

М.І. Романенко, Г.В. Милосердова, Б.О. Прийменко

**СИНТЕЗ ТА ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ
8-АМІНОЗАМІЩЕНИХ 7-ЕТИЛ-3-МЕТИЛКСАНТИНУ**
Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: синтез, антиоксидантна дія, ПМР-спектроскопія, ксантин

Синтезовано ряд похідних 7-етил-3-метилксантину, структура яких підтверджена методом ПМР-спектроскопії. Антиоксидантна активність отриманих сполук вивчалась методом вільнорадикального окиснення. Показана перспектива вивчення антиоксидантів в ряду похідних 7-етил-3-метилксантину.

Відомо, що 7,8-дизаміщені 3-метилксантину виявляють різnobічну фармакологічну дію [1-4]. За останні роки встановлено, що 8-іліденгідразиноксантини виявляють значну антиоксидантну дію [5,6], тому синтез нових похідних ксантину та вивчення їх антиоксидантних властивостей є перспективним напрямком сучасної фармації зі створення нових ефективних антиоксидантів.

Мета роботи – розробка доступних методик синтезу 8-аміно-7-етил-3-метилксантинів та вивчення їх антиоксидантної активності (АОА).

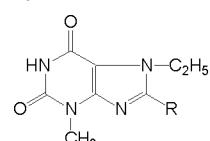
Виходячи з цього, нами був отриманий 8-бromo-7-етил-3-метилксантин (I) [7] та вивчені його реакції з первинними та вторинними гетероциклічними амінами (рис.1).

Як показано на схемі (рис.1), в залежності від будови аміну та його нуклеофільноті, реакції нуклеофільного заміщення можна проводити в різних умовах. Так взаємодія 8-bromo-7-ethyl-3-methylxanthine (I) з диметиламіном, етиламіном, пропіламіном, бутиламінами відбувається в сталевому автоклаві при температурі 140–160°C протягом 4 годин у воді, таким чином були отримані 8-амінопохідні (II–VII), нагріванням бромоксантину (I) з аміл-, ізоаміл-, н-гексиламінами та N-етил, гідроксіетилпіперазинами у середовищі водного діоксану при атмосферному тиску, були синтезовані 8-алкіламіно (VIII–X)- та піперазиноксантини (XV,XVI). 8-N-пірролідиноксантин (XI) був одержаний кип'ятінням вихідних сполук у воді. Спо-

луки XII–XIV, XVII синтезовані 4-х годинним кип'ятінням 8-bromokсантину (I) з надлишком відповідного піперидину чи піперазину в етоксіетанолі.

Будова синтезованих 8-аміно-7-етил-3-метилксантинів (II–XVII) підтверджена даними ПМР-спектроскопії (табл.1). Як видно із таблиці 1, в ПМР-спектрах синтезованих сполук реєструються сигнали протонів N₁H- та N₃-CH₃ груп у вигляді синглетів в інтервалах 10,94–10,31 м.ч. та 3,33–3,29 м.ч., відповідно, які ха-

Таблиця 1
**ПМР-спектри
8-амінозаміщених 7-етил-3-метилксантину**



№ з/п	R	σ-шкала, м.д.	
		N ₁ H (c., 1H)	N ₃ CH ₃ (c., 3H)
II	N(CH ₃) ₂	10,66	3,33
III	NHC ₂ H ₅	10,34	3,32
IV	NHC ₃ H ₇ -H	10,33	3,31
V	NHC ₄ H ₉ -H	10,33	3,31
VI	NH-CH(CH ₃)C ₂ H ₅	10,31	3,30
VII	NHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	10,32	3,31
VIII	NHC ₅ H ₁₁ -H	10,62	3,29
IX	NH(CH ₂) ₂ CH(CH ₃) ₂	10,62	3,29
X	NHC ₆ H ₁₃ -H	10,62	3,29
XI	—N—	10,71	3,29
XII	—N——CH ₃	10,88	3,29
XIII	—N——CH ₃	10,87	3,30
XIV	—N——CH ₂ C ₆ H ₅	10,59	3,32
XV	—N——C ₂ H ₅	10,94	3,32
XVI	—N——CH ₂ —CH ₂ —OH	10,93	3,32
XVII	—N——CH(C ₆ H ₅) ₂	10,82	3,31

