

Рекомендована д.ф.н., професором П.О.Безуглим

УДК 54.057:547.7:547.743.1

СИНТЕЗ ТА АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ АНІЛІДІВ 4-ГІДРОКСИ-2-ОКСО-1-ФЕНІЛ-2,5-ДИГІДРО-1Н-ПІРОЛО-3-КАРБОНОВОЇ КИСЛОТИ

В.О.Зубков, С.Г.Таран, О.В.Кізь, Н.І.Філімонова

Національний фармацевтичний університет

З метою пошуку БАР антимікробної дії серед похідних тетрамової кислоти здійснено синтез анілідів 4-гідрокси-2-оксо-1-феніл-2,5-дигідро-1Н-піроло-3-карбонової кислоти. Цільові продукти одержували ацилюванням відповідних арил-амінів етиловим естером 4-гідрокси-2-оксо-1-феніл-2,5-дигідро-1Н-піроло-3-карбонової кислоти. За результатами мікробіологічного скринінгу встановлено, що досліджувані сполуки виявляють як антибактеріальну, так і антифунгальну активність, що свідчить про перспективність подальшого спрямованого пошуку антимікробних засобів широкого спектра дії в ряду зазначених сполук.

Природні БАР антимікробної дії поряд з іншими хімічними структурами широко представлені похідними тетрамової кислоти (піролідин-2,4-діону). Ці сполуки продукуються деякими пліснявими грибами або губками і в більшості випадків належать до 3-ацилзаміщених тетрамових кислот [9, 12, 14, 16].

Незважаючи на те, що на теперішній час відома досить велика кількість антибіотиків — представників цієї групи [6, 10, 13, 15], жоден з них поки що не знайшов практичного застосування в медицині. Що стосується досліджень, присвячених пошуку синтетичних антимікробних БАР серед похідних тетрамових кислот, то вони переважним чином спрямовані на одержання аналогів природних 3-ацилпіролідин-2,4-діонів [7, 11]. Разом з тим практично не вивчені на сьогодні піролідин-2,4-діон-3-карбонові кислоти та їх функціональні похідні, в тому числі амідні [8]. Тому метою цієї роботи було синтезувати аніліди 4-гідрокси-2-оксо-1-феніл-2,5-дигідро-1Н-піроло-3-карбонової кислоти та дослідити їх антимікробну активність.

Згідно з літературними джерелами механізм дії однієї з найбільш ефективних груп антимікробних лікарських препаратів — фторхінолонів (1) полягає в їх інгібуючому впливі на ДНК-гіразу мікробної клітини (схема 1).

У свою чергу такий вплив пов'язують (поряд з іншими факторами) зі здатністю молекул фторхінолонів утворювати міцні ВМЗ за участю протону карбоксильної групи та карбонілу в положенні 4, що приводить до формування шестичленної квазіциклічної структури. Саме здатність до утворення міцних водневих зв'язків і забезпечує вбудовування молекули фторхінолону в ланцюг ДНК-гірази [5]. У структурі молекул похідних 3-ацилтетрамових кислот 2 також присутні подібні водневі зв'язки, причому вони можливі для різних таутомерних форм 3-ацилпіролідин-2,4-діонів [11, 14] (схема 2).

Аніліди піролідин-2,4-діон-3-карбонової кислоти (3) також створюють передумови для утворення водневих зв'язків між карбонілами та енольними гідроксилами (схема 3). У даному випадку такі структурні особливості об'єктів дослідження, обраних нами, дозволили припустити, що вони можуть виявляти антимікробну активність.

Цільові аніліди 4-гідрокси-2-оксо-1-феніл-2,5-дигідро-1Н-піроло-3-карбонової кислоти (3) одержували ацилюванням етиловим естером 4-гідрокси-

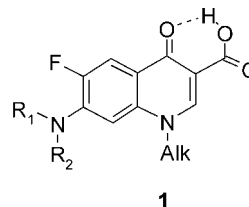


Схема 1

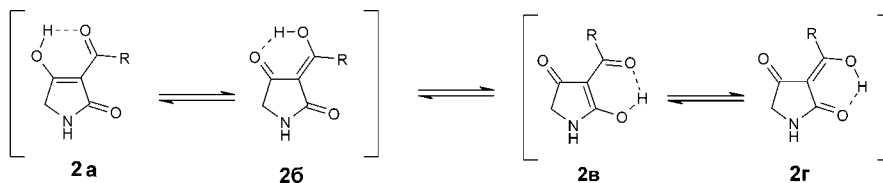


Схема 2

Таблиця 1

Характеристики анілідів 4-гідрокси-2-оксо-1-феніл-2,5-дигідро-1Н-піроло-3-карбонової кислоти (3а-д)

