

SINTESIS Y EVALUACIÓN ANTIMICÓTICA DE 4'-ACILPIRIDINAS

SYNTHESIS AND EVALUATION OF THE ANTIFUNGAL ACTIVITY OF 4' ACYLPIRIDINES

Jairo SÁEZ V.^{1*}, Orlando ARANGO A.¹, Juan D. RODRÍGUEZ ¹

RESUMEN

Se sintetizan cuatro derivados 4'- acilpiridínicos y se evalúa su actividad antimicótica. Se prepara el cloruro de 4'-isonicotinoilo y se hace reaccionar con los bromuros de alquilmagnesio 3, 5, 7 y 9, generando los derivados 4'-piridil-1-pentanona 4, 4'-piridil-3-buten-1-ona 6, 4'-piridil-1-nonanona 8 y 4'-piridil-1-tridecanona 10 respectivamente. Las estructuras se determinan por medio de técnicas espectroscópicas. Los compuestos 4, 6, 8 y 10, presentaron un porcentaje de inhibición de 10.7, 36.7, 16.0 y 22 respectivamente a una concentración de 120 mg/mL en cepas de *Aspergillus niger* por el método de difusión en agar.

Palabras clave: *Ácido isonicotínico, acilpiridinas, Grignard, antimicóticos.*

ABSTRACT

Four substituted 4'-acylpyridines are synthesized and their antifungal activity is evaluated. The 4-isonicotinoilchloride 2 is prepared and then it is allowed to react with alkylmagnesium bromides 3, 5, 7 and 9 giving the corresponding 4'-pyridil-1-pentanone 4, 4'-pyridil-3-buten-1-one 6, 4'-pyridil-1-nonanone 8 and 4'-pyridil-1-tridecanone 10 derivatives respectively. The structures are determined by spectroscopic techniques. Compounds 4, 6, 8 and 10, show a percentage of inhibition of 10.7, 36.7, 16.0 and 22 respectively, for a concentration of 120 μ g/mL in *Aspergillus niger* stumps, by diffusion in agar technique.

Key words: *Isonicotinic acid, acylpyridines, Grignard, antifungal.*

¹ Instituto de Química, Grupo de Química de Plantas Colombianas, Universidad de Antioquia, A. A. 1226 Medellín, Colombia

* Autor quien se debe dirigir la correspondencia: jaisav@matematicas.udea.edu.co

INTRODUCCIÓN

Los derivados piridínicos al lado de las piperidinas desempeñan un papel importante en la industria farmacéutica y de alimentos. Un gran número de compuestos de tipo aril- y alquilpiridinas derivados del ácido nicotínico e isonicotínico con actividades biológicas interesantes, se encuentran presentes tanto en la naturaleza como a nivel sintético (1, 2, 3), así por ejemplo en hojas del *Gingko biloba*, una droga vegetal, se reporta la gingotoxina, una 4'-O-metilpiridoxina con actividad neurotóxica (4). También se han sintetizado drogas que en la industria farmacéutica se utilizan como agentes vasodilatadores, antiarterioscleróticos, antimicobacteriales y antiamnésicos (5). Los derivados del ácido isonicotínico que se sintetizan actualmente son importantes agentes antituberculosos y antimicobacteriales como el isoniazid (Rimifon[®], Panazid[®])(6). En el tratamiento de la malaria, las drogas de actualidad como la cloroquina, son análogas de la quinina y reportes recientes atribuyen al isoniazid una buena actividad antimalárica (7). Uno de los propósitos de este trabajo consiste en preparar análogos piridínicos a partir del ácido isonicotínico con diferentes intermediarios organometálicos tipo Grignard (8) y luego evaluar su actividad como antimicóticos. Los compuestos sintetizados no se encuentran todos reportados en la literatura. El interés de sintetizar estos compuestos se basó inicialmente en su posible uso como antimaláricos, sin embargo no presentaron actividad en cepas de *Plasmodium falciparum*.

PARTE EXPERIMENTAL

Condiciones experimentales

Los espectros infrarrojo se determinan en un equipo Perkin-Elmer RXI (FT-IR). Los espectros de ¹H NMR (300 MHz) y ¹³C NMR (75 MHz) (CDCl₃) fueron realizados en un espectrómetro Bruker AMX 300, utilizando

TMS como estándar interno. Silica gel 60 (Merck 0.063-0.200 mallas) se utilizó en los procesos de fraccionamiento por cromatografía de columna.

1. Procedimiento general A:

1.1 Obtención del 4'-(cloruro de isonicotinoilo) 2

4.35 g (0.035 equiv.) de ácido isonicotínico en 10 ml (0.138 equiv.) de SOCl₂ se someten a reflujo durante dos horas. La solución se evapora a presión reducida obteniéndose 4.9 g del derivado halogenado 2 (rendimiento 97.9%).

2. Procedimiento General B: Obtención de bromuros de alquil magnesio

Bromuro de butilmagnesio 3

En un balón de 100 ml seco y provisto de un agitador magnético y una entrada de nitrógeno se introducen 2.5 g (0.206 equiv) de Mg, el cuál se calienta con un secador a 200 °C durante 15 minutos, al cabo de los cuales se deja reposar a temperatura ambiente y se adiciona una mínima cantidad de tetrahidrofurano (3 ml) y 0.2 ml de bromobutano puro para iniciar la reacción. Cuando la mezcla toma una coloración grisácea, se adicionan porciones de 50 ml (0.05 equiv) de una solución 1M de bromobutano en tetrahidrofurano con agitación y a temperatura ambiente y luego se deja en agitación durante 12 horas.

Bromuro de 2-propenilmagnesio 5

Se prepara de igual manera que el intermedio 3, a partir de 2.5 g (0.206 equiv.) de Mg y 50 mL de bromuro de alilo 1M en solución de tetrahidrofurano.

Bromuro de octilmagnesio 7

Se prepara de igual manera que el intermedio 3, a partir de 2.5 g (0.206 equiv.) de Mg y 50 mL de bromooctano 1M en solución de tetrahidrofurano.

Bromuro de dodecilmagnesio 9

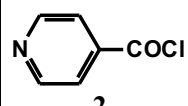
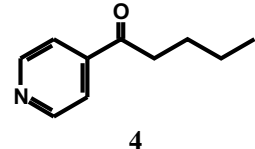
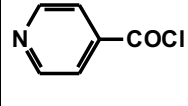
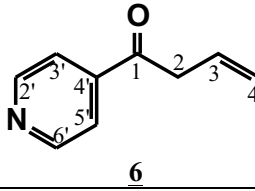
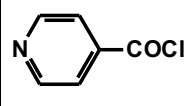
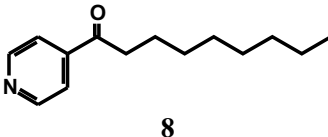
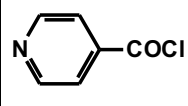
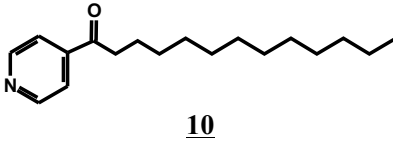
Se prepara de igual manera que el intermedio 3, a partir de 2.5 g (0.206 equiv.) de Mg y 50 mL de bromododecano 1M en solución de tetrahidrofurano.

3. Procedimiento general C: Obtención de 4'-piridilcetonas*4'-Piridil-1-pentanona 4*

En un balón de 500 ml provisto de un agitador magnético y una entrada de nitrógeno, 4.94 g (0.035 equiv) de cloruro de piridilisonicotinoilo 2 disueltos en tetrahidrofurano son enfriados a 0°C en un baño de hielo-sal. La solución recién preparada de bromuro de butilmagnesio 3 se