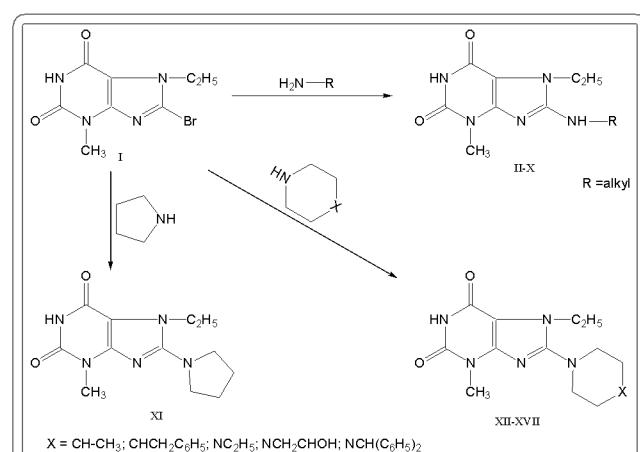


Рис. 1 Схема синтезу 8-ариліденгідразино-7-п-хлорбензил-3-метилксантинів

© М.І. Романенко, Г.В. Милосердова, Б.О. Прийменко, 2008

Таблиця 1 (продовження)

№ з/п	R	σ-шкала, м.д.	
		N ₇ C ₂ H ₅	R
II	N(CH ₃) ₂	4,11 (кв., 2H) ; 1,36 (т., 3H)	2,93 (с., 6H) – N(CH ₃) ₂
III	NHC ₂ H ₅	4,0 (кв., 2H) ; 1,23-1,17 (м., 3H)	6,74 (т., 1H) – C ₈ NH; 3,59 (кв., 2H) – CH ₂ NH
IV	NHC ₃ H ₇ -H	4,02 (кв., 2H) ; 1,23 (т., 3H)	6,75 (т., 1H) – C ₈ NH; 3,26 (кв., 2H) – CH ₂ NH; 1,59 (м., 2H) – CH ₂ C; 0,93 (т., 3H) – CH ₃ C
V	NHC ₄ H ₉ -H	4,02 (кв., 2H) ; 1,37 (т., 3H)	6,71 (т., 1H) – C ₈ NH; 3,31 (кв., 2H) – CH ₂ NH; 1,55 (м., 2H) – CH ₂ C; 1,39 (м., 2H) – CH ₂ C; 0,93 (т., 3H) – CH ₃ C
VI	NH-CH(CH ₃)C ₂ H ₅	4,05 (кв., 2H) ; 1,21-1,16 (м., 6H)	6,71 (т., 1H) – C ₈ NH; 3,31 (кв., 2H) – CH ₂ NH; 1,55 (м., 2H) – CH ₂ C; 1,39 (м., 2H) – CH ₂ C; 0,93 (т., 3H) – CH ₃ C
VII	NHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	4,04 (кв., 2H) ; 1,21 (т., 3H)	6,79 (т., 1H) – C ₈ NH; 3,12 (т., 2H) – CH ₂ NH; 1,91 (м., 1H) – CH; 0,91 (д., 2H) – (CH ₃) ₂ C
VIII	NHC ₅ H ₁₁ -H	4,02 (кв., 2H) ; 1,21 (т., 3H)	6,98 (т., 1H) – C ₈ NH; 3,32 (кв., 2H) – CH ₂ NH; 1,59 (м., 2H) – CH ₂ C; 1,32 (м., 4H) – (CH ₂) ₂ C; 0,82 (т., 2H) – CH ₃ C
IX	NH(CH ₂) ₂ CH(CH ₃) ₂	4,02 (кв., 2H) ; 1,19 (т., 3H)	6,95 (т., 1H) – C ₈ NH; 3,36 (кв., 2H) – CH ₂ NH; 1,65 (м., 1H) – CHC; 1,50 (кв., 2H) – CH ₂ C; 0,85 (д., 6H) – (CH ₃) ₂ C
X	NHC ₆ H ₁₃ -H	4,02 (кв., 2H) ; 1,19 (т., 3H)	6,99 (т., 1H) – C ₈ NH; 3,32 (кв., 2H) – CH ₂ NH; 1,58 (кв., 2H) – CH ₂ C; 1,33 (м., 6H) – (CH ₂) ₃ ; 0,89 (т., H) – CH ₃ C
XI		4,2 (кв., 2H) ; 1,27(т., 3H)	3,55 (м., 4H) – N(CH ₂) ₂ ; 1,93 (м., 4H) – C(CH ₂) ₂
XII		4,0 (кв., 2H) ; 1,7-1,4 (м., 5H)	3,41 (д., 2H); 2,89 (т., 2H); 1,56 (д., 2H); 1,55 (м., 1H); 0,88 (д., 3H)
XIII		4,01 (кв., 2H) ; 1,31 (т., 3H)	3,33 (м., 2H); 2,85 (т., 1H); 1,56-1,51 (м., 4H); 1,18 (м., 1H); 0,90 (д., 3H)
XIV		4,03 (кв., 2H) ; 1,38 (м., 5H)	7,28-7,09 (м., 5H); 3,4 (д., 2H); 2,58 (д., 2H); 1,72 (д., 3H)
XV		4,06 (кв., 2H) ; 1,35 (т., 3H)	7,28-7,09 (м., 5H); 3,4 (д., 2H); 2,58 (д., 2H); 1,72 (д., 3H)
XVI		4,06 (кв., 2H) ; 1,35 (т., 3H)	4,49 (т., 1H) – OH; 3,55 (кв., 2H) – CH ₂ O; 3,21 (м., 4H) – N(CH ₂) ₂ ; 2,6 (м., 4H) – N(CH ₂) ₂
XVII		4,02 (кв., 2H) ; 1,29 (т., 3H)	7,5-7,15 (м., 10H) – CH _{аром.} ; 4,4 (с., 1H) – NCH; 3,25-3,2 (м., 4H) – N(CH ₂) ₂ ; 2,52-2,41 (м., 4H) – N(CH ₂) ₂

