

УДК 547.826.1; 615.276: 615.218

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АМИДОВ ПИРИДИН-2-КАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ

¹Бояршинов В.Д., ¹Михалев А.И., ¹Ухов С.В., ¹Юшкова Т.А., ²Махмудов Р.Р.¹ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия Министерства здравоохранения России», Пермь, e-mail: perm@pfa.ru;²Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, e-mail: bav@psu.ru

По данным литературы среди производных пиридин-2-карбоновой кислоты имеются соединения, проявляющие различную биологическую активность. В настоящей работе реакцией хлорангидрида пиридин-2-карбоновой (пиколиновой) кислоты с ароматическими аминами в бензоле при температуре 50 °С синтезированы с хорошими выходами замещенные амиды пиридин-2-карбоновой кислоты. Структура полученных соединений установлена данными ЯМР ¹H спектроскопии. Чистота синтезированных соединений подтверждена методом тонкослойной хроматографии. Определены физико-химические свойства конечных продуктов реакции. В опытах на животных исследована острая токсичность, противовоспалительная активность в сравнении с препаратами-эталоном: диклофенаком натрия и аспирином. Изучена анальгетическая активность синтезированных соединений в сравнении с анальгином. Разработанная методика синтеза амидов пиридин-2-карбоновых кислот может быть использована в препаративной органической химии для получения потенциально биологически активных веществ пиридинового ряда.

Ключевые слова: пиридин-2-карбоновая кислота, амиды пиридин-2-карбоновой кислоты, острая токсичность, противовоспалительная, анальгетическая активность

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY AMIDES PYRIDINE-2-CARBOXYLIC ACIDS

¹Boyarshinov V.D., ¹Mikhalev A.I., ¹Ukhov S.V., ¹Yushkova T.A., ²Makhmudov R.R.¹Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, e-mail: perm@pfa.ru;²Perm State National Research University, Perm, e-mail: bav@psu.ru

According to the literature data derivatives of pyridine-2-carboxylic acid include compounds exhibiting a different biological activity. In this work, substituted pyridine -2- carboxylic acid amides were synthesized in good yields by the reaction of the pyridine-2-carboxylic (picolinic) acid chloride with aromatic amines in benzene at 50 °C. The structures of received compounds have been determined on the basic NMR ¹H spectral data. Purity of the synthesized compounds was confirmed by thin layer chromatography data. Physico-chemical properties of the final products were determined. In animal studies acute toxicity, antiinflammatory activity was investigated in comparison with referents substances: diclofenac sodium and aspirin. Developed technique of synthesis of pyridine -2- carboxylic acids amides can be used in preparative organic chemistry for obtaining bioactive substances potentially pyridine series.

Keywords: pyridine-2-carboxylic acid, pyridine-2-carboxylic acidamides, acute toxicity, antiinflammatory, analgesic 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. В ранее проведенных нами исследованиях было показано, что синтезированные замещенные амиды пиридин-3- и пиридин-4-карбоновых кислот при биологических испытаниях на животных показали противовоспалительную или анальгетическую активность [5, 6]. В то же время мало изученными являются амиды пиридин-2-карбоновой кислоты. Известно, что незамещенные амиды пиколиновой, никотиновой и изоникотиновой кислот обладают противовоспалительной и анальгетической активностью [9]. В на-

стоящее время в медицинской практике используется структурный аналог-оригинальный отечественный препарат – эфир пиперидин-2-карбоновой кислоты и спирта холина под названием димеколин в качестве ганглиоблокирующего средства [4]. Методом рентгеноструктурного анализа были изучены 4-бромфенилпиридин-2-[10] и 4-хлор-фенилпиридин-2-карбоновой кислот [11], но сведения о их биологической активности отсутствуют. Приведенные данные литературы свидетельствуют о том, что среди производных пиридин-2-карбоновой кислоты имеются биологически активные вещества.

В продолжение предыдущих исследований и с целью поиска новых биологически активных соединений, обладающих противовоспалительной и/или анальгетической активностью среди производных пиридин-2-карбоновой (пиколиновой) кислоты, нами

были получены ранее неизвестные амиды данной кислоты.

Целью исследования является разработка методик синтеза новых потенциально биологически активных соединений в ряду производных пиридин-2-карбоновой кислоты на основе хлорангидрида пиридин-2-карбоновой кислоты в реакции с ариламинами, изучение их физико-химических свойств. Провести анализ результатов биологических испытаний полученных соединений в сравнении с активностью ранее полученных их структурных аналогов, а также и препаратами-эталоны. Выявить взаимосвязь структура-активность в ряду замещенных амидов пиридин-2-карбоновой кислоты.

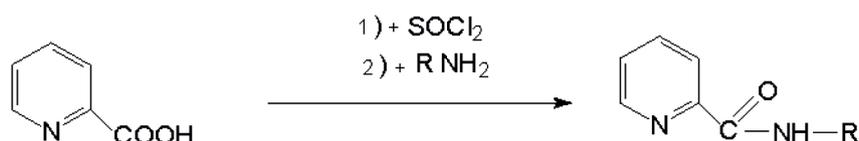
Материалы и методы исследования

Структура полученных соединений подтверждена спектральными методами анализа. ЯМР ¹H-спектры записаны на спектрометре ЯМР MER-

CURY-300 фирмы Varian, (300 МГц), в ДМСО-d₆, внутренний стандарт – ГМДС. ИК-спектры, сняты на ИК-спектрометре SPECORD M-80 (Германия), в вазелиновом масле. Ход реакции и чистоту соединений контролировали методом ТСХ на пластине SilufolUV-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 ходе опытов было установлено, что при нагревании эквимолекулярных количеств хлорангидрида пиридин-2-карбоновой кислоты с ариламины в бензоле в присутствии триэтиламина свыходами 74 – 82% образуются соответствующие замещенные амиды пиридин-2-карбоновой кислоты (1–6) по схеме:



1–6

Где R = C₆H₃Cl₂-2,4 (1); C₆H₃Cl₂-2,6 (2); C₆H₄Br-4 (3); C₆H₄Cl-3(4) C₆H₄Cl-4 (5); C₆H₄COOC₂H₅-4 (6)

Полученные соединения (1–6) – белые кристаллические вещества, не растворимые в воде и растворимые при нагревании

в органических растворителях: диоксане, ДМФА. Характеристики синтезированных соединений приведены в (табл. 1).

Таблица 1

Характеристики замещенных амидов пиридин-2-карбоновой кислоты (1–6)

Соединение	R	Брутто-формула	Т.пл., °C	Выход, %	R _f *
1.	C ₆ H ₃ Cl ₂ -2,4	C ₁₂ H ₈ Cl ₂ N ₂ O	144-145	82	0,62
2.	C ₆ H ₃ Cl ₂ -2,6	C ₁₂ H ₈ Cl ₂ N ₂ O	120-122	76	0,50
3.	C ₆ H ₄ Br-4	C ₁₂ H ₉ BrN ₂ O	135-137	80	0,64
4.	C ₆ H ₄ Cl-3[10]	C ₁₂ H ₉ ClNO ₂	155-157	76	0,56
5.	C ₆ H ₄ Cl-4[11]	C ₁₂ H ₉ ClNO ₂	134-135	74	0,57
6.	C ₆ H ₄ COOC ₂ H ₅ -4	C ₁₅ H ₁₄ N ₂ O ₃	124-125	80	0,46

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

Общая методика получения амидов пиридин-2-карбоновой кислоты (1–6). К 1,23 г (0,01 моль) пиридин-2-карбоновой (пиколиновой) 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) соот-

ветствующего амина, растворенного в 40-50 мл бензола и 3-4-мл триэтиламина. Реакционную массу нагревают на водяной бане при 50 °C в течение 1 часа. Бензол и летучие продукты отгоняют с водяным паром. Остаток обрабатывают 10% раствором NaHCO₃, отфильтровывают и перекристаллизовывают соединения из диоксана. Выходы продук-

тов реакций составляют 74-82%. Структура полученных соединений 1–6 подтверждена данными ИК-, ЯМР ¹H- спектров.

В спектрах ЯМР ¹H соединений 1–6 имеются характерные сигналы протонов δ, м.д.: 10,33-10,80 (1H, с., NH амид), группа линий ароматических и гетероциклических протонов в области 7,92-8,08. В ИК спектрах полученных соединений наблюдаются характерные полосы поглощения: 1688 – 1704 (СО), 3296 – 3336 (NH-амид) см⁻¹.

Биологические исследования

Испытания синтезированных соединений проведены согласно методическим указаниям «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [7]. Результаты обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента, эффект считали достоверным при $p \leq 0,05$ [1]. Анализ результатов биологических испытаний апробированных соединений проведен в сравнении с литературными данными по активности препаратов-эталонов: ортофена, аспирин [2].

Острая токсичность соединений (1, 2, 3) изучена на белых мышках-самках массой

18 – 22 г при однократном внутрибрюшинном введении с учетом гибели животных в течение 24 ч. Установлено, что ЛД₅₀ соединений более 2150 мг/кг (табл. 3), и они относятся к малотоксичным веществам. Из данных литературы известно, что ЛД₅₀ при этом же пути введения ортофена равно – 132, аспирин – 495 мг/кг [3].

Противовоспалительная активность (ПВА) соединений (1–6) изучена на белых крысах обоего пола массой 180 – 220 г на каррагениновой модели воспаления, создаваемой субплантарным введением в заднюю лапу крыс 0,1 мл 1% водного раствора каррагенина. Исследуемое вещество вводили внутрибрюшинно в дозе 25 мг/кг в 2% крахмальной слизи, за один час до моделирования воспаления. Прирост объема воспаленной стопы оценивали онкометрически через 3 и 5 часов после введения флогогенного агента и вычисляли процент торможения отека к контролю. Проведено 7 опытов, в каждой группе было по 5 животных. Полученные результаты сравнивали с литературными данными по противовоспалительному действию диклофенака натрия в дозе 25 мг/кг и аспирин в дозе 50 мг/кг на каррагениновой модели воспаления [2].

Таблица 2

Острая токсичность, противовоспалительная активность амидовпиридин-2-карбоновых кислот (1–6)

Соединение / препарат- эталон	R	ЛД ₅₀ , мг/кг	Противовоспалительная активность, % торможения отека к контролю после введения каррагенина через		
			Доза, мг/кг	3 ч	5 ч
1	C ₆ H ₃ Cl ₂ -2,4	>2150	25	84,5*	32,7***
2	C ₆ H ₃ Cl ₂ -2,6	> 2150	25	88,0*	37,0**
3	C ₆ H ₄ Br-4	> 2150	25	61,0*	44,0*
4	C ₆ H ₄ Cl-3	...	25	-17,2****	-33,6****
5	C ₆ H ₄ Cl-4	...	25	-33,3****	-21,7****
6	C ₆ H ₄ COOC ₂ H ₅ -4	...	25	47,8**	5,7****
Диклофенак натрия (ортофен) [2]		132	25	69,40**	72,20**
Ацетилсалициловая кислота (аспирин) [2]		495	50	51,20**	28,70**
Контроль		70,88 ± 0,16	87,07 ± 1,04

Примечания: * $p > 0,001$; ** $p > 0,01$; *** $p < 0,02$; **** $p < 0,5$ по сравнению с контролем

Исследования показали, что апробированные соединения (1, 2, 3) при внутрибрюшинном пути введения в дозе 25 мг/кг после введения флогогенного агента тормозят развитие отека через 3 ч в пределах 61,0 – 88,0 и 5 ч – 32,7 – 44,0%. Противовоспалительный эффект изученных соединений сни-

жается в опытах через 5 часов. Наиболее активными являются замещенные амиды пиридин-2-карбоновой кислоты (соединения 1,2), ПВА которых сравнима с таковой диклофенака натрия в этой же дозе через 3 часа наблюдения, но менее токсичны, чем препарат-эталон сравнения. По противовос-

палительному действию соединения 1, 2, 3 в дозе 25 мг/кг являются более активными, чем аспирин в дозе 50 мг/кг (табл. 2).

Анальгетическая активность соединений (1–6) и анальгина изучена на модели «уксусных корчей» на беспородных белых мышах-самцах массой 22-24 г. Мышам внутривентриально вводили 0,75% водный раствор уксусной кислоты из расчета 0,1 мл на 10 г массы животного и подсчитывали количество корчей в течение 15 минут. Исследуемые вещества в дозе 25 мг/кг вводили внутривентриально в виде взвеси в 2% крахмальной слизи за 30 мин до внутривентриального введения уксусной кислоты, а препарат сравнения анальгин – в дозе 55 мг/кг, соответствующей ED₅₀ по тесту «уксусных корчей» [8]. Результаты оценивали по способности тормозить количество корчей по сравнению с контрольными животными,

получавшими растворитель. Каждое соединение исследовали на 6 животных. Данные опытов обрабатывали статистически с вычислением критерия достоверности. Разницу считали достоверной при $p < 0,05$ [1].

Анальгетическая активность соединений (1–6) изучена на беспородных белых мышах методом термического раздражения «горячая пластинка». Исследуемые соединения вводили в дозе 25 мг/кг внутривентриально в виде 2% крахмальной слизи за 30 минут до помещения животного на металлическую пластинку, нагретую до 55°C. Показателем болевой чувствительности служила длительность пребывания животного на горячей пластинке до наступления оборонительного рефлекса (облизывания лапок, подскакивания). Наблюдение проводили через 0,5; 1,0; 1,5; 2 часа после введения вещества.

Таблица 3

Анальгетическая активность амидов пиридин-2-карбоновых кислот (1–6)

Соединение / препарат-эталон	R	Доза мг/кг	«Горячая пластинка»	«Уксусные корчи»	
			время оборонительного рефлекса, с через 2,5 ч	количество корчей	% уменьшения корчей к контролю
1	C ₆ H ₃ Cl ₂ -2,4	25	19,20 ± 0,86*	19,30 ± 1,05* p < 0,05	22,8
2	C ₆ H ₃ Cl ₂ -2,6	25	19,50 ± 1,02*	17,7 ± 1,96* p < 0,05	28,7
3	C ₆ H ₄ Br-4	25	21,90 ± 1,21	11,2 ± 1,04 p < 0,05	54,7
4	C ₆ H ₄ Cl-3	25	19,20 ± 0,58*	17,8 ± 1,55* p < 0,05	28,8
5	C ₆ H ₄ Cl-4	25	20,00 ± 0,95*	12,6 ± 2,69 p < 0,01	48,8
6	C ₆ H ₄ COOC ₂ H ₅ -4	25	20,90 ± 1,71	14,7 ± 1,72 p < 0,01	40,8
Контроль	...	25	10,75 ± 1,63	25,0 ± 2,30	-
Метамизол натрия (анальгин)	...	55	16,32 ± 3,0	10,6 ± 1,38 p < 0,001	58,0

Примечания: *достоверность различий по сравнению с контролем $p < 0,05$

Из приведенных данных таблицы 3 следует, что по тесту «уксусные корчи» соединения 3, 5, 6 вызывают защиту от корчей на уровне 40,8 – 54,7%, а по тесту «горячая пластинка» апробированные соединения оказывают аналгетическое действие, сравнимое с действием метамизола натрия.

Данные, полученные в результате исследования показывают, что некоторые соединения обладают противовоспалительной и аналгетической активностью. Поиск в

ряду амидов пиридин-2-карбоновых кислот представляет интерес для дальнейших исследований.

Выводы

1. В ходе проведенного исследования установлено, что при нагревании хлорангидрида пиридин-2-карбоновой кислоты с ариламинами с хорошими выходами образуются соответствующие амиды пиридин-2-карбоновой кислоты.

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

3. Фармакологические исследования показали, что апробированные соединения в дозе 25 мг/кг при внутрибрюшинном введении обладают противовоспалительной или анальгетической активностью, которая зависит от химической природы остатка амина в амидной группе данных соединений.

4. Поиск новых биологически активных соединений в ряду амидов замещенных пиридин-2-карбоновых кислот является перспективным.