adiciona al balón en pequeñas porciones durante 2 horas. El medio reaccionante se deja con agitación a temperatura ambiente toda la noche y la reacción se detiene por la adición de 10 ml de metanol a 0°C y 40 ml de una solución saturada de NH₄Cl. Luego de dos horas de agitación la mezcla se extrae con CH₂Cl₂ (3x100 ml), la fase orgánica se lava con una solución saturada de NaCl, se seca con Na₂SO₄ anhidro y se evapora a presión reducida. La posterior purificación del producto final por cromatografía en columna deja un residuo de 3 g (rendimiento 52.6%) de la cetona 4 (Véase tabla 1). Espectro de masas. m/z 78, 85, 106. FM: C₁₀H₁₃NO. Espectro IR(filme): 3445, 1955, 1715, 1569, 1408, 1284, 1129 cm⁻¹. Para los datos y asignaciones de las señales de RMN ver tablas 2 y 3.

Tabla 1. 4'-acilpiridinas sintetizadas, porcentajes de rendimiento y actividad antimicótica contra *Aspergillus niger*.

SUSTRATO	RMgX	PRODUCTO	Rdto %	% de Inhibición
 <u>2</u>	C ₄ H ₉ MgBr <u>3</u>	 <u>4</u>	52.6	10.7
 <u>2</u>	C ₃ H ₅ MgBr <u>5</u>	 <u>6</u>	55.5	36.7
 <u>2</u>	C ₈ H ₁₇ MgBr <u>7</u>	 <u>8</u>	40	16.0
 <u>2</u>	C ₁₂ H ₂₅ MgBr <u>9</u>	 <u>10</u>	70.6	22.0

4'-Piridil-3-buten-1-ona 6

Se prepara de igual manera que la cetona 4, a partir de 4.02 g (0.028 equiv.) del compuesto 2 y un exceso del Grignard 5 obteniéndose 2.32 g (rendimiento 55.5%) de la cetona 6 (Véase tabla 1); MS m/z 69, 78, 106. FM: C₉H₉NO. Para los datos y asignaciones de las señales de RMN ver tablas 2 y 3.

4'-Piridil-1-nonanona 8

Se prepara de igual manera que la cetona 4, a partir de 4.94 g (0.035 equiv) de 2 y un exceso del Grignard 7 obteniéndose 3 g (rendimiento

40%) de la cetona 8 (Véase tabla 1); MS m/z 78, 106, 141. FM: C₁₄H₂₁NO. Espectro IR(filme): 3445, 1955, 1715, 1569, 1408, 1284, 1129 cm⁻¹. Para los datos y asignaciones de las señales de RMN ver tablas 2 y 3.

4'-Piridil-1-tridecanona 10

Se prepara de igual manera que la cetona 4, a partir de 5.31 g (0.037 equiv.) del compuesto 2 y un exceso del Grignard 9 obteniéndose 7.3 g (rendimiento 70.6%) de la cetona 10 (Véase tabla 1); MS m/z 78, 106, 197. FM: C₁₈H₂₉NO. Para los datos y asignaciones de las señales de RMN ver tablas 2 y 3.

Tabla 2. Valores de RMN-1H de los compuestos sintetizados

Proton	4	6	8	10
1	---			
2	2.96 t	3.66	2.93 t	2.97 t
3	1.33	5.80	1.70	1.73
4	1.22	5.07 5.16	1.70	1.73
5	0.97	---	1.26	1.73
6	---	---	1.26	1.26
7	---	---	1.26	1.26
8	---	---	1.26	1.26
9	---	---	0.85	1.26
10	---	---	---	1.26
11	---	---	---	1.26
12	---	---	---	1.26
13	---	---	---	0.87
1'	---	---	---	---
2'	8.76 d	8.56 d	8.70 d	8.80 d
3'	7.68 d	7.64 d	7.70 d	7.73 d
4'	---	---	---	---
5'	7.68 d	7.64 d	7.70 d	7.73 d
6'	8.76 d	8.56 d	8.70 d	8.80 d

