

УДК 547.81

**АНТИМІКРОБНА ТА АНТИМІКОТИЧНА АКТИВНІСТЬ ДЕЯКИХ
ПОХІДНИХ
3-АРИЛПІРИДИН-2-ОНУ ТА 3-АРИЛПІРАН-2-ОНУ**

Х. Піткович^{1*}, Р. Литвин¹, В. Соловійов², О. Бліндер³, Ю. Горак¹

¹Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Кирила і Мефодія, 6, 79005 Львів, Україна;

²Рівненський НДЕКЦ МВС, вул. Гагаріна, 39, 33003 Рівне, Україна;

³Буковинський державний медичний університет,
пл. Театральна, 2, 58002 Чернівці, Україна
e-mail: khrystyna.pitkovych@lnu.edu.ua

Взаємодією метилових або етилових естерів 4,6-диметил-3-арил-2-оксо-2H-5-піранкарбонових кислот з ацетатом амонію у середовищі оцтової кислоти отримано метилові або етилові естери 2,4-диметил-6-оксо-5-арил-1,6-дигідропіридин-3-карбонових кислот з високими виходами. Для деяких отриманих сполук досліджено антимікробну та антимікотичну активність.

Ключові слова: піран-2-он, піридин-2-он, рециклізація, антимікробна активність, антимікотична активність.

DOI: <https://doi.org/10.30970/vch.6201.209>

1. Вступ

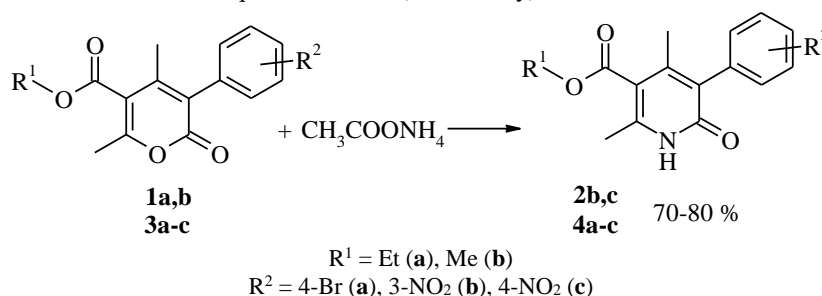
Гетероциклічні сполуки відіграють важливу роль у дизайні та розробці ліків, головню, через їх різноманіття та завдяки широким можливостям варіювання замісників у базових структурах, що, своєю чергою, дає можливість створювати комбінаторні бібліотеки сполук та ефективно досліджувати взаємозв'язок структура–біологічна дія. З точки зору медичної хімії похідні 2-піридону та 2-пірану належать до привілейованих класів сполук, а їхні фрагменти входять до складу багатьох лікарських засобів та природних речовин [1], зокрема, до складу протиракових, противірусних та антимікробних препаратів [2–4].

З іншого боку, похідні 3-арилпіридону та 3-арилпірану є важкодоступними сполуками. Основні методи їх синтезу ґрунтуються на паладій-каталітичних реакціях крос-сполучення [5–7]. Однак речовини, синтезовані такими методами, потребують спеціальної очистки від слідових кількостей паладію, оскільки його сполуки є високотоксичними.

Раніше ми розробили ефективний метод синтезу 3-арилзаміщених похідних 2-піранону, який полягає у купрокаталітичній взаємодії арендіазонієвих солей з комерційно доступними вихідними реагентами [8]. У цій праці ми повідомляємо про ефективний метод синтезу 3-арилпіридин-2-онів з 3-арилпіранів, а також про дослідження антимікробної та антимікотичної активності синтезованих сполук.

2. Результати досліджень та їх обговорення

Ми дослідили можливість застосування раніше одержаних [8] естерів **1** та **3** для синтезу 3-арилпіридонів **2**, **4**. Це можливо під час заміщення атома кисню атомом азоту. У подібних реакціях використовують ацетат амонію [9–11]. З'ясували, що під час кип'ятіння протягом 4–5 год естерів **1** та **3** з ацетатом амонію у середовищі оцтової кислоти така реакція відбувається без ускладнень і з виходами 70–80 % утворюються заміщені 2-піридони **2** та **4** (див. схему):