Сполука	Емпірична формула	Знайдено, % Виразувано, %			Т.пл., С°	Вихід, %
		С	Н	Н		
3а	C ₁₇ H ₁₄ N ₂ O ₃	69,62% 69,38%	4,72% 4,79%	9,39% 9,52%	160-162	65
3б	C ₁₈ H ₁₆ N ₂ O ₃	70,38% 70,12%	5,37% 5,23%	9,27% 9,09%	155-157	70
3в	C ₁₈ H ₁₆ N ₂ O ₃	69,92% 70,12%	5,41% 5,23%	9,28% 9,09%	166-168	64
3г	C ₁₈ H ₁₆ N ₂ O ₃	69,95% 70,12%	5,09% 5,23%	8,92% 9,09%	197-199	68
3д	C ₁₈ H ₁₆ N ₂ O ₄	66,42% 66,66%	5,01% 4,97%	8,49% 8,64%	161-163	74

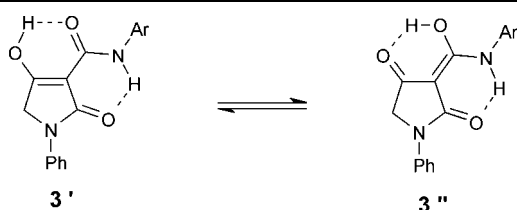


Схема 3

2-оксо-1-феніл-2,5-дигідро-1Н-піроло-3-карбонової кислоти (6) відповідних анілінів (схема 4).

Естер 6, у свою чергу, синтезовано за відомим методом Лассея [2] внутрішньомолекулярною конденсацією етилового естеру N-етоксикарбонілметил-N-фенілмалонамінової кислоти (5) з використанням в якості основи етилату натрію.

Структура та індивідуальність анілідів 4-гідрокси-2-оксо-1-феніл-2,5-дигідро-1Н-піроло-3-карбонової кислоти (3а-д) підтверджені методом спектроскопії ЯМР¹H та даними елементного аналізу (табл. 1, 2).

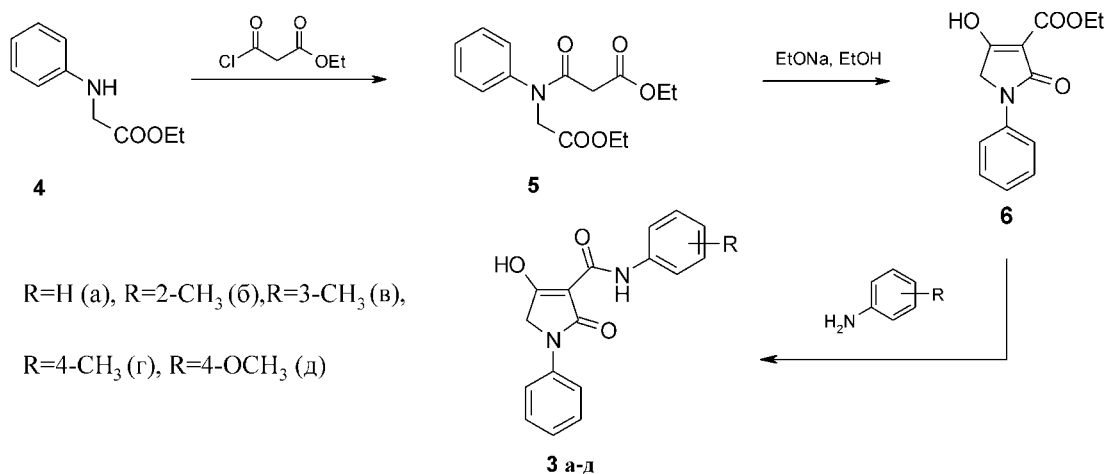


Схема 4

Таблиця 2

Спектри ЯМР¹H анілідів 4-гідрокси-2-оксо-1-феніл-2,5-дигідро-1Н-піроло-3-карбонової кислоти (3а-д)

Сполука	Хімічний зсув, δ, м. д.*			
	NH (1H, с)	Н аром	CH ₂ (1H, с)	CH ₃ (3H, с)
3а	10,35	7,73 (2H, д); 7,65 (2H, д); 7,37 (4H, м); 7,11 (2H, м)	4,60	
3б	10,31	8,20 (1H, д); 7,73 (2H, д); 7,40 (2H, т); 7,26:7,11 (3H, м); 7,02 (1H, т)	4,63	2,33
3в	10,37	7,73 (1H, д); 7,47 (1H, с); 7,38 (2H, т); 7,24:6,89 (5H, м)	4,54	2,30
3г	10,28	7,68 (2H, д); 7,33 (2H, т); 7,16 (2H, д); 7,09 (2H, д); 7,00 (1H, т)	4,56	2,27
3д	10,11	7,72 (2H, д); 7,56 (2H, д); 7,39 (2H, т); 7,12 (1H, т); 6,92 (2H, д)	4,61	3,74

* Сигнали OH-групи проявляються у вигляді уширених синглетів у різних ділянках спектра.

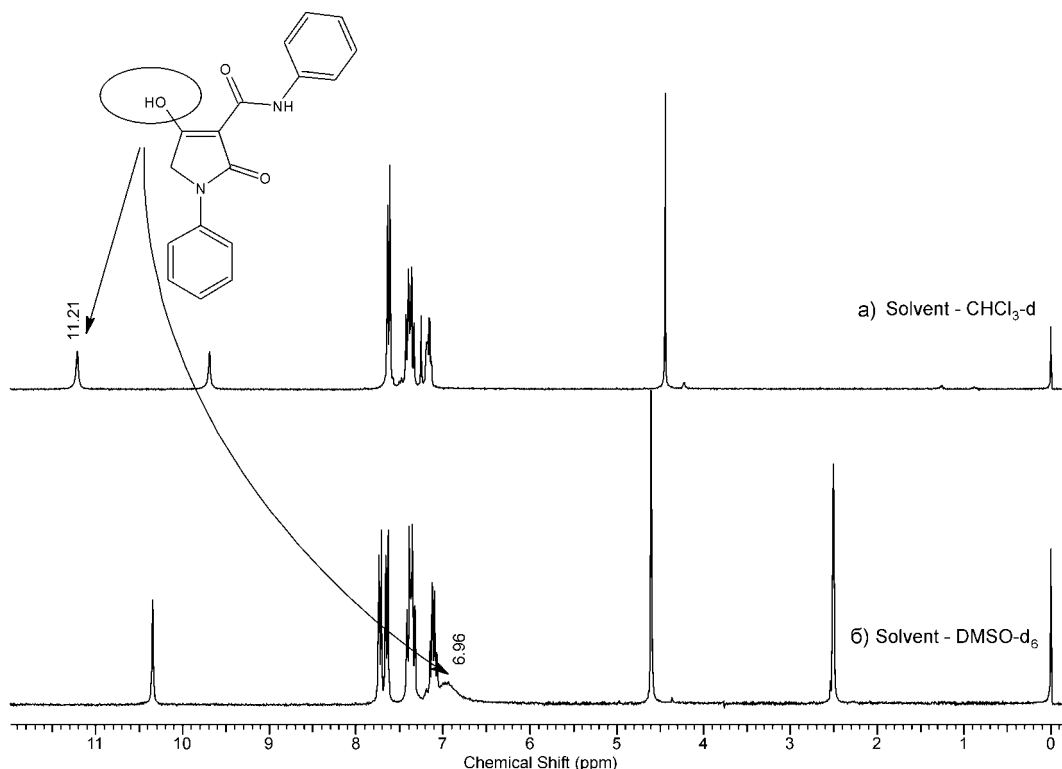


Рис. Спектри ЯМР¹H феноліаміду 4-гідрокси-2-оксо-1-феніл-2,5-дигідро-1H-піроло-3-карбонової кислоти (3a) в CHCl₃(а) і ДМСО(б).

Здатність до утворення внутрішньомолекулярного водневого зв'язку між гідроксильною групою в положенні 4 та карбамідним карбонілом у молекулах анілідів 4-гідрокси-2-оксо-1-феніл-2,5-дигідро-1H-піроло-3-карбонової кислоти (3) чітко підтверджується за допомогою спектроскопії ЯМР¹H на прикладі спектрів сполуки 3a, записаних у різних розчинниках (рис.). У полярному диметилсульфоксиді сигнал протону гідроксилу спостерігається у вигляді сильно уширеного синглету при 6,96 м.д., що можна пояснити утворенням асоціатів молекул розчинника та аніліду 3a. У той

же час у менш полярному хлороформі молекули аніліду 3a утворюють переважним чином тільки ВМЗ, що приводить до дезекранування протону ОН-групи [4], внаслідок чого цей сигнал проявляється в слабкому полі при 11,21 м.д.