Tabla 3. Valores de RMN-13C de los compuestos de síntesis

Carbono	4	6	8	10
1	197.9	165.0	164.6	200.2
2	44.2	45.2	38.5	39.3
3	25.8	131.7	25.6	24.2
4	22.0	123.5	29.0	29.5
5	13.8	----	28.8	29.7
6	----	----	28.2	24.2
7	----	----	31.4	29.8
8	----	----	22.2	29.6
9	----	----	13.7	29.6
10	----	----	----	29.6
11	----	----	----	32.3
12	----	----	----	23.0
13	----	----	----	14.5
1'	----	----	----	----
2'	146.6	150.4	150.5	151.2
3'	124.2	123.2	122.4	121.4
4'	147.5	138.6	137.3	143.2
5'	124.2	123.2	122.4	121.2
6'	146.6	150.4	150.5	151.2

4. Ensayos de actividad antimicótica

La actividad antimicótica de los compuestos sintetizados se evalúa en cepas de *Aspergillus niger* por el método de difusión en agar (9). Se utiliza como blanco positivo al hongo sembrado en agar sin compuesto inhibidor. Los productos a evaluar se disuelven en 0.3 mL de etanol y se adicionan al medio de cultivo. La actividad antimicótica se determina por la medición del diámetro de crecimiento del hongo expuesto a los compuestos sintetizados, con relación al hongo no expuesto. Se realizan cuatro repeticiones para cada ensayo.

RESULTADOS Y DISCUSION

La síntesis de los compuestos 4, 6, 8 y 10 (Véase figura 1), se llevó a cabo a partir del ácido isonicotínico 1 convertido en el cloruro de ácido, seguido de la adición con el respectivo reactivo de Grignard (8). Todas las cetonas preparadas están sustituidas en el carbono-4' del anillo piridina. El 4'-Cloruro de isonicotinoilo 2, se preparó casi cuantitativamente a partir del ácido isonicotínico 1 por subsecuente tratamiento con cloruro de tionilo. Los intermediarios organometálicos 3, 5, 7 y 9 se prepararon por adición del respectivo haluro de alquilo en solución 1M en tetrahidrofurano con un exceso de magnesio en condiciones anhídras y a temperatura ambiente.

La preparación de las cetonas 4, 6, 8 y 10 se llevó a cabo mediante la adición de los intermediarios organometálicos 3, 5, 7 y 9 al cloruro del ácido isonicotínico 2, obteniéndose con rendimiento de 52.6, 55.5, 40 y 70.6 % respectivamente (Véase tabla 1).

Las cetonas 4, 8 y 10 se caracterizan por ser de tipo alifático, mientras que la cetona 6 es de tipo alílico. Los compuestos 4, 8 y 10 se caracterizan por presentar en el espectro infrarrojo una banda alrededor de 1710 cm^{-1} , típica de un grupo carbonilo, corroborada por la señal hacia 200 ppm en el espectro de RMN- ^{13}C . El espectro de RMN- ^1H muestra la señal del grupo metileno adyacente al carbonilo alrededor de 2.95 ppm. La cetona 6, es un derivado alílico, cuyo metileno adyacente al carbonilo aparece desplazado a campo bajo a 3.66 ppm, las señales a 5.8, 5.07 y 5.16 ppm corresponden a los protones olefínicos.

La actividad antimicótica de los compuestos 4, 6, 8 y 10 se evaluó en cepas de *Aspergillus niger* por el método de difusión en agar (9), presentando un porcentaje de inhibición moderado de 10.7, 36.7, 16.0 y 22.0 respectivamente a una concentración de 120 mg/mL. Es interesante anotar que la cetona 6 que mostró la mayor actividad antimicótica, posee una insaturación en la cadena alifática la cuál no está presente en ninguno de otros compuestos sintetizados (Véase tabla 1).