Синтез метил(етил) 2,4-диметил-6-оксо-5-арил-1,6-дигідропіридин-3-карбоксилатів
Synthesis of methyl(ethyl) 2,4-dimethyl-6-oxo-5-aryl-1,6-dihydropyridine-3-carboxylates

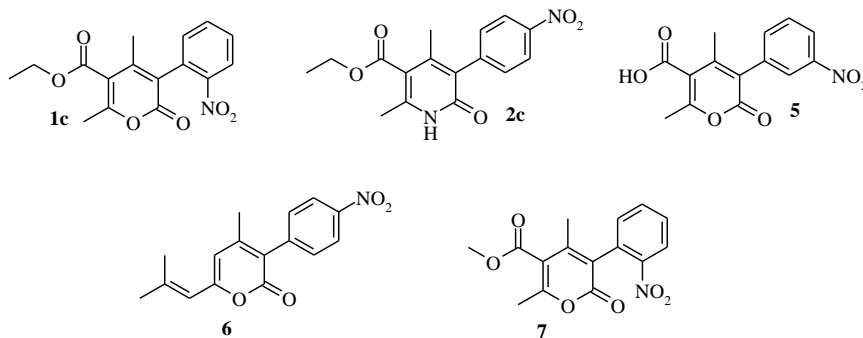
Реакція розпочинається з нуклеофільної атаки аміаком піронового циклу з утворенням аліциклічного проміжного інтермедіату, який в умовах реакції циклізується до піридонів **2**, **4**. Варто зазначити, що використання ацетатів первинних амінів (*n*-толуїдин, фурфуріламін, моноетаноламін) замість ацетату амонію не дало позитивних результатів – у цих випадках виділено лише вихідні пірони **1**, **3**.

Досліджено антимікробну і протигрибкову активність деяких синтезованих сполук, зокрема продукту **2c**, а також раніше описаних 3-арил-2-піранонів **1c**, **5-7** (див. рис.).

Як тест-штами використано п'ять штамів бактерій та два штами мікроскопічних грибків:

1. *S. typhimurium* 4414.
2. *P. mirabilis* 410.
3. *S. aureus* ATCC № 25923.
4. *P. aeruginosa* ATCC № 27853.
5. *B. subtilis* ATCC № 6633.
6. *C. albican*.
7. *S. cerevisiae* 61.

Штами № 1 і 2 належать до родини ентеробактерій і можуть викликати інфекційні захворювання шлунково-кишкового тракту людини. Золотистий стафілокок (штам № 3) часто є причиною гнійно-запальних захворювань. На відміну від попередніх штамів, які є грамнегативними, він належить до грампозитивних бактерій. Псевдомонади (штам № 4) часто трапляються у навколишньому середовищі, проте можуть викликати захворювання в імуноослаблених людей. Штам № 5 є сапрофітом, який не спричиняє шкоди здоров'ю людини, проте він здатний утворювати спори, як і деякі високопатогенні для людини бактерії. Штами № 6 і 7 належать до мікроскопічних грибків. Кандіди (№ 6) є патогенними для людини, а сахароміцети (№ 7) належать до „істинних” грибів і не патогенні.



Формули досліджених сполук
 Structures of the investigated compounds

Цифри у таблиці означають найнижчу концентрацію речовини (мкг/мл), яка повністю пригнітила ріст тест-штаму, тобто проявила, як мінімум, бактеріо- або мікостатичну дію.

Результати досліджень наведено у таблиці. Стосовно грам-негативних тест-штамів бактерій (сальмонел, протею, псевдомонад) та несправжніх грибів (*C. albicans*) синтезовані сполуки виявляли активність у концентрації 500 мкг/мл, або ж були неактивними. Найвищу активність, особливо сполуки **6**, виявлено стосовно „істинних” грибків – штаму № 7 (*S. cerevisiae* 61). Сполуки **5** і **6** діють на штам *B. subtilis* ATCC у концентрації 31,3 мкг/мл.