Список литературы

1. Бельский М.Л., Элементы количественной оценки фармакологического эффекта, 2-е изд., Л.:Медгиз, 1963. – С. 81–106.
2. Дубровин А.Н., Михалев А.И., Ухов С.В. и др. Синтез и биологическая активность изопропиламидов 2-гетариламинохинолин-4-карбоновых кислот // Фундаментальные исследования. – 2014. – №3. – С. 133–137.
3. Колла В.Э., Сыропятов Б.Я. Дозы лекарственных средств и химических соединений для лабораторных животных. М.: Медицина, 1998. – 263 с.
4. Машковский М.Д. Лекарственные средства, 16-е изд., М.: Новая Волна, 2010. – Т.1. – 219 с.
5. Михалев А.И., Коньшин М.Е., Зуева М.В., Закс., Вахрин М.И. Синтез и противовоспалительная активность замещенных амидов 2-хлор- и 2-оксоникотиновых кислот // Деп. в ВИНТИ 19.03.97 № 828-В-97.
6. Павлова М.В., Михалев А.И., Коньшин М.Е., Василюк М.В., Котегов В.П. Синтез и противовоспалительная активность производных изоникотиновой и цинхониновой кислот // Химико-фармацевтический журнал. – 2002. – Т. 36. – № 8. – С. 27–28.
7. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общей ред. Р.У. Хабриева. Изд. 2-е, перераб. идоп. / – М.: Медицина. 2005. – 832 с.
8. Сюбаев Р.Ф., Машковский М.Д., Шварц Г.Я., Покрышкин В.И. Сравнительная фармакологическая активность современных нестероидных противовоспалительных препаратов // Химико-фармацевтический журнал. – 1986. – Т. 20. – № 1. – С. 33–39.
9. Adriana M.G., Wallace C.F. et al. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of nicotinamide and isomers in different experimental models // Pharmacology, Biochemistry and Behavior, – 2011. – №99. – 782–788 pp.
10. Qi J.Y., Yang Q.Y., Lam K.H. et al N-(4-Bromphenyl)-pyridine-2-carboxamide // ActaCryst., – 2003. – E59. – 374–375 pp.
11. Zhang Q., Zhang S.P., Shao S.C. N-(4-Chlorophenyl)-picolinamide // ActaCryst., – 2006. – E62. – pp. 4695–4696.

References

1. Belenkiy M.L., Elementy kolichestvennoy otsenki farmakologicheskogo effekta, 2-e izd., Medgiz, Leningrad. 1963. – pp. 81–106.
2. Dubrovin A.N., Mikhalev A.I., Ukhov S.V. idr. Sintez i biologicheskaya aktivnost' izopropilamidov 2-getarilaminokh-inolin-4-karbonovykh kislot // Fundamental'nye issledovaniya. – 2014. – №3. – pp. 133–137.
3. Kolla V.E., Syropyatov B.Ya. Dozy lekarstvennykh sredstvichimicheskikhsoedineniydylaboratornykhzhivotnykh.M., Medicina. 1998. – pp 263.
4. Mashkovskiy M.D. Lekarstvennye sredstva, 16-e izd., M.: Novaya Volna, 2010. – T.1. – pp 219.
5. Mikhalev A.I., Kon'shin M.E., Zueva M.V., Zaks., Vakhrin M.I. Sintez i protivovospalitel'naya aktivnost' zameshennykh amidov 2-khlor- i 2-oksonikotinovykh kislot // Dep. v VINITI 19.03.97 № 828-V97.
6. Pavlova M.V., Mikhalev A.I., Konshin M.E., Vasilyuk M.V., Kotegov V.P. Sinteziprot i vovospalitel'naya aktivnost' proizvodnykh izonikotinovoy i tskislot // Khimiko-farmatsevticheskijzhurnal. – 2002. – T. 36. – № 8. – pp. 27–28.
7. Rukovodstvo po eksperimentalnomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshhestv / pod obshhej red. R.U. Khabrieva. izd. 2-e, pererab.idop. / – M., Meditsina. 2005. pp. 832.
8. Syubaev R.F., Mashkovskiy M.D., Shvarts G.YA., Pokryshkin V.I. Sravnitel'naya farmakologicheskaya aktivnost' sovremennykh nesteroidnykh protivovospalitelnykh preparatov // Khimiko-farmatsevticheskij zhurnal. – 1986. – T. 20. – № 1. – pp. 33–39.
9. Adriana M.G., Wallace C.F. et al. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of nicotinamide and isomers in different experimental models // Pharmacology, Biochemistry and Behavior, – 2011. – №99. – pp. 782–788.
10. Qi J.Y., Yang Q.Y., Lam K.H. et al N-(4-Bromphenyl)-pyridine-2-carboxamide // ActaCryst., – 2003. – E59. – pp.374–375.
11. Zhang Q., Zhang S.P., Shao S.C. N-(4-Chlorophenyl)-picolinamide // ActaCryst., – 2006. – E62. – pp. 4695–4696.

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 России, г. Пермь.

Работа поступила в редакцию 24.06.2014.