

Синтез и антирадикальная активность 4-арил(гетарил)замещенных 3-аминопиридин-2(1H)-онов

Иван В. Кулаков^{1*}, Мария В. Мацукевич¹, Зарина Т. Шульгау³, Шынгыс Сергазы³,
Тулеген М. Сейлханов⁴, Амрит Пузари⁵, Александр С. Фисюк^{1,2}

¹ Омский государственный университет им. Ф. М. Достоевского,
пр. Мира, 55а, Омск 644077, Россия; e-mail: kulakov@chemotmsu.ru

² Омский государственный технический университет,
пр. Мира, 11, Омск 644050, Россия; e-mail: fisyuk@chemotmsu.ru

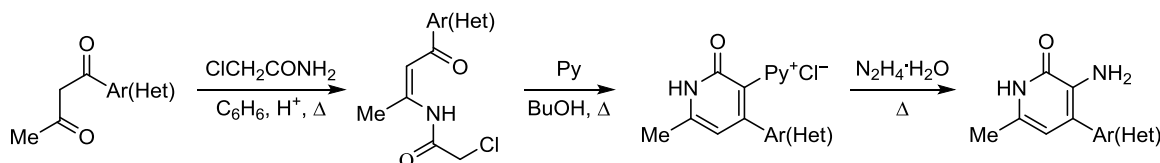
³ РГП "Национальный центр биотехнологии" КН МОН РК,
шоссе Кургальжинское, 13/5, Астана 010000, Казахстан; e-mail: shulgau@biocenter.kz

⁴ Кокиетауский государственный университет им. Ш. Уалиханова,
ул. Абая, 76, Кокиетау 020000, Казахстан; e-mail: tseilkhanov@mail.ru

⁵ Национальный технологический институт Нагаленда,
797 103, Нагаленд, Индия; e-mail: amrit09us@yahoo.com

Поступило 4.11.2015

Принято 25.11.2015



Взаимодействием арил(гетарил)замещенных 1,3-дикетонов с хлорацетамидом получены соответствующие *N*-(3-оксоалкенил)-хлорацетамиды, нагревание которых с избытком пиридина в *n*-бутаноле привело к 3-пиридинийзамещенным пиридин-2(1H)-онам. При расщеплении пиридиниевых солей гидразингидратом были получены новые 4-арил(гетарил)замещенные 3-аминопиридин-2(1H)-оны, показавшие высокую антирадикальную активность в отношении радикалов ABTS и DPPH.

Ключевые слова: 3-аминопиридин-2(1H)-оны, 1,3-дикетоны, *N*-(3-оксоалкенил)хлорацетамиды, антирадикальная активность, внутримолекулярная циклизация.

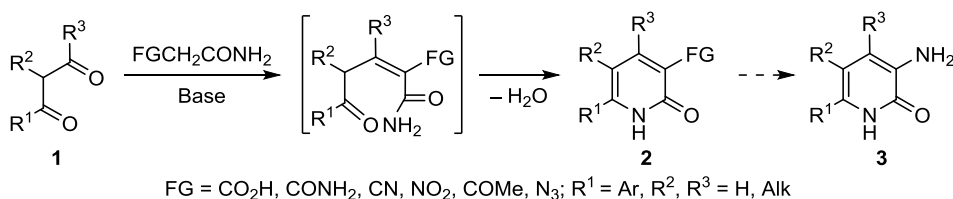
3-Аминопиридин-2(1H)-оны представляют большой интерес в качестве биологически активных соединений.^{1,2} Среди этого класса веществ уже найдены лекарственные препараты, использующиеся в клинической практике, например амринон.³ Производные 3-аминопиридин-2(1H)-онов обладают противовирусной активностью, в том числе против вируса СПИДа,^{4,5} являются ингибиторами тромбина.⁶ Наличие "встроенного" фрагмента аминокислоты делает их привлекательными строительными блоками для синтеза пептидомиметиков.^{7–9}

Для получения 3-аминопиридин-2(1H)-онов **3** часто используются 3-функционально замещенные пиридин-2(1H)-оны **2**,^{4,10–14} которые, в свою очередь, получают конденсацией 1,3-дикетонов **1** или енаминокетонов с амидами α -функционально замещенных уксусных кислот. Такая конденсация протекает как реакция Кневенагеля амида в качестве СН-кислотного компонента по более активной карбонильной группе несиммет-

ричного 1,3-дикетона с последующей гетероциклизацией образовавшегося интермедиата. В случае 1-алкил-3-арил-1,3-дикетонов реакция приводит к 4-алкил-6-арилзамещенным пиридин-2(1H)-онам^{15–17} (схема 1), из которых 4-арил-3-аминопиридин-2(1H)-оны получены быть не могут. По-видимому, по этой причине их синтезы представлены лишь единичными примерами.^{18–21}

В то же время существует другой подход к синтезу замещенных пиридин-2(1H)-онов, основанный на циклизации *N*-(3-оксоалкенил)амидов.^{22–25} Здесь первой стадией синтеза является взаимодействие 1,3-дикетонов **1a–c** с аммиаком, которое также протекает по более активной карбонильной группе (схема 2). Последующим ацилированием енаминокетонов **4a–c** хлорацетилхлоридом получают *N*-(3-оксоалкенил)хлорацетамиды **5a–c**, затем нуклеофильное замещение атома хлора на пиридин приводит к открытой форме пиридиниевых солей **6a–c**, внутримолекулярной

Схема 1



циклизацией Кневенагеля которых образуются пиридин-2(1*H*)-оны **7a–c**. Использование этих двух дополняющих друг друга подходов позволяет получать на основе 1,3-дикетонов **1** пиридин-2(1*H*)-оны с различным набором заместителей в положениях 4 и 6 цикла. Ранее такая возможность была показана нами на примере синтеза алкильных производных пиридин-2(1*H*)-она **8a,c**, а также 3-амино-4-фенилпиридин-2(1*H*)-она **8b**.²⁴

Исследования биологической активности 3-амино-4,6-диметилпиридин-2(1*H*)-она (**8a**) выявили его высокую антирадикальную активность.²⁶ Модификация соединения **8a** по 3-аминогруппе не привела к улучшению его антирадикальной активности,²⁶ следовательно, мы посчитали перспективным поиск новых антиоксидантов среди 3-аминопиридин-2(1*H*)-онов с различными заместителями в положениях 4–6. В этой работе с целью изучения возможной антирадикальной активности мы синтезировали ряд новых 3-амино-4-арил(гетарил)пиридин-2(1*H*)-онов **8d–h**.

