

УДК 547.826.1; 615.281

**СИНТЕЗ И ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭФИРОВ
И АМИДОВ ПИРИДИН-2-КАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ****Бояршинов В.Д., Михалев А.И., Ухов С.В., Новикова В.В., Данилов Ю.Л.**
*ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства
здравоохранения России, Пермь, e-mail: perm@pfa.ru*

По данным литературы среди производных пиридин-2-карбоновой кислоты имеются соединения, проявляющие различную биологическую активность. В настоящей работе реакцией между ариловым эфиром пиридин-2-карбоновой кислоты и амином получены замещенные амиды пиридин-2-карбоновой кислоты. Квантово-химическая оптимизация геометрии молекулы 4-бромфенилпиридин-2-карбоновой кислоты была получена путем расчетов с использованием пакета программ GAUSSIAN 03W. Квантово-химические расчеты были проведены с целью исследования механизма реакции получения амидов пиридин-2-карбоновой кислоты. Ариловые эфиры или замещенные амиды пиридин-2-карбоновой кислоты синтезированы в реакции хлорангидрида пиридин-2-карбоновой кислоты с фенолом или ариламином в бензоле при температуре 50 °С. Структура полученных соединений установлена данными ЯМР ¹H спектроскопии. Чистота синтезированных соединений подтверждена методом тонкослойной хроматографии. Определены физико-химические свойства конечных продуктов реакции. В опытах изучена противомикробная активность в сравнении с препаратами-эталоном: этакридином и диоксицином. Разработанная методика синтеза амидов пиридин-2-карбоновых кислот может быть использована в препаративной органической химии для получения потенциально биологически активных веществ данного ряда.

Ключевые слова: пиридин-2-карбоновая кислота, ариловые эфиры пиридин-2-карбоновой кислоты, амиды пиридин-2-карбоновой кислоты, противомикробная активность

**SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY AMIDES
PYRIDINE-2-CARBOXYLIC ACIDS****Boyarshinov V.D., Mikhalev A.I., Ukhov S.V., Novikova V.V., Danilov Y.L.**
Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, e-mail: perm@pfa.ru

According to the literature data derivatives of pyridine-2-carboxylic acid include compounds exhibiting a different biological activity. In this paper was obtained pyridine-2-carboxylic acid by the reaction between aryl ester pyridine-2-carboxylic acid and the amine-substituted amides. Quantum-chemical geometry optimization of the molecule 4-bromophenylpyridin-2-carboxylic acid was obtained by calculations using the program package GAUSSIAN 03W. Quantum chemical calculations were carried out to investigate the reaction mechanism for amide pyridine-2-carboxylic acid. Aryl esters or substituted amides of pyridine-2-carboxylic acid synthesized in reactions chloride pyridin-2-carboxylic acid with phenol or an arylamine in benzene at a temperature of 50 °C. The structure of the compounds was confirmed by ¹H NMR spectrum data. The purity of the synthesized compounds was confirmed by thin layer chromatography. Physicochemical properties of the final products were determined. The experiments the antimicrobial activity was investigated in comparison with reference substances: ethacridine and dioxydine. The developed synthetic procedure amide pyridine-2-carboxylic acids can be used in preparative organic chemistry to obtain potentially active compounds of this series.

Keywords: pyridine-2-carboxylic acid, pyridine-2-carboxylic acid aryl esters, pyridine-2-carboxylic acid amides, antimicrobial activity

Синтез новых органических потенциально биологически активных веществ (БАВ), изучение их активности и взаимосвязи «структура – биологическое действие» является актуальной задачей фармацевтической химии. Весьма перспективным направлением является поиск новых БАВ в ряду замещенных амидов пиридин-2-карбоновой (пиколиновой) кислоты.

Известно, что пиколиновая кислота обладает антибактериальной активностью в отношении *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* [7]. Производное пиридин-2-карбоновой кислоты – фузариновая кислота обладает антибактериальной, инсектицидной, бактерицидной активностью [8]. Синтезированные нами ариламины пиридин-2-карбоновой кислоты, обладают противовоспалительной или анальгетической активностью [1].

Приведенные данные литературы свидетельствуют о том, что среди производных пиридин-2-карбоновой кислоты имеются биологически активные вещества.