рактеризують урацилову частину молекули. Наявність стильного залишку у положенні 7 молекули підтверджують класичні квартети при 4,2-4,0 м.ч. та триплети в області 1,38-1,19 м.ч. з інтенсивністю у дві та три протонні одиниці відповідно. Наявність замінників у положенні 8 молекули також однозначно підтверджується набором відповідних сигналів пропонів.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ХІМІЧНА ЧАСТИНА

ПМР-спектри записані на спектрометрі AC-300 (300 МГц, розчинник ДМСО, внутрішній стандарт ТМС). Дані елементного аналізу відповідають розрахованим.

Синтез 8-алкіламіно-7-стил-3-метилксантинів (II – VII)

Суміш 2,73 г (0,01 моль) бромоксантину I, 0,1 моль відповідного аміну та 30 мл води нагрівають в сталевому автоклаві 4 години при 140-160°C. Охолоджують, осад, що утворився, відфільтровують та промивають водою, кристалізують із водного ізопропілового спирту (II, VI), водного діоксану (V), або водного диметилформаміду (III, IV, VII).

Синтез 8-амінозаміщених 7-етил-3-метилксантинів (VIII, IX, X, XV, XVI)

Суміш 2,73 г (0,01 моль) бромоксантину I, 0,03 моль відповідного аміну, 20 мл води та 20 мл діоксану, кип'ятять 4 години, охолоджують, осад відфільтровують, промивають водою та кристалізують із водного діоксану (VIII-X), водного етанолу (XV), із води (XVI).



Синтез 7-етил-3-метил-8-N-пірролідиноксантину (XI)

Суміш 2,73 г (0,01 моль) бромоксантину I, 2,8 г (0,04 моль) пірролідину в 40 мл води кип'ятять 3 години, додають 15 мл діоксану і фільтрують, охолоджують, розводять водою, осад відфільтровують, промивають водою, ізопропіловим спиртом, ефіром.

Синтез 7-етил-3-метил-8-N-піперидино (XII-XIV)- та піперазиноксантину (XVII)

Суміш 2,73 г (0,01 моль) бромоксантину I, 0,03 моль відповідного аміну, 40 мл етоксистанолу кип'ятять 4 години, охолоджують, розводять водою, осад відфільтровують, промивають водою та кристалізують із водного ізопропілового спирту (XII-XIII), водного діоксану (XIV,XVII).

Аналогічні дані синтезованих сполук наведені в таблицях 1 та 2.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА БІОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

Антиоксидантну активність (АОА) вивчали *in vitro* методом неферментного ініціювання вільноважильного окиснення [8]. В якості субстрату використано суспензію яєчних ліпопротеїдів (СЯЛ). СЯЛ готується шляхом гомогенізації яєчного жовтка з фосфатним буфером (рН 7,4). До суспензії додають досліджувані сполуки в концентрації 10^{-3} , 10^{-5} , 10^{-7} моль/л. Реакцію вільноважильного окиснення ініціюють додаванням 25 мМ розчину $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Суміш інкубуують 60 хвилин при 37°C. Реакцію зупиняють 50% розчином трихлороцтової кислоти з трилоном Б. Після центрифугування протягом 30 хвилин до розчину тіобарбі-

турової кислоти (ТБК) додають над осадову рідину і кип'ятять на водяній бані протягом 60 хвилин. Забарвлений комплекс малонового діальдегіду з ТБК вилучають додаванням н-бутанолу. Методом спектрофотометрії визначають концентрацію малонового діальдегіду, яка свідчить про інтенсивність процесів вільноважильного окиснення. Антиоксидантну активність (у відсотках) визначали за формулою:

$$\text{AOA} = (\text{C}_{\text{K}_1} - \text{C}_0 / \text{C}_{\text{K}_1} - \text{C}_{\text{K}_2}) \cdot 100\%, \text{де}$$

C_{K_1} , C_{K_2} – вміст ТБК-реактантів у контрольних пробах, моль/л;

C_0 – вміст ТБК-реактантів у дослідній пробі, моль/л.

