



Д.Г. Іванченко¹, М.І. Романенко¹, Б.А. Самура², А.В. Таран², В.І. Корнієнко³

Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 1,8-дизаміщених теоброміну. II. 1-*n*-хлоробензил-8-амінотеоброміни

¹Запорізький державний медичний університет,

²Національний фармацевтичний університет, м. Харків,

³Харківська зооветеринарна академія

Ключові слова: теобромін, синтез, ПМР-спектроскопія, біологічна дія.

Ключевые слова: теобромин, синтез, ПМР-спектроскопия, биологическая активность.

Key words: theobromine, synthesis, NMR-spectroscopy, biological activity.

Розроблено прості лабораторні методи синтезу 8-аміно-1-*n*-хлоробензилтеобромінів – потенційних біологічно активних речовин. Вивчено їх ПМР-спектроскопічні характеристики та біологічну дію.

Разработаны простые лабораторные методы синтеза 8-амино-1-*n*-хлоробензилтеоброминов – потенциальных биологически активных соединений. Изучены их ПМР-спектроскопические характеристики и биологическая активность.

A simple laboratory methods for the synthesis of 8-amino-1-*p*-chlorobenzyltheobromines – potential biologically active compounds was developed. NMR-spectroscopic characteristics and biological activity of mentioned above compounds were studied.

Широкий спектр біологічної дії та відпрацьовані шляхи метаболізму природних ксантинів привернули увагу дослідників ще у ХХ сторіччі. Хімічна модифікація ксантинового ядра дозволила створити цілий ряд нових похідних з різноманітною біологічною дією. Так, синтетичні похідні можуть бути використані в якості імуносупресорів, протиасматичних, протидіабетичних, гіпоглікемічних, діуретичних, аналгетичних, протизапальних засобів [1–6]. Також раніше показано перспективність пошуку біологічно активних сполук серед похідних теоброміну з аналгетичною, діуретичною та антиоксидантною активністю [7,8]. Отже, створення нових сучасних препаратів, що мають різноманітні біологічні властивості, є актуальним і перспективним напрямком.

Мета роботи

Розробка простих лабораторних методів синтезу 8-аміно-1-*n*-хлоробензилтеобромінів і вивчення гострої токсичності, діуретичної, аналгетичної, протизапальної й антиоксидантної активності синтезованих сполук.

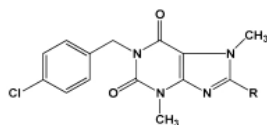
Матеріали і методи дослідження

Температуру плавлення визначали відкритим капілярним способом на приладі ПТП (М). Елементний аналіз виконано на приладі ElementarVarioLcube, ПМР-спектри знято на спектрометрі BrukerSF-400 (робоча частота 400 МГц, розчинник ДМСО-*d*6 або ДМСО-*d*6 + CDCl₃, внутрішній стандарт – ТМС).

Аналітичні дані синтезованих сполук наведено в таблицях 1, 2.

Таблиця 1

Величини хімічного зсуву в ПМР-спектрах 8-амінопохідних 1-*n*-хлоробензилтеоброміну (2-5)



Сполука	R	δ-шкала, м.ч.						
		CH _{аром}	C ⁸ NH	N ¹ CH ₃ (с, 2H)	N ⁷ CH ₃ (с, 3H)	N ⁸ CH ₃ (с, 3H)	NCH ₂	Інші сигнали
2		7,33-7,23 (м, 4H)	6,62 (д, 1H)	4,96	3,56	3,37	3,65 (м, 1H)	2,0-1,6 (м, 5H) – αCH ₂ ; 1,4-1,1 (м, 5H) – βCH ₂
3		7,31-7,23 (м, 9H)	7,52 (т, 1H)	4,97	3,62	3,36	4,54 (д, 2H)	–
4		7,36-7,25 (м, 9H)	–	5,00	3,77	3,40	4,48 (д, 2H)	2,90 (с, 3H) – NCH ₃
5		7,33-7,23 (м, 5H)+βCH піридину	7,60 (т, 1H)	4,96	3,61	3,37	4,54 (д, 2H)	8,56 (с, 1H)–αCH; 8,42 (д, 1H)–αCH; 7,73 (д, 1H) – γCH.

Таблиця 2

Фізико-хімічні характеристики синтезованих сполук (2–5)

Сполука	T _{плавл} , °C	Знайдено, %			Емпірична формула	Вирахувано, %			Вихід, %
		C	H	N		C	H	N	
2	171-172	60,05	6,28	17,15	C ₂₀ H ₂₄ ClN ₅ O ₂	59,77	6,02	17,43	71
3	219-220	61,24	5,25	16,79	C ₂₁ H ₂₀ ClN ₅ O ₂	61,54	4,92	17,09	71
4	111-112	62,60	5,02	16,75	C ₂₂ H ₂₂ ClN ₅ O ₂	62,34	5,23	16,52	71
5	243-244	58,77	5,01	20,18	C ₂₀ H ₁₉ ClN ₆ O ₂	58,47	4,66	20,45	69

Синтез 8-аміно-1-п-хлоробензилтеобромінів (2–5)

Суміш 0,01 моль 8-бромо-1-п-хлоробензилтеоброміну (1), 0,03 моль відповідного аміну, 30 мл целосольву кип'яють 3 години, охолоджують, розводять водою, осад, що утворився, відфільтровують, промивають водою, водним пропанолом-2 та перекристалізують з водного етанолу.

Молекулярні дескриптори розраховували за допомогою комп'ютерних програм ALOGPS і DRAGON.

Гостру токсичність синтезованих сполук вивчено за методом Кербера [9] у дослідах на білих мишах вагою 18–24 г.

Вивчення діуретичної дії отриманих сполук проводили за методом Є.Б. Берхіна [10]. Синтезовані сполуки вводили внутрішньоочеревинно в дозі 1/20 ЛД₅₀ у вигляді 3–5% тонкої водної суспензії, стабілізованої твіном-80 за 30 хв до водного навантаження. У якості еталону порівняння використовували гідрохлортиазид у дозі 25 мг/кг.

Анальгетичну дію синтезованих ксантинів вивчено на білих щурах вагою 160–210 г з використанням моделі «оцтових корців», що викликають внутрішньоочеревинним введенням 0,75% розчину оцтової кислоти в дозі 1/20 ЛД₅₀ залежно від маси тіла. Протизапальну дію вивчено на білих щурах на моделі гострого асептичного набряку, викликаного субплантарним введенням у задню лапку щура 0,1 мл 1% розчину карагеніну [11]. У якості еталону порівняння використовували диклофенак натрію та анальгін у дозах 8 мг/кг і 25 мг/кг відповідно.

Антиоксидантну активність (АОА) вивчали *in vitro* методом неферментного ініціювання вільнорадикального окислення [12,13].

Дані з біологічної дії похідних 8-амінозаміщених 1-бензилтеобромінів наведено в таблиці 3.

Результати та їх обговорення

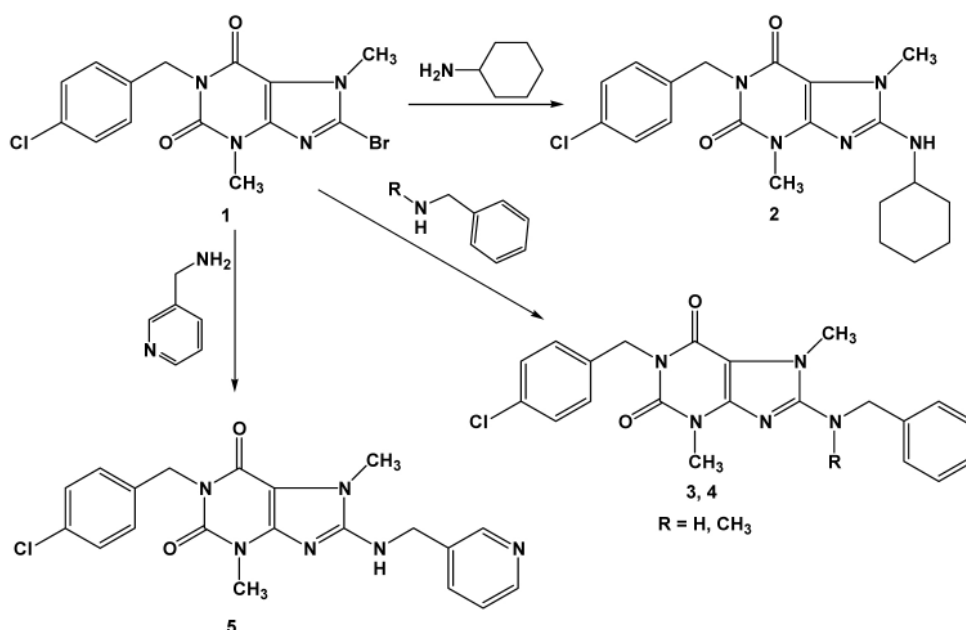
Взаємодією 8-бромо-1-п-хлоробензилтеобромінів (1) [7] з первинними та вторинними амінами в середовищі 2-етоксіетанолу отримано ряд неописаних раніше 8-N-циклогексил(2)-, 8-N-бензил(3, 4)-, та 8-N-(піридин-3-іл)метил(5)-аміно-1-п-хлоробензилтеобромінів (схема 1).

Для доведення будови синтезованих сполук використано метод ПМР-спектроскопії. Як видно з наведених у таблиці 1 даних, сигнали ароматичних протонів бензильного залишку реєструють у вигляді мультиплетів в інтервалі 7,36–7,23 м.ч. відповідної інтенсивності. Сигнали ароматