



Д.А. Васильев, А.О. Прийменко, М.С. Казунин, Е.В. Александрова, А.С. Шкода, Б.А. Прийменко

Синтез и поиск количественных соотношений «структура-свойство» в ряду 8-алкилзамещенных 7-R-3-метил-1H-пурин-2,6(3H,7H)-диона

Запорожский государственный медицинский университет

Ключові слова: похідні 3-метилксантина, естер, гідразони.

Ключевые слова: производные 3-метилксантина, эфир, гидразоны.

Key words: derivatives of 3-methylxanthine, ester, hydrazones.

Розроблено препаративні методи отримання 3-метил-8-алкіл-3,7-дигідро-1H-пурин-2,6-діона, їх 7-заміщених та проведено *in silico* прогнозування біологічної активності.

Разработаны препаративные методики получения 3-метил-8-алкіл-3,7-дигідро-1H-пурин-2,6-діона, их 7-замещенных и проведено *in silico* прогнозирование биологической активности.

The preparative methods of obtaining of 3-methyl-8-alkyl-3,7-dihydro-1H-purine-2,6-dione and their 7-substituted derivatives were developed. The *in silico* prediction of biological activity was made.

В настоящее время практическая фармация испытывает недостаток в новых лекарственных препаратах. На сегодня фармацевтическая индустрия уделяет большое внимание разработке новых лекарственных препаратов и поиску структур-лидеров.

Интерес к химии пурина обусловлен тем, что он играет фундаментальную роль в процессах жизнедеятельности и входит в состав большого числа лекарственных препаратов. Все это обусловило стремительный рост химии пурина в последние годы [1–5].

Цель работы

Разработка препаративных методик синтеза неопианных ранее 3-метил-8-алкіл-3,7-дигідро-1H-пурин-2,6-діонов (3a,3b) и получение на их основе эфиров (4a,4b) и ацетогидразидов (5a,5b), а также получение на их основе илиденпроизводных (6a-n), изучение физико-химических свойств синтезированных соединений и прогнозирование биологической активности.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования являются 8-алкілзамещенные 3-метил-3,7-дигідро-1H-пурин-2,6-діонов (3a,3b) и их производные.

ИК-спектры сняты на приборе Bruker-ALPHA. ПМР-спектры записаны на приборе SF:500.1335 MHz, растворитель – ДМСО, внутренний стандарт – ТМС. Масс-спектры записаны на приборе MAT-311 А фирмы Varianc непосредственным вводом образца в ионный источник. Условия съемки: ускоряющее напряжение – 3 кВ, ток эмиссии катода 300 мкА, ионизирующее напряжение – 70 эВ, элементный анализ проведен на приборе ELEMENTARvarioELcube.

5,6-Диамино-1-метилпиримидин-2,4(1H,3H)-дион(2) получен по методике [1].

3-Метил-8-алкіл-3,7-дигідро-1H-пурин-2,6-діон (3a,3b)

Смесь 0,45 моль соединения 2 и 300 мл 100% соответствующей карбоновой кислоты кипятят 4 часа и охлаждают, осадок отфильтровывают, промывают эфиром, высушивают. Затем прибавляют 430 мл 2N раствора NaOH и кипятят 2,5 часа. Раствор фильтруют в горячем виде, 50% раствором H₂SO₄ показатель pH доводят до 4,0–4,5, охлаждают. Выпавший осадок соответствующего 3-метил-8-алкіл-3,7-дигідро-1H-пурин-2,6-діона отфильтровывают и сушат при 70–75°C.

3a – C₇H₈N₄O₂ Найдено, %: С 46,62; N 31,13; H 4,50. Вычислено, %: С 46,67; N 31,10; H 4,48. Т.пл. 268–270°C. Выход 85%.

3b – C₉H₁₂N₄O₂ Найдено, %: С 51,90; N 26,93; H 5,82. Вычислено, %: С 51,92; N 26,91; H 5,81. Т.пл. 316–317°C. Выход 85%.

7-Замещенные 3-метил-8-алкіл-3,7-дигідро-1H-пурин-2,6-діона (4a,4b)

Смесь 0,111 моль соединения 3a или 3b нагревают 30 минут с гидрокарбонатом натрия в 150 мл ДМФА, затем прибавляют 0,13 моль этилхлороацетата и кипятят 2,5 часа. Реакционную смесь охлаждают, выливают в 150 мл воды и отфильтровывают образовавшиеся осадки.

4a – C₁₁H₁₄N₄O₄ Найдено, %: С 49,60; N 21,06; H 5,33. Вычислено, %: С 49,62; N 21,04; H 5,30. Т.пл. 154–155°C. Выход 86%.

4b – C₁₃H₁₈N₄O₄ Найдено, %: С 53,03; N 19,06; H 6,17. Вычислено, %: С 53,05; N 19,04; H 6,16. Т.пл. 231–232°C. Выход 92%.

7-Ацетогидразиды 3-метил-8-алкіл-3,7-дигідро-1H-пурин-2,6-діона (5a, 5b)

Смесь 0,056 моль соединения 4a или 4b растворяют в изопропиловом спирте и добавляют 0,28 моль (14 мл) гидразингидрата и кипятят 30 минут. Реакционную смесь охлаждают, осадок отфильтровывают, промывают водой и сушат при 70–75°C.

5a – C₉H₁₂N₆O₃ Найдено, %: С 42,85; N 33,34; H 4,81. Вычислено, %: С 42,86; N 33,32; H 4,80. Т.пл. > 360°C. Выход 86%.

5b – C₁₁H₁₆N₆O₃ Найдено, %: С 47,13; N 29,96; H 5,77. Вычислено, %: С 47,14; N 29,98; H 5,75. Т.пл. > 360°C. Выход 92%.

Илиденпроизводные гидразидов 3-метил-8-алкіл-3,7-дигідро-1H-пурин-2,6-діона (6a-n, табл. 1)

Смесь 0,006 моль соединения 5a или 5b и 0,006 моль соответствующего альдегида в 30 мл 70% уксусной кислоты кипятят 1 час, охлаждают. Осадок отфильтровывают, промывают этанолом, эфиром, сушат.

Результаты и их обсуждение

Продолжая исследования [1–6], проведено восстановление 6-амино-1-метил-5-нитрозопиримидин-2,4(1H,3H)-диона (1) Na₂S₂O₄, что привело к получению

Таблица 1

№	Брутто-формула	Найдено, % // Вычислено, %				Т.пл., °С	Выход, %
		C	N	H	Br		
6a	C ₁₈ H ₂₀ N ₆ O ₅	54.01 54,00	20.97 20,99	5.03 5,03		312-313	93
6b	C ₁₆ H ₁₆ N ₆ O ₄	53.95 53,93	23.56 23,58	4.53 4,53		309-310	94
6c	C ₁₆ H ₁₅ N ₇ O ₅	49.87 49,87	25.45 25,44	3.91 3,92		> 300 с разл	90
6d	C ₂₀ H ₁₈ N ₆ O ₄	59.10 59,11	20.68 20,68	4.44 4,46		319-320	92
6e	C ₁₈ H ₂₁ N ₇ O ₃	56.37 56,39	25.59 25,57	5.51 5,52		303-304	93
6f	C ₁₇ H ₁₄ BrN ₇ O ₄	44.34 44,36	21.32 21,30	3.08 3,07	17.36 17,36	324-325	91
6g	C ₁₇ H ₁₅ N ₇ O ₄	53.53 53,54	25.73 25,71	3.94 3,96		> 300 с разл	90
6h	C ₁₉ H ₁₉ N ₇ O ₄	55.75 55,74	23.97 23,95	4.66 4,68		> 300 с разл.	92
6i	C ₁₉ H ₁₈ BrN ₇ O ₄	46.75 46,73	20.06 20,08	3.73 3,72	16.37 16,36	314-315	94
6j	C ₂₀ H ₂₅ N ₇ O ₃	58.39 58,38	23.85 23,83	6.14 6,12		253-254	93
6k	C ₂₂ H ₂₂ N ₆ O ₄	60.84 60,82	19.35 19,34	5.11 5,10		> 300 с разл	95
6l	C ₁₈ H ₁₉ N ₇ O ₅	52.32 52,30	23.70 23,72	4.62 4,63		> 300 с разл	90
6m	C ₁₈ H ₂₀ N ₆ O ₄	56.22 56,24	21.88 21,86	5.23 5,24		283-284	92
6n	C ₂₀ H ₂₄ N ₆ O ₅	56.05 56,07	19.63 19,62	5.64 5,65		264-265	90

5,6-диамино-1-метилпиримидин-2,4(1H,3H)-диона (2), путем последующих превращений которого синтезированы соединения (3a,3b) и их производные (4a,4b, 5a, 5b, 6a-n).

