CHN Analyzer серії 2400 в аналітичній лабораторії Інституту органічної хімії НАН України. Температури плавлення визначені на столику Кофлера і не відкореговані.

Етил 1-алкіл-2-метил(феніл)-5-арокси-4-хлоро-1*H*-пірол-3-карбоксилати 3a-j. До розчину 10 ммоль піролу **1a-d** в 10 мл ДМФА додавали 10 ммоль відповідного фенолу **2a-d** і 2,07 г (15 ммоль) сухого K₂CO₃. Реакційну суміш кип'ятили впродовж 3 год, охолоджували до кімнатної температури та виливали на 10 г льоду. Утворений осад відфільтровували, сушили і кристалізували з 70 %-го водного етанолу.

6-Алкіл-7-метил(феніл)-5-арокси-2,6-дигідро-1*H*-піроло[3,4-*d*]піридазин-1-они 4a-j. До розчину 5 ммоль 5-ароксипіролу **3a-j** в 10 мл етанолу додавали 0,53 г (10 ммоль) 60 %-го розчину

гідразин-гідрату. Реакційну суміш кип'ятили впродовж 2 год, охолоджували до кімнатної температури, утворений осад відфільтровували і сушили.

Експериментальна мікробіологічна частина

Дослідження протигрибкової та антибактеріальної дії та дії синтезованих сполук проводили з використанням мікрометоду дворазових серійних розведень у рідкому поживному середовищі [11]. Визначали мінімальні бактеріостатичні чи фунгістатичні (МБсК, МФсК) концентрації та мінімальні бактерицидні чи фунгіцидні (МБцК, МФцК) концентрації синтезованих піроло[3,4-*d*]піридазин-1-они **4a-j** щодо референс-штамів бактерій (*S. aureus* 2592, *E. coli* 25922, *B. cereus* ATCC 10702) та грибів (*C. albicans* ATCC 885/653 та *C. krusei* ATCC 6258). Розчини досліджуваних сполук для мікрометоду серійних розведень готували у концентрації 1000 мкг/мл з використанням як розчинника диметилсульфоксиду (ДМСО).

Висновки

Розроблено препаративно зручний варіант синтезу 5-арокси-2,6-дигідро-1*H*-піроло[3,4-*d*]піридазин-1-онів, який ґрунтується на нуклеофільному заміщенні атома хлору в етил 4-форміл-5-хлоро-1*H*-пірол-3-карбоксилатах ароксильним фрагментом із подальшим піридазиноанелюванням утворених етил 5-арокси-4-форміл-1*H*-пірол-3-карбоксилатів під дією гідразин-гідрату. Результати дослідження антимікробної активності обґрунтовують доцільність подальших поглиблених досліджень у цій області.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Перелік використаних джерел інформації

1. Malinka, W. Synthesis of some pyrrol[3,4-*d*]pyridazinones and their preliminary anticancer, antimycobacterial and CNS screening / W. Malinka // *Pharmazie*. – 2001. – Vol. 56, Issue 5. – P. 384–389.
2. Malinka, W. New derivatives of pyrrolo[3,4-*d*]pyridazinone and their anticancer effects / W. Malinka, A. Redzicka, O. Lozach // *Il farmaco*. – 2004. – Vol. 59 (6). – P. 457–462. <https://doi.org/10.1016/j.farmac.2004.03.002>
3. Development of pyridazinone chemotypes targeting the PDEδ prenyl binding site / S. Murarka, P. Martín-Gago, C. Schultz-Fademrecht et al. // *Chem. Eur. J.* – 2017. – Vol. 23. – P. 6083–6093. <https://doi.org/10.1002/chem.201603222>
4. Methylpyrrole inhibitors of BET bromodomains / L. A. Hasvold, G. S. Sheppard, L. Wang et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2017. – Vol. 27. – P. 2225–2233. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.02.057>
5. Synthesis and biological evaluation of pyrrolopyridazine derivatives as novel HER-2 tyrosine kinase inhibitors / T. P. Cho, F. Jun., H. Li et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2009. – Vol. 19. – P. 6437–6440. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.09.038>
6. Synthesis and biological evaluation of 6-aryl-6*H*-pyrrolo[3,4-*d*]pyridazine derivatives : high-affinity ligands to the α2 subunit of voltage gated calcium channels / B. A. Stearns, N. Anker, J. M. Arruda et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2004. – Vol. 14. – P. 1295–1298. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2003.12.036>
7. Derivatives of pyrrolo[3,4-*d*]pyridazinone, a new class of analgesic agents / W. Malinka, A. Redzicka, M. Jastrzebska-Wiesek et al. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 46. – P. 4992–4999. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.08.006>
8. Synthesis of 5-aryl-2-oxopyrrole derivatives as synthons for highly substituted pyrroles / B. Metten, M. Kostermans, G. V. Baelen et al. // *Tetrahedron*. – 2006. – Vol. 62. – P. 6018–6028. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2006.04.005>
9. Synthesis of thieno[2,3-*b*]pyrrole-2(4)-carboxylic and 2,4-dicarboxylic acids / A. N. Grozav, M. Z. Fedoriv, V. A. Chornous et al. // *Chem. Het. Comp.* – 2019. – Vol. 55 (4). – P. 293–299.
10. Машковський, М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковський. – М. : Новая волна, 2012. – С. 949–950.
11. Antifungal activity of 5-(2-nitrovinyl) imidazoles and their derivatives against the causative agents of vulvovaginal candidiasis / N. D. Yakovychuk, S. Y. Deyneka, A. M. Grozav et al. // *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. – 2018. – Vol. 9 (3). – P. 369–373. <https://doi.org/10.15421/021854>