Антимікробну дію анілідів 3a-д, а також вихідного естеру 6 вивчали методом двократних серійних розведень [1] у рідкому живильному середовищі; набір референс-штамів мікроорганізмів: *S. aureus* ATCC 25923, *E.coli* ATCC 25922, *B.subtilis* ATCC 6633, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *C. albicans* ATCC 885-653 (табл. 3).

Таблиця 3

Антимікробна активність анілідів (3a-д) та етилового естеру (6) 4-гідрокси-2-оксо-1-феніл-2,5-дигідро-1H-піроло-3-карбонової кислоти

Сполука	Мінімальна пригнічуюча концентрація, мкг/мл				
	<i>S. aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
3a	31,25	Не має антимікробних властивостей	31,25	Не має антимікробних властивостей	62,5
3б	Не має антимікробних властивостей	Не має антимікробних властивостей	Не має антимікробних властивостей	Не має антимікробних властивостей	Не має антимікробних властивостей
3в	31,25	Не має антимікробних властивостей	31,25	Не має антимікробних властивостей	62,5
3г	Не має антимікробних властивостей	Не має антимікробних властивостей	62,5	Не має антимікробних властивостей	Не має антимікробних властивостей
3д	31,25	Не має антимікробних властивостей	62,5	Не має антимікробних властивостей	62,5
6	Не має антимікробних властивостей	Не має антимікробних властивостей	62,5	Не має антимікробних властивостей	Не має антимікробних властивостей

Як видно з результатів мікробіологічного скринінгу, досліджувані похідні піролідин-2,4-діон-3-карбонової кислоти 3а-д, 6 дійсно володіють антимікробними властивостями. Слід зазначити, що при цьому вони поєднують антибактеріальну активність по відношенню до грампозитивних мікроорганізмів (*S. aureus*, *B. subtilis*) з антифунгіальною (сполуки 3а, в, д). Хоча активність сполук 3а-д, 6 може бути охарактеризована як помірна, при оцінюванні отриманих результатів слід виходити з того, що в багатьох випадках сучасні гнійно-запальні процеси мають поліетіологічну структуру. У зв'язку з цим аніліди 4-гідрокси-2-оксо-1-феніл-2,5-дигідро-1Н-піроло-3-карбонової кислоти (3) можуть виявитися ефективними як потенційні антимікробні сполуки широкого спектра дії, здатні до попередження розвитку поліетіологічних інфекцій та дисбактеріозів. Тому подальші поглиблені дослідження цієї групи сполук слід безперечно вважати перспективними.

Експериментальна частина

Спектри ЯМР ^1H синтезованих сполук записані на приладі Varian VXR-300, робоча частота 300 МГц, внутрішній стандарт ТМС.

Етиловий естер 4-гідрокси-2-оксо-1-феніл-2,5-дигідро-1Н-піроло-3-карбонової кислоти (6) синтезовано за методикою [2].

Загальна методика одержання анілідів 4-гідрокси-2-оксо-1-феніл-2,5-дигідро-1Н-піроло-3-карбонової кислоти (3а-д).

Суміш 0,01 Моль естеру 6 і 0,0105 Моль відповідного аніліну кип'ятять у 30 мл оксилулу протягом 3 год, після чого ксилол відганяють під вакуумом. Залишок, що утворився, перекристалізують з етанолу.

ВИСНОВКИ

1. Взаємодією етилового естеру 4-гідрокси-2-оксо-1-феніл-2,5-дигідро-1Н-піроло-3-карбонової кислоти з ароматичними амінами здійснено синтез відповідних анілідів.