Для достижения поставленной цели необходимо было обосновать предполагаемый механизм реакции получения 8-R-замещенных 3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-диона (3a,b). В связи с этим, проведен квантово-химический расчет зарядов 5,6-диамино-1-метилпиримидин-2,4(1H,3H)-диона (2) по методу Хюккеля. Исходя из полученных данных, на азоте в положении 5 соединения (2) сосредоточен заряд (-0.117069), а на азоте – в положении 6 (-0.0611194), в связи с этим, образование промежуточного амида протекает по аминогруппе, находящейся в пятом положении, а затем идет циклизация под действием 2,5n раствора NaOH с образованием 8-R-замещенных 3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-диона (3a,b, рис. 1).

В связи с тем, что в соединениях (3a,3b) имеются несколько реакционных центров N₁,N₇, N₉, необходимо было провести расчеты зарядов по Хюккелю, чтобы определить направленность реакции алкилирования 8-R-замещенных 3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-диона (3a,3b) этилхлороацетатом.

Исходя из данных квантовохимических расчетов (3a,3b), в соединении 3a на пиррольном атоме азота в положении 7 сосредоточен заряд (+0.349869), а на N₁ (+0.313135), N₉ (-0.553982), в соединении (3b) N₇ (+0.353306), а на N₁ (+0.312486), N₉ (-0.559127). Соответственно, можно сделать вывод, что в соединениях (3a, 3b) наиболее высокий NH-кислотный центр находится в положении 7 имидазольного кольца, и реакция алкилирования в ДМФА в присутствии NaHCO₃ будет протекать, в первую очередь, по N₇ с образованием соединений (4a, 4b; рис. 2).

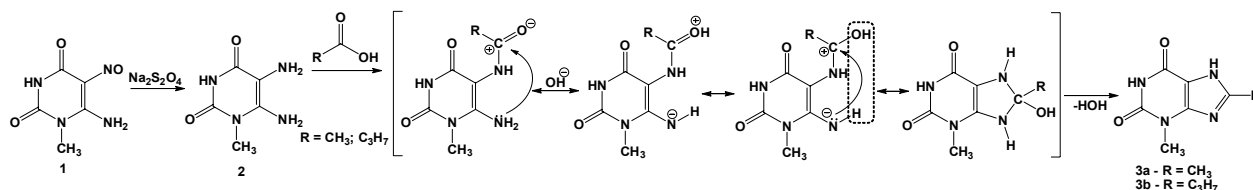


Рис. 1. Схема предполагаемого механизма получения соединения (3a,b).

Нагревание (4a,4b) с избытком гидразингидрата в изопропиловом спирте реализуется образованием гидразидов (5a, 5b; *рис. 3*). Взаимодействие гидразидов с различными альдегидами в водной уксусной кислоте приводит к получению илиденпроизводных (6a-n; .).

Строение синтезированных соединений 2(a,b)-6(a-n) подтверждено данными элементного анализа, ИК-, ПМР-спектроскопии и масс-спектрометрии.

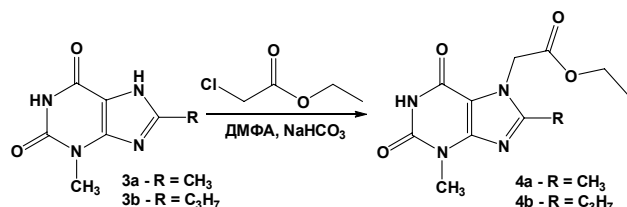


Рис. 2. Схема синтеза 3-метил-8-алкил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-дионов (4a, 4b).

В ИК-спектрах (4–6) наблюдаются характерные полосы поглощения валентных колебаний соответствующих функциональных групп. Данные ИК-спектроскопии приведены в *таблице 2*.

В ПМР-спектре 3,8-диметил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-диона (3a) фиксируются следующие сигналы: синглет протонов метильной группы C8-CH₃ при 2,34 м.д., синглет протонов метильной группы, находящейся в 3-м положении (N3-CH₃) при 3,32 м.д., также зафиксирован сигнал протона урацилового фрагмента (N1-H) при

10,94 м.д. и протона имидазольного фрагмента (N7-H) при 13,07 м.д.

В масс-спектрах соединений (3a, 3b) фиксируются пики молекулярных ионов *m/z* 180 (3a), *m/z* 208 (3b), которые соответствуют брутто-формулам C₇H₈N₄O₂ (3a), C₉H₁₂N₄O₂ (3b). Под действием электронного удара (3a) наблюдается фрагментация урацилового фрагмента: ионы с *m/z* 152 [M-CO]⁺ *m/z* 137 [M-HNCO]⁺ *m/z* 109 [M-HNCO, -CO]⁺ *m/z* 82 [Ф-HCN]⁺. Необходимо отметить, что имидазольный цикл устойчив к действию электронного удара (*рис. 4*). Аналогично протекает масс-распад соединения (3b). Данные масс-спектрометрии убедительно подтверждают строение (3a, 3b).