Антимікробна та антимікотична активність досліджених речовин
 Antimicrobial and antifungal activity of the studied substances

Сполука	<i>S. typhi-</i> <i>murium</i> 4414	<i>P. mira-</i> <i>bilis</i> 410	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>P. aeru-</i> <i>ginosa</i> ATCC 27853	<i>B. su-</i> <i>btilis</i> ATCC 6633	<i>C. albi-</i> <i>cans</i>	<i>S. cere-</i> <i>visiae</i> 61
1c	н/а*	500	125	500	н/а	н/а	250
2c	н/а	н/а	500	н/а	н/а	500	250
5	н/а	500	500	н/а	31,3	н/а	500
6	н/а	н/а	н/а	н/а	31,3	500	≤ 62,5
7	н/а	н/а	125	н/а	н/а	500	500

*Примітка: н/а – речовина не виявила дії у найвищій застосованій концентрації – 500 мкг/мл.

3. Висновки

Розроблено практично зручний метод синтезу метилових та етилових естерів 2,4-диметил-6-оксо-5-арил-1,6-дигідропіридин-3-карбонових кислот. Досліджено антимікробну й антимікотичну дію синтезованих сполук та виявлено, що деякі з них виявляють помірну активність.

4. Матеріали та методика експерименту

Етил 2,4-диметил-6-оксо-5-арил-1,6-дигідропіридин-3-карбоксилати **2b, c**

Етилові естери 4,6-диметил-3-арил-2-оксо-2H-5-піранкарбонових кислот (**1a, b**) масою 2 г (0,006 моль), 2,5 г (5-кратний надлишок) ацетату амонію та 15 мл крижаної оцтової кислоти кип'ятили протягом 5 год. Після охолодження реакційну суміш виливали у склянку з 40 мл води, отриманий осад відфільтровували та перекристалізували зі спирту (**2c**) чи із суміші спирт–ДМФА (**2b**).

2b: Вихід 88 %, т. пл. > 250 °С. Знайдено, %: С 61,03; Н 5,03; N 25,36. C₁₆H₁₆N₂O₅. Обчислено, %: С 60,75; Н 5,10; N 25,29.

2с: Вихід 82 %, т. пл. > 250 °С. Знайдено, %: С 60,91; Н 4,96; N 25,16. C₁₆H₁₆N₂O₅. Обчислено, %: С 60,75; Н 5,10; N 25,29.

Метил 4,6-диметил-3-арил-2-оксо-1,2-дигідро-5-піридинкарбоксилати (4a–c)

2,5 Ммоль похідних пірону **3** 0,97 г (5-кратний надлишок) ацетату амонію та 7 мл крижаної оцтової кислоти кип'ятили протягом 4–5 год. Реакційну суміш охолоджували, виливали в 25 мл води, отриманий осад відфільтровували і перекристалізували з суміші спирт–ДМФА.

4a: Вихід 78 %, т. пл. 256–257 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 1,96 (3H, с, CH₃); 2,28 (3H, с, CH₃); 3,80 (3H, с, OCH₃); 7,43–7,69 (2H, м, C₆H₄); 8,05 (1H, с, C₆H₄); 8,19 (1H, д, J = 8,0 Гц, C₆H₄); 12,11 (1H, с, NH). Знайдено, %: С 53,67; Н 4,26; N 4,35. C₁₅H₁₄N₂O₃. Обчислено, %: С 53,39; Н 4,17; N 4,20.

4b: Вихід 82 %, т. пл. > 250 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 1,93 (3H, с, CH₃); 2,26 (3H, с, CH₃); 3,79 (3H, с, OCH₃); 7,15 (2H, д, J = 8,2 Гц, C₆H₄); 7,58 (2H, д, J = 8,2 Гц, C₆H₄); 11,99 (1H, с, NH). Знайдено, %: С 59,76; Н 9,34; N 4,48. C₁₅H₁₄N₂O₅. Обчислено, %: С 59,44; Н 9,27; N 4,67.

4с: Вихід 72 %, т. пл. > 250 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 1,95 (3H, с, CH₃); 2,28 (3H, с, CH₃); 3,80 (3H, с, OCH₃); 7,51 (2H, д, J = 9,0 Гц, C₆H₄); 8,25 (2H, д, J = 9,0 Гц, C₆H₄); 11,11 (1H, с, NH). Знайдено, %: С 59,35; Н 9,41; N 4,59. C₁₅H₁₄N₂O₅. Обчислено, %: С 59,60; Н 9,27; N 4,67.

