

Д. А. Ломов¹, М. Г. Абрамянц¹, Н. В. Асташкина¹, Н. И. Коротких¹,
В. И. Лубенец², В. П. Новиков², Е. З. Комаровская-Порохнявец², Н. Н. Смоляр

СИНТЕЗ И ФУНГИБАКТЕРИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ 4-(4-ДИМЕТИЛАМИНОФЕНИЛ)ПИРИДИНА

¹ Институт физико-органической химии и углекислоты им. Л. М. Литвиненко Национальной академии наук Украины, ул. Розы Люксембург, 70, 83 114, Украина, Донецк; e-mail: abramyancz@ua.fm

² Национальный университет "Львівська політехніка", Украина, 79646, Львов, ул. С. Бандеры, 12

Проведен синтез и представлены данные по антимикробной активности производных 4-(4-диметиламинофенил)пиридина. Обнаружена высокая активность 4-(4-диметиламинофенил)-1-фенацилпиридиния бромид и 4-(4-диметиламинофенил)-1-диметилкарбамоилпиридиния хлорида на тест-культурах *M. luteum* и *C. tenuis*.

Ключевые слова: 4-(4-диметиламинофенил)пиридин; синтез; четвертичные соли; фунгибактерицидная активность.

В медицинской практике широко используется в качестве антибактериального и дезинфицирующего средства цетилпиридиния хлорида (ЦПХ) [1]. В концентрациях 1–30 мг/л он губительно действует на большинство грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также эффективен в отношении некоторых вирусов, грибов и моллюсков [2]. Механизм бактерицидного действия ЦПХ изучен недостаточно. Предполагается, что он влияет на проницаемость мембран микроорганизмов [3, 4].

В настоящее время известно большое количество солей пиридиния, обладающих бактериостатической активностью [5], но, несмотря на это, исследования в данном направлении продолжают быть актуальными. В целях дальнейшего поиска среди производных пиридиниевых солей соединений, обладающих фунгибактерицидной активностью, нами синтезированы и изучены некоторые четвертичные соли 4-(4-диметиламинофенил)пиридина.

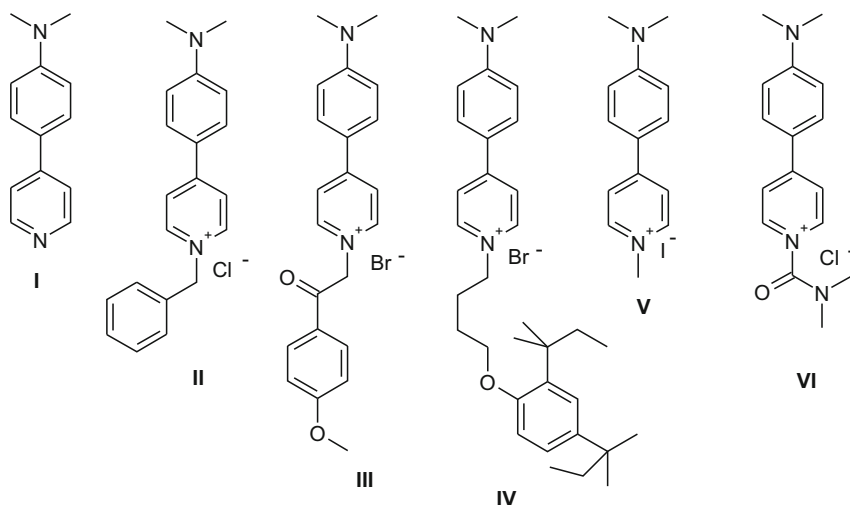
Впервые 4-(4-диметиламинофенил)пиридин (**I**) синтезирован с выходом 37 % взаимодействием бензоилпиридинийхлорида с диметиланилином в присутствии порошкообразной меди [6]. Однако техника выделения продукта реакции сложна и кропотлива. В даль-

нейшем методика синтеза данного соединения неоднократно совершенствовалась. Так, вместо порошкообразной меди предложено использовать в качестве катализатора конденсации безводный хлористый алюминий [7]. Позже этими же авторами был описан более технологичный способ синтеза 4-(4-диметиламинофенил)пиридина, позволяющий получать целевой продукт с более высоким выходом и степенью чистоты [8].

Сведения о техническом применении соединения **I** весьма ограничены. Упоминается лишь об исследовании люминесцентных свойств **I** и его арильных производных [9]. Литературные данные о биологической активности **I** на настоящий момент отсутствуют [10].

В данной работе нами изучены антибактериальная и противогрибковая активность некоторых четвертичных солей соединения **I**.

I синтезировали взаимодействием пиридина, хлористого бензоила и диметиланилина в присутствии катализатора безводного хлористого алюминия по методу [8]. Кватернизованные по пиридиновому атому азота производные **II–VI** получали взаимодействием эквимольных количеств производного пиридина **I** и соответствующего галоидного алкила, диметилкарба-



Фунгибактерицидная активность четвертичных солей 4-(4-диметиламинофенил)пиридина*

Соединение	Концентрация, %	Диаметр зон задержки роста микроорганизмов, мм*				
		культура бактерий			культура грибов	
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>M. luteum</i>	<i>C. tenuis</i>	<i>A. niger</i>
III	0,5	16,0 ± 0,2	20,0 ± 0,2	25,0 ± 0,3	40,0 ± 0,4	0
	0,1	8,0 ± 0,1	7,0 ± 0,1	15,0 ± 0,2	30,0 ± 0,4	0
IV	0,5	15,0 ± 0,2	12,4 ± 0,1	16,0 ± 0,2	17,7 ± 0,2	10,0 ± 0,1
	0,1	12,0 ± 0,1	10,0 ± 0,1	11,4 ± 0,2	12,7 ± 0,2	6,0 ± 0,1
V	0,5	12,0 ± 0,2	10,0 ± 0,1	13,4 ± 0,2	28,0 ± 0,4	0
	0,1	7,0 ± 0,1	0	0	12,0 ± 0,2	0
VI	0,5	11,4 ± 0,1	13,7 ± 0,2	34,7 ± 0,5	36,0 ± 0,5	10,0 ± 0,2
	0,1	6,0 ± 0,1	7,0 ± 0,1	26,0 ± 0,3	21,0 ± 0,3	7,0 ± 0,1
ЦПХ**	0,5	0	0	14,4 ± 0,2	0	10,0 ± 0,2
	0,1	0	0	12,0 ± 0,2	0	7,0 ± 0,1

* Статистически достоверно относительно контроля ($p \leq 0,05$); ** имеются очевидные статистические различия между новыми соединениями и ЦПХ.

моилхлорида или фенацилбромид в кипящем спиртовом растворе.

Экспериментальная химическая часть

ПМР-спектры записаны на спектрометре BRUKER Avance II 400 (с рабочей частотой 400 МГц) в $CDCl_3$ и $DMCO-d_6$ внутренний стандарт — ТМС. Контроль за чистотой и индивидуальностью полученных соединений осуществляли методом ТСХ на пластинах Silufol UV-245 (элюент хлороформ, проявление парами йода). Исходный замещенный пиридин I получали по методу [8]. Данные элементного анализа соответствуют вычисленным.

Общая методика синтеза алкильных, карбамоильных и фенацилзамещенных солей I (II – VI). Смесь эквимольных количеств соединения I и соответствующего алкилгалогенида, карбамоилхлорида или фенацилбромид кипятят в спирте в течение 3 – 4 ч. Образующийся осадок соли отфильтровывают, промывают спиртом и перекристаллизовывают из воды.

Хлорид 1-бензил-4-[4-(диметиламино)фенил]пиридиния (II). Выход 85 %; т. пл. 250 – 252 °С. ПМР-спектр ($DMCO-d_6$), м.д.: 3,07 (с, 6H, $N(CH_3)_2$), 5,75 (кв, J 8,0 Гц, 2H, CH_2), 6,86 (д, J 8,0 Гц, 2H, $H^{3',5'}$), 7,45 (д, J 8,0 Гц, 3H, Ph), 7,55 (д, J 8,0 Гц, 2H, Ph), 8,00 (д, J 8,0 Гц, 2H, $H^{2',6'}$), 8,32 (д, J 8,0 Гц, 2H, $H^{3,5}$), 8,93 (д, J 8,0 Гц, 2H, $H^{2,6}$). $C_{20}H_{21}ClN_2$.

Бромид 4-[4-(диметиламино)фенил]-1-[2-(4-метоксифенил)-2-оксоэтил]пиридиния (III). Выход 76 %; т. пл. 230 – 232 °С. ПМР-спектр ($CDCl_3$), м.д.: 2,39 (с, 3H, O- CH_3), 3,15 (с, 6H, $N(CH_3)_2$), 6,78 (д, J 8,0 Гц, 2H, $H^{3',5'}$), 6,82 (с, 2H, $-CH_2N-$), 7,28 (д, J 8,0 Гц, 2H, $H^{3'',5''}$), 7,75 (д, J 4,0 Гц, 2H, $H^{2',6'}$), 7,97 (д, J 8,0 Гц, 2H, $H^{2',6'}$), 8,06 (д, J 8,0 Гц, 2H, $H^{3,5}$), 8,89 (д, J 4,0 Гц, 2H, $H^{2,6}$). $C_{22}H_{23}BrN_2O_2$.

Бромид 1-{4-[2, 4-бис(1,1-диметилпропил)феноксифенил]бутил}-4-[4-(диметиламино)фенил]пиридиния (IV). Выход 70 %; т. пл. 127 – 129 °С. ПМР-спектр ($CDCl_3$), м.д.: 0,56 – 0,66 (м, 6H, 2($-CH_2-CH_3$)), 1,23 (с, 6H, 2 CH_3), 1,30 (с, 6H, 2 CH_3), 1,58 (кв, J 8,0 Гц, 2H, CH_2), 1,76 (кв, J 8,0 Гц, 2H, CH_2), 1,96 (т, 2H, CH_2-CH_3), 2,24 (м, 2H, CH_2-CH_3), 3,10 (с, 6H, $N(CH_3)_2$), 3,99 (м, 2H, CH_3-CH_2-CH-), 4,85 (м, 2H, CH_3-CH_2-CH-),

Таблица 2

Показатели МБцК и МБсК* исследуемых веществ

Соединение	Культура бактерий					
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Mycobacterium luteum</i>	
	МБсК, мкг/мл	МБцК, мкг/мл	МБсК, мкг/мл	МБцК, мкг/мл	МБсК, мкг/мл	МБцК, мкг/мл
III	62,5 ± 1,1	125,0 ± 1,2	3,9 ± 0,1	31,2 ± 0,7	3,9 ± 0,1	7,8 ± 0,2
IV	250,0 ± 2,6	500,0 ± 1,3	7,8 ± 0,2	15,6 ± 1,0	3,9 ± 0,1	7,8 ± 0,2
V	62,5 ± 1,1	500,0 ± 2,0	250,0 ± 2,5	500,0 ± 3,5	31,2 ± 0,8	125,0 ± 1,3
VI	250,0 ± 3,0	500,0 ± 1,3	500,0 ± 1,2	-	1,9 ± 0,2	3,9 ± 0,1
ЦПХ**	31,2 ± 0,8	125 ± 1,3	3,9 ± 0,2	7,8 ± 0,2	7,8 ± 0,2	15,6 ± 0,2

* Статистически достоверно относительно контроля ($p \leq 0,05$); ** имеются очевидные статистические различия между новыми соединениями и ЦПХ.

6,70 (д, J 8,0 Гц, 2Н, Н^{3', 5'}), 6,75 (д, J 8,0 Гц, 1Н, Н^{5''}), 7,04 (д, J 8,0 Гц, 1Н, Н^{6''}), 7,11 (с, 1Н, Н^{3''}), 7,75 (д, J 8,0 Гц, 2Н, Н^{3', 5'}), 8,73 (д, J 4,0 Гц, 2Н, Н^{2', 6'}), 9,05 (д, J 4,0 Гц, 2Н, Н^{2', 6'}). С₃₃Н₄₇BrN₂O.

Йодид 4-[4-(диметиламино)фенил-1-метилпиридиния (V). Выход 94 %; т. пл. 181 – 183 °С. ПМР-спектр (ДМСО-d₆), м.д.: 3,07 (с, 6Н, N(CH₃)₂), 4,19 (с, 3Н, N-CH₃), 6,87 (д, J 8,0 Гц, 2Н, Н^{3', 5'}), 8,00 (д, J 8,0 Гц, 2Н, Н^{2', 6'}), 8,28 (д, J 8,0 Гц, 2Н, Н^{3', 5'}), 8,68 (д, J 8,0 Гц, 2Н, Н^{2', 6'}). С₁₄Н₁₇IN₂.

Хлорид 1-[(диметиламино)карбонил]-4-[4-(диметиламино)фенил]пиридиния (VI). Выход 76 %; т. пл. 234 – 236 °С. ПМР-спектр (ДМСО-d₆), м.д.: 3,11 (с, 6Н, N(CH₃)₂), 6,89 (д, J 8,0 Гц, 2Н, Н^{3', 5'}), 8,10 (д, J 8,0 Гц, 2Н, Н^{2', 6'}), 8,36 (д, J 8,0 Гц, 2Н, Н^{3', 5'}), 8,88 (д, J 8,0 Гц, 2Н, Н^{2', 6'}). С₁₆H₂₀ClN₃O.

Экспериментальная биологическая часть

Антимикробную активность синтезированных соединений исследовали на тест-культурах бактерий *Escherichia coli* 67, *Staphylococcus aureus* 209-р, *Mycobacterium luteum* VCMВ-868 и грибов *Candida tenuis* VCMY-70, *Aspergillus niger* VCMF-1119 методом диффузии веществ в агар (метод А) на твердой питательной среде (мясопептонный агар (МПА) — для бактерий, сусло-агар (СА) — для грибов). Микробная нагрузка составляла 10⁹ клеток (спор) на 1 мл. Продолжительность инкубации бактерий — 24 ч при температуре 35 °С, грибов — 48 – 72 ч при 28 – 30 °С. Концентрация веществ составляла 0,1 и 0,5 %. Степень активности исследуемых соединений оценивали по размерам зон угнетения роста тест-культур микроорганизмов, считая, что при диаметре 11 – 15 мм микроорганизмы малочувствительны к препарату, при 16 – 25 мм – чувствительны, а при диаметре > 25 мм – высокочувствительны. Повторяемость каждого опыта трехкратная.

Определение минимальной бактериостатической концентрации (МБсК) или минимальной фунгистатической концентрации (МФсК) проводили методом серийных разбавлений (метод Б). Исследуемое вещество растворяли в ДМСО, разбавляя раствор водой для достижения необходимой концентрации действующего

вещества (0,9 – 500 мкг/мл). Затем определенный объем раствора вносили в питательную среду (МПА для бактерий и СА для грибов) и туда же инокулировали посевной материал бактерий и грибов (микробная нагрузка 10⁶ клеток (спор) на 1 мл). Засеянные пробирки выдерживали в термостате при соответствующей температуре (37 °С для бактерий; 30 °С для грибов) в течение 24 – 72 ч. Результаты оценивали по наличию или отсутствию роста микроорганизмов (по степени микробной мутности питательной среды, определенной фотоколориметрически).

Определение минимальной бактерицидной концентрации (МБцК) или минимальной фунгицидной концентрации (МФцК) также проводили методом Б. Для этого осуществляли следующие исследования. Из пробирок, в которых растворы среды оказались визуально прозрачными, отбирали по 0,02 мл среды и наносили на стерильные МПА (для бактерий) или СА (для грибов) в стерильных чашках Петри, которые инкубировали в термостате. Оценку результатов осуществляли для тест-бактерий через 24 ч, для тест-грибов через 48 – 72 ч. По отсутствию роста колоний микроорганизмов на инкубированных чашках Петри определяли МБцК или МФцК исследуемого вещества. Повторяемость опыта трехкратная. Погрешности определения активности колеблются в пределах 1,0 – 2,5 %.

Для соединений **I** и **II** фунгибактерицидную активность определить не удалось ввиду малой растворимости соединений в водном растворе ДМСО. В табл. 1 приведены результаты исследований фунгибактерицидной активности соединений **III** – **VI** методом диффузии вещества в агар (метод А) и сравнительные данные по активности ЦПХ [11].

Данным методом наибольшая фунгибактерицидная активность установлена для соединений **III**, **V**, **VI**, которые губительно действуют на рост практически всех видов исследуемых культур. Наиболее сильно это действие наблюдается для соединений **III** и **VI** (в концентрации 0,5 %), ДЗЗР на культуре *C. tenuis* составил соответственно 40 и 36 мм. Соединение **VI** также проявляет высокую активность против культуры *M. luteum*, при этом диаметр зон задержки роста (ДЗЗР) составил 34,7 мм. Разбавление до концентрации 0,1 % приводит

Таблица 3

Показатели МФцК и МФсК* исследуемых веществ

Соединение	Культуры грибов			
	<i>Candida tenuis</i>		<i>Aspergillus niger</i>	
	МФсК, мкг/мл	МФцК, мкг/мл	МФсК, мкг/мл	МФцК, мкг/мл
III	0,9 ± 0,2	1,9 ± 0,1	–	–
IV	3,9 ± 0,2	7,8 ± 0,2	31,2 ± 0,8	62,5 ± 1,0
V	1,9 ± 0,1	3,9 ± 0,1	125,0 ± 1,1	–
VI	0,9 ± 0,1	1,9 ± 0,1	250,0 ± 2,8	–
ЦПХ**	3,9 ± 0,1	7,8 ± 0,2	7,8 ± 0,2	62,5 ± 1,1

* Статистически достоверно относительно контроля ($p \leq 0,05$); ** имеются очевидные статистические различия между новыми соединениями и ЦПХ.

к незначительному уменьшению активности соединения **III** на культуре *C. tenuis* (ДЗЗР = 30,0 мм), соединения **VI** — на культуре *M. luteum* (ДЗЗР = 26,0 мм). А соединения **IV** и **VI** проявляют активность в отношении культуры *A. niger*; практически равную по величине активности препарата сравнения ЦПХ.

Данные количественного определения МБцК, МБсК, МФцК и МФсК по методу Б для исследуемых соединений приведены в табл. 2 и 3.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что соединения **III**, **IV** и **VI** заметно более активны в отношении культуры *M. luteum*, а производные **III**, **V** и **VI** — в отношении культуры *C. tenuis*, чем ЦПХ [11]. Так, величины МБсК и МБцК на культуре *M. luteum* для соединений **III**, **IV** и **VI** составляют 1,9 – 3,9 и 3,9 – 7,8 мкг/мл соответственно, в то время как указанные величины для ЦПХ выше (7,8 и 15,6 мкг/мл). Величины МБсК и МБцК на культуре *C. tenuis* для соединений **III**, **V** и **VI** — 0,9 – 1,9 и 1,9 – 3,9 мкг/мл, а для ЦПХ 3,9 – 7,8 мкг/мл.