Для синтеза *N*-(3-оксоалкенил)хлорацетамидов **5a,b** нами ранее был использован упрощенный одностадийный метод,²⁴ заключающийся в конденсации 1,3-дикетонов **1a,b** и α-хлорацетамида без промежуточной стадии получения енаминокетонов **4a,b**. Этот же метод мы решили применить для получения соединений **5d–h**. В качестве исходных соединений были использованы 1,3-дикетоны **1d–h**, полученные конденсацией арил(гетарил)метилкетонов²⁷ с этилацетатом.^{28–30} Нагревание 1,3-дикетонов **1d–h** с α-хлорацетамидом в бензоле

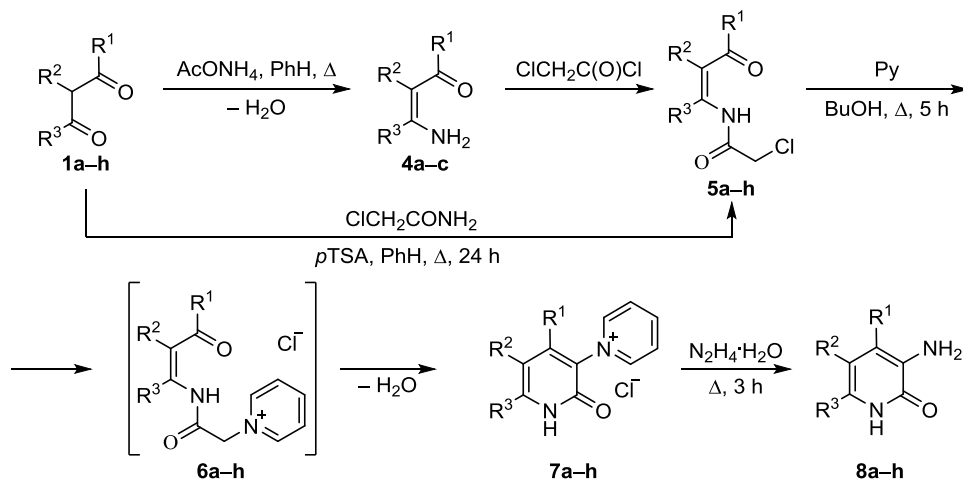
в течение 24 ч привело к образованию *N*-(3-оксоалкенил)хлорацетамидов **5d–h** с удовлетворительными выходами (схема 2). Нуклеофильное замещение атома галогена в соединениях **5d–h** и последующая циклизация промежуточных пиридиниевых солей **6d–h** протекали как однореакторный синтез с образованием 3-пиридинийзамещенных пиридин-2(1*H*)-онов **7d–h** с выходами 30–60%. 3-Аминопиридин-2(1*H*)-оны **8d–h** были получены с выходами 65–86% нагреванием соединений **7d–h** в растворе 80% гидразингидрата. Строение всех соединений однозначно подтверждено данными спектроскопии ИК, ЯМР ¹H, ¹³C и элементного анализа.

Антирадикальные (антиоксидантные) свойства антиоксидантов во многом обусловлены их способностью гасить активные радикалы, в связи с чем оценка данной способности является одним из широко распространенных методов их количественной характеристики. Оценка антирадикальной активности может проводиться по отношению к специфическим радикалам (ABTS^{•+} или DPPH), а также по неспецифическому восстановлению тех или иных субстратов.

С целью обнаружения новых антиоксидантов среди синтезированных ранее соединений **8a–c**²⁴ и новых 3-амино-4-арил(гетарил)пиридин-2(1*H*)-онов **8d–h** мы провели исследования их антирадикальной активности в отношении двух радикалов:

- 1) катион-радикала 2,2'-азинобис(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты) (ABTS^{•+}),³¹
- 2) радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (DPPH).³²

Схема 2



1, 4–8 a R¹ = R³ = Me, R² = H; **b** R¹ = Ph, R² = H, R³ = Me; **c** R¹ = Me, R² + R³ = (CH₂)₄;
d–h R² = H, R³ = Me; **d** R¹ = 4-MeOC₆H₄, **e** R¹ = 3,4-(MeO)₂C₆H₃, **f** R¹ = 4-PhC₆H₄,


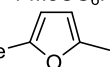
g R¹ = , **h** R¹ = 

Таблица 1. Значения TEAC соединений **8a–h**

Соединение	TEAC, мМ	Соединение	TEAC, мМ
8a	0.68±0.03 (<i>n</i> = 6) *	8e	0.88 ± 0.03 (<i>n</i> = 4)
8b	1.28±0.06 (<i>n</i> = 4)	8f	0.28±0.02 (<i>n</i> = 4)
8c	1.33±0.08 (<i>n</i> = 4)	8g	1.24 ± 0.06 (<i>n</i> = 4)
8d	1.20 ± 0.05 (<i>n</i> = 4)	8h	1.50 ± 0.15 (<i>n</i> = 3)

* *n* – Число повторов.