Методика визначення антимікробної активності

Антимікробну активність отриманих сполук (**1с**, **2с**, **5**, **6**, **7**) вивчали за допомогою мікрометоду з використанням одноразових 96-лункових стерильних полістиролових планшет та мікротитраторів Такачі. Тест штами бактерій вирощували протягом 18–20 год на скошеному м'ясо-пептонному агарі (МПА) за температури +37 °С. Біомасу штаму *B. subtilis* ATCC № 6633 вирощували в поживному бульйоні (ПБ) протягом 18–20 год за температури +37 °С. Це дало змогу надалі легко отримувати потрібну вихідну та робочу суспензії цього штаму. У випадку вирощування на скошеному МПА *B. subtilis* дає ріст у вигляді дуже щільного нальоту, з якого важко отримати гомогенну суспензію. Грибки культивували у рідкому середовищі Сабуро 18–20 год за температури +30 °С. З отриманих культур готували суспензії з оптичною густиною 0,5 одиниці Макфарланда. Для цього використовували денситометер DEN-1. Отримані вихідні суспензії розводили до робочої концентрації, яка була близькою до 1·10³ колонієутворюючих одиниць (КУО) в 1 мл, з використанням рідких поживних середовищ – ПБ (для бактерій), та рідкого середовища Сабуро (для грибків). З метою контролю правильності виготовлення робочих суспензій з них робили висіви на МПА (для бактерій) та на тверде середовище Сабуро (у випадку грибків) у чашках Петрі. Для кожної суспензії виконували два паралельні висіви. Чашки інкубували при +37 °С 18–20 год (для бактерій) та при +30 °С 42–44 год (для грибків), після чого підраховували кількості колоній, які виростили з наступним розрахунком концентрацій тест-штамів у робочих суспензіях.

У лунки одноразового стерильного полістиролового планшета вносили по 0,05 мл робочих суспензій. За допомогою титраторів Такачі готували розведення досліджуваних речовин від 1:1 (500 мкг/мл) до 1:256 (3,9 мкг/мл).

Планшети з тест-штамами бактерій інкубували у вологій камері за температури +37 °С протягом 18–20 год, з тест-штамами грибків - за +30 °С протягом 42–44 год, після чого обліковували результати.

Роботу виконано за підтримки Національного фонду досліджень України (проект № 2020.01/0166).

1. *Radwan M. A. A., Alshubramy M. A., Abdel-Motaal M., Hemdan B. A., El-Kady D. S.* Synthesis, molecular docking and antimicrobial activity of new fused Pyrimidine and Pyridine derivatives // *Bioorg. Chem.* 2020. Vol. 96. P. 103516. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103516>
2. *Cocco T., Congiu C., Onnis V.* New bis(pyridyl)methane derivatives from 4-hydroxy-2-pyridones: synthesis and antitumoral activity // *Eur. J. Med. Chem.* 2003. Vol. 38 (1). P. 37–47. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0223-5234\(02\)00002-8](https://doi.org/10.1016/S0223-5234(02)00002-8)
3. *Li R., Xue L., Zhu T.* et al. Design and synthesis of 5-aryl-pyridone-carboxamides as inhibitors of anaplastic lymphoma kinase // *J. Med. Chem.* 2006. Vol. 49 (3). P. 1006–1015. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm050824x>
4. *Mashkovsky, M. D.* Medicines. 14th ed. Moscow: Novaya Volna, 2000. Vol. 1, 2.
5. *Huang J., Li L., Chen H., Xiao T., He Y., Zhou L.* Synthesis of 3-Aryl-2-pyrones by Palladium-Catalyzed Cross-Coupling of Aryl Iodides with Cyclic Vinylidazo Ester // *J. Org. Chem.* 2017. Vol. 82 (17). P. 9204–9209. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.joc.7b01470>
6. *Hirano K., Miura M.* A lesson for site-selective C–H functionalization on 2-pyridones: radical, organometallic, directing group and steric controls / *Chem. Sci.* 2018. Vol. 9 (1). P. 22–32. DOI: <https://doi.org/10.1039/c7sc04509c>
7. *Mackey K., Pardo L. M., Prendergast A. M.* et al. Cyclization of 4-Phenoxy-2-coumarins and 2-Pyrones via a Double C–H Activation / *Org. Lett.* 2017. Vol. 18 (11). P. 2540–2543. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.6b00751>
8. *Lytvyn R. Z., Neshchadin A. O., Pitkovych Kh. Y.* et al. A simple and convenient synthesis of 3-arylpyran-2-ones via the Meerwein reaction // *Tetrahedron Lett.* 2016. Vol. 57 (1). P. 118–121. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2015.11.076>
9. *Magdesieva N. N., Koloskova N. M.* Synthese von 3,4,6-triaryl-2H-pyran-2-onen / *Chem. Heterocycl. Compd.* 1977. Vol. 11. P. 1475–1478.
10. *Al-Farkh Y. A., Al-Hajjar F. H., El-Rayyes N. R., Hamoud H. S.* Reactions of acetylenic ketones with methyl α -naphthylacetate. A synthesis of 1-amino-2-pyridone derivatives / *J. Het. Chem.* 1978. Vol. 15 (5). P. 759–763. DOI: <https://doi.org/10.1002/jhet.5570150510>
11. *Rey M., Dunkelblum E., Allain R. und Dreiding A. S.* Synthesen von 2-Pyronen aus α , β -ungesättigten Saurechloriden und tertiären Aminen / *Helv. Chim. Acta.* 1970. Vol. 53 (258). P. 2158–2175.