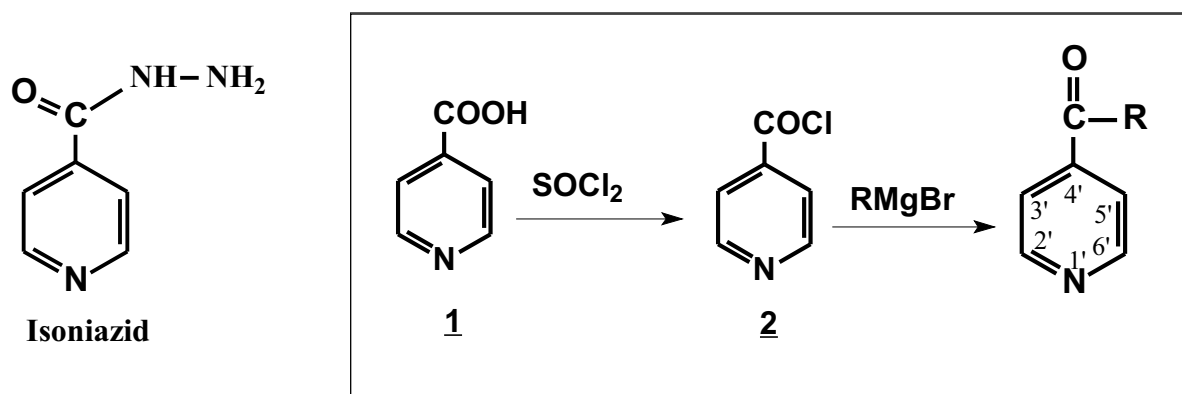


Figura 1. Reacción general de la síntesis de 4'-acilpiridinas

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a la Universidad de Antioquia por la financiación de este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Miletin, M., Hartl, J., Dolezal M., "et al" (2000) Synthesis of some 2,6-disubstituted 4-aminopyridines and thiamidopyridines, and their antimycobacterial and photosynthesis-inhibiting activity. *Molecules* 5 : 208-218.
2. Wachter G., Davis M., Martin A., Franzblau S. (1998) Antimycobacterial activity of substituted isosteres of pyridine and pyrazinecarboxylic acids. *J. Med. Chem.* 41: 2436-2438.
3. Bracher F., Papke T. (1996) 3-Alkylpyridines III. Total synthesis of both enantiomers of the antineoplastic marine alkaloid niphatesine D. *Monatshete fur Chemie.* 127 : 91-95.
4. Arenz A., Klein M., Fiehe K., Leistner E. (1996) Occurrence of neurotoxic 4'-O-methylpyridoxine in *Ginkgo biloba* leaves, Ginkgo medications and Japanese Ginkgo food. *Planta Médica.* 62 : 548-551.
5. Andreani A., Leoni A., Locatelli A., *et al* (1999) Synthesis and antimycobacterial activity of some isonicotinoyl hydrazones. *Eur. J. Med. Chem.Chim.Ther.* 34 : 1071-1076.
6. Roth H. J., Kleemann A., Beisswenger T. (1976) *Pharmaceutical Chemistry*, pp 249-253.
7. Goerg, H., Ochola, S.A., Goerg, R. (1999) Treatment of tropical malaria with a fixed combination of rifampicin and isoniazid: A clinical study. *Chemotherapy.* 45 : 68-76.
8. Trecourt F., Breton G., Bonnet V., *et al* (1995) Pyridilmagnesium chlorides from bromo and dibromopyridines by bromine-magnesium exchange: A convenient access to functionalized pyridines. *Tetrahedron.* 56 : 1349-1360.
9. Newman M., Korman K. (1990) Antibiotic antimicrobial use in dental practice. *Quintessence books Co.* pp . 46-62.

Fecha de Recibo: Marzo 10 de 2003
Fecha de Aceptación: Mayo 2 de 2003

Perspectivas en Nutrición Humana



Órgano de divulgación académica de la
 Escuela de Nutrición y Dietética
 de la Universidad de Antioquia

Ciudadela Robledo. Cra. 75 N° 65-87 Bloque 44, of.105, Medellín
 FAX (094/054/074) 230 50 07

Tels. (094/054/074) 425 92 22 – 425 92 35 – 425 92 00

E-mail: revinut@quimbaya.udea.edu.co