Метод изучения антирадикальной активности представленных соединений по отношению к радикалу ABTS^{•+} основан на том, что катион-радикал ABTS^{•+} – это стабильный радикал, который может существовать в водных растворах достаточно продолжительное время, однако внесение в раствор различных антирадикальных агентов приводит к их взаимодействию с радикалом ABTS^{•+} и быстрому расходованию (тушению) последнего. Расходование радикала ABTS^{•+} сопровождается характерными спектральными изменениями, позволяющими регистрировать интенсивность реакции. Возможность дозировать начальную концентрацию радикалов в системе и контролировать интенсивность их тушения обусловили широкое использование катион-радикала ABTS^{•+} для стандартизации антирадикальной активности различных соединений. В работе сравнивали динамику тушения (ингибирования) радикала ABTS^{•+} исследуемыми веществами и стандартом, в качестве которого использовали полусинтетический водорастворимый аналог витамина E, имеющий коммерческое название Тролокс. Использование Тролокса позволяет оценить эффективность антирадикального действия через так называемый тролоксовый эквивалент антиоксидантной эффективности – TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity). Значения TEAC соответствует концентрации Тролокса в ммоль/л (мМ), которое тушит радикал ABTS^{•+} с той же эффективностью, как и 1 мМ анализируемого соединения. Все исследуемые вещества тестировали в концентрации 0.1 мМ.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программы Statistica 6.0. Полученные результаты представлены в табл. 1 в виде "среднее значение ± стандартная ошибка среднего значения".³³ По табл. 1 видно, что соединение **8f** в условиях данного теста практически не обладает антирадикальной активностью в отношении катион-радикала ABTS^{•+}, соединения **8a** и **8e** проявляют умеренную активность, а у соединений **8b–d, g, h** она несколько превышает активность Тролокса.

Для оценки антирадикальной активности исследуемых образцов в тесте с радикалом DPPH использовали метанольный раствор DPPH (100 μМ), к которому добавляли 20 мкл раствора исследуемого вещества, растворенного в метаноле таким образом, чтобы конечные концентрации испытуемых веществ составляли от 5 до 50 μМ. В качестве препарата сравнения использовали вещество с известными антирадикальными свойствами – аскорбиновую кислоту.

Таблица 2. Значения IC₅₀(DPPH) соединений **8a–h**

Соединение	IC ₅₀ (DPPH), μМ	Соединение	IC ₅₀ (DPPH), μМ
8a	25.6	8f	–*
8b	30.4	8g	20.8
8c	15.1	8h	23.0
8d	13.1	Аскорбиновая кислота	19.4
8e	15.6		

* Значение IC₅₀(DPPH) определить не удалось.

Мерой антирадикальной активности тех же соединений в отношении радикала DPPH, служат найденные значения IC₅₀(DPPH) (табл. 2.) – концентрации испытуемого вещества, способные на 50% снизить оптическую плотность 100 μМ раствора радикала DPPH (концентрация полумаксимального ингибирования).

Активность соединения **8f** не достигает уровня, позволяющего вычислить показатель IC₅₀, так как оптическая плотность 100 μМ раствора радикала DPPH после 10-минутной инкубации с испытуемым веществом в финальной концентрации 50 μМ не отличается от оптической плотности контрольного раствора без испытуемого вещества.

Соединения **8c–e** в тесте с радикалом DPPH проявляют выраженную антирадикальную активность, их значения IC₅₀(DPPH) оказались даже ниже, чем у стандартного антиоксиданта – аскорбиновой кислоты.

Согласно литературным данным,³⁴ концентрация полумаксимального ингибирования радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила – IC₅₀(DPPH) – для ряда стандартных антиоксидантов варьирует от 8 (для кверцетина) до 49 μМ (для глутатиона), а значит исследуемые соединения, IC₅₀(DPPH) которых имеет значение от 13.1 до 30.4 μМ, обладают большим потенциалом в плане изучения их антиоксидантных свойств.

Таким образом, нами разработан простой и удобный способ получения ранее труднодоступных 3-амино-4-арил(гетарил)замещенных пиридин-2(1*H*)-онов из соответствующих арил(гетарил)замещенных 1,3-дикетонов. Показано, что антирадикальная активность некоторых 4-арил(гетарил)замещенных 3-аминопиридин-2(1*H*)-онов в отношении радикала DPPH и катион-радикала ABTS^{•+} не уступает антирадикальной активности таких известных антиоксидантов, как Тролокс и аскорбиновая кислота.

Экспериментальная часть

ИК спектры зарегистрированы на фурье-спектрометре ФТ-801 в таблетках с КВг. Спектры ЯМР ¹H и ¹³C записаны на приборе Jeol JNM-ECA 400 (400 и 100 МГц соответственно) в CDCl₃ (соединения **5d–h**, **8d–h**) и ДМСO-*d*₆ (соединения **7d–h**) относительно внутреннего стандарта ТМС. Сигналы атомов ¹³C отнесены с использованием метода АРТ (Attached Proton Test). Температуры плавления определены на столике Кофлера. Элементный анализ проведен на приборе Carlo Erba 1106 CHN. Контроль за ходом реакций и чистотой полученных соединений осуществлен методом ТСХ на пластинах Sorbfil.