Таким образом, практически все исследуемые соединения проявляют фунгибактерицидную активность в отношении культур бактерий *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium luteum* и грибов *Candida tenuis*, *Aspergillus niger*. Соединения **III**, **IV** и **VI** проявляют заметно большую бактериостатическую и бактерицидную активность в отношении культуры *M. luteum*, а производные **III**, **V** и **VI** — значительно более высокую фунгистатическую и фунгицидную активность в отношении культуры *C. tenuis*, на что указывают показатели действующих концентраций исследуемых веществ (МФсК = 0,9 – 1,9 мкг/мл; МФцК =

1,9 – 3,9 мкг/мл), которые в 2 и более раз ниже, чем эффективные фунгицидные концентрации препарата сравнения ЦПХ, причем указанные изменения существенно превышают погрешности измерений активности. Проведенные исследования свидетельствуют о перспективности синтеза и дальнейшего изучения фунгибактерицидной активности четвертичных солей 4-(4-диметиламинофенил)пиридина для установления связи структура — активность с целью выявления среди них эффективных лекарственных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Новая волна, Москва (2012), сс. 313, 819, 953.
2. A. Valleio-Freire, O. Fonseca Riberio, I. Fonseca Riberio, *Science*, **119**, 470 – 472 (1954).
3. J. Y. Maillard, J. S. Beggs, M. J. Day, et al., *Let. Appl. Microbiol.*, **17**, 167 – 170 (1993).
4. M. P. Edlind, W. Smith, T. D. Edlind, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **49**(2), 843 – 845 (2005).
5. E. Janes, D. Hayes, I. M. Warner, *Chem. Biol. Drug Design*, **78**(1), 33 – 41 (2011).
6. E. Koenigs and E. Ruppelt, *Ann.*, **509**, 142 – 158 (1934).
7. А. Н. Кост, А. К. Шейнкман, Н. Р. Казаринова, *Ж. общей химии*, **34**, 2044 – 2049 (1964).
8. *Методы получения химических реактивов и препаратов*, вып. 2, ИРЕА, Москва (1961).
9. D. S. Bulgarevich, S. L. Dmitruk, S. I. Druzhinin, et al., *Chem. Heterocycl. Compounds*, **28**(5), 524 – 529 (1992).
10. P. J. K. Taylor, *Progress in Heterocyclic Chemistry*, Elsevier, New York (2011), pp. 329 – 349.
11. К. О. Марічев, Н. В. Глиняна, М. І. Короткіх и др., *Ж. орган. фарм. хім.*, **9**(3), 72 – 79 (2011).

Поступила 02.12.13

SYNTHESIS AND FUNGI/BACTERICIDAL ACTIVITY OF 4-(4-DIMETHYLAMINOPHENYL)PYRIDINE DERIVATIVES

D. A. Lomov¹, M. G. Abramyants¹, N. V. Astashkina¹, N. I. Korotkikh¹, V. I. Lubenets², V. P. Novikov², E. Z. Komarovskaya-Porokhnyavets², and N. N. Smolyar²

¹ L. M. Litvinenko Institute of Physico-Organic Chemistry and Carbochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, 83114 Donetsk, Ukraine

² Lviv Polytechnic National University, 79646 Lviv, Ukraine

A series of 4-(4-dimethylaminophenyl)pyridine derivatives have been synthesized and tested for antimicrobial and antifungal activity. High activity was observed for 4-(4-dimethylaminophenyl)-1-phenacylpyridinium bromide and 4-(4-dimethylaminophenyl)-1-dimethylcarbamoylpyridinium chloride with respect to test cultures of *M. luteum* and *C. tenuis*.

Keywords: 4-(4-dimethylaminophenyl)pyridine; synthesis; quaternary salts; fungi/bactericidal activity.