References

1. Malinka, W. (2001). Synthesis of some pyrrol[3,4-*d*]pyridazinones and their preliminary anticancer, antimycobacterial and CNS screening. *Pharmazie*, 56 (5), 384–389.
2. Malinka, W., Redzicka, A., Lozach, O. (2004). New derivatives of pyrrolo[3,4-*d*]pyridazinone and their anticancer effects. *Il farmaco*, 59 (6), 457–462. <https://doi.org/10.1016/j.farmac.2004.03.002>
3. Murarka, S., Martín-Gago, P., Schultz-Fademrecht, C., Al Saabi, A., Baumann, M., Fansa, E. K., ... Waldmann, H. (2016). Development of Pyridazinone Chemotypes Targeting the PDEδ Prenyl Binding Site. *Chemistry – A European Journal*, 23 (25), 6083–6093. <https://doi.org/10.1002/chem.201603222>
4. Hasvold, L. A., Sheppard, G. S., Wang, L., Fidanze, S. D., Liu, D., Pratt, J. K., ... McDaniel, K. F. (2017). Methylpyrrole inhibitors of BET bromodomains. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 27 (10), 2225–2233. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.02.057>
5. Tang, P. C., Feng, J., Huang, L., Xu, Z., Cheng, L., Zhang, X., ... Hu, B. (2009). Synthesis and biological evaluation of pyrrolopyridazine derivatives as novel HER-2 tyrosine kinase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 19 (22), 6437–6440. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.09.038>
6. Stearns, B. A., Anker, N., Arruda, J. M., Campbell, B. T., Chen, C., Cramer, M., ... Munoz, B. (2004). Synthesis and biological evaluation of 6-aryl-6*H*-pyrrolo[3,4-*d*]pyridazine derivatives : high-affinity ligands to the α 2 δ subunit of voltage gated calcium channels. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 14 (5), 1295–1298. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2003.12.036>
7. Malinka, W., Redzicka, A., Jastrzebska – Wiesek, M., Filipek, B., Dybała, M., Karczmarzyk, Z., ... Kalicki, P. (2011). Derivatives of pyrrolo[3,4-*d*]pyridazinone, a new class of analgesic agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46 (10), 4992–4999. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.08.006>
8. Metten, B., Kostermans, M., Baelen, G. V., Smet, M., Dehaen, W. (2006). Synthesis of 5-aryl-2-oxopyrrole derivatives as synthons for highly substituted pyrroles. *Tetrahedron*, 62, 6018–6028. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2006.04.005>
9. Grozav, A. N., Fedoriv, M. Z., Chornous, V. A., Palamar, A. A., Bratenko, M. K., Vovk, M. V. (2019). Synthesis of thieno[2,3-*b*]pyrrole-2(4)-carboxylic and 2,4-dicarboxylic acids. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 55 (4), 293–299.
10. Mashkovskiy, M. D. (2012). *Lekarstvennyie sredstva*. Moscow : Novaya volna, 949–950.
11. Yakovychuk, N. D., Deyneka, S. Y., Grozav, A. M., Humenna, A. V., Popovych, V. B., & Djuiriak, V. S. (2018). Antifungal activity of 5-(2-nitrovinyl) imidazoles and their derivatives against the causative agents of vulvovaginal candidiasis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 9 (3), 369–373. <https://doi.org/10.15421/021854>

Надійшла до редакції 27.03.2019 р.