N-[4-(4-Метоксифенил)-4-оксобут-2-ен-2-ил]-2-хлор-ацетамид (5d). Смесь 3.85 г (20 ммоль) diketона **1d**, 2.40 г (26 ммоль) α -хлорацетамида и 0.95 г (5 ммоль) моногидрата *para*-толуолсульфокислоты в 30 мл бензола кипятят в колбе с насадкой Дина–Старка в течение 24 ч. По завершении реакции реакционную смесь фильтруют для удаления избытка хлорацетамида, осадок промывают бензолом. Органические фракции объединяют, промывают водой до нейтральной среды и сушат над сульфатом натрия. Бензол отгоняют при пониженном давлении. Маслообразный продукт очищают перекристаллизацией из гексана (или его смеси с соответствующим растворителем). Выход 3.63 г (68%), белые кристаллы, т. пл. 48–50 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (*J*, Гц): 2.55 (3H, д, $^4J = 0.9$, CH_3); 3.86 (3H, с, OCH_3); 4.20 (2H, с, CH_2Cl); 6.11 (1H, уш. с, =CH); 7.04 (2H, д, $^3J = 8.7$, H-3,5 Ar); 7.96 (2H, д, $J = 8.7$, H-2,6 Ar); 13.20 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 22.2 (CH_3); 43.1 (CH_2); 55.1 (OCH_3); 103.0 (=CH); 113.8 (C-3,5 Ar); 127.5 (C-1 Ar); 128.9 (C-2,6 Ar); 149.0 (=C–N); 158.5 (C-4 Ar); 167.4 (NHCO); 189.6 (CO). Найдено, %: С 58.62; Н 5.02; N 5.49. $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{ClNO}_3$. Вычислено, %: С 58.33; Н 5.27; N 5.23.

Соединения **5e–h** получают аналогично.

N-[4-(3,4-Диметоксифенил)-4-оксобут-2-ен-2-ил]-2-хлорацетамид (5e). Выход 3.32 г (56%), белые кристаллы, т. пл. 115–117 °С (гексан). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (*J*, Гц): 2.53 (3H, д, $J = 0.9$, CH_3); 3.95 (3H, с, OCH_3); 3.96 (3H, с, OCH_3); 4.15 (2H, с, CH_2Cl); 6.15 (1H, уш. с, =CH); 6.89 (1H, д, $J = 9.2$, H-5 Ar); 7.55–7.57 (2H, м, H-2,6 Ar); 13.37 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 22.4 (CH_3); 43.2 (CH_2); 56.0 (2OCH_3); 103.2 (=CH–); 109.9 (C-2 Ar); 110.2 (C-5 Ar); 122.0 (C-6 Ar); 131.2 (C-1 Ar); 149.0 (=C–N); 153.0 (C-4 Ar); 154.6 (C-3 Ar); 166.2 (NHCO); 190.0 (CO). Найдено, %: С 56.71; Н 5.11; N 4.36. $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{ClNO}_4$. Вычислено, %: С 56.48; Н 5.42; N 4.70.

N-[4-(Бифенил-4-ил)-4-оксобут-2-ен-2-ил]-2-хлорацетамид (5f). Выход 2.94 г (47%), белые кристаллы, т. пл. 152–155 °С (гексан– CHCl_3 , 1:1). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (*J*, Гц): 2.21 (3H, с, CH_3); 4.15 (2H, с, CH_2Cl); 6.21 (1H, уш. с, =CH); 7.46 (3H, т, $J = 7.3$, H-3,4,5 Ph); 7.62 (2H, д, $J = 7.4$, H-2,6 Ph); 7.67 (2H, д, $J = 8.7$, H-3,5 Ar); 7.95 (2H, д, $J = 8.2$, H-2,6 Ar); 12.95 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 25.5 (CH_3); 43.1 (CH_2); 96.9 (=CH); 127.4 (C-2,6 Ar); 127.8 (C-4 Ph); 128.1 (C-3,5 Ar); 129.0 (C-2,6 Ph); 129.8 (C-3,5 Ph); 132.7 (C-1 Ar); 138.4 (C-4 Ar); 140.5 (C-1 Ph); 149.2 (=C–N); 168.2 (NHCO); 191.0 (CO). Найдено, %: С 69.11; Н 4.95; N 4.21. $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{ClNO}_2$. Вычислено, %: С 68.90; Н 5.14; N 4.46.

N-[4-Оксо-4-(2-тиенил)бут-2-ен-2-ил]-2-хлорацетамид (5g). Выход 3.65 г (75%), белые кристаллы, т. пл. 81–83 °С (гексан). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 2.52 (3H, д, $^4J = 0.9$, = CCH_3); 4.14 (2H, с, CH_2Cl); 6.02 (1H, уш. с, =CH); 7.14 (1H, д, д, $^3J = 5.0$, $^3J = 3.7$, H-4 тиофен); 7.64 (1H, д, д, $^3J = 5.0$, $^4J = 0.9$, H-3 тиофен); 7.73 (1H, д, д, $^3J = 3.7$, $^4J = 0.9$, H-5 тиофен); 13.10 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 22.3 (CH_3); 43.2 (CH_2); 103.6 (=CH); 128.3 (C-4 тиофен); 130.9 (C-3 тиофен); 133.7 (C-5 тиофен); 145.1 (C-2 тиофен); 155.1 (=C–N); 166.1

(NHCO); 183.8 (CO). Найдено, %: С 49.53; Н 3.88; N 5.31. $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{ClNO}_2\text{S}$. Вычислено, %: С 49.28; Н 4.14; N 5.75.

N-[4-(5-Метил-2-фурил)-4-оксобут-2-ен-2-ил]-2-хлорацетамид (5h). Выход 3.24 г (67%), белые кристаллы, т. пл. 73–75 °С (гексан). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 2.37 (3H, с, CH_3 фуран); 2.47 (3H, д, $^4J = 0.9$, = CCH_3); 4.09 (2H, с, CH_2Cl); 5.96 (1H, уш. с, =CH); 6.15 (1H, д, $^3J = 3.2$, H-4 фуран); 7.11 (1H, д, $^3J = 3.2$, H-3 фуран); 13.05 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 14.0 (CH_3 фуран); 22.1 (CH_3); 43.1 (CH_2); 103.2 (=CH); 109.4 (C-4 фуран); 118.6 (C-3 фуран); 151.7 (=C–N); 154.7 (C-2 фуран); 157.9 (C-5 фуран); 166.1 (NHCO); 179.0 (CO). Найдено, %: С 54.78; Н 5.22; N 5.44. $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{ClNO}_3$. Вычислено, %: С 54.67; Н 5.01; N 5.80.