2. Проведено мікробіологічний скринінг синтезованих сполук. Показано, що аніліди 4-гідрокси-2-оксо-1-феніл-2,5-дигідро-1Н-піроло-3-карбонової кислоти поєднують антибактеріальну активність з антифунгальною та є перспективною групою БАР для пошуку потенційних антимікробних засобів широкого спектра дії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації. / За ред. чл.-кор. АМНУ О.В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
2. Зубков В.А., Кизь О.В., Таран С.Г. и др. // *ЖОФХ*. — 2007. — Т. 5, вып. 4 (20). — С. 10-13.
3. Пат. 0166707 США, МКИ А 61 К 31/4015, С 07 D 207/12 / Y. Chao-Mei, S.W. Ayer, R.G. Micetich et al. Заявл.: 17.10.2002. Оpubл.: 04.09.2003, НКІ 514/424.
4. Райхардт К. Растворители и эффекты среды в органической химии: Научное пособие. — М.: Мир, 1991. — 763 с.
5. Chang-Hwa S., Hyeong-Won R., Jin-Kyu P. et al. // *Bull. Korean Chem. Soc.* — 1999. — Vol. 20. — P. 727-730.
6. Detsi A., Afantitis A., Athanasellis G. et al. // *Eur. J. Org. Chem.* — 2003. — №23. — P. 4593-4600.
7. Fitch D., Evans K., Chai D. et al. // *Org. Lett.* — 2005. — Vol. 7, №24. — P. 5521-5524.
8. Folkes A., Brown S.D., Canne L.E. et al. // *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* — 2002. — №12. — P. 1063-1066.
9. Fustero S., Garcia de la Torre M., Sanz-Cervera J.F. et al. // *Org. Lett.* — 2002. — Vol. 4, №21. — P. 3651-3654.
10. Gossauer A. *Monopyrrolic Natural Compounds Including Tetramic Acid Derivatives*. — Springer, Wien, New York, 2003. — 200 p.
11. Marquardt U., Schmid D., Jung G. // *Synlett*. — 2000. — №8. — P. 1131-1132.
12. Paintner F., Metz M., Bauschke G. // *Synlett*. — 2003. — №5. — P. 627-630.
13. Petroligi M., Igglessi-Markopoulou O. // *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*. — 1997. — P. 3544-3545.
14. Skylaris C., Igglessi-Markopoulou O., Detsi A. et al. // *Chem. Physics*. — 2003. — №2. — P. 355-363.
15. Sugie Y., Dekker K.A., Inagaki T. et al. // *J. Antibiot.* — 2002. — P. 55-59.
16. Wagner I., Musso H. // *Angewandte Chemie Intern. Ed. in English*. — 2003. — Vol. 22, №11. — P. 816-828.

УДК 54.057:547.7:547.743.1

СИНТЕЗ И ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ АНИЛИДОВ 4-ГИДРОКСИ-2-ОКСО-1-ФЕНИЛ-2,5-ДИГИДРО-1Н-ПИРОЛО-3-КАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ

В.А.Зубков, С.Г.Таран, О.В.Кизь, Н.И.Филимонова

С целью поиска БАВ противомикробного действия среди производных тетрамовой кислоты осуществлён синтез анилидов 4-гідрокси-2-оксо-1-феніл-2,5-дигідро-1Н-піроло-3-карбонової кислоти. Целевые продукты получали ацилированием соответствующих ариламинов этиловым эфиром 4-гідрокси-2-оксо-1-феніл-2,5-дигідро-1Н-піроло-3-карбонової кислоти. По результатам мікробіологічного скринінга встановлено, що досліджувані речовини проявляють як антибактеріальну, так і антифунгальну активність, що свідчить про перспективність подальшого направленного поиска противомикробных средств широкого спектра действия в ряду указанных соединений.

UDC 54.057:547.7:547.743.1

THE SYNTHESIS AND THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ANILIDES OF 4-HYDROXY-2-OXO-1-PHENYL-2,5-DIHYDRO-1H-PYRROLO-3-CARBOXYLIC ACID

V.A.Zubkov, S.G.Taran, O.V.Kiz, N.I.Filimonova

With the purpose of searching biologically active substances with the antimicrobial action among the tetramic acid derivatives the synthesis of anilides of 4-hydroxy-2-oxo-1-phenyl-2,5-dihydro-1H-pyrrolo-3-carboxylic acid has been carried out. The target compounds were obtained by acylation of the corresponding arylamines with 4-hydroxy-2-oxo-1-phenyl-2,5-dihydro-1H-pyrrolo-3-carboxylic acid ethyl ester. The results of the microbiological screening showed that substances under research revealed both antibacterial and antifungal activity. It testifies the perspective of further purposeful search for new antimicrobial drugs with a wide spectrum of action in the range of the compounds indicated.