Дані АОА похідних 8-амінозаміщених 7-етил-3-метилксантину (II-XVII) наведено в таблиці 3.

Як видно, з наведених у таблиці 3 даних, в концентрації 10^{-3} моль/л всі сполуки, за виключенням 8-диметиламіно (II)- та 8-гідроксіетилпіперазино (XVI)-ксантинів, виявляють антиоксидантну дію. Зазначені сполуки (II та XVI) є прооксидантами у всіх вивчених концентраціях.

Слід зазначити, що деякі сполуки (IV,XI, XIV) зі зменшенням концентрації змінюють антиоксидантну на прооксидантну дію. Найбільш ефективними антиоксидантними сполуками є 8-N-(4'-метилпіперидино)(XII)- та 8-N-(4'-дифенілметилпіперазино)(XVII) похідні, які у всіх вивчаючих концентраціях виявляють значну АОА, причому зі зменшенням концентрації від 10^{-3} - 10^{-7} моль/л їх АОА збільшується, що робить їх перспективними сполуками для поглиблених вивчення.

Необхідно відмітити, що серед вивчених піперазиноксантинів (XII-XIV) найбільшу активність виявило 4'-метильнепохідне. Переміщення метильної групи в положення 3' призводить до значного падіння АОА, введення бензольного залишку в положення 4', також зменшує АО дію.

В ряду н-алкіламіноксантинів спостерігається зменшення АО дії в концентрації 10^{-3} моль/л від етильного(III) до бутильного(V) похідного. Подальше подовження вуглецевого ланцюгу призводить до підвищення АО дії. Так, 8-н-гексиламінopoхідne (X) проявляє найвищу в цій концентрації активність (32,4%).

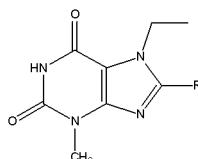
Слід зазначити, що розгалуження вуглецевого ланцюгу суттєво не впливає на антиоксидантні властивості. Для остаточних висновків щодо зв'язку "структур-дія" необхідна подальша модифікація ксантинової молекули.

ВИСНОВКИ

1. Розроблені доступні методики синтезу різноманітних 8-амінозаміщених 7-етил-3-метилксантину.

2. Вивчена АОА синтезованих сполук, встановлено, що найбільш активною сполукою є 8-N-(4'-метилпіперидино)(XII)- та 8-N-(4'-дифеніл-

Таблиця 2
Характеристики синтезованих сполук



№ з/п	Вихід, %	t топл., °C	Брутто-формула
II	42,2	220-1	$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_2$
III	69,6	325-6	$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_2$
IV	79,7	295-6	$\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_2$
V	71,7	275-6	$\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_2$
VI	67,9	258-9	$\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_2$
VII	73,6	301-2	$\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_2$
VIII	52,0	267-8	$\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_2$
IX	48,4	271-2	$\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_2$
X	49,5	273-4	$\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_2$
XI	26,6	216-7	$\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_2$
XII	58,4	200-1	$\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_2$
XIII	15,5	134-5	$\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_2$
XIV	73,6	161-2	$\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_2$
XV	79,8	206-8	$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_3$
XVI	76,0	201-2	$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_3$
XVII	73,9	249-50	$\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_3$