Хлорид 1-[4-(4-метоксифенил)-6-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил]пиридиния 7d. К раствору 2.67 г (10 ммоль) хлорацетамида **5d** в 20 мл абсолютного *n*-бутанола добавляют 2.4 мл (30 ммоль) пиридина. Реакционную смесь кипятят в колбе с обратным холодильником в течение 5 ч. Раствор разбавляют гексаном и охлаждают, выпавшую соль отфильтровывают, промывают несколько раз на фильтре холодной смесью 2-пропанол–гексан, 1:1, и сушат. Выход 1.08 г (33%), серо-бежевые кристаллы, т. пл. >300 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 2.35 (3H, с, 6- CH_3); 3.82 (3H, с, OCH_3); 6.37 (1H, с, H-5); 7.09 (2H, д, $J = 8.6$, H-3,5 Ar); 7.52 (2 H, д, $J = 8.6$, H-2,6 Ar); 8.20–8.22 (2H, м, H-3,5 Py^+); 8.74 (1H, т, $^3J = 7.7$, H-4 Py^+); 9.04 (2H, д, $^3J = 5.4$, H-2,6 Py^+); 12.98 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 18.8 (CH_3); 55.5 (OCH_3); 108.6 (C-5); 114.8 (C-3,5 Ar); 128.4 (C-3,5 Py^+); 128.6 (C-1 Ar); 129.1 (C-2,6 Ar); 129.8 (C-3); 130.2 (C-4); 134.2 (C-6); 148.1 (C-4 Py^+); 148.4 (C-2,6 Py^+); 157.1 (C-4 Ar); 158.8 (C-2). Найдено, %: С 66.22; Н 5.09; N 8.26. $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{ClN}_2\text{O}_2$. Вычислено, %: С 65.75; Н 5.21; N 8.52.

Соединения **7e–h** получают аналогично.

Хлорид 1-[4-(3,4-диметоксифенил)-6-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил]пиридиния (7e). Выход 1.82 г (51%), бежевые кристаллы, т. пл. >300 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 2.38 (3H, с, 6- CH_3); 3.54 (3H, с, OCH_3); 3.70 (3H, с, OCH_3); 6.46 (1H, с, H-5); 6.69–6.72 (2H, м, H-2,5 Ar); 6.90 (1H, д, $^3J = 8.3$, H-6 Ar); 8.20 (2H, д, д, $^3J = 7.8$, $^3J = 5.5$, H-3,5 Py^+); 8.70 (1H, т, $^3J = 7.8$, H-4 Py^+); 9.05 (2H, д, $^3J = 5.6$, H-2,6 Py^+); 12.94 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 18.8 (CH_3); 55.5 (2OCH_3); 106.5 (C-5); 111.1 (C-5 Ar); 111.8 (C-2 Ar); 120.7 (C-6 Ar); 125.7 (C-1,4 Ar); 126.6 (C-3); 128.0 (C-3,5 Py^+); 147.4 (C-4 Py^+); 147.7 (C-2,6 Py^+); 148.6 (C-4 Ar); 149.0 (C-3 Ar); 149.7 (C-6); 157.9 (C-2). Найдено, %: С 63.91; Н 5.33; N 8.25. $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{ClN}_2\text{O}_3$. Вычислено, %: С 63.60; Н 5.34; N 7.81.

Хлорид 1-[4-(бифенил-4-ил)-6-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил]пиридиния (7f). Выход 2.31 г (62%), бежевые кристаллы, т. пл. >300 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 2.19 (3H, с, 6- CH_3); 6.60 (1H, с, H-5); 7.37–7.51 (3H, м, H-3,4,5 Ph); 7.74 (2H, д, $^3J = 7.3$, H-2,6 Ph); 7.81 (2H, д, $^3J = 8.3$, H-2,6 Ar); 8.03 (2H, д, $^3J = 8.3$, H-3,5 Ar); 8.20 (2H, м, H-3,5 Py^+); 8.69 (1H, т, $^3J = 7.9$, H-4 Py^+); 9.07 (2H, д, $^3J = 5.5$, H-2,6 Py^+); 12.86 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 18.8 (CH_3); 106.2 (C-5); 126.6 (C-3); 126.8 (C-2,6 Ar); 127.0 (C-3,5 Ar); 127.6 (C-2,6 Ph);

128.0 (C-4 Ph); 128.3 (C-3,5 Py⁺); 129.0 (C-3,5 Ph), 129.1 (C-1 Ar); 132.6 (C-4); 135.1 (C-6); 138.8 (C-4 Ar); 141.0 (C-1' Ph); 144.9 (C-4 Py⁺); 147.5 (C-2,6 Py⁺); 157.9 (C-2). Найдено, %: C 74.19; H 4.85; N 7.75. C₂₃H₁₉ClN₂O. Вычислено, %: C 73.69; H 5.11; N 7.47.

Хлорид 1-[6-метил-2-оксо-4-(2-тиенил)-1,2-дигидропиридин-3-ил]пиридиния (7g). Выход 1.30 г (43%), белые кристаллы, т. пл. 298–300 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д.: 2.39 (3H, с, 6-CH₃); 6.71 (1H, с, H-5); 7.11 (1H, д, д, ³J = 5.0, ³J = 3.7, H-4 тиофен); 7.24 (1H, д, д, ³J = 3.7, ⁴J = 1.4, H-5 тиофен); 7.79 (1H, д, д, ³J = 5.0, ⁴J = 1.4, H-3 тиофен); 8.35–8.39 (2H, д, д, ³J = 7.8, ³J = 6.5, H-3,5 Py⁺); 8.87 (1H, т, ³J = 7.8, H-4 Py⁺); 9.20 (2H, д, ³J = 6.4, H-2,6 Py⁺); 12.90 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 18.7 (CH₃); 104.4 (C-5); 125.1 (C-3); 128.4 (C-3 тиофен); 129.0 (C-3,5 Py⁺); 130.7 (C-4 тиофен); 131.7 (C-5 тиофен); 133.8 (C-2 тиофен); 140.8 (C-4); 148.1 (C-2,6 Py⁺); 148.3 (C-4 Py⁺); 149.0 (C-6); 158.2 (C-2). Найдено, %: C 59.49; H 4.58; N 8.85. C₁₅H₁₃ClN₂OS. Вычислено, %: C 59.11; H 4.30; N 9.19.

Хлорид 1-[6-метил-4-(5-метил-2-фурил)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил]пиридиния (7h). Выход 1.63 г (54%), белые кристаллы, т. пл. >300 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д.: 1.93 (3H, с, 5-CH₃ фуран); 2.34 (3H, с, 6-CH₃); 6.28 (1H, д, ³J = 3.7, H-4 фуран); 6.74 (1H, с, H-5); 7.04 (1H, д, ³J = 3.7, H-3 фуран); 8.33–8.36 (2H, м, H-3,5 Py⁺); 8.87 (1H, т, ³J = 7.8, H-4 Py⁺); 9.17 (2H, д, ³J = 5.5, H-2,6 Py⁺); 12.75 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 12.9 (CH₃ фуран); 18.7 (CH₃); 100.6 (C-5); 109.4 (C-4 фуран); 117.6 (C-3 фуран); 121.9 (C-3); 128.3 (C-3,5 Py⁺); 135.3 (C-4); 144.8 (C-6); 147.6 (C-4 Py⁺); 147.8 (C-2,6 Py⁺); 148.4 (C-2 фуран); 156.4 (C-5 фуран); 158.5 (C-2). Найдено, %: C 63.82; H 4.86; N 8.88. C₁₆H₁₅ClN₂O₂. Вычислено, %: C 63.48; H 4.99; N 9.25.

3-Амино-4-(4-метоксифенил)-6-метилпиридин-2(1H)-он (8d). В 4.0 мл (50 ммоль) 80% гидразингидрата растворяют 2.93 г (10 ммоль) пиридиниевой соли **7d**. Смесь кипятят в колбе с обратным холодильником в течение 3 ч, охлаждают и разбавляют 5 мл воды. Выпавший осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из водного этанола или 2-пропанола. Выход 1.97 г (86%), бежевые кристаллы, т. пл. 218–219 °С (2-пропанол). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д.: 2.30 (3H, с, 6-CH₃); 3.86 (3H, с, OCH₃); 4.16 (2H, уш. с, NH₂); 5.96 (1H, с, H-5); 6.99 (2H, д, J = 8.7, H-3',5' Ar); 7.44 (2 H, д, J = 8.7, H-2',6' Ar); 12.33 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 18.4 (CH₃); 55.3 (OCH₃); 108.1 (C-5); 114.3 (C-3,5 Ar); 127.8 (C-1 Ar); 129.3 (C-2,6 Ar); 130.1 (C-3,4); 130.8 (C-6); 159.1 (C-4 Ar); 159.7 (C-2). Найдено, %: C 68.08; H 6.47; N 12.56. C₁₃H₁₄N₂O₂. Вычислено, %: C 67.81; H 6.13; N 12.17.

Соединения **8e–h** получают аналогично.

3-Амино-4-(3,4-диметоксифенил)-6-метилпиридин-2(1H)-он (8e). Выход 1.69 г (65%), бежевые кристаллы, т. пл. 210–212 °С (EtOH–H₂O, 1:1). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д.: 2.32 (3H, с, 6-CH₃); 3.91 (3H, с, OCH₃); 3.93 (3H, с, OCH₃); 4.21 (2H, уш. с, NH₂); 5.97 (1H, с, H-5); 6.96 (1H, д, J = 8.2, H-5' Ar); 7.04 (1H, с, H-2' Ar); 7.07 (1H, д, J = 8.2, H-6' Ar); 12.62 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 18.3 (CH₃); 55.9 (2OCH₃); 108.1 (C-5); 111.1 (C-2 Ar); 111.3 (C-5' Ar); 120.5 (C-6 Ar); 128.1 (C-1 Ar);

130.4 (C-3); 130.8 (C-4); 131.2 (C-6); 148.5 (C-4 Ar); 149.1 (C-3 Ar); 159.8 (C-2). Найдено, %: C 64.86; H 5.76; N 10.30. C₁₄H₁₆N₂O₃. Вычислено, %: C 64.60; H 6.20; N 10.76.

3-Амино-4-(бифенил-4-ил)-6-метилпиридин-2(1H)-он (8f). Выход 2.09 г (76%), бежевые кристаллы, т. пл. 254–255 °С (этанол). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д.: 2.32 (3H, с, 6-CH₃); 4.27 (2H, уш. с, NH₂); 6.01 (1H, с, H-5); 7.36–7.49 (3H, м, H-3,4,5 Ph); 7.58 (2H, д, J = 8.3, H-2,6 Ar); 7.63–7.65 (2H, м, H-2,6 Ph); 7.69 (2H, д, J = 8.3, H-3,5 Ar); 11.69 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 18.5 (CH₃); 108.0 (C-5); 125.9 (C-3); 127.0 (C-2,6 Ar); 127.6 (C-3,5 Ar); 128.5 (C-2,6 Ph); 128.9 (C-3,5 Ph); 129.4 (C-4 Ph); 130.7 (C-1 Ar); 131.2 (C-4); 136.8 (C-6); 140.5 (C-4' Ar); 140.7 (C-1' Ph); 159.5 (C-2). Найдено, %: C 78.47; H 5.54; N 10.33. C₁₈H₁₆N₂O. Вычислено, %: C 78.24; H 5.84; N 10.14.

3-Амино-6-метил-4-(2-тиенил)пиридин-2(1H)-он (8g). Выход 1.50 г (73%), бежевые кристаллы, т. пл. 180–181 °С (2-PrOH). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д.: 2.31 (3H, с, 6-CH₃); 4.52 (2H, уш. с, 3-NH₂); 6.13 (1H, с, H-5); 7.15 (1H, д, д, ³J = 4.9, ³J = 3.8, H-4 тиофен); 7.38 (1H, д, ³J = 3.8, H-5 тиофен); 7.40 (1H, д, ³J = 4.9, H-3 тиофен); 12.47 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 18.3 (CH₃); 107.10 (C-5); 120.7 (C-4); 125.7 (C-3 тиофен); 126.2 (C-4 тиофен); 127.7 (C-5 тиофен); 130.9 (C-3); 131.1 (C-2 тиофен); 139.8 (C-6); 160.0 (C-2). Найдено, %: C 58.52; H 5.02; N 13.24. C₁₀H₁₀N₂OS. Вычислено, %: C 58.23; H 4.89; N 13.58.

3-Амино-6-метил-4-(5-метил-2-фурил)пиридин-2(1H)-он (8h). Выход 1.67 г (82%), светло-желтые кристаллы, т. пл. 194–196 °С (2-PrOH). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д.: 2.29 (3H, с, 6-CH₃); 2.39 (3H, с, 5-CH₃ фуран); 4.88 (2H, уш. с, 3-NH₂); 6.13 (1H, д, ³J = 3.3, H-4 фуран); 6.20 (1H, с, H-5); 6.57 (1H, д, ³J = 3.3, H-3 фуран); 12.53 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 13.8 (CH₃ фуран); 18.4 (6-CH₃); 103.0 (C-5); 107.8 (C-4 фуран); 109.6 (C-3 фуран); 116.0 (C-6); 128.9 (C-3); 130.7 (C-6); 150.2 (C-2 фуран); 152.2 (C-5 фуран); 160.3 (C-2). Найдено, %: C 64.88; H 5.56; N 13.46. C₁₁H₁₂N₂O₂. Вычислено, %: C 64.69; H 5.92; N 13.72.

Определение антиоксидантной активности. Антирадикальное действие представленных образцов исследуют в отношении катион-радикала ABTS^{•+}, используя набор Antioxidant Assay Kit (Sigma) в соответствии с инструкцией производителя. Принцип метода заключается в образовании радикала феррилмиоглобина из метмиоглобина и перекиси водорода, который окисляет ABTS с образованием катион-радикала ABTS^{•+} – растворимого хромогена, окрашенного в зеленый цвет. Его содержание определяют спектрофотометрически при длине волны 405 нм на автоматическом микропланшетном ридере Elx800 (Bio Tek Instruments, Inc.). Внесение в раствор различных антирадикальных агентов приводит к их взаимодействию с радикалом ABTS^{•+} и быстрому расходованию (тушению) последнего концентрационно-зависимым образом, и интенсивность окраски (соответственно, оптическая плотность) пропорционально снижается. Численные значения концентрации исследуемых образцов выражают по эквиваленту концентрации Тролокса (TEAC) в ммоль/л, используя калибровочную кривую.³¹

Ход работы: готовят рабочий раствор субстрата ABTS посредством добавления 25 мкл 3% перекиси

водорода к 10 мл раствора субстрата ABTS. Вносят в лунки 96-луночного планшета по 10 мкл калибровочных растворов и по 10 мкл 0.1 мМ растворов тестируемых соединений. Тестируемые концентрации Тролокса составляют 0; 0.015; 0.045; 0.105; 0.210 и 0.420 ммоль/л. В каждую лунку вносят по 20 мкл рабочего раствора миоглобина. Добавляют 150 мкл рабочего раствора субстрата ABTS в каждую лунку. Инкубируют точно 5 мин при комнатной температуре, после чего вносят по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку. Фотометрируют при 405 нм и строят калибровочную кривую по Тролоксу. Вычисляют значения ТЕАС для исследуемых объектов в программе Excel, используя калибровочную кривую.³¹

Для оценки антирадикальной активности исследуемых образцов в тесте с радикалом DPPH используют метанольный раствор DPPH (100 мМ).³² Для отбора соединений с выраженной антирадикальной активностью смешивают 2 мл 100 мМ метанольного раствора DPPH с 20 мкл раствора исследуемого соединения, растворенного в метаноле в концентрации 5 мМ. Таким образом, финальная концентрация исследуемого соединения в реакционной смеси составляет 50 мМ. Через 10 мин после добавления раствора исследуемого соединения к раствору радикала DPPH измеряют снижение оптической плотности при 515 нм. Для соединений, способных снижать оптическую плотность более чем на 50%, проводят тест на взаимодействие с радикалом DPPH в финальных концентрациях исследуемых веществ 50, 25, 20, 15, 10 и 5 мМ. После чего определяют IC₅₀(DPPH) – концентрацию исследуемого соединения, способную на 50% снижать оптическую плотность. В качестве препарата сравнения используют аскорбиновую кислоту.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российской Федерации (проект 15-53-45084 ИНД_а).

