

## СИНТЕЗ, СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ 3-(2-ПИРИДИЛ)АМИНО-2-ЦИАНО- И 3-(2-ПИРИДИЛ)АМИНО- 2-АЦЕТИЛАКРИЛАМИДОВ

Сергеева Е. А., Михалев А. И., Ухов С. В., Сыропятов Б. Я., Вахрин М. И.

ГБОУ ВПО Пермская государственная фармацевтическая академия Минздрава России, Россия  
614990, Пермь, ул. Полевая, д.2, [perm@pfa.ru](mailto:perm@pfa.ru)

Реакцией трехкомпонентного синтеза с использованием 2-аминопиридина, амида циануксусной или ацетоуксусной кислоты и этилового эфира ортомуравьиной кислоты синтезированы ранее неизвестные 3-(2-пиридил)амино-2-циано- и 3-(2-пиридил)амино-2-ацетилакриламиды, изучены их физико-химические свойства, строение соединений подтверждено спектральными методами. На основании данных ИК- и ЯМР  $H^1$ -спектров установлено, что полученные соединения имеют енаминную структуру с внутримолекулярной водородной связью хелатного типа. По результатам биологических испытаний выявлены: аллиламид 3-(2-пиридил)амино-2-цианакриловой кислоты обладающий противосудорожной и 2-хлоранилид 3-(2-пиридил)амино-2-ацетилакриловой кислоты – противовоспалительной активностью. В качестве эталонов сравнения биологической активности были использованы примидон (гексамидин) и ацетилсалициловая кислота (аспирин). Показана возможность получения различных по структуре енаминов. Перспективен дальнейший поиск потенциально биологически активных веществ в данных рядах соединений.

Ключевые слова: 2-аминопиридин, амиды циануксусной и ацетоуксусной кислот, этиловый эфир ортомуравьиной кислоты, амиды 3-(2-пиридил)амино-2-циано-, 3-(2-пиридил)амино-2-ацетилакриловой кислоты, противосудорожная и противовоспалительная активность.

## SYNTHESIS, PROPERTIES AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF 3-(2-PYRIDYL)AMINO- 2-CYANO- AND 3-(2-PYRIDYL)AMINO-2-ACETYLACRYLAMIDES

Sergeeva E. A., Mikhalev A. I., Ukhov S. V., Syropyatov B. Y., Vakhryn M. I.

Perm State Pharmaceutical Academy, Polevaya st. 2, Perm, Russia, 614990, [perm@pfa.ru](mailto:perm@pfa.ru)

Previously known 3-(2-pyridyl)amino-2-cyano and 3-(2-pyridyl)amino-2-acetylacrylamides have been synthesized by three-component interaction of 2-aminopyridine, cyanacetic acid amides or acetoacetic acid amides and ethylic ester of orthoformic acid. Their physical and chemical properties have been studied. The structure of compounds has been confirmed by spectroscopy. According the IR and NMR  $H^1$  spectra obtained compounds have the enamine structure with chelate type intermolecular hydrogen bond. Biological trials have revealed that 3-(2-pyridyl)amino-2-cyanoacrylate acid allilamid have anticonvulsant activity and of 3 - (2-pyridyl) amino-2-acetylacrylate acid 2-chloroanilide have antiinflammatory activity. Primidone (hexamidine) and acetylsalicylic acid (aspirin) have been used as reference substances. It is possible to obtain enamines with different chemical structures. Further search of potentially biologically active compounds in this series is promising.

Key words: 2-aminopyridine, cyanacetic and acetoacetic acids amides, ethylic ester of orthoformic acid, 3-(2-pyridyl)amino-2-cyano-, 3-(2-pyridyl)amino-2-acetylacrylic acid amides, anticonvulsant and antiinflammatory activity.

**Введение.** По данным литературы среди производных акриловой кислоты имеются биологически активные вещества. Поиск новых высокоэффективных и малотоксичных веществ среди продуктов органического синтеза является одной из важных задач фармацевтической науки и медицины. Реакция трёхкомпонентного синтеза является малоизученной и позволяет широко использовать различные ароматические или гетероциклические амины, метиленактивные соединения и ортоэфир в качестве реагентов для получения целевых продуктов.

В ранее проведённых исследованиях [3–5] нами осуществлён синтез амидов 3-гетериламино-2-этоксикарбонилакриловой и N-ацильных производных 3-амино-2-этоксикарбонилакриламидов. Некоторые из апробированных соединений при биологических испытаниях на животных показали противовоспалительную или анальгетическую активность.

**Целью исследования** является синтез новых биологически активных соединений в ряду производных 3-аминоакриламидов, изучение их физико-химических свойств, анализ результатов биологических испытаний, установление взаимосвязи структура-активность.

В продолжение предыдущих исследований, а также с целью поиска новых биологически активных веществ, представляло интерес провести реакции трёхкомпонентного синтеза с использованием 2-аминопиридина, соответствующего амида циануксусной или ацетоуксусной кислоты и этилового эфира ортомуравьиной кислоты. Изучить свойства и биологическую активность целевых продуктов в сравнении с препаратами эталонами.

#### **Материалы и методы исследования**

Структура полученных соединений подтверждена спектральными методами анализа. ИК спектры сняты на приборах ИК-Фурье спектрофотометре (ФСМ-1201) и SPECORD M-80 (Германия) для пасты соединений в вазелиновом масле. ЯМР <sup>1</sup>H-спектры записаны на Фурье-спектрометре ЯМР Tesla BS-567A (100 МГц) в растворе ДМСО-d<sub>6</sub>, внутренний стандарт – ГМДС. Данные элементного анализа синтезированных веществ соответствуют вычисленным значениям. Биологические испытания синтезированных соединений проведены на мышцах согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [7] в сравнение с препаратами эталонами: гексамидином и ацетилсалициловой кислотой.

**Общая методика получения амидов 3-(2-пиридил)амино-2-цианакриловой кислоты (1–5).** Смесь 0,94 г. (0,01 моль) 2-аминопиридина, 0,01 моль замещённого амида циануксусной кислоты в 20 мл этилового эфира ортомуравьиной кислоты кипятят 4 часа, охлаждают, выпавший осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из диоксана.

**Общая методика получения амидов 3-(2-пиридил)амино-2-ацетилакриловой кислоты (6–10).** Смесь 0,94 г. (0,01 моль) 2-аминопиридина, 0,01 моль ариламида ацетоуксусной кислоты в 20 мл этилового эфира ортомуравьиной кислоты кипятят 6 часов, охлаждают, выпавший осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из этанола.

**Таблица 1. Характеристики амидов 3-(2-пиридил)амино-2-циано- (1-5) и 3-(2-пиридил)амино-2-ацетилакриловой кислоты (6–10)**

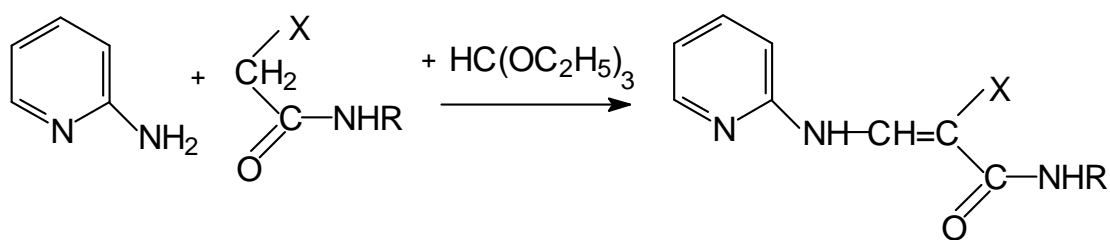
Соединение	X	R	Брутто-формула	Т. пл., °С	Выход, %
1	CN	CH <sub>3</sub>	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O	196-197	70
2	CN	CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O	139-140	76
3	CN	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> -цикло	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O	134-135	69
4	CN	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O	167-168	65
5	CN	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CH <sub>3</sub> -4	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O	210-211	78
6	COCH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> Cl-2	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	150-151	85
7	COCH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	126-127	73
8	COCH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CH <sub>3</sub> -2	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	133-134	72
9	COCH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CH <sub>3</sub> -4	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	137-138	68
10	COCH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -2,4	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	118-119	81

**Таблица 2. ЯМР Н<sup>1</sup>-спектры соединений 1–10**

Соединение	X	R	ЯМР Н <sup>1</sup> -спектры, δ, м.д.:			
			Ar(HetH), м	-CH=C< д, 1H	NH-амид с, 1H	NH-хелат д, 1H
1	CN	CH <sub>3</sub>	7,57-8,35	8,46	9,30	11,84
2	CN	CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>	7,81-8,38	8,45	9,00	11,57
3	CN	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> -цикло	7,75-8,40	8,47	9,50	11,60
4	CN	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	7,53-8,30	8,42	9,54	11,66
5	CN	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CH <sub>3</sub> -4	7,10-8,20	8,39	9,59	11,40
6	COCH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> Cl-2	7,05-8,50	9,10	12,16	12,93
7	COCH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	7,04-8,40	9,16	11,73	12,49
8	COCH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CH <sub>3</sub> -2	7,15-8,43	9,10	11,70	12,52
9	COCH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CH <sub>3</sub> -4	7,11-8,40	9,15	11,65	12,50
10	COCH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -2,4	7,20-8,23	9,05	11,60	12,45

### Результаты и их обсуждение

Исследования показали, что реакция трехкомпонентного синтеза успешно протекает при нагревании в течение 6 часов эквимолекулярных количеств исходных веществ, при этом образуются соответствующие 3-(2-пиридил)амино-2-Х-акриламиды (1–10), с выходами 65–85 %.



### 1 – 10

**1-10.** X = CN, R = CH<sub>3</sub> (**1**); X = CN, R = CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub> (**2**); X = CN, R = C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>-цикло (**3**);  
 X = CN, R = CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (**4**); X = CN, R = C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>-4 (**5**); X = COCH<sub>3</sub>, R = C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>Cl-2, (**6**);  
 X = COCH<sub>3</sub>, R = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (**7**); X = COCH<sub>3</sub>, R = C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>-2 (**8**); X = COCH<sub>3</sub>, R = C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>-4 (**9**);  
 X = COCH<sub>3</sub>, R = C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-2,4 (**10**)

Полученные соединения – это бесцветные кристаллические вещества, нерастворимые в воде и растворимые при нагревании в этаноле или диоксане (табл. 1). Структура полученных соединений подтверждена данными спектрального анализа.

ИК спектры амидов (1–10), снятые в вазелиновом масле, содержат полосы валентных колебаний  $\nu$ , см<sup>-1</sup>: 1635-1670 (CO), 2210-2230 (CN), 3070-3190 (NH-хелат), 3280-3430 (NH-амид).

В спектрах ЯМР Н<sup>1</sup> присутствуют сигналы протонов  $\delta$ , м.д.: 7,01-7,81 (м, ArH, HetH) 8,02-8,53 (д, –CH=C<), 8,93-9,80 (уш. с. NH-амид), 10,67-11,84 (д. NH-хелат). Исходя из данных ЯМР Н<sup>1</sup>-спектров, можно сделать заключение о енаминной структуре синтезированных соединений, с внутримолекулярной водородной связью хелатного типа.

Изучена противосудорожная, противовоспалительная активность у некоторых синтезированных соединений в сравнении с препаратами – эталонами примидоном (гексамидином) и ацетилсалициловой кислотой (аспирином).

Определена острая токсичность аллиламида 3-(2-пиридил)амино-2-цианакриловой кислоты (**2**) по экспресс-методике Прозоровского В. Б. на белых мышах массой 22–24 г при внутрибрюшинном способе введения [6]. Установлено, что ЛД<sub>50</sub> аллиламида равна 520 (429,7–629,2) мг/кг, а ЛД<sub>50</sub> гексамидина составляет 340 (228–401) мг/кг [2]. Апробированное соединение в 1,5 раза менее токсично, чем препарат сравнения – гексамидин.

Изучена противосудорожная активность (ПСА) амидов 3-(2-пиридил)амино-2-цианакриловой кислоты (1–5) на белых мышах массой 18–25 г при внутрибрюшинном введении по тесту максимального электрошока [7]. Проведено 5 опытов, в каждой группе было 10 мышей. При этом определяли среднеэффективную дозу – ЕД<sub>50</sub>. В ходе опытов установлено, что противосудорожное действие аллиламида 3-(2-пиридил)амино-2-цианакриловой кислоты (**2**) ЕД<sub>50</sub> = 175,0 (135,6-225,7) мг/кг, а у гексамидина ЕД<sub>50</sub> = 90,0 (78-103) мг/кг при этом же пути введения [2]. Аллиламид (**2**) обладает ПСА в 1,9 раза меньшей по сравнению с гексами-

дином. Вычислен условно терапевтический индекс (УТИ), который представляет собой соотношение  $ED_{50} / LD_{50}$  и соответственно равен для аллиламида – 2,9, а гексамидина – 3,7.

Остальные апробированные соединения в дозе 300 мг/кг не проявляют противосудорожную активность. Из приведенных данных следует, что аллиламид (2) менее токсичен, чем гексамидин, и уступает ему по противосудорожной активности.

Противовоспалительная активность (ПВА) амидов 3-(2-пиридил)амино-2-ацетил-акриловой кислоты соединений (6,7,9) и аспирина 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 [7]. Предварительно измеряли исходный объем (мл) задней лапы опытных и контрольных крыс с помощью онкометра. Исследуемое вещество и аспирин вводили в внутрибрюшинно в дозе 50 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 5 опытов, в каждой группе было 6 животных. Результаты обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента, результаты считали достоверными при  $p < 0,05$  [1].

**Таблица 3. Противовоспалительная активность амидов 3-(2-пиридил)амино-2-ацетил-акриловой кислоты (6,7,9)**

Соединение	X	R	Доза, мг/кг в/б	ПВА, % торможения каррагенинового отека через		p
				3 ч	5 ч	
6	COCH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Cl-2	50	51,6	35,0	<0.05
7	COCH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	50	10,7	7,8	>0.05
9	COCH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>3</sub> -4	50	20,0	7,8	<0.05
Ацетилсалициловая кислота (аспирин)			50	51,2	28,7	<0.01

Исследования показали, что 2-хлоранилид-3-(2-пиридил)амино-2-ацетилакриловой кислоты (6) при внутрибрюшинном пути введения в дозе 50 мг/кг после введения флогогенного агента достоверно тормозит развитие отека через 3 ч на 51,6 и 5 ч – 35,0 %, а аспирин оказывает аналогичное действие через 3 часа – 51,2 и 5 часов – 28,7 % в этой же дозе. В целом, соединение (6) проявляет противовоспалительную активность, примерно равную таковой аспирина (таблица 3).

Таким образом, реакцией трехкомпонентного синтеза получено 10 ранее неизвестных соединений, строение которых установлено спектральными методами. Некоторые из полу-

ченных соединений в опытах на животных показали наличие противосудорожной или противовоспалительной активности в сравнении с препаратами эталонами. Характер заместителя в амидной части молекулы не оказывает существенного влияния на биологическую активность синтезированных соединений.

## Выводы

1. В ходе проведенного исследования трехкомпонентной реакцией 2-аминопиридина, метиленактивного соединения и этилортоформиата с хорошими выходами синтезированы новые 3-(2-пиридил)амино-2-циано- и 3-(2-пиридил)амино-2-ацетилакриламиды.
2. На основании данных ИК-, ЯМР  $H^1$ -спектров установлено, что полученные соединения существуют в форме енаминов с внутримолекулярной водородной связью хелатного типа.
3. По результатам скрининга синтезированных соединений на животных выявлены вещества, обладающие противосудорожной и противовоспалительной активностью. Установлена некоторая взаимосвязь структура-активность.
4. На основании результатов проведенных исследований следует, что поиск биологически активных соединений в рядах 3-(2-пиридил)амино-2-циано- и 3-(2-пиридил)амино-2-ацетилакриламидов является перспективным.

## Список литературы

1. Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – 2-е изд. – Л.: Медгиз, 1963. – С. 81-106.
2. Колла В. Э., Сыропятов Б. Я. Дозы лекарственных средств и химических соединений для лабораторных животных. – М.: Медицина, 1998. – 263 с.
3. Михалев А. И., Ухов С. В., Коньшин М. Е. Синтез и свойства 2-замещенных 3-арил-(пиридил)аминоакриловых кислот // Химия гетероцикл. соед. – 1994. – № 5. – С. 629-633.
4. Михалев А. И., Суслина М. Л., Коньшина Т. М. и др. Синтез, противовоспалительная и анальгетическая активность амидов 3-гетариламино-2-этоксикарбонилакриловой и 4-оксопиридо[1,2-а]пиримидин-3-карбоновой кислот // Хим.-фарм. журн. – 1995. – Т. 29. – № 5. – С. 39-40.
5. Михалев А. И., Суслина М. Л., Коньшина Т. М. и др. Синтез и биологическая активность N-ацильных производных 3-амино-2-этоксикарбонилакриламидов // Хим.-фарм. журн. – 1996. – Т. 30. – № 1. – С. 34-35.
6. Прозоровский В. Б., Прозоровская М. П., Демченко В. М. Экспресс-метод определения средней эффективной дозы и её ошибки // Фармакол. и токсикол. – 1978. – Т. 41. – № 4. – С. 497-502.

7. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общей ред. Хабриева Р. У. – Изд. 2-е, перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – С. 277 – 294, 695 – 709.

**Рецензенты:**

Хомов Ю. А., доктор. фарм. н., профессор, профессор каф. фармацевтической химии ФДПО и ФЗО ГБОУ ВПО ПГФА Минздравсоцразвития РФ, г. Пермь.

Игидов Н. М., доктор. фарм. н., доцент, профессор каф. органической химии ГБОУ ВПО ПГФА, Минздравсоцразвития РФ, г. Пермь.