

А.О. Приймєнко¹, К.И. Кандыбей¹, Б.А. Приймєнко¹, А.В. Просяник²

Синтез, физико-химические, биологические свойства и масс-спектрометрическое изучение некоторых производных тиазоло[3,2-f]-ксантина

¹Запорожский государственный медицинский университет,²Украинский государственный химико-технологический университет, г. Днепрпетровск

Ключові слова: ксантин, 6H-тиазоло[3,2-f]-ксантин, спектроскопія, біологічна активність.

Ключевые слова: ксантин, 6H-тиазоло[3,2-f]-ксантин, спектроскопия, биологическая активность.

Key words: xanthine, 6H-thiazolo[3,2-f]xanthine, spectroscopy, biological activity.

Розроблені та удосконалені методи синтезу похідних 6H-тиазоло[3,2-f]-ксантина. Вивчено фізико-хімічні властивості 2-заміщених 6H-тиазоло[3,2-f]-ксантина. Встановлено, що тиазолксантини проявляють актопротекторну активність.

Разработаны и усовершенствованы методы синтеза производных 6H-тиазоло[3,2-f]-ксантина. Изучены физико-химические свойства 2-замещенных 6H-тиазоло[3,2-f]-ксантина. Установлено, что тиазолксантины проявляют актопротекторную активность.

It was developed and improved some methods of synthesis of derivatives 6H-thiazolo[3,2-f]xanthine. Physicochemical properties of 2-substitued-6H-thiazolo[3,2-f]xanthine were studied. It was established, that thiazoloxanthines showed actoprotective activity.

Производные пурина и пуриндина-2,6 являются ценными лекарственными препаратами. Так, теобромин, теофиллин, кофеин оказывают стимулирующее действие на ЦНС, обладают выраженным действием на сердечную мышцу, скелетные мышцы, а также применяются как спазмолитические и диуретические средства. Синтетические лекарственные препараты (темисал, эуфиллин, дипрофиллин и многие другие) обладают диуретической и бронхолитической активностью, расширяют сосуды головного мозга, увеличивают коронарный кровоток и т. д. [1-6].

Ранее нами сообщалось [6,7] о синтезе 6H-тиазоло[3,2-f]ксантинов и изучению их фармакологической активности.

Цель работы

Разработка методов синтеза 3- и 2,3-замещенных 6H-тиазоло[3,2-f]ксантина и изучение физико-химических свойств и биологической активности.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования являются 7-ароилметил-3-метил-8-бромксантины (1-5), на основе которых были получены 7-ароилметил-3-метил-8-тиоксантины (6-10), а циклизация последних приводит к образованию производных 8-метил-6H-тиазоло[3,2-f]ксантина (11-15). Строение синтезированных соединений (6-20) установлено с помощью элементного анализа и физико-химических методов: ИК-спектроскопия и масс-спектрометрия.

ИК-спектры записаны на спектрофотометре Bruker ALPHA. Масс-спектры синтезированных соединений сняты на приборе MAT-311A фирмы Varian с непосредственным вводом образца в ионный источник. Условия съемки стандартные: ускоряющее напряжение 3 кВ, ток эмиссии катода 300 мкА, ионизирующее напряжение – 70 эВ.

7-Ароилметил-8-бром-3-метилксантины (1-5) по-

лучены по описанным нами ранее методам [7,8].

3-Метил-7-ароилметил-8-тиоксантины (6-10)

Метод А. Смесь 0,01 моля соответствующего 7-ароилметил-8-бром-3-метилксантина (1-5), 0,02 моля $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$, 50 мл ДМФА кипятят 5 часов, охлаждают, разбавляют водой, фильтрат подкисляют до pH=3, оставляют на ночь, осадок отфильтровывают, промывают водой и очищают кристаллизацией из водного ДМФА.

Метод Б. Смесь 0,01 моля 1-5 (0,015 моля) гидросульфиды калия в 100 мл метанола нагревают в автоклаве 6-7 часов при 170-180°C, охлаждают, разбавляют содержимое автоклава водой до 200 мл, фильтруют и подкисляют до pH=3. Осадок отфильтровывают, промывают водой. Константы приведены в таблице 1.

6H-8-Метилтиазоло[3,2-f]ксантины (11-15)

Метод А. 0,01 моля соответствующего 3-метил-7-ароилметил-8-тиоксантина (6-10) растворяют в 20 мл конц. H_2SO_4 ($d=1,84$) и оставляют при комнатной температуре на 24 часа. Разбавляют трёхкратным количеством воды, выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой, спиртом, ацетоном, сушат. Получают соединения (11-15). Для анализа соединения 11-15 очищают кристаллизацией из водного ДМФА (табл. 1).

Метод Б. 0,01 моля (6-10) в 30 мл 48% HBr кипятят 2 часа, охлаждают и обрабатывают, как описано выше. Свойства (11-15): кристаллические вещества, растворимые в органических растворителях и минеральных кислотах, нерастворимые в воде. Данные элементного анализа и выходы в % приведены в таблице 1.

3-метил-8-меркаптоксантин (16) получен по методу [6].

8-Ароилметилтио-3-метилксантины (17,18, табл. 2)

Метод А. К раствору 1,98 г (0,01) моля 16 и 0,01 моля этилата натрия в 100-150 мл этанола прибавляют 0,01-

3-метил-7-ароилметил-8-меркаптоксантины (6-10)
6Н-Тиазоло[3,2-*f*]ксантины (11-15)

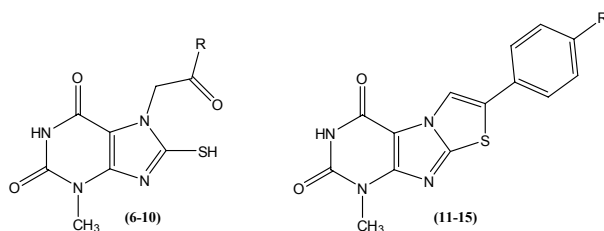


Таблица 1

№	R	Т.пл., °C	Найдено, %				Брутто-формула	Вычислено, %				Выход, %
			C	H	N	S		C	H	N	S	
6	C ₆ H ₅	283-284	50,3	3,6	17,5	10,0	C ₁₄ H ₁₂ N ₄ O ₃ S	53,2	3,8	17,7	10,1	82(A)80(Б)
7	C ₆ H ₄ F	300-301	50,5	3,5	16,7	9,3	C ₁₄ H ₁₂ FN ₄ O ₃ S	50,3	3,3	16,8	9,6	80(A)85(Б)
8	C ₆ H ₄ Cl	304-305	48,3	3,4	16,1	9,0	C ₁₄ H ₁₂ ClN ₄ O ₃ S	48,0	3,2	16,0	9,1	84(A)75(Б)
9	C ₆ H ₄ Br	307-308	42,8	3,2	16,1	9,0	C ₁₄ H ₁₂ BrN ₄ O ₃ S	42,5	3,2	14,2	8,1	73(A)80(Б)
10	C ₆ H ₄ NO ₂	298-299	46,4	3,1	19,6	8,8	C ₁₄ H ₁₂ N ₅ O ₅ S	46,5	3,0	19,4	8,8	60(A)70(Б)
11	C ₆ H ₅	302-304	56,2	3,2	18,6	10,5	C ₁₄ H ₁₀ N ₄ O ₂ S	56,4	3,4	18,8	10,8	60(A)72(Б)
12	C ₆ H ₄ F	>300	53,4	3,0	17,4	10,4	C ₁₄ H ₉ FN ₄ O ₂ S	53,1	2,8	18,8	10,8	53(A)65(Б)
13	C ₆ H ₄ Cl	>300	50,9	2,4	16,3	9,7	C ₁₄ H ₉ ClN ₄ O ₂ S	50,5	2,7	16,8	9,6	66(A)80(Б)
14	C ₆ H ₄ Br	>300	44,1	2,7	14,5	10,0	C ₁₄ H ₉ BrN ₄ O ₂ S	44,5	2,4	14,8	9,5	60(A)65(Б)
15	C ₆ H ₄ NO ₂	>300	48,6	2,3	20,6	9,2	C ₁₄ H ₉ N ₄ O ₄ S	48,9	2,2	20,4	9,4	64(A)80(Б)

0,015 моля α -галогенкетона. Нагревают 1 час при 60-65°C, охлаждают, осадок отфильтровывают, промывают водой, сушат.

Метод Б. Смесь 1,98 г (0,01) моля 16, 0,01 моля NaOH растворяют в 150 мл водного этанола, затем прибавляют 0,01-0,015 моля α -галогенкетона и нагревают 1 час на

кипящей водяной бане. Охлаждают. Осадок отфильтровывают, промывают водой, ацетоном, сушат. Получают соединения (17, 18). Очищают кристаллизацией из водного ДМФА.

Циклизация 8-ароилметилтио-3-метилксантинов (17,18) в производные 6Н-8-метилтиазоло[3,2-*f*]ксан-

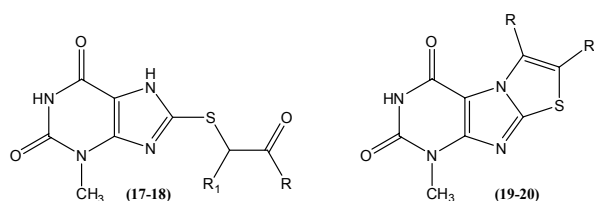


Таблица 2

№	R	R ₁	Т.пл., °C	Найдено, %				Брутто-формула	Вычислено, %				Выход, %
				C	H	N	S		C	H	N	S	
17	C ₆ H ₅	H	241-243	53,4	3,9	17,4	9,7	C ₁₄ H ₁₂ N ₄ SO ₃	53,2	3,8	17,7	10,1	82(A)83(Б)
18	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	243-245	60,9	4,4	14,4	8,5	C ₂₀ H ₁₆ N ₄ SO ₃	61,2	4,1	14,3	8,2	85(A)82(Б)
19	H	C ₆ H ₅	305-307	56,5	3,6	18,9	10,6	C ₁₄ H ₁₀ N ₄ SO ₂	56,4	3,4	18,8	10,7	87
20	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	313-315	64,1	4,0	14,8	8,5	C ₂₀ H ₁₄ N ₄ SO ₂	64,2	3,7	14,9	8,6	92

Таблица 3

Исследуемые соединения	Контроль, мин	Эксперимент, мин	Доверительный интервал	Прирост работоспособности, %
19	174,6±10,0	239,6±34,0	P>0,05	37,2
20	156,0±7,2	231,5±27,4	P>0,05	48,3
Кофеин	101,6±16,7	158,5±8,2	P>0,05	56,6

тина (19,20), содержащие заместители в положениях 3- и 2,3 (табл. 2).

Раствор 3,16 г (0,01) моля (17) в 50 мл в ледяной CH_3COOH кипятят 3-4 часа. Охлаждают. Выливают в 150 мл воды. Отфильтровывают. Промывают водой, ацетоном. Сушат. Очищают кристаллизацией из водного ДМФА. Получают соединение (19).

Раствор 3,92 г (0,01) моля (18) в 50 мл 85% HCOOH нагревают при кипячении в течении 3 часов. Выливают в 150 мл воды. Отфильтровывают. Промывают водой, спиртом. Получают соединение (20).

Изучение актопротекторной активности синтезированных соединений проводилось на крысах линии Вистар массой 210-320 г по методу увеличения продолжительности плавания. Нагрузка плаванием проводилась в «бассейне» с высотой водяного столба 80 см и температурой воды 30-32°C. Животные выполняли физическую нагрузку в анаэробном и аэробно-анаэробном режимах, которые моделировали путем плавания с грузом, прикрепленным к корню хвоста, составляющим соответственно 10 и 7,5% от массы тела. За 2 дня до эксперимента проводилась плавательная проба с целью «выбраковки» крыс, лишенных способности к плаванию с грузом. Для оценки влияния исследуемых соединений, последние вводились зондом в виде растворов и суспензий, стабилизированных твином-80 за 1 час до плавательной пробы.

Влияние изучаемых соединений 19, 20 на продолжительность плавания белых крыс линии Вистар с грузом, составляющим 7,5% от массы тела, представлены в таблице 3.

Следует отметить, что тиазолоксантины в частности (19) способны более эффективно повышать физическую выносливость при анаэробном режиме. Так, 3-фенил-6Н-8-метилтиазоло[3,2-f]ксантин (19) в аэробно-анаэробном режиме повышает работоспособность на 37,2%.

Наличие в аннелированном тиазольном цикле во втором положении еще одного арильного радикала (20) приводит к повышению работоспособности в условиях аэробно-анаэробной нагрузки до 48,3%.

Таким образом, первичный фармакологический скрининг показал, что синтезированные соединения (19,20) представляют интерес как биологически активные соединения актопротекторного действия.

Исследования в ряду тиазолоксантинов продолжаются с целью поиска эффективных препаратов актопротекторного действия.

Результаты и их обсуждение

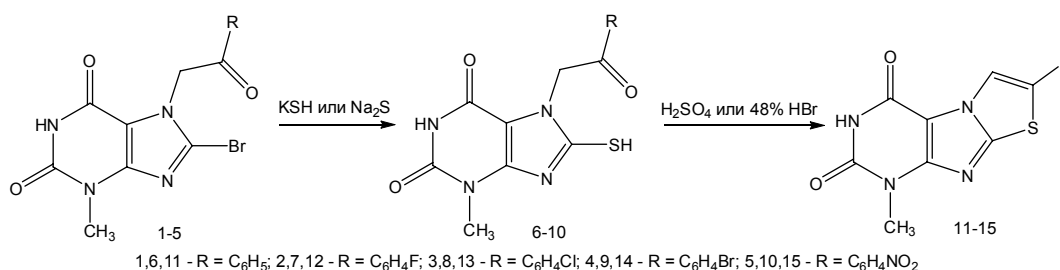
Реакция 3-метил-7-ароилметил-8-бромоксантинов (1-6) с серусодержащими нуклеофилами (NaSH , $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$) приводит к получению 3-метил-7-ароилметил-8-тиоксантинов (6-10, табл. 1, схема 1).

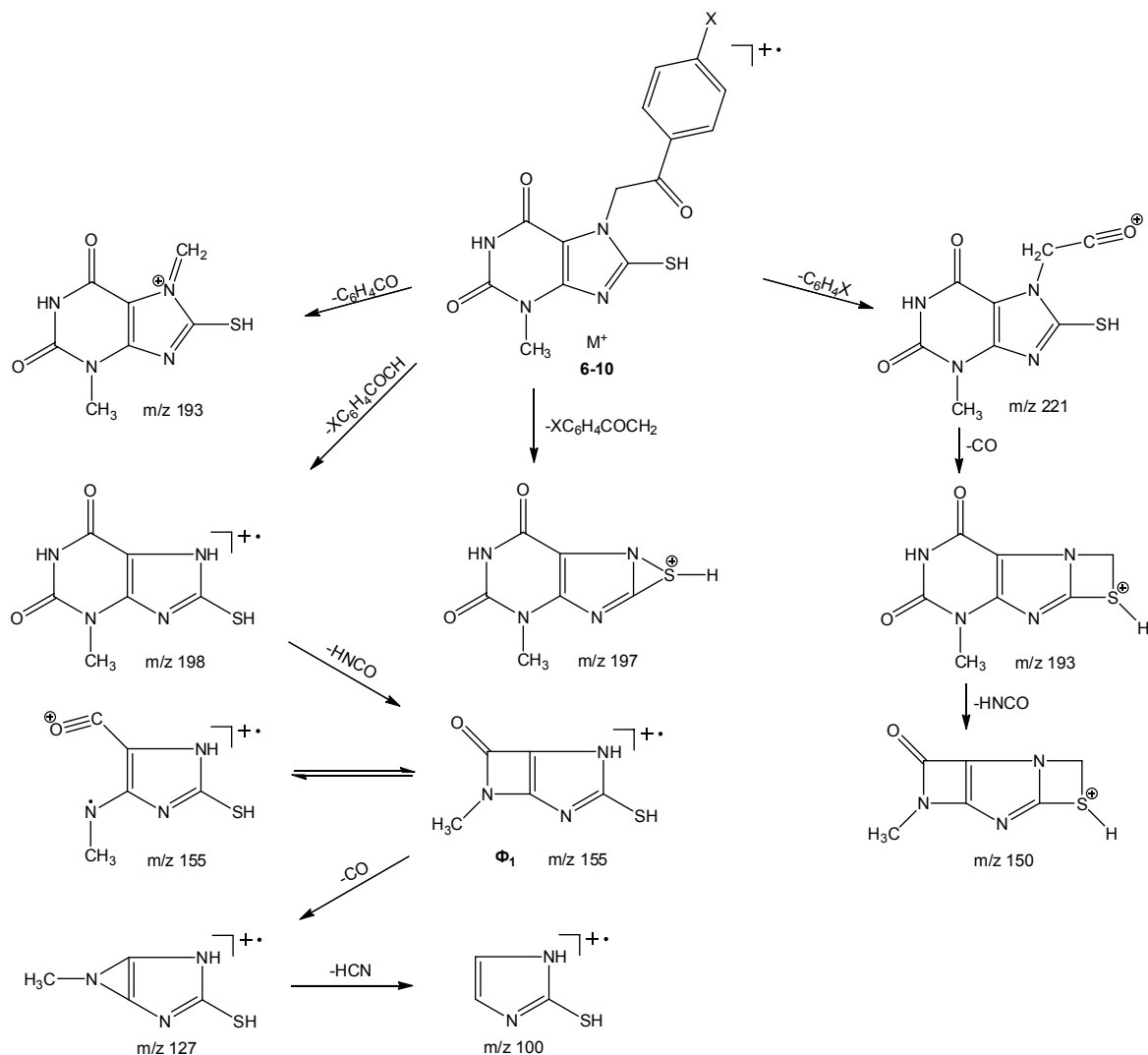
3-Метил-7-ароилметил-8-тиоксантины (6-10) представляют собой SH-кислоты, которые позволяют осуществить синтез по 8 положению ксантинового цикла, а также реализовать переход к 2-замещенным 6Н-тиазоло[3,2-f]ксантина (11-15, табл. 1, схема 1) и изучению их физико-химических и биологических свойств.

В ИК-спектрах (6-10) наблюдаются характерные полосы валентных колебаний неассоциированных при 3470-3400 cm^{-1} и ассоциированных при 3200-3170 cm^{-1} амидных групп, полосы валентных колебаний карбонильных групп лежат в области 1700-1690 cm^{-1} , полоса поглощения кетонного карбонила проявляется в области 1730-1700 cm^{-1} , 2600 cm^{-1} (SH).

В масс-спектрах (6-10) зафиксированы пики M^+ с m/z 298 (6), M^+ с m/z 316 (7), M^+ с m/z 332 (8), M^+ с m/z 376 (9), M^+ с m/z 343 (10), что соответствует расчетным молекулярным массам (рис. 2). Распад M^+ соединений (6-10) сопровождается элиминированием частиц $\text{C}_6\text{H}_4\text{X}$ ($\text{X}=\text{H}, \text{F}, \text{Cl}, \text{Br}, \text{NO}_2$) с образованием $[\text{M}-\text{C}_6\text{H}_4\text{X}]^+$ - m/z

Схема 1





(6) - X = H, M^+ 298; (7) - X = F, M^+ 316; (8) - X = Cl, M^+ 332; (9) - X = Br, M^+ 376; (10) - X = NO_2 , M^+ 343

Рис. 1. Схема масс-распада соединений (6-10).

221, $[\text{M}-\text{C}_6\text{H}_4\text{CO}]^+$ - m/z 193, $[\text{M}-\text{XC}_6\text{H}_4\text{COCH}]^+$ - m/z 198, $[\text{M}-\text{C}_6\text{H}_4\text{COCH}_2]^+$ - m/z 197. Таким образом, указанные фрагментные ионы доказывают наличие заместителя в 7-м положении (6-10). Выброс частицы HNCO (по типу ретродиенового распада) специфичен для производных урацила $[\Phi-\text{HNCO}]^+$ - m/z 155, $[\Phi_1-\text{CO}]^+$ - m/z 127, $[\Phi_1-\text{CO}-\text{HCN}]^+$ - m/z 100. Данные масс-спектрометрии подтверждают строение (6-10, рис. 1).

Обработка соединений 6-10 концентрированной H_2SO_4 ($d=1,84$) приводит к получению 11-15 (метод А).

Нагревание 6-10 в 48% HBr реализуется образованием 11-15 (метод Б, табл. 1, схема 1).

Для описания предполагаемого механизма циклизации (6-10) под действием кислот, нами проведен квантово-химический расчет зарядов по Хюккелю (6, табл. 4).

На углероде карбонильной группы наблюдается дефицит электронов (+0.4601779), на кислороде (-0.588332),

а на N_9 (-0.525741).

На атоме серы в положении 8 имидазольного кольца ксантиновой системы, сосредоточен незначительный отрицательный заряд (-0.0189518).

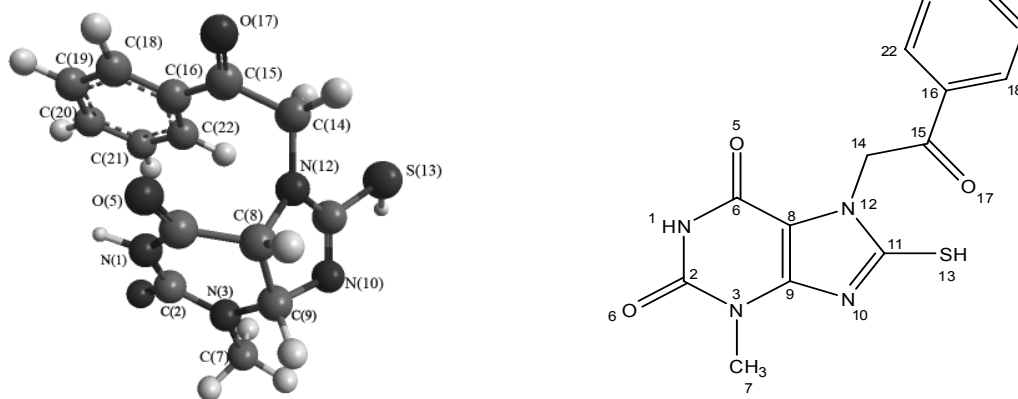
Исходя из квантово-химического расчета (6), можно предположить, что в кислой среде (H_2SO_4 конц. или HBr - 48%) протонирование идет по N_9 и кислороду карбонильной группы. В дальнейшем протекает нуклеофильная атака электронной пары атома серы, образовавшегося карбокатиона с последующей циклизацией в тиазольный цикл (11, рис. 2).

В ИК-спектрах 11-15 присутствуют полосы поглощения, которые относятся к валентным колебаниям NH -групп при $3190-3175 \text{ см}^{-1}$, полосы поглощения амидных карбониллов урацилового фрагмента проявляются в области $1710-1700 \text{ см}^{-1}$ и $1695-1690 \text{ см}^{-1}$.

В ИК-спектрах присутствует ряд полос, характерных

Таблица 4

Заряды по Хюккелю



Атом	Тип	Заряд	Атом	Тип	Заряд
N(1)	N Amide	0.284011	C(18)	C Alkene	0.0146206
C(2)	C Carbonyl	0.389401	C(19)	C Alkene	-0.0271647
N(3)	N Amide	0.386997	C(20)	C Alkene	0.00897776
C(4)	C Carbonyl	0.330275	C(21)	C Alkene	-0.0262203
O(5)	O Carbonyl	-0.846349	C(22)	C Alkene	0.00310193
O(6)	O Carbonyl	-0.898753	H(23)	H Amide	0.0977491
C(7)	C Alkane	-0.0564971	H(24)	H	0.0352148
C(8)	C Alkene	-0.118128	H(25)	H	0.0377879
C(9)	C Alkene	0.166886	H(26)	H	0.0372339
N(10)	N Imine	-0.525741	H(27)	H Thiol	0.0378266
C(11)	C Alkene	0.147781	H(28)	H	0.0369844
N(12)	N Pyrrole	0.517606	H(29)	H	0.0585536
S(13)	S Thiol	-0.0189518	H(30)	H	0.0166713
C(14)	C Alkane	-0.0601779	H(31)	H	0.0204593
C(15)	C Carbonyl	0.465745	H(32)	H	0.0203239
C(16)	C Alkene	0.00827446	H(33)	H	0.0199779
O(17)	O Carbonyl	-0.588332	H(34)	H	0.0238536

для двойных C=N, C=C связей – 1615 см⁻¹, 1540 см⁻¹, а также антисимметричные (3480 см⁻¹) валентные колебания ассоциированной группировки NH (широкая полоса поглощения). Менее выражены валентные колебания групп CН_{аром.} – 3070, 3040 см⁻¹ и полосы при 1300, 1290-1280, 1170, 1030-1015, 930, 835-830 см⁻¹, относящиеся к валентным колебаниям колец гетеросистемы (скелетные полосы).

Более детально структура синтезированных соединений (11-15) подтверждается данными масс-спектрометрии. В масс-спектрах (11-15) фиксируются

пики молекулярных ионов, соответствующие их брутто-составу. В масс-спектре 13 зарегистрирован пик М⁺ с m/z 332, что отвечает расчетной молекулярной массе (рис. 3). Распад М⁺ сопровождается отщеплением частицы HNCO (по типу «ретродиенового распада»), что характерно для производных урацила, соответственно ион [М–HNCO]⁺ m/z 289 (ион Ф). В дальнейшем ион [Ф] претерпевает деструкцию, связанную с элиминированием HCN, CO, H, H₂CN, о чем свидетельствуют ионы m/z 288, 262, 260, 233, 231 соответственно.

Наличие ионов с m/z 233, 234 подтверждает, что

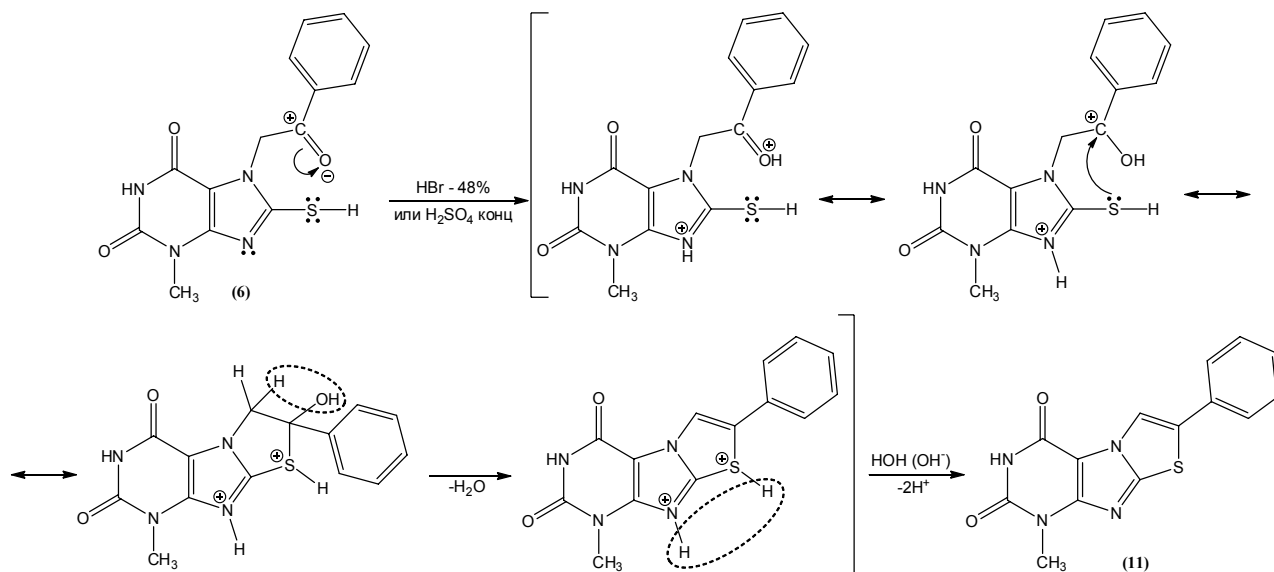


Рис. 2. Схема предполагаемого механизма циклизации (6) в производное 6H-тиазоло[3,2-f]ксантина (11).

соединение 13 является производным тиазоло[3,2-f]ксантина (рис. 3).

На рисунке 4 иллюстрируется фрагментация M⁺, (15).

Характер фрагментации M⁺ соединений 13, 15 соответствует их строению.

С целью изучения фармакологической активности и установления взаимосвязи «структура-действие»,

нами синтезированы 3- и 2,3-замещенные 8-метил-6H-тиазоло[3,2-f]ксантина (11-15, 19, 20).

Соединения (17, 18), в отличие от метода [6], получены взаимодействием с α-галогенкетонами в спирте или в водном спирте в присутствии щелочного агента, циклизация (17, 18) в ледяной CH₃COOH, 85% HCOOH реализуется образованием 3- и 2,3-замещенных тиазолксантина 19, 20 (схема 2).

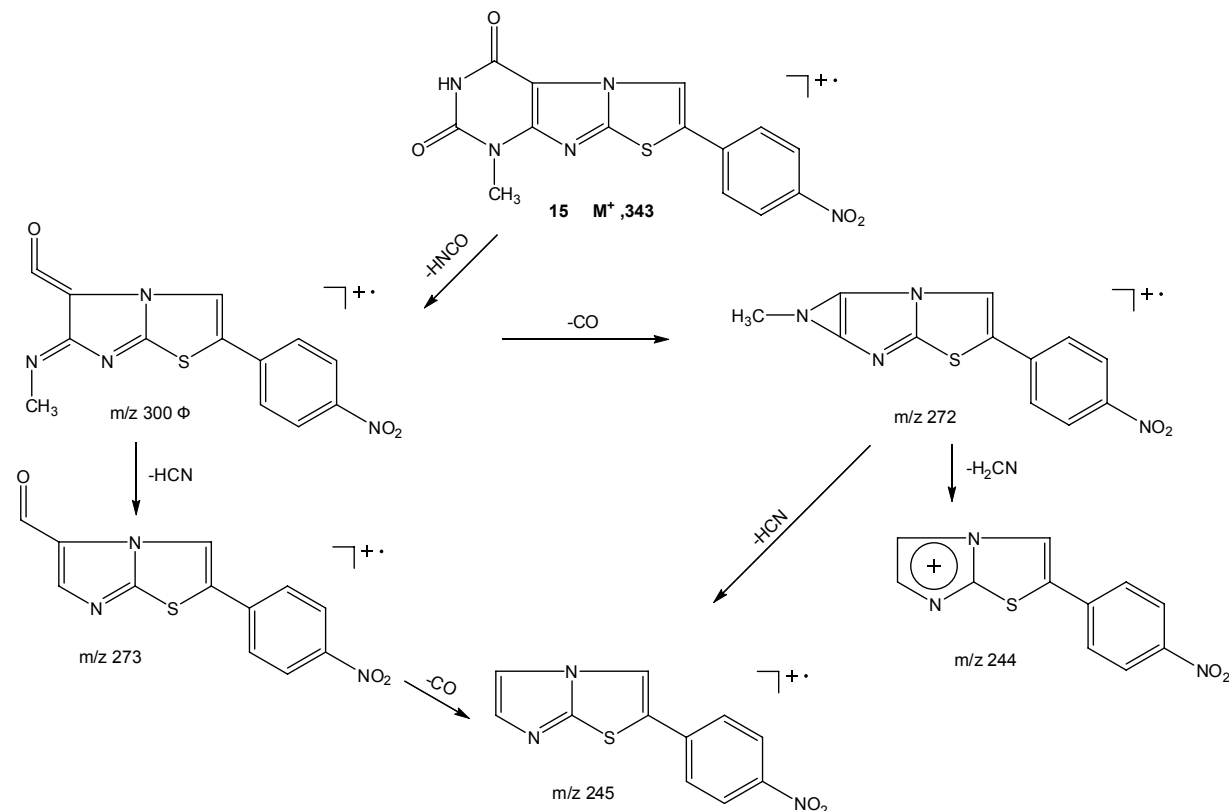


Рис. 3. Масс-распад соединения (13)

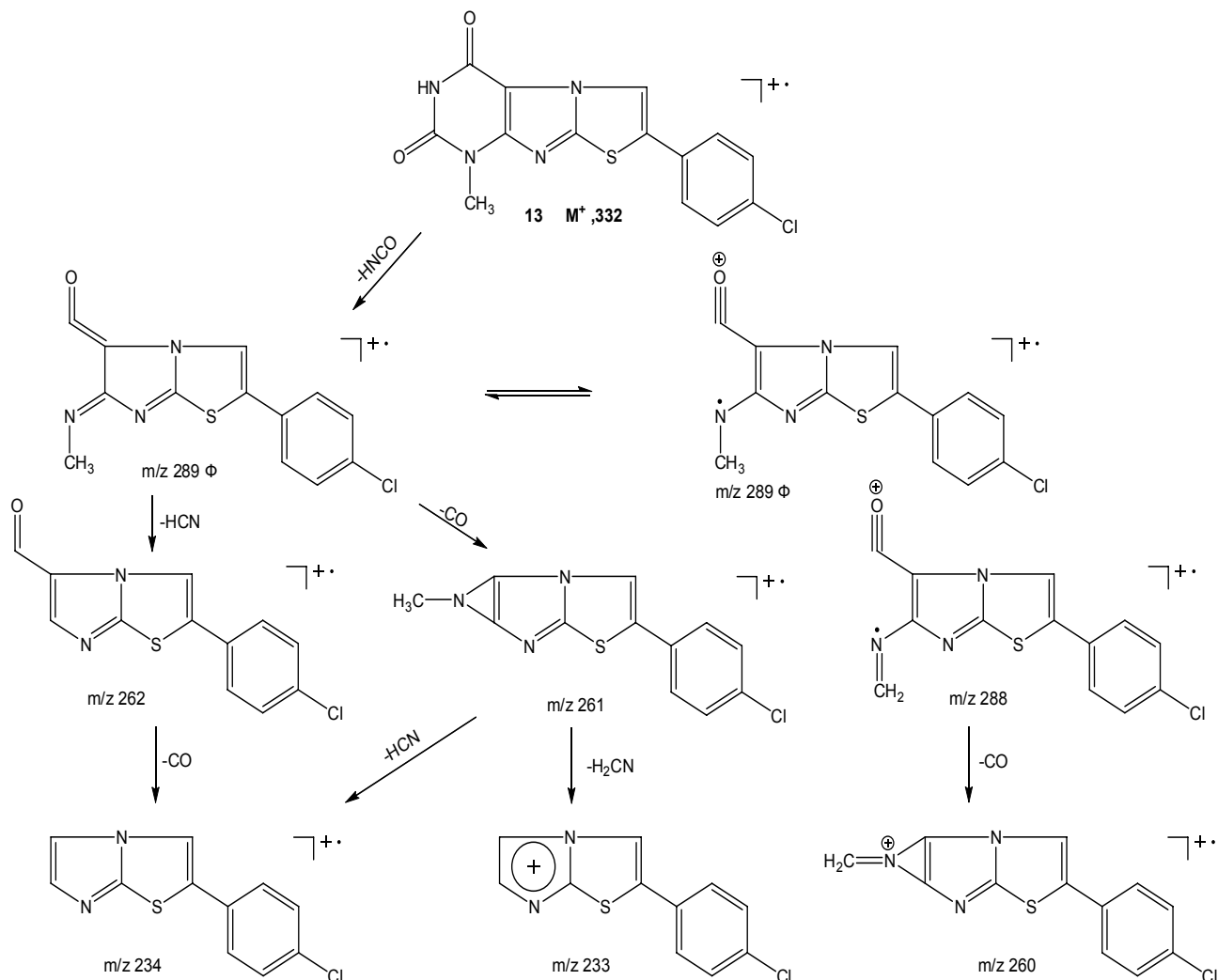
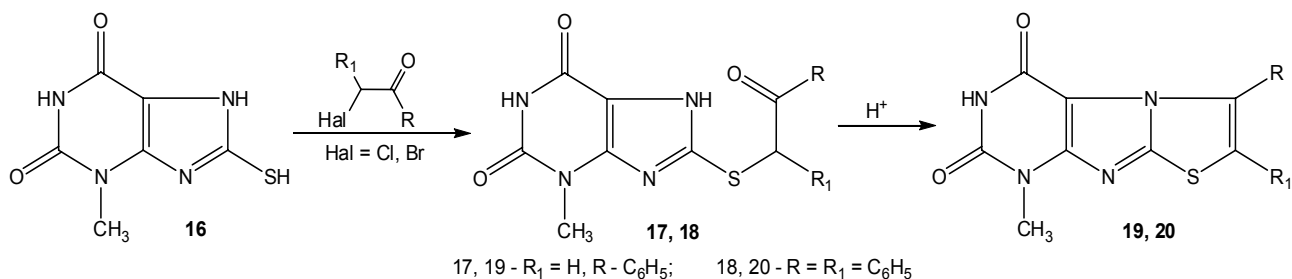


Рис. 4. Масс-распад соединения (15).

Схема 2



Выводы

1. Разработаны и усовершенствованы методы синтеза 7-арилметил-3-метил-8-тиоксантинов и производных 6Н-тиазоло[3,2-f]ксантина.
2. Изучены физико-химические свойства 2-замещенных 6Н-тиазоло[3,2-f]ксантина.

3. Предложен вероятный механизм циклизации 7-арилметил-3-метил-8-тиоксантинов в производные 6Н-тиазоло[3,2-f]ксантина.
4. Строение синтезированных соединений установлено с помощью ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии.
5. Установлено, что 6Н-тиазоло[3,2-f]ксантины проявляют актопротекторную активность.

Литература

1. *Майковский М.Д.* Лекарственные средства. / *Майковский М.Д.* // – 15-е изд. – М.: «Издательство новая волна», 2005. – 1200 с.
 2. *Самура И.Б.* Антиаритмические свойства ди- и трициклических замещенных ксантина / *И.Б. Самура, Б.А. Приймченко* // Запорож. мед. журн. – 2002. – №4. – С.69-72.
 3. *Самура И.Б.* Нейротропная активность замещенных 7-ацилалкил-8-галоген-3-метилксантина / *И.Б. Самура, Б.А. Приймченко, В.В. Дунаев* // Запорож. мед. журн. – 2002. – №6. – С.81-83.
 4. Синтез и гипополидемическая активность 7,8-дизамещенных 3-метилксантина / *Н.И. Романенко, Б.А. Приймченко, В.С. Якушев и др.* // Запорож. мед. журн. – 2004. – №3. – С.127-129.
 5. Синтез и изучение противовоспалительной активности производных триазино[3,4-f]ксантина / *Н.И. Романенко, Б.А. Приймченко, Б.А. Самура и др.* // Запорож. мед. журн. – 2004. – №5. – С.141-143.
 6. Синтез, физико-химические, биологические свойства и масс-спектрометрическое изучение некоторых производных 8-метил-6Н-тиазоло[3,4-f]ксантина / *С.Н. Гармаш, Н.А. Ключев, Н.В. Коваль, Б.А. Приймченко* // Химия гетероцикл. соединен. – 1987. – №11. – С.1534-1539.
 7. Получение 3-метил-8-бромоксантина и его алкилирование / *Б.А. Приймченко, Н.И. Романенко, С.Н. Гармаш, Н.А. Ключев* // Укр. хим. журн. – 1985. – Т. 51, №6. – С.660-663.
 8. Синтез и свойства оксазоло[3,4-f]ксантина // *С.Н. Гармаш, Н.А. Ключев, Б.А. Приймченко, Н.И. Романенко* // Химия гетероцикл. соединен. – 1988. – №4. – С.534-537.
-

Сведения об авторах:

Прийменко А.О., провизор-организатор КП «Фармация».

Кандыбей К. И., доцент каф. органической и биоорганической химии ЗГМУ.

Прийменко Б. А., д. фарм. н., профессор, зав. каф. органической и биоорганической химии ЗГМУ.

Присяник А. В., д. хим. н., профессор, зав. каф. органической химии Украинского государственного химико-технологического университета.

Адрес для переписки:

Прийменко Борис Александрович. 69035, г. Запорожье, пр. Маяковского, 26, кафедра органической и биоорганической химии ЗГМУ, тел. (0612)34-85-83, quasilife@gmail.com, тел. 066-103-17-51.