Список литературы

- Kusakabe, K.; Tada, Y.; Iso, Y.; Sakagami, M.; Morioka, Y.; Chomei, N.; Shinonome, S.; Kawamoto, K.; Takenaka, H.; Yasui, K.; Hamana, H.; Hanasaki, K. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21, 2045.
- Zhang, Y.-M.; Fan, X.; Chakaravarty, D.; Xiang, B.; Scannevin, R. H.; Huang, Z.; Ma, J.; Burke, S. L.; Karnachi, P.; Rhodesa, K. J.; Jackson, P. F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 409.
- Ward, A.; Brogden, R. N.; Heel, R. C.; Speight, T. M.; Avery, G. S. *Drugs* **1983**, 26, 468.
- Hoffman, J. M.; Wai, J. S.; Thomas, C. M.; Levin, R. B.; O'Brien, J. A.; Goldman, M. E. *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 3784.
- Saari, W. S.; Wai, J. S.; Fisher, T. E.; Thomas, C. M.; Hoffman, J. M.; Rooney, C. S.; Smith, A. M.; Jones, J. H.; Bamberger, D. L. *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 3792.
- Sanderson, P. E. J.; Cutrona, K. J.; Savage, K. L.; Naylor-Olsen, A. M.; Bickel, D. J.; Bohn, D. L.; Clayton, F. C.; Krueger, J. A.; Lewis, S. D.; Lucas, B. J.; Lyle, E. A.; Wallace, A. A.; Welsh, D. C.; Yan, Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 1441.
- Dragovich, P. S.; Prins, T. J.; Zhou, R.; Brown, E. L.; Maldonado, F. C.; Fuhrman, S. A.; Zalman, L. S.; Tuntland, T.; Lee, C. A.; Patick, A. K.; Matthews, D. A.; Hendrickson, T. F.; Kosa, M. B.; Liu, B.; Batugo, M. R.; Gleeson, J.-P. R.; Sakata, S. K.; Chen, L.; Guzman, M. C.; Meador, J. W.; Ferre, R. A.; Worland, S. T. *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 1607.
- Verissimo, E.; Berry, N.; Gibbons, P.; Lurdes, M.; Cristiano, S.; Rosenthal, P. J.; Gut, J.; Ward, S. A.; O'Neill, P. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 4210.
- Zhu, S.; Hudson, T. H.; Kyle, D. E.; Lin, A. J. *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 3491.
- Li, Y. H.; Tseng, P.-S.; Evans, K. A.; Jaworski, J.-P.; Morrow, D. M.; Fries, H. E.; Wu, C. W.; Edwards, R. M.; Jin, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, 20, 6744.
- Zhang, X.; Schmitt, A. C.; Decicco, C. P. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 9663.
- Seger, H.; Geyer, A. *Synthesis* **2006**, 19, 3224.
- Singh, B.; Leshner, G. Y. *J. Heterocycl. Chem.* **1990**, 27, 2085.
- Damewood, J. R.; Edwards, P. D.; Feeney, S.; Gomes, B. C.; Steelman, G. B.; Tuthill, P. A.; Williams, J. C.; Warner, P.; Woolson, S. A.; Wolanin, D. J.; Veale, C. A. *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 3303.
- Elzanate, A. M. *Heterocycl. Commun.* **2002**, 8, 145.
- Elgemeie, G. E. H.; Hussain, B. A. W.; Elgemeie, G. H.; El-Ezbawy, S. R.; Ramiz, M. M.; Mansour, O. A. *Org. Prep. Proc. Int.* **1991**, 23, 645.
- Elgemeie, G. E. H.; El-Ezbawy, S. R.; Ali, H. A.; Mansour, A.-K. *Org. Prep. Proc. Int.* **1994**, 26, 465.
- Biediger, R. J.; Chen, Q.; Decker, E. R.; Holland, G. W.; Kassir, J. M.; Li, W.; Market, R. V.; Scott, I. L.; Wu, C.; Li, J. US Patent 2004063955.
- Muraoka, M.; Morishita, K.; Aida, N.; Tanaka, M.; Yuri, M.; Ohashi, N. US Patent 6300500.
- Dominguez, C.; Harvey, T. S.; Liu, L.; Siegmund, A. US Patent 2005020592.
- Hanfeld, V.; Leistner, S.; Wagner, G.; Lohmann, D.; Poppe, H.; Heer, S. *Pharmazie* **1988**, 43, 677.
- Fisyuk, A. S.; Bogza, Y. P.; Poendaev, N. V.; Goncharov, D. S. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2010**, 46, 844. [Химия гетероцикл. соединений **2010**, 1044.]
- Goncharov, D. S.; Kostuchenko, A. S.; Fisyuk, A. S. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2009**, 45, 793. [Химия гетероцикл. соединений **2009**, 1005.]
- Fisyuk, A. S.; Kulakov, I. V.; Goncharov, D. S.; Nikitina, O. S.; Bogza, Y. P.; Shatsauskas, A. L. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2014**, 50, 217. [Химия гетероцикл. соединений **2014**, 241.]
- Goncharov, D. S.; Garkushenko, A. K.; Savelieva, A. P.; Fisyuk, A. S. *ARKIVOC* **2015**, (v), 176.
- Kulakov, I. V.; Nikitina, O. S.; Fisyuk, A. S.; Goncharov, D. S.; Shul'gau, Z. T.; Gulyaev, A. E. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2014**, 50, 670. [Химия гетероцикл. соединений **2014**, 729.]
- Практикум по органической химии*; Теренин, В. И., Ред.; БИНОМ. Лаборатория знаний: Москва, 2010, 323 с.
- Sneed, J. K.; Levine, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, 72, 5219.
- Davis, B. R.; Hinds, M.G.; Ting, P. P. *Austr. J. Chem.* **1992**, 45, 865.
- Berti, F.; Bincoletto, S.; Donati, I.; Fontanive, G.; Fregonese, M.; Benedetti, F. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, 9, 1987.
- Miller, N. J.; Rice-Evans, C.; Davies, M. J.; Gopinathan, V.; Milner, A. *Clin. Sci.* **1993**, 84, 407.
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. *Lebensm.-Wiss. Technol.* **1995**, 28, 25.
- Биометрия*; Лакин, Г. Ф., Ред.; Высшая школа: Москва, 1980, 293 с.
- Plattner, S.; Erb, R.; Chervet, J.-P.; Oberacher, H. *Anal. Bioanal. Chem.* **2014**, 406(1), 213.
- Kamal, Z.; Ullah, F.; Ayaz, M.; Sadiq, A.; Ahmad, S.; Zeb, A.; Hussain, A.; Imran, M. *Biol. Res.* **2015**, 48, 21. DOI: 10.1186/s40659-015-0011-1.