**ANTIMICROBIAL AND ANTIMYCOTIC ACTIVITY OF SOME DERIVATIVES
OF 3-ARYLPYRIDIN-2-ONE AND 3-ARYLPYRAN-2-ONE****Kh. Pitkovich^{1*}, R. Lytvyn¹, V. Soloviov², O. Blinder³, Yu. Horak¹**¹*Ivan Franko National University of Lviv,
Kyryla i Mefodiya Str., 6, 79005 Lviv, Ukraine;*²*Rivne Expert center for scientific research Ministry of Internal Affairs of Ukraine in Rivne
region, Gagarina Str., 39, 33003 Rivne, Ukraine;*³*Bukovinian State Medical University,
Teatralnaya Square, 2, 58002 Chernivtsi, Ukraine
e-mail: khrystyna.pitkovich@lnu.edu.ua*

2-Pyridones and 2-pyrones are a well-known heterocyclic compounds having significant biological and medical application. The molecular structures and various activities of 2-pyridone derivatives as well as their syntheses and natural occurrence are analyzed and discussed. Previously, we developed an effective method for the synthesis of 3-aryl-substituted derivatives of 2-pyranone. This method consists in the interaction of commercially available starting reagents with commercially available arenediazonium salts via the Meerwein reaction conditions.

In this paper, we report on an effective method for the synthesis of 3-arylpiperidin-2-ones starting from 3-arylpiperanones. Reaction of methyl or ethyl esters of 4,6-dimethyl-3-aryl-2-oxo-2*H*-5-pyran-5-carboxylic acids with ammonium acetate in acetic acid gave methyl or ethyl esters of 2,4-dimethyl-6-oxo-5-aryl-1,6-dihydropiperidine-3-carboxylic acids in high yields. For some compounds (ethyl 4,6-dimethyl-3-(2-nitrophenyl)-2-oxo-2*H*-pyran-5-carboxylate (**1c**), ethyl 2,4-dimethyl-5-(4-nitrophenyl)-6-oxo-1,6-dihydropiperidine-3-carboxylate (**2c**), 6-methyl-3-(3-nitrophenyl)-2-oxo-2*H*-pyran-5-carboxylic acid (**5**), 4-methyl-6-(2-methylprop-1-en-1-yl)-3-(4-nitrophenyl)-2*H*-pyran-2-one (**6**), methyl 4,6-dimethyl-3-(2-nitrophenyl)-2-oxo-2*H*-pyran-5-carboxylate (**7**)) we investigated antifungal and antimicrobial activity. The antimicrobial activity of the obtained compounds (**1c**, **2c**, **5**, **6**, **7**) was studied by a micro-method using disposable 96-well sterile polystyrene tablets and Takachi microtiter. The test strains of bacteria were grown for 18–20 h on beveled meat-peptone agar (MPA) at a temperature of +37 °C. The highest activity, especially of compound **6**, was found against "true" fungi - strain № 7 (*S. cerevisiae* 61). Compounds **5** and **6** act on strain *B. subtilis* ATCC6633 at a concentration of 31.3 µg/ml.

Keywords: pyran-2-one, piperidin-2-one, recyclization, antimicrobial activity, antifungal activity.

Стаття надійшла до редколегії 31.10.2020
Прийнята до друку 18.05.2021