

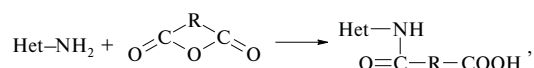
А. Д. Кагарлицкий, Л. А. Кричевский, З. М. Астафьева,
С. Б. Ахметова, Р. Б. Сейдахметова, А. И. Драб

СИНТЕЗ, ПРОТИВОГРИБКОВАЯ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ ГЕКСАГИДРОНИКОТИНА

Институт фитохимии МОН РК, Караганда, Республика Казахстан

Ацилированием гексагидроникотина ангидридами дикарбоновых кислот получены амидокислоты. Реакцией амидокислот с аминами, этанолом и гидразином синтезированы их производные. Исследованием этих соединений определена их антифунгальная и антибактериальная активность.

Систематическое изучение биологической активности гетариламинов и гетариламидокислот, предпринятое в работах [1 – 3], показало, что эти соединения, полученные на основе ряда гетероциклических аминов и ангидридов дикарбоновых кислот по общей схеме:



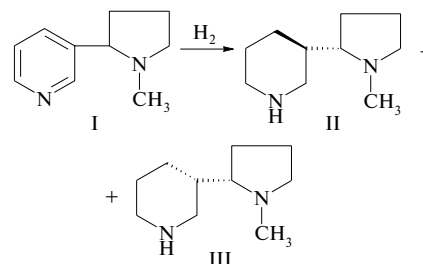
обладают гипер- и гипотензивными свойствами, а также противовоспалительным действием.

Для получения биологически активных веществ в качестве исходного продукта нами был использован гексагидроникотин (1-метилпирролидин-2-(3'-пиперидил)), синтезированный в процессе восстановления никотина.

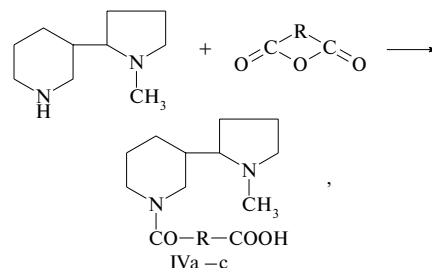
Пиридиновый алкалоид никотин (I) является доступным и возобновляемым растительным веществом, однако в силу своей высокой токсичности он не находит сколько-нибудь значительного применения. Известны только патентные данные по его использованию в составе трансдермальных препаратов [4]. Обнаружение у синтетических производных I свойств транквилизаторов [5], а также пестицидной активности [6], привлекло внимание исследователей к разработке путей синтеза таких соединений. При этом для получения аналогов I в большинстве случаев используется продукт его метаболизма в организме млекопитающих — алкалоид котинин [7], скелет которого видоизменяется до структуры соответствующего никотинового производного. Именно таким путем из котинина был получен 4-аминоникотин, пригодный как искусственный антиген для никотина [8].

В природе I встречается в виде S-изомера, который в результате полного восстановления превращается в гексагидроникотин — смесь 2S,3R' (II) и 2S,3S' (III) — диастереоизомеров [9].

При электрокаталитическом гидрировании I в электролизере диафрагменного типа в присутствии промотированного ванадием скелетного никелевого катализатора гексагидроникотин образуется с выходом до 73 %. Соотношение диастереоизомеров в нем составляет II:III = 26:1 [10]. Диастереоизомеры можно разделить на колонке с обращенной фазой [9], однако, в виду малого содержания изомера III в гексагидроникотине, для дальнейших превращений нами была использована их сумма.



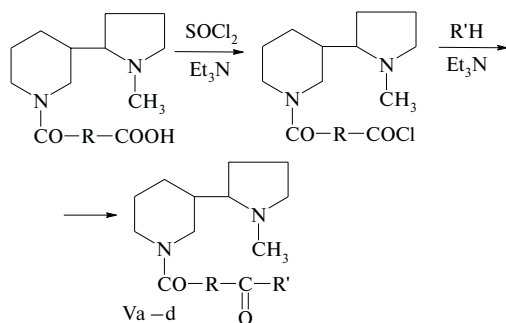
Взаимодействием гексагидроникотина с ангидридами дикарбоновых кислот (янтарной, малеиновой, фталевой) получен ряд амидокислот:



где R = o-C₆H₄ (a), CH₂CH₂ (b), CH=CH (c).

Изучение биологической активности таких амидокислот показало, что 1-метилпирролидин-2-(3'-пиперидил)амидофталева кислота (IVa) обладает противогрибковым действием в отношении дрожжевого гриба *Candida albicans*, для 1-метилпирролидин-2-(3'-пиперидил)амидоянтарной кислоты (IVb) характерно умеренно выраженное действие по отношению к культурам *Aspergillus niger* и *Epidermophyton floccosum* и выраженная активность к *Trichophyton mentagrophytes*, превышающая по эффективности препарат сравнения нистатин.

Кислоты IVa и IVb проявляют умеренно выраженную антибактериальную активность в отношении как грамположительных (*St. aureus* и *B. subtilis*), так и грамотрицательных (*E. coli*) микроорганизмов. Поскольку у кислоты IVc такие свойства выражены слабее, были синтезированы производные кислот IVa, b путем перевода их в хлорангидриды реакцией с хлористым тиоцианом в присутствии третичного амина с последующим взаимодействием с этанолом [11] или аминами [12]:



где R = CH₂CH₂, R' = C₂H₅O (a), морфолин (b), пиперидил (c), NHNH₂ (d).

Среди синтезированных производных Va – d наибольшая биологическая активность была обнаружена у морфолиламида (Vc), который оказался активным по отношению как к грамотрицательным, так и к грамположительным бактериям. Это же соединение проявляет противопсевдомонадную и противотрихомонадную активность. У соответствующих производных 1-метилпирролидин-2(3'-пиперидил)амидофталево́й кислоты антибактериальная активность значительно слабее.

Экспериментальная химическая часть

Течение реакций и индивидуальность полученных продуктов контролировали методом ТСХ на пластинках Silufol UV-254, детектировали просматриванием в ультрафиолете или парами йода. Температуру плавления определяли на столике Voetius. ИК-спектры веществ измеряли на Фурье-спектрофотометре Nicolet Avotar, спектры ЯМР получали на спектрометре Bruker DRX-500, рабочая частота 126 МГц, растворитель CDCl₃, внутренний стандарт ТМС. Данные элементного анализа всех соединений отвечали вычисленным.

Полученный при гидрировании I гексагидроникотин (II + III) имел т. кип. 246 °С, n_D^{20} 1,5289.

1-Метилпирролидин-2(3'-пиперидил)амидоянтарная кислота (IVb). К раствору 1,70 г (0,01 моль) гек-

сагидроникотина в 30 мл абсолютного хлороформа добавляли при перемешивании 1,02 г (0,01 моль) янтарного ангидрида и оставляли на 5 ч. После отгонки растворителя остаток разделяли на колонке с силикагелем методом градиентной хроматографии. Элюент: смесь гексан – хлороформ с последующим увеличением полярности. Получили 2,20 г (80 %) IVb в виде вязкого масла, легко растворяющегося в воде и ряде органических растворителей, т. кип. 71 – 72 °С 1 мм рт. ст., n_D^{20} 1,4839. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 2983 – 2820 (CH_{Alk}), 2793 (CH₃-N); 2750 – 2730 (COOH), 1714 (C=O), 1643 (C=O), 1370 (CH₃).

Этиловый эфир, замещенные амиды и гидразид 1-метилпирролидин-2(3'-пиперидил)амидоянтарной кислоты (Va – d) получали по известным методикам [11] и [12] и выделяли колоночной хроматографией. Физико-химические и спектральные характеристики полученных производных приведены в табл. 1.

Экспериментальная биологическая часть

Изучение противогрибковой активности производных гексагидроникотина проводили по отношению к грибам *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Trichophyton mentagrophytos*, *Epidermophyton floccosum*, *Penicillium citrinum*, *Candida albicans* методом дисков.

Культуры грибов выращивали в плотной среде (Сабу́ро) при pH 5,6 ± 0,2 и температурах 37 °С (*C. albicans*) и 28 °С (остальные штаммы) в зависимости от условий роста грибов в течение двух и более суток.

Культуры разводили изотоническим раствором NaCl и засекали в чашки Петри с соответствующими элективными средами для изучаемых штаммов по методу “сплошного газона”. Инокулят содержал 1 × 10⁹ микробных тел в 1 мл.

На подсушенную поверхность среды накладывали стерильные диски, на которые наносили растворы исследуемых веществ (10 мкг) в виде капли, разведение

Таблица 1

Физико-химические и спектральные характеристики соединений Va – d

Соединение	Выход, %	$t_{пл.}$, °С	$t_{кип.}$, °С/мм рт. ст.	n_D^{20}	ИК-спектр, ν , см ⁻¹	Спектр ЯМР ¹ H, δ , м. д., J/Гц
Va	45		78 – 80/2	1,4640	2792 (CH ₃ -N), 1733, 1641 (C=O), 1370 (CH ₃), 1050 (C–O–C)	1,06 с (1H, H-5), 1,30 т (3H, CH ₃ , J = 7), 1,46, 1,50, 3,30 д (2H, CH ₂ -пиперидин), 1,59, 2,25 д (2H, CH ₂ -пирролидин), 1,67 с (1H, H-3'), 2,27 т (3H, CH ₃ -N), 2,57, 3,34 д (2H, CH ₂ , J = 6,8), 4,12 с (2H, CH ₂)
Vb	72		54 – 56/1	1,4991	2793 (CH ₃ -N), 1694, 1691 (C=O), 1370 (CH ₃), 1116 – 1170 (C–O–C)	1,03 с (1H, H-5), 1,60 2,25 д (2H, CH ₂ -пирролидин), 1,46, 1,50, 3,30, 3,34 д (2H, CH ₂ -пиперидин), 1,50, 2,74 д (2H, CH ₂ -пиперидин), 2,22 д (2H, CH ₂ , J = 7,0), 2,27 т (3H, CH ₃ -N)
Vc	63	170 – 172 (этанол)			2793 (CH ₃ -N), 1688, 1650 (C=O), 1370 (CH ₃)	1,05 с (1H, H-5), 1,46 1,50, 3,30, 3,34 д (2H, CH ₂ -пиперидин), 1,59, 2,25 д (2H, CH ₂ -пирролидин), 1,14, 2,22 д (2H, CH ₂ , J = 7,0), 1,67 с (1H, H-3'), 2,27 т (3H, CH ₃ -N), 2,87, 3,67 д (2H, CH ₂ -морфолин), 2,27 т (3H, CH ₃ -N)
Vd	98	238 – 240 (этанол)			3508 (NH ₂), 3410 (CONH), 2792 (CH ₃ -N), 1690, 1658 (C=O), 1378 (CH ₃)	1,07 с (1H, H-5), 1,46 1,50, 3,30, 3,34 д (2H, CH ₂ -пиперидин), 1,59, 2,25 д (2H, CH ₂ -пирролидин), 1,68 с (1H, H-3'), 2,0 с (2H, NH ₂), 2,27 т (3H, CH ₃ -N), 2,46 д (2H, CH ₂ , J = 7,0), 8,0 с (1H, NH)

Таблица 2
Противогрибковая активность производных гексагидроникотина

Соединение	Диаметр зон торможения роста, мм					
	<i>Penicillium citrinum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Trichophyton mentagrophytos</i>	<i>Epidermophyton floccosum</i>	<i>Candida albicans</i>
IVa	14 ± 1	10 ± 2	12 ± 2	14 ± 1	17 ± 2	17 ± 1
IVb	11 ± 3	17 ± 1	11 ± 2	21 ± 3	17 ± 1	16 ± 2
IVc	10 ± 3	11 ± 1	12 ± 1	16 ± 3	16 ± 2	15 ± 1
Нистатин	16 ± 3	12 ± 1	14 ± 3	14 ± 2	12 ± 1	22 ± 1

1:10 в этиловом спирте. В чашки помещали также контрольные стандартные диски с нистатином.

Посевы инкубировали в термостате в течение 2 и более суток при указанных выше температурах.

Противогрибковую активность оценивали по диаметру зон задержки роста культуры грибов. Сплошной рост на чашке оценивали как отсутствие антигрибковой активности. Результаты исследования представлены в табл. 2.

Изучение антибактериальной активности производных гексагидроникотина проводили по отношению к штаммам грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* 505, *Bacillus subtilis* и к грамотрицательным штаммам *Escherichia coli* М-17, *Pseudomonas aeruginosa* АТС-464 методом диффузии в агар (лунок) [13]. Исследуемые образцы растворяли в 96 % этаноле в концентрации 1 мг/мл, а препарат сравнения цефотаксим — в концентрации 250 мг/мл.

Штаммы выращивали на жидкой среде (МПК) при рН 7,3 ± 0,2 и температуре от 30 до 35 °С в течение 18 – 20 ч. Культуры разводили в отношении 1:1000 в стерильном 0,9 % растворе NaCl изотоническом, вносили по 1 мл в чашки с соответствующими элективными питательными средами для изучаемых тест-штаммов и засеивали по методу “сплошного газона”. После подсушивания на поверхности агара формировали лунки диаметром 6,0 мм, в которые вносили растворы исследуемых образцов цефотаксима, нистатина по 10 мкл, в контроле использовали 96 % этанол в эквивалентных количествах. Исследуемые образцы испытывали в количестве 1 мкг, а препарат сравнения — 3 мг. Посевы инкубировали при 37 °С, учет растущих культур проводили через 24 ч.

Антимикробную активность образцов оценивали по диаметру зон задержки роста тест-штаммов (мм). Диаметры зон в 10 – 15 мм оценивали как слабую ак-

Таблица 3
Антибактериальная активность производных гексагидроникотина

Соединение	<i>S. aureus</i> 505	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i> М-17	<i>Ps. aeruginosa</i> АТС-464
IVa	10 ± 2	21 ± 1	16 ± 1	–
IVb	12 ± 2	11 ± 1	13 ± 2	11 ± 1
IVc	17 ± 1	18 ± 1	17 ± 1	–
Уб	18 ± 1	22 ± 1	16 ± 1	21 ± 1
Цефотаксим	24 ± 1	24 ± 1	22 ± 1	18 ± 1

тивность, лунки диаметром 6,0 мм, в которые вносили растворы исследуемых образцов цефотаксима, нистатина по 10 мкл, в контроле использовали 96 % этанол в эквивалентных количествах. Исследуемые образцы испытывали в количестве 1 мкг, а препарат сравнения — 3 мг. Посевы инкубировали при 37 °С, учет растущих культур проводили через 24 ч.

Каждый образец испытывали в трех параллельных опытах, статистическую обработку проводили методами параметрической статистики. Результаты показаны в табл. 3.

Приведенные в табл. 2 и 3 данные свидетельствуют, что производные гексагидроникотина обладают противогрибковой и антибактериальной активностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. В. Долженко, Н. В. Колотова, В. О. Козьминных и др., *Хим.-фарм. журн.*, **36**(3), 17 – 19 (2002).
2. А. В. Долженко, В. О. Козьминных Н. В. Колотова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **37**(7), 7 – 10 (2003).
3. А. В. Долженко, Б. Я. Сыропятов, В. О. Козьминных и др., *Хим.-фарм. журн.*, **37**(8), 12 – 13 (2003).
4. Патент США 4917895 (1990), *РЖ Химия*, 2 О 269 П (1991).
5. Патент США 5015741 (1991), *РЖ Химия*, 21 О 113 П (1992).
6. Патент США 4442292 (1984), *РЖ Химия*, 2 О 341 П (1985).
7. L. A. Peterson, A. Trevor, N. Castagnoli, *J. Med. Chem.*, **30**(2), 249 – 254 (1987).
8. M. Shibagaki, H. Matsushita, H. Kaneko, *Heterocycles*, **23**(7), 1681 – 1684 (1985).
9. M. Shibagaki, H. Matsushita, H. Kaneko, *Heterocycles*, **23**(9), 2351 – 2355 (1985).
10. З. М. Астафьева, П. Б. Сидойкин, Л. А. Кричевский и др., *Журн. приклад. химии*, **78**(4), 571 – 574 (2005).
11. J. Wolinski and D. Plachta, *Acta polon. pharm.*, **32**(3), 303 – 306 (1975).
12. К. Бюлер, Д. Пирсон, *Органические синтезы*, Ч. 2, Мир, Москва (1973), сс. 388 – 389.
13. С. М. Навашин, И. П. Фомина, *Рациональная антибиотикотерапия*, Справочник, Медицина, Москва (1983).

Поступила 02.02.06

SYNTHESIS, ANTIFUNGAL AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF NEW HEXAHYDRONICOTINE DERIVATIVES

A. D. Kagarlitskii, L. A. Krichevskii, Z. M. Astaf'eva, S. B. Akhmetova, R. K. Seidakhmetova, and A. I. Drab

Institute of Phytochemistry, Ministry of Education and Science of the Kazakhstan Republic, Karaganda, 470032 Kazakhstan

Amidoacids were obtained via acylation hexahydronicotine with dicarboxylic acid anhydrides in anhydrous aprotic solvents and then reacted with amines, amides and hydrazides. New hexahydronicotine compounds were tested for antifungal and antibacterial activity.