Антиоксидантна активність 8-амінозаміщених 7-етил-3-метилксантину

Шифр	М.в.	C, моль/л	AOA, %	Шифр	М.в.	C, моль/л	AOA, %	Шифр	М.в.	C, моль/л	AOA, %
II	237	10^{-3}	-31,61	VIII	279	10^{-3}	23,58	XIV	368	10^{-3}	24,52
		10^{-5}	-43,87			10^{-5}	26,83			10^{-5}	-32,90
		10^{-7}	-42,58			10^{-7}	28,46			10^{-7}	21,29
III	237	10^{-3}	28,89	IX	279	10^{-3}	30,80	XV	306	10^{-3}	0,65
		10^{-5}	41,11			10^{-5}	54,00			10^{-5}	13,07
		10^{-7}	47,78			10^{-7}	29,60			10^{-7}	32,03
IV	251	10^{-3}	11,11	X	293	10^{-3}	32,40	XVI	322	10^{-3}	-13,07
		10^{-5}	-1,96			10^{-5}	34,80			10^{-5}	-5,23
		10^{-7}	-37,91			10^{-7}	24,80			10^{-7}	-21,57
V	265	10^{-3}	15,45	XI	263	10-3	37,26	XVII	444	10^{-3}	57,78
		10^{-5}	26,02			10-5	15,69			10^{-5}	24,44
		10^{-7}	32,52			10-7	-4,58			10^{-7}	64,44
VI	265	10^{-3}	29,27	XII	291	10-3	40,00	Тіотри- азолін	246	10^{-3}	33,9
		10^{-5}	20,33			10-5	48,89			10^{-5}	22,6
		10^{-7}	28,46			10-7	45,56			10^{-7}	7,63
VII	265	10^{-3}	22,76	XIII	291	10-3	23,33	Аскор- бат	176	10^{-3}	60,87
		10^{-5}	25,20			10-5	28,89			10^{-5}	39,13
		10^{-7}	13,01			10-7	32,22			10^{-7}	76,09

метилпіперидино)(XVII) ксантини, які активніші за тіотриазолін та дещо поступаються активності аскорбінової кислоти, подальша модифікація молекул (XII,XVII) може привести до створення більш активних сполук.

ЛІТЕРАТУРА

- Романенко Н.И., Прийменко Б.А., Федулова И.В. и др. // Хим.-фарм. журн.-1984.-№12.-С.1462-1464.
- Прийменко Б.А., Самура Б.А., Скульская Е.А. и др. // Хим.-фарм. журн.-1984.-№12.-С.1456-1461.
- Романенко М.І., Федулова І.В., Прийменко Б.О. та ін. // Фарм. журн.-1986.-№5.-С.41-44.
- Романенко М.І., Федулова І.В., Прийменко Б.О. та ін. // Фарм. журн.-1988.-№2.-С.41-44.
- Романенко М.І., Іванченко Д.Г., Жмурун Р.В. та ін. // Запорізький мед. журн.-2005.-№6.-С.144-147.
- Романенко М.І., Іванченко Д.Г., Євсєєва Л.В. та ін. // Запорізький мед. журн.-2006.-№6.-С.144-148.
- Прийменко Б.О., Романенко М.І., Гармаш С.Н. та ін. // Укр. хім. журн.-1985.-т.51, №6.-С.41-44.
- Pat. 5726063 USA, G01N 33/52. Method of colorimetric analysis of malonic dialdehydes and 4-hydroxy-2-enaldehydes as indexes of lipid peroxidation, kits for use in said method and their preparation / D. Gerard-Monnier, I. Eldermeir, J. Chaudiere, J. Yadan.-appl. №702197, date of patent Mar. 10, 1998.

Надійшла 17.01.2008р.

Н.И.Романенко, А.В.Милосердова, Б.А.Прийменко

Синтез и изучение антиоксидантной активности 8-аминозамещенных 7-этил-3-метилксантинина

Синтезирован ряд производных 7-этил-3-метилксантинина, структура которых подтверждена методом ПМР-спектроскопии. Антиоксидантная активность синтезированных соединений определялась методом свободнорадикального окисления. Показана перспектива изучения антиоксидантов в ряду производных 7-этил-3-метилксантинина.

Ключевые слова: синтез, антиоксидантное действие, ПМР-спектроскопия, ксанチン

N.I.Romanenko, A.V.Miloserdova, B.A.Priymenko

Synthesis and studying antioxidative actions of 8-amino-substituted 7-ethyl-3-methylxanthine

It was developed the preparative way for the synthesis of derivatives 8-amino-substituted 7-ethyl-3-methylxanthine. The obtained compounds were estimated using the PMR-spectroscopy. The antioxidative activity of the synthesized compounds was studied by the method of a free-radical oxidation initiation. It was shown the ability for research of 8-amino-substituted 7-ethyl-3-methylxanthine with antioxidative activity.

Key words: synthesis, antioxidantive activity, PMR-spectroscopy, xanthine

Відомості про авторів:

Романенко М.І., професор, д.фарм.н., завідувач кафедри біохімії та лабораторної діагностики;

Милосердова Г.В., магістрант кафедри біологічної хімії та лабораторної діагностики;

Прийменко Б.О., професор, д.фарм.н., завідувач кафедри органічної хімії.

Адреса для листування:

Милосердова Ганна Володимирівна, 69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26, ЗДМУ, кафедра біологічної хімії та лабораторної діагностики. Тел.: (0612) 34-24-42