Целью исследования – разработать методики синтеза новых потенциально биологически активных соединений в ряду производных пиридин-2-карбоновой кислоты на основе хлорангидрида пиридин-2-карбоновой кислоты для получения эфиров или амидов пиридин-2-карбоновой кислоты, изучение их физико-химических свойств. Проанализировать результаты биологических испытаний полученных соединений на противомикробную активность в сравнении с активностью препаратов-эталонов. Выявить взаимосвязь структура – активность в ряду эфиров и амидов пиридин-2-карбоновой кислоты.

Материалы и методы исследования

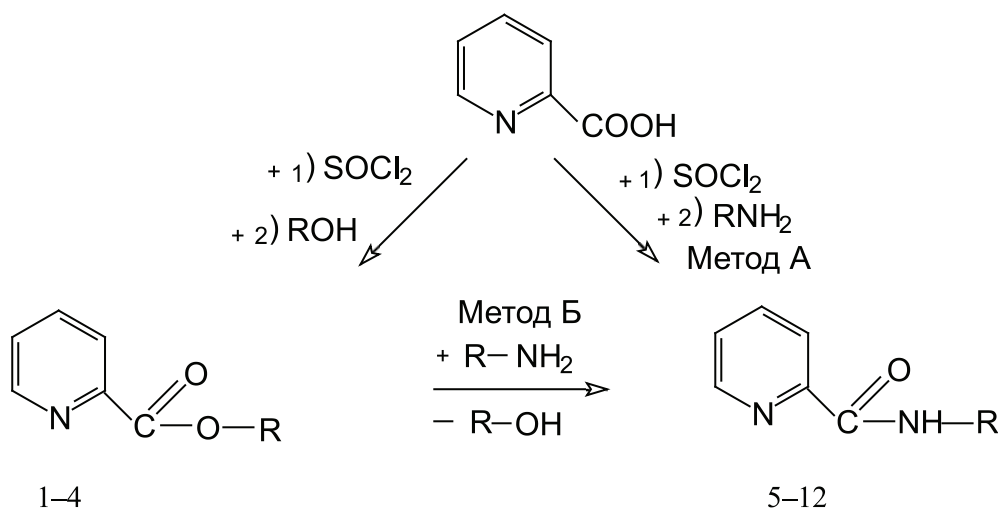
Структура полученных соединений подтверждена спектральными методами анализа. ЯМР ¹H-спектры записаны на спектрометре ЯМР MERCURY-300 фирмы Varian, (300 МГц), в ДМСО-d₆, внутренний стандарт – ГМДС. Ход реакций и чистоту соединений контролировали методом ТСХ на пластинах Silufol UV-254 в системе углерод четыреххлористый – ацетон (6:1), пятна детектировали парами йода. Данные элементного анализа синтезированных веществ соответствуют вычисленным значениям. Биологические испытания синтезированных соединений проведены согласно методическим указаниям.

Результаты исследования и их обсуждение

В литературе известна реакция 4-нитрофениловых эфиров 2-замещённых никотиновых кислот с аминокислотами: ГАМК, глицин, β-аланин, глутаминовая кислота с образованием соответствующих амидов никотиновой кислоты [3]. Для изучения реакционной способности ариловых эфиров пиридин-2-карбоновой кислоты проведены квантово-химические расчеты 4-бромфенилпиридин-2-карбоновой кислоты с использованием пакета программ

GAUSSIAN 03W [6] неэмпирическим методом Хартри – Фока RHF/6-31 G(d) с полной оптимизацией геометрических параметров молекулы. Установлено, что на гетероатоме азота, кислороде карбонильной и эфирной групп имеются отрицательные заряды, соответственно: 0,038; 0,073; 0,080, а на углеороде карбонильной группы положительный заряд 0,417 в единицах заряда электрона. Эти данные свидетельствуют о реакционной способности эфирной группы ариловых эфиров пиридин-2-карбоновой кислоты.

В ходе опытов было установлено, что при нагревании эфира 4-бромфенилпиридин-2-карбоновой кислоты с аминами в среде ДМФА образуются соответствующие замещённые амиды пиридин-2-карбоновой кислоты (соединения 5, 7, 8). В то же время при взаимодействии эквимолекулярных количеств хлорангидрида пиридин-2-карбоновой кислоты с фенолом или ариламином в бензоле в присутствии триэтиламина образуются соответствующие ариловые эфиры (1–4) или замещённые амиды пиридин-2-карбоновой кислоты (5–12) по схеме:



1-4 R = C₆H₄Br – 4 (1), R = C₆H₃(NO₂)₂ – 2,4 (2), R = C₆H₃(NO₂)₂ – 2,6 (3), R = C₆H₄NO₂ – 4 (4),
 5-12 R = C₆H₃Cl₂ – 2,4 (5), R = C₆H₃(NO₂)₂ – 2,4 (6), R = C₆H₄Br – 4 (7), R = C₆H₄Cl – 4 (8),
 R = C₆H₄I – 4 (9), R = C₆H₄NO₂ – 2 (10), R = C₆H₄NO₂ – 3 (11), R = C₆H₄NO₂ – 4 (12).

Полученные соединения (1–12) – это белые кристаллические вещества, нерастворимые в воде и растворимые при нагревании в органических растворителях: диоксане, ДМФА.

Общая методика получения ариловых эфиров пиридин-2-карбоновой кислоты (1–4)

К 1,23 г (0,01 моль) пиридин-2-карбоновой (пиколиновой) кислоты прибавляют 20–30 мл тионилхлорида и кипятят на водяной бане 1 час. Избыток тионилхло-

рида отгоняют при пониженном давлении. Остаток растворяют в 20 мл бензола и прибавляют (0,01 моль) соответствующего фенола, растворенного в 40–50 мл бензола и 0,01 моль триэтиламина. Реакционную массу нагревают на водяной бане в течение 1 часа. Бензол и летучие продукты отгоняют с водяным паром. Остаток обрабатывают 10% раствором гидрокарбоната натрия, отфильтровывают и перекристаллизовывают соединения из диоксана. Выходы продуктов реакций составляют 71–89%.

Таблица 1

Характеристики ариловых эфиров (1–4) и замещенных амидов (5–12) пиридин-2-карбоновой кислоты

Соединение	R	Брутто-формула	T _{пл} , °C	Выход, % метод А	Выход, % метод Б	R _f *
1	C ₆ H ₄ Br – 4	C ₁₂ H ₈ BrNO ₂	237–240	89		0,56
2	C ₆ H ₃ (NO ₂) ₂ – 2,4	C ₁₂ H ₈ N ₃ O ₆	145–146	82		0,36
3	C ₆ H ₃ (NO ₂) ₂ – 2,6	C ₁₂ H ₈ N ₃ O ₆	212–215	79		0,39
4	C ₆ H ₄ NO ₂ – 4	C ₁₂ H ₉ N ₂ O ₄	130–131	71		0,45
5	C ₆ H ₃ Cl ₂ – 2,4	C ₁₂ H ₈ Cl ₂ N ₂ O	144–145	82	76	0,62
6	C ₆ H ₃ (NO ₂) ₂ – 2,4	C ₁₂ H ₈ N ₄ O ₅	162–163	77		0,12
7	C ₆ H ₄ Br – 4	C ₁₂ H ₉ BrN ₂ O	135–137	80	74	0,64
8	C ₆ H ₄ Cl – 4	C ₁₂ H ₉ ClNO ₂	134–135	74	70	0,57
9	C ₆ H ₄ I – 4	C ₁₂ H ₉ IN ₂ O	148–150	74		0,65
10	C ₆ H ₄ NO ₂ – 2	C ₁₂ H ₉ N ₃ O ₃	152–153	77		0,60
11	C ₆ H ₄ NO ₂ – 3	C ₁₂ H ₉ N ₃ O ₃	158–160	79		0,36
12	C ₆ H ₄ NO ₂ – 4	C ₁₂ H ₉ N ₃ O ₃	251–252	83		0,41

Примечание. * – в системе углерод четыреххлористый – ацетон (6:1).

Общая методика получения амидов пиридин-2-карбоновой кислоты (5–12). Метод А

К 1,23 г (0,01 моль) пиридин-2-карбоновой кислоты прибавляют 20–30 мл тионилхлорида и нагревают на водяной бане 3 часа. Избыток тионилхлорида отгоняют в вакууме. К охлажденной реакционной массе прибавляют 0,01 моль соответствующего амина, растворенного в 40–50 мл бензола и 3–4 мл триэтиламина. Реакционную массу нагревают на водяной бане в течение 1 часа. Бензол и летучие продукты отгоняют с водяным паром. Остаток обрабатывают 10% раствором NaHCO₃, отфильтровывают и перекристаллизовывают соединения из диоксана. Выходы продуктов реакций составляют 74–83%.

Общая методика получения амидов пиридин-2-карбоновой кислоты (5, 7, 8). Метод Б

К 2,8 г (0,01 моль) 4-бромфенилового эфира пиридин-2-карбоновой кислоты прибавляют (0,01 моль) ариламина, 5 мл ДМФА и нагревают при температуре 150°C в течение 3 часов. К охлажденной реакционной массе прибавляют 50 мл воды. Остаток отфильтровывают и перекристаллизовывают из диоксана. Выход продуктов

реакции составляет 70–76%. Смешанная проба плавления полученных соединений с аналогичными веществами полученными по методу А не дала депрессии температуры плавления.

Структура полученных соединений 1–12 подтверждена данными ЯМР ¹H-спектроскопии. В спектрах ЯМР¹H соединений 5–12 имеются характерные сигналы протонов δ, м.д.: 10,33–12,22 (1 H, с., N-амид), группа линий ароматических и гетероциклических протонов в области 7,92–8,36.

Биологические исследования

В структуре некоторых противомикробных лекарственных средств [2] имеются нитрогруппы или галогены, поэтому целенаправленным синтезом нами были получены целевые продукты, в которых есть эти фармакофорные фрагменты.

Испытания синтезированных соединений проведены согласно методическим указаниям «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [5]. Анализ результатов биологических испытаний апробированных соединений проведен в сравнении с литературными данными по активности препаратов-эталонных: этакридином и диоксидином [4].

Противомикробная активность полученных эфиров и амидов определена методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде по отношению к тест-штаммам *S. aureus* ATTC 6538-P и *E. coli* ATCC 25922. Исходная концентрация исследуемых соединений – 1000 мкг/мл. Микробная нагрузка составила 250000 микробных

тел/мл. Учет результатов проводился через 18–20 ч термостатирования при 37°C. Для всех исследуемых соединений определяли минимальную подавляющую концентрацию (МПК), при которой происходит подавление роста соответствующего микроорганизма. Результаты испытаний приведены в табл. 2.

Таблица 2

Противомикробная активность ариловых эфиров (1–4) и замещённых амидов (5–12) пиридин-2-карбоновой кислоты

Соединение	R	Минимальная подавляющая концентрация (МПК), мкг/мл	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
1	C ₆ H ₄ Br – 4	250	500
2	C ₆ H ₃ (NO ₂) ₂ – 2,4	500	500
3	C ₆ H ₃ (NO ₂) ₂ – 2,6	250	500
4	C ₆ H ₄ NO ₂ – 4	500	250
5	C ₆ H ₃ Cl ₂ – 2,4	500	1000
6	C ₆ H ₃ (NO ₂) ₂ – 2,4	250	250
7	C ₆ H ₄ Br – 4	250	500
8	C ₆ H ₄ Cl – 4	500	1000
9	C ₆ H ₄ I – 4	1000	1000
10	C ₆ H ₄ NO ₂ – 2	1000	не активн.
11	C ₆ H ₄ NO ₂ – 3	1000	1000
12	C ₆ H ₄ NO ₂ – 4	250	500
Этакридин		2000	500
Диоксидин [7]		62,5–1000	3,9–62,5

Большинство изученных соединений в опытах показали слабую противомикробную активность, их МПК составляет 250–1000 мкг/мл, что соответствует таковой этакридина. Соединение 6 проявляет активность в отношении обеих культур при МПК равной 250 мкг/мл, что соответствует действию диоксидина на золотистый стафилококк, но уступает влиянию на кишечную палочку.

Таким образом, на основании проведенных исследований следует, что поиск биологически активных соединений в рядах эфиров и амидов пиридин-2-карбоновой кислоты является перспективным.

Выводы

1. В ходе проведенного исследования установлено, что при нагревании хлорангидрида пиридин-2-карбоновой кислоты с фе-

нолом или ариламином с хорошими выходами образуются соответствующие ариловые эфиры или амиды пиридин-2-карбоновой кислоты.

2. Данные расчетов показывают, что ариловые эфиры пиридин-2-карбоновой кислоты проявляют реакционную способность при взаимодействии с ариламином.

3. Индивидуальность полученных соединений установлена с помощью ТСХ, а химическая структура – спектральными данными.

4. Противомикробная активность синтезированных соединений зависит от заместителей в ароматическом кольце амидной группы.

Список литературы

1. Бояршинов В.Д., Михалев А.И., Ухов С.В., Юшко-ва Т.А., Махмудов Р.Р. Синтез, свойства и биологическая

активность амидов пиридин-2-карбоновой кислоты // Фундаментальные исследования. – 2014. – Часть 3. – № 9. – С. 606–610.

2. Вышковский Г.Л. Регистр лекарственных средств России (РЛС). Энциклопедия лекарств. 2013. № 21. / под общ. ред. Г.Л. Вышковского. – М.: ЛИБРОФАРМ, 2012. – 1612 с.

3. Жмуренко Л.А., Борисенко С.А., Глоzman О.М., Островская Р.У., Буров Ю.В., Загоревский В.А. Синтез и фармакологическое изучение N-(2-замещённых никотиноил) аминокислот // Хим.-фарм. журн. – 1980. – Т. 14. – № 9. – С. 49–55.

4. Падейская Е.Н. Антибактериальный препарат диоксидин: особенности биологического действия и значение в терапии различных форм гнойной инфекции // Инфекция и антимикробная терапия. – 2001. – Т. 3. – № 5. – С. 55–56.

5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р.У. Хабриева. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.

6. Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B. Gaussian 03W, Inc., Wallingford CT, 2004.

7. Koji Narui, Norihisa Noguchi, Aya Saito et al. Anti-infectious activity of tryptophan metabolites in the L-tryptophan – L-kynurenine pathway // Biol. Pharm. Bull. – 2009. – № 1. – P. 41–44.

8. Stipanovic R.D., Wheeler M.H. et al. Nuclear magnetic resonance (NMR) studies on the biosynthesis of fusaric acid from *Fusarium oxysporum* f. sp. vasinfectum // J. Agric. Food Chem. – 2011. – № 59. – P. 5351–5356.

References

1. Boyarshinov V.D., Mikhalev A.I., Ukhov S.V., YUshkova T.A., Makhmudov R.R. Sintez, svojstva i biologicheskayaaktivnost' amidov piridin-2-karbonovoj kisloty // Fundamentalnyye issledovaniya 2014. no. 3. pp. 606–610.

2. Vyshkovskij G.L. Registr lekarstvennykh sredstv Rossii (RLS). EНtsiklopediya lekarstv. 2013. no. 21 / pod obshhej redaktsiej G.L. Vyshkovskogo M.: LIBROFARM, 2012. 1612 p.

3. Zhmurenko L.A., Borisenko S.A., Glozman O.M., Ostrovskaya R.U., Burov YU.V., Zagorevskij V.A. / Sintez i farmakologicheskoe izuchenie N-(2-zameshhyonnykh nikotinoil) aminokislot. Khim.-farm. zhurn. 1980. T. 14. no. 9. pp. 49–55.

4. Padejskaya E.N. Antibakterialnyj preparatd ioksidin: osobennosti biologicheskogo dejstviya i znachenie v terapii razlichnykh form gnojnoj infektsii // Infektsiya i antimikrobnaya terapiya. 2001. T. 3. no. 5. pp. 55–56.

5. Rukovodstvo po ehksperimentalnomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshhestv / pod obshhej red. R.U. KHabrieva. Izd. 2-e, pererab.idop. M.: Meditsina. 2005. 832 p.

6. Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B. Gaussian 03W, Inc., Wallingford CT, 2004.

7. Koji Narui, Norihisa Noguchi, Aya Saito et al. / Anti-infectious activity of tryptophan metabolites in the L-tryptophan – L-kynurenine pathway // Biol. Pharm. Bull., 2009. no. 1. pp. 41–44.

8. Stipanovic R.D., Wheeler M.H. et al. / Nuclear magnetic resonance (NMR) studies on the biosynthesis of fusaric acid from *Fusariumoxysporum* f. sp. vasinfectum // J. Agric. Food Chem., 2011, no. 59, pp. 5351–5356.

Рецензенты:

Хомов Ю.А., д.фарм.н., профессор кафедры фармацевтической химии ФДПО и ФЗО, ГБОУ ВПО ПГФА Министерства здравоохранения России, г. Пермь;

Михайловский А.Г., д.фарм.н., профессор кафедры общей и органической химии, ГБОУ ВПО ПГФА Министерства здравоохранения Россия, г. Пермь.

Работа поступила в редакцию 01.10.2014.