Для выявления признаков биологической активности проведен анализ синтезированных илиденпроизводных гидразидов 3-метил-8-алкил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-диона по «правилу пяти» Липинского. Показатели logP, молекулярной массы, количества Н доноров находятся в пределах допустимых значений, но наличие в структуре илиденпроизводных 10-ти и более акцепторов водорода не соответствует указанному правилу. Это может вызвать ухудшение биодоступности данных соединений в организме.

Для оценки распределения лекарственных препаратов по организму также проведен анализ коэффициента распределения (logP), который характеризует транспорт вещества через мембраны, его взаимодействие с био-

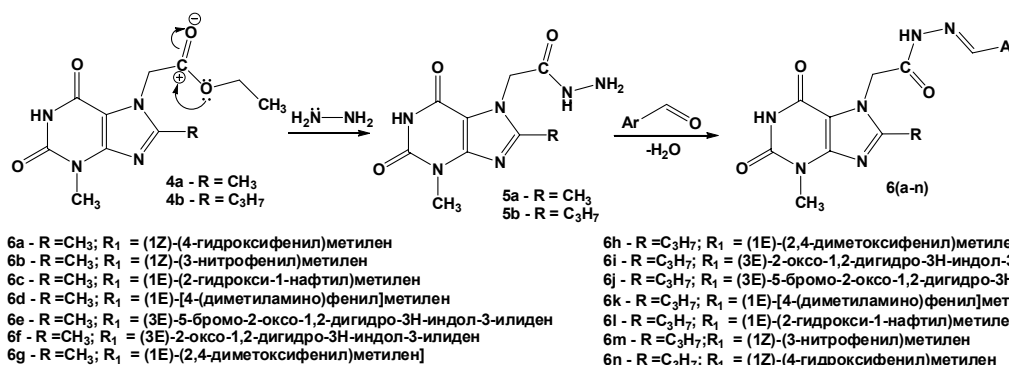


Рис. 3. Схема синтеза соединений (5a, 5b) и 6(a-n)

Таблица 2

Данные ИК спектров соединений (3–6)

№	ν C=O	ν N-H кольцо	ν C=C; C=N кольцо	Прочие полосы
3a	1700-1670	3300	1660-1600; 1690-1640	
3b	1700-1670	3320	1600	CH ₃ 1400 δ
4a	1700	3300	1660-1600; 1690-1640	
4b	1700	3300	1660-1600; 1690-1640	
5a	1700	3300	1660-1600; 1690-1640	NH ₂ 3400-3300 δ
5b	1700	3300	1660-1600; 1690-1640	NH ₂ 3400-3300 δ
6g	1700	3300	1660-1600; 1690-1640	CH _{3(аром)} 1475 δ
6h	1700	3300	1660-1600; 1690-1640	CH _{3(аром)} 1475 δ

Таблица 3

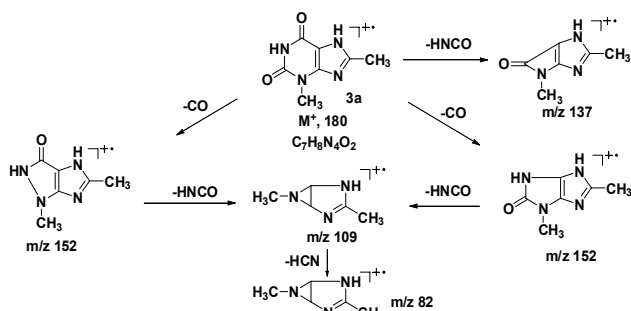


Рис. 4. Схема фрагментации соединения (3а) под действием электронного удара.

логическими рецепторами и ферментами, токсичность и биологическую активность.

Гидрофобность вещества (липофильность) оценивается на основании расчета логарифма коэффициента распределения вещества в двухфазной системе н-октанол–вода logP. Наименьшую липофильность имеет соединение 6n (logP=-0,91), наибольшую – 6k (logP=2,62). Таким образом, среди описанных соединений наибольшую вероятность проницаемости клеточной мембраны имеет соединение 6к (табл. 3).

