

УДК 547:615

А. М. Демченко<sup>1</sup>, О. С. Смольський<sup>1</sup>, В. В. Суховєєв<sup>2</sup><sup>1</sup>Чернігівський національний педагогічний університет імені Т. Г. Шевченка,  
Вул. Гетьмана Полуботка, 53, кафедра хімії, 114013, м. Чернігів, Україна<sup>2</sup>Ніжинський державний університет імені Миколи Гоголя  
Вул. Кропив'янського, 2, кафедра хімії,  
16602, м. Ніжин, Чернігівська обл., Україна

## СИНТЕЗ ТА АНТИРАДИКАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОХІДНИХ N,N'-ДИФЕНІЛ-N-(3,4-ДИГІДРО-2Н-5-ПІРОЛІЛ)СЕЧОВИНИ

У роботі розглянуто синтез та антирадикальну дію нових похідних N,N'-дифеніл-N-(3,4-дигідро-2Н-5-піроліл)сечовини, яка досліджена *in vitro* на основі ефекту поглинання радикалів нітроген(II) оксиду. Встановлено, що залежно від концентрації досліджуваних речовин та природи замісника R в ароматичному кільці, вони виявляють про-, або антиоксидантну дію.

Одержані сполуки можуть бути використані як вихідні речовини при розробці ліків, що діють в умовах оксидативного стресу.

**Ключові слова:** нітроген(II) оксид; оксидативний стрес; похідні N,N'-дифеніл-N-(3,4-дигідро-2Н-5-піроліл)сечовини; антиоксидант; прооксидант.

### Вступ

На сьогодні великий інтерес представляє анти-, прооксидантна терапія ряду захворювань. Цілком можливо, що терапевтичний ефект обумовлений не лише фармакологічною дією цих препаратів, але й, у ряді випадків, їх прооксидантною активністю (ПОА). Так, традиційно при лікуванні багатьох патологічних станів використовуються відомі антиоксиданти — аскорбінова кислота, кверцетин, дегідрокверцетин, цистеїн та ін. [1–3]. Проте, в деяких випадках, необхідно посилення реакцій вільнорадикального окиснення або підвищена продукція певної реакційної молекули. Це може призводити до накопичення в конкретних тканинах пероксиду водню, що широко застосовується у лікуванні грибкових інфекцій [4].

Іншим напрямком посилення вільнорадикальних процесів може бути збільшення вмісту реакційноздатної молекули нітроген(II) оксиду — NO, який є універсальним регулятором метаболічних процесів у клітинах тварин та людини [3]. Тому стає все більш очевидним необхідність пошуку природних і синтезу нових потенційних регуляторів процесів генерації та шляхів перетворення NO в організмі. Подібні біологічно активні речовини в подальшому можна використовувати для корекції метаболічних порушень, пов'язаних з нестачею в організмі NO•.

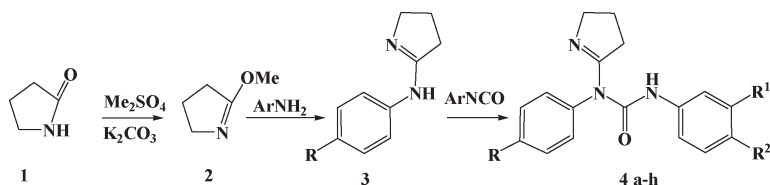
Отже, пошук нових прооксидантів, які б збільшували вміст NO• та його похідних в живих організмах є актуальним завданням. Перспективними сполуками такого типу можуть бути похідні піролілсечовини, як

потенційні джерела NO. Це пов'язано із широким застосуванням похідних сечовини — тіокарбаматів в якості протигрибкових препаратів (толнафат) [4] або як фунгіцидні пестициди (пенцикурон) [5].

Метою зазначеної роботи був синтез нових похідних N,N'-дифеніл-N-(3,4-дигідро-2Н-5-піроліл)сечовини (4a-h) та вивчення їх впливу на систему неферментативного утворення NO в дослідах *in vitro* за умов штучного окисного стресу.

### Матеріали і методи досліджень

Як об'єкт дослідження нами були обрані похідні N,N'-дифеніл-N-(3,4-дигідро-2Н-5-піроліл)сечовини (4a-h) в якості нових антирадикальних речовин, що одержані за схемою:



де R=R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>: H (4a); R: OCH<sub>3</sub>; R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>: H (4b); R: OCH<sub>3</sub>; R<sup>1</sup>: H, R<sup>2</sup>: Cl (4c); R: OCH<sub>3</sub>; R<sup>1</sup>: Cl, R<sup>2</sup>: H (4d); R: OCH<sub>3</sub>; R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>: Cl (4e); R: OCHF<sub>2</sub>; R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>: H (4f); R: OCHF<sub>2</sub>; R<sup>1</sup>: H, R<sup>2</sup>: Cl (4g); R: OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>: H (4h).

Алкилуванням піролідону-2 (1) диметилсульфатом у сухому бензені з наступною обробкою реакційної суміші поташем за методикою [6] здійснено синтез 2-метокси-4,5-дигідро-3Н-піролу (2). Амінуванням останнього одержані аміни (3) за методикою [7], які при взаємодії з ароматичними ізоціанатами утворюють похідні N,N'-дифеніл-N-(3,4-дигідро-2Н-5-піроліл)сечовини (4a-h).

Склад і хімічну будову сполук (4a-h) доведено даними елементного аналізу (табл. 1) та методом ЯМР <sup>1</sup>Н спектроскопії (табл. 2).

Таблиця 1

Структурні та фізико-хімічні особливості синтезованих речовин

Сполука	R	T <sub>топл.</sub> , °C	Вихід, %	Емпірична формула	Знайдено, %		Виразовано, %	
					N	Cl	N	Cl
4a	R=R <sup>1</sup> =R <sup>2</sup> : H	114-5	89	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O	14,7		15,0	
4b	R: OCH <sub>3</sub> ; R <sup>1</sup> =R <sup>2</sup> : H	188-9	81	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	13,5		13,6	
4c	R:OCH <sub>3</sub> ; R <sup>1</sup> :H, R <sup>2</sup> :Cl	127-8	90	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	12,0	10,1	12,2	10,3
4d	R: OCH <sub>3</sub> ; R <sup>1</sup> : Cl, R <sup>2</sup> : H	101-2	65	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	12,3	10,2	12,2	10,3
4e	R: OCH <sub>3</sub> ; R <sup>1</sup> =R <sup>2</sup> : Cl	106-7	78	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	11,3	18,5	11,1	18,8
4f	R: OCHF <sub>2</sub> ; R <sup>1</sup> =R <sup>2</sup> : H	110-1	82	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	12,1		12,2	
4g	R: OCHF <sub>2</sub> ; R <sup>1</sup> : H, R <sup>2</sup> : Cl	124-5	84	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> ClF <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	11,0		11,1	
4h	R: OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> , R <sup>1</sup> =R <sup>2</sup> : H	108-9	77	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	12,7		13,0	

Таблиця 2

Дані ЯМР  $^1\text{H}$  спектроскопії синтезованих сполук

Сполука	Хімічні зсуви, $\delta$ , м.д. ( ДМСО- $d_6$ )
4a	1.90 (м, 2H, $\text{CH}_2$ ), 2.69 (т, 2H, $\text{CH}_2$ ), 3.85 (м, 2H, $\text{CH}_2$ ), 7.02 — 7.50 (м, 10H, $2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 12.2 (с, 1H, NH).
4b	1.89 (м, 2H, $\text{CH}_2$ ), 2.70 (т, 2H, $\text{CH}_2$ ), 3.75 (с, 3H, $\text{OCH}_3$ ), 3.81 (м, 2H, $\text{CH}_2$ ), 6.92 та 6.98 (д-д, 4H, $\text{C}_6\text{H}_4$ , $J=9.0$ Гц), 7.02 — 7.50 (м, 5H, $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 12.4 (с, 1H, NH).
4c	1.92 (м, 2H, $\text{CH}_2$ ), 2.71 (т, 2H, $\text{CH}_2$ ), 3.79 (с, 3H, $\text{OCH}_3$ ), 3.89 (м, 2H, $\text{CH}_2$ ), 6.83 та 6.87 (д-д, 4H, $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 6.98 — 7.68 (м, 4H, $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 12.3 (с, 1H, NH).
4d	1.89 (м, 2H, $\text{CH}_2$ ), 2.71 (т, 2H, $\text{CH}_2$ ), 3.78 (с, 3H, $\text{OCH}_3$ ), 3.80 (м, 2H, $\text{CH}_2$ ), 6.86 та 6.89 (д-д, 4H, $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 7.31 — 7.82 (м, 3H, $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 12.4 (с, 1H, NH).
4e	1.89 (м, 2H, $\text{CH}_2$ ), 2.71 (т, 2H, $\text{CH}_2$ ), 3.78 (с, 3H, $\text{OCH}_3$ ), 3.80 (м, 2H, $\text{CH}_2$ ), 6.86 та 6.89 (д-д, 4H, $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 7.31 — 7.82 (м, 3H, $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 12.4 (с, 1H, NH).
4f	1.91 (м, 2H, $\text{CH}_2$ ), 2.70 (т, 2H, $\text{CH}_2$ ), 3.83 (м, 2H, $\text{CH}_2$ ), 7.02 — 7.50 (м, 9H, $\text{C}_6\text{H}_4 + \text{C}_6\text{H}_5$ ), 7.19 (т, 1H, $\text{OCHF}_2$ , $J=74.1$ Гц), 12.2 (с, 1H, NH).
4g	1.91 (м, 2H, $\text{CH}_2$ ), 2.71 (т, 2H, $\text{CH}_2$ ), 3.83 (м, 2H, $\text{CH}_2$ ), 7.09 та 7.18 (д-д, 4H, $\text{C}_6\text{H}_4$ , $J=9.0$ Гц), 7.19 (т, 1H, $\text{OCHF}_2$ , $J=74.4$ Гц), 7.36 та 7.53 (д-д, 4H, $\text{C}_6\text{H}_4$ , $J=9.0$ Гц), 12.3 (с, 1H, NH).
4h	1.33 (т, 3H, $\text{CH}_3$ ), 1.88 (м, 2H, $\text{CH}_2$ ), 2.70 (т, 2H, $\text{CH}_2$ ), 3.81 (м, 2H, $\text{CH}_2$ ), 4.00 (кв, 2H, $\text{OCH}_2$ ), 6.90 та 6.96 (д-д, 4H, $\text{C}_6\text{H}_4$ , $J=9.0$ Гц), 7.01 — 7.50 (м, 5H, $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 12.4 (с, 1H, NH).

## Експериментальна хімічна частина

Спектри ЯМР $^1\text{H}$  синтезованих сполук записані на приладі Bruker-300, робоча частота — 300 МГц, розчинник — ДМСО- $d_6$ , внутрішній стандарт — ТМС.

**N-Арил-N-(4,5-дигідро-3H-пірол-2-іл)-N $^1$ -арилсечовини (4a-h).**

До розчину 0,01 моль амідину (3) в 50 мл сухого ацетону при перемішуванні приливали по краплям розчин 0,011 моль відповідного арилізоціанату в 20 мл ацетону. Реакційну суміш спочатку перемішували 8 год. за кімнатної температури, а потім залишали на ніч. Після цього розчинник відігнали при пониженому тиску, сухий залишок очищували кристалізацією з етанолу.

Синтезовані сполуки (4a-h) є кристалічними речовинами білого кольору, що розчинні у ДМФА та етанолі.

### Експериментальна фармакологічна частина

Дослідження антирадикальної активності (АРА) речовин *in vitro* проводились за концентрацій їх від  $10^{-2}$  до  $10^{-8}$  мг/мл.

АРА та ПОА сполук оцінювали за ступенем інгібування активних форм NO *in vitro* за методом [8]. Метод заснований на здатності натрій нітропрусиду до автоокиснення за дії світла з утворенням NO [9].

Індукцію NO викликали дією на проби з натрій нітропрусидом світла з люмінесцентного джерела потужністю 40 Вт. Опромінення проводили протягом 60 хв. при 20 °С. Інкубаційна суміш містила 0,001 % розчин натрій нітропрусиду, 0,01 % розчин аскорбінової кислоти та досліджувані речовини з кінцевим титром  $10^{-2}$ ,  $10^{-4}$  та  $10^{-6}$  мг/мл. В якості розчинника використовували х.ч. ДМСО. Ефективність гальмування утворення активних форм NO реєстрували спектрофотометрично за ступенем інгібування окиснення аскорбінової кислоти при 265 нм. Антирадикальну активність виражали у відсотках інгібування окиснення аскорбату.

Математичну обробку отриманих даних проводили методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента [10].

**Результати дослідження.** Встановлено, що більшість досліджуваних сполук проявляє, як правило, прооксидантну активність (див. рис.). При цьому вірогідну ПОА в усіх трьох досліджуваних концентраціях проявляють сполуки 4a, 4c, 4d, 4e, 4f, 4g.

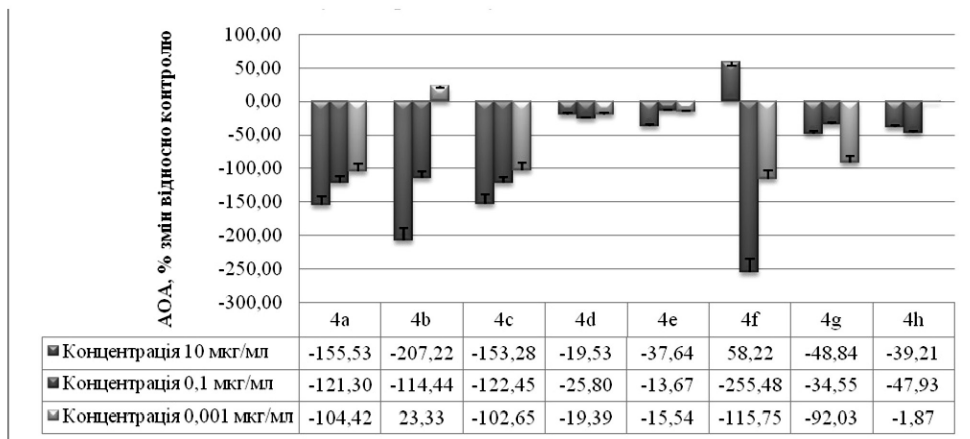


Рис. Прооксидантна активність похідних N,N'-дифеніл-N-(3,4-дигідро-2H-5-піроліл)сечовини за умов фотоіндукції NO *in vitro*

Відповідно до наведеного рисунку найбільші значення ПОА характерні для сполук (4a) та (4c). У сполуки (4f) зменшення концентрації призводить до різкої зміни активності — від антиоксидантної до прооксидантної, тоді як у сполуки (4b), навпаки, найменше значення концентрації ( $10^{-6}$  мг/мл) характеризує її як антиоксидант, а концентрації  $10^{-2}$  та  $10^{-6}$  мг/мл — як прооксидант.

За збільшенням прооксидантної активності в концентрації 0,1 мкг/мл досліджувані сполуки можна розмістити в наступний ряд:



тоді як для концентрації 10 мкг/мл — у такий:



Отже, прооксидантна активність залежить як від концентрації речовини, так і електронної та стеричної природи замісників R в ароматичному кільці. Наприклад, сполука (4a), у якій замісником є H, виявляє високу прооксидантну дію, яка зменшується симбатно зміні концентрації. Наявність хлору в мета- (4d) та пара-положеннях (4e), або заміна замісника  $\text{OCH}_3$  на  $\text{OCHF}_2$  (4g) призводить до суттєвого зменшення прооксидантної активності. Так, на відміну від сполук (4e) та (4d), що містять атоми хлору в ароматичному кільці, речовина в концентрації 10 мг/мл підвищує прооксидантну в 1,7–1,9 рази. Заміна замісника  $\text{OCH}_3$  у сполуки (4b) на  $\text{OCHF}_2$  (4f) приводить до появи значної антиоксидантної дії (58,22 %).

Таким чином, на антирадикальну активність досліджуваних сполук впливають стеричні та електронні властивості замісників у бензенових ядрах та концентрація речовин.

## Висновки

1. Синтезовані нові похідні N,N'-дифеніл-N-(3,4-дигідро-2H-5-піроліл)сечовини та досліджені їх фізико-хімічні, спектральні та антирадикальні властивості.
2. Показано, що на антирадикальну ефективність сполук впливає природа замісників в ароматичному кільці та концентрація речовини.
3. Отримані дані дозволяють рекомендувати сполуки (4a-c) як типові прооксиданти для подальших скрінінгових досліджень з метою створення нових ліків, що діють в умовах оксидативного стресу.

## Література

1. Кравців Р. Й. Глутатіон, сульфгідрильні групи і малоновий діальдегід за корекції мікроелементного живлення відгодівельних бугайців / Р. Й. Кравців, М. З. Паска // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини ім. С. Ж. Гжицького. — Львів, 2003. — Т.5, №3, Ч.2. — С. 64–70.
2. Fidelis I. Achuba Effect of Vitamins C and E Intake on Blood Lipid Concentration, Lipid Peroxidation, Superoxide Dismutase and Catalase Activities in Rabbit Fed Petroleum Contaminated Diet / I. Fidelis // Pakistan Journal of Nutrition. — 2005. — Vol.4, №5. — P. 330 — 335.
3. Oxidative stress, endothelial function and angiogenesis induced by cell therapy and gene therapy / Higashi Y., Nishioka K., Umemura T. [et al.] // Curr. Pharm. Biotechnol. — 2006. — 7. — P. 109–116.
4. Бурбелло А. Т. Современные лекарственные средства: клиничко-фарм. справ. практ врача / А. Т. Бурбелло, А. В. Шабров, П. П. Денисенко. — СПб.: Изд. дом «Нева», 2003. — 863 с.
5. Greval P. S. Neonicotinoid insecticides after diapause behavior and survival of overwintering white grubs / P. S. Greval, K. T. Power // Pest. Manag. Sci. — 2001. — V. 57. — P. 852–857.
6. Граник В. Г. Ацетали лактамов. VII. Исследование алкилирования N-метиллактамов и лактимных эфиров диметилсульфатом / В. Г. Граник, А. М. Жидкова, Н. С. Курятов [и др.] // ХГС. — 1973. — № 11. — С. 1532–1535.

7. Javorsky R. Synthesis and pesticidal activity of the substituted 3-(1-aza-1-cycloalken-2-yl)-3-phenyl-1-methylureas / R. Javorsky, Z. Vesela, S. Truchlik // Chem. Zvesti. — 1978. — 32. N2 — P. 223–231.
8. Методи оцінки антиоксидантної активності речовин при ініціюванні вільно-радикальних процесів у дослідах *in vitro*. Метод. реком. — Київ: ДФЦ МОЗ України, 2002. — 26 с.
9. Губен — Вейль // Методы органической химии. — 2-е изд., стер. — М.: Химия, 1967. — Т. 2. Методы анализа. — 1032 с.
10. Лакин Г. В. Биометрия / Г. В. Лакин. — М.: Высш. шк., 1990. — 351 с.

**А. М. Демченко<sup>1</sup>, О. С. Смольский<sup>1</sup>, В. В. Суховеєв<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Черниговский национальный педагогический университет

имени Т. Г. Шевченко

Ул. Гетьмана Полуботка, 53, кафедра химии, 14013, г. Чернигов, Украина

<sup>2</sup>Нежинский государственный университет имени Николая Гоголя

Ул. Крапивянская, 2, кафедра химии,

16602, г. Нежин, Черниговская обл., Украина

## **СИНТЕЗ И АНТИРАДИКАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ПРОИЗВОДНЫХ N,N'-ДИФЕНИЛ-N-(3,4-ДИГИДРО-2Н-5-ПИРРОЛИЛ)МОЧЕВИНЫ**

### **Резюме**

Синтезированы новые производные N,N'-дифенил-N-(3,4-дигидро-2Н-5-пирролил)мочевини, которые исследованы *in vitro* на антирадикальную активность. Установлено, что в зависимости от концентрации исследуемых веществ и природы заместителя R в ароматическом кольце, они обнаруживают про- или антиоксидантную активность. Полученные соединения могут быть использованы в качестве исходных веществ при разработке лекарств, которые действуют в условиях оксидативного стресса.

**Ключевые слова:** оксид азота (II); оксидативный стресс; производные N,N'-дифенил-N-(3,4-дигидро-2Н-5-пирролил)мочевини; антиоксидант; прооксидант.

**A. M. Demchenko<sup>1</sup>, O. S. Smolskyi<sup>1</sup>, V. V. Sukhoveyev<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Department of Chemistry Chernihiv National Pedagogical Shevchenko University  
Getman Polubotka str., 53, Chernihiv 14013, Ukraine

<sup>2</sup>Department of Chemistry Nizhyn Gogol State University

Kropyvnyanskoho str. 2, Nizhyn, Chernihiv rgn., 16602, Ukraine

## **SYNTHESIS AND ANTIRADYKAL PROPERTIES OF DERIVATIVES OF N, N'-DIPHENYL-N-(3,4-DIHYDRO-2H-5-PYRROLE) CARBAMIDE**

### **Summary**

Synthesis of new derivatives of N, N'-diphenyl-N-(3,4-dihydro-2H-5-pyrrolyl) carbamide, which were studied *in vitro* on antiradical effect. It was established that depending on the concentration of test substances and the nature of the substituent R in the aromatic ring they show pro- or antioxidant activity. The resulting compounds may be used as starting materials for the development of drugs that act in the conditions of oxidative stress.

**Key words:** nitric oxide (II); oxidative stress; derivatives N, N'-diphenyl-N-(3,4-dihydro-2H-5-pyrrolyl) carbamide; antioxidant; prooxidant.