Для синтезированных илиденпроизводных с помощью *in silico* прогнозирования (программа PASS, Pa>50%) найдены новые виды фармакологической активности. Все полученные вещества с вероятностью от 65% до 72% проявили себя как модуляторы цитокинов (что дает возможность предположить проявление стимулирующего влияния на процессы иммунитета [7–8]). Соединения с радикалом пропил в 8 положении проявляют более низкую активность. Наибольшую активность показало соединение 6f2-(3,8-диметил-2,6-диоксо-1,2,3,6-тетрагидро-7Н-пурин-7-ил)-N'-(3Е)-2-оксо-1,2-дигидро-3Н-индол-3-илиден]ацетогидразид.

№	logP	Молекулярная масса	Н Доноров	Н Акцепторов	Правило 5-ти
6a	2.01e-2	400,39	2	11	1
6b	2.56e-3	356,34	2	12	1
6c	0.16	385,33	3	10	1
6d	1.56	406,39	3	10	1
6e	0.42	383,40	2	10	1
6f	-0.14	460,24	3	11	1
6g	-0.91	381,35	3	11	1
6h	0.15	409,40	3	11	1
6i	0.92	487,06	3	11	1
6j	1.48	411,46	2	10	1
6k	2.62	434,45	3	10	1
6l	1.22	413,39	2	12	1
6m	1.07	384,39	3	10	1
6n	1.04	428,44	2	11	1

Выводы

1. Разработаны новые препаративные методики синтеза 3-метил-8-алкил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-диона и его производных.

2. На основе *in silico* прогнозирования биологической активности полученных соединений выявлены наиболее подходящие структуры для *ex vivo* фармакологических исследований.

3. Установлено тонкое химическое строение синтезированных соединений с помощью ИК-, ПМР-спектроскопии и масс-спектрометрии.

Литература

1. Масс-спектрометрическое изучение некоторых 7-моно- и 7б8-дизамещенных и конденсированных производных 3-метилксантина / [Б.А. Прийменко, Д.В. Свентух, А.О. Прийменко и др.] // Журнал орг. та фарм. хімії. – 2006. – Т. 4, вип. 1 (13). – С. 70–79.
2. Синтез, строение и физико-химические свойства 1-метил-7,8-дигидро-1Н-пирроло[1,2-f]пурин-2,4,6(3Н)-триона и некоторых его производных / [М.С. Казунин, А.О. Прийменко, Д.А. Васильев, Б.А. Прийменко] // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2011. – №1. – С. 89–92.
3. Синтез, физико-химические свойства 3-(3-метилксантинил-8) пропановой кислоты и некоторых ее производных / [М.С. Казунин, А.О. Прийменко, Д.А. Васильев, Б.А. Прийменко] // Запорозький медичинський журнал. – 2010. – №3. – С. 103–107.
4. Синтез, физико-химические свойства и масс-спектрометрическое изучение некоторых производных

- 8-меркапто-3-метил-3,7-дигидро-1Н-пуридиндиона-2,6 / [А.О. Прийменко, К.И. Кандыбай, Н.И. Гнатов и др.] – Запорозький медичинський журнал. – 2010. – №4. – С. 90–98.
5. Изучение химических и биологических свойств производных 3-метил-8-гидразиноксантинов / [Б.А. Прийменко, Н.И. Романенко, Т.А. Переверзьева и др.] // Пути повышения эффективности фарм. науки и практики: Сб. научн. тр. Запорозького мед.ин-та. – Запорозьке, 1991. – С. 289-291.
6. Synthesis of novel 1-alkyl-8-substituted-3-(3-methoxypropyl) xanthines as putative A2B receptor antagonists / [M.I. Nieto, M.C. Baló, J. Breacet. al.] // Bioorganic & Medicinal Chemistry. – 2009. – Vol. 17, Iss. 9.
7. Oppenheim J.J. Cytokines: past, present, and future / Oppenheim J.J. // Int J Hematol. – 2001. – №74. – P. 3–8.
8. Ottersberg S. Modulation of cytokine expression by traditional medicines: a review of herbal immunomodulators / Ottersberg S., Tenborg M. // Alternative Medicine Review. – 2006. – June 1.

Сведения об авторах:

Васильев Д.А., ст. лаборант каф. органической и биоорганической химии ЗГМУ.

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

Казунин М.С., ассистент каф. органической и биоорганической химии ЗГМУ.

Александрова Е.В., д. хим. н., профессор, зав. каф. биологической химии и лабораторной диагностики ЗГМУ.

Шкода А.С., ст. преподаватель каф. органической и биоорганической химии ЗГМУ.

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

Адрес для переписки:

Прийменко Борис Александрович. 69035, г. Запорозьке, пр-т Маяковского, 26, каф. органической и биоорганической химии ЗГМУ. Тел.: (061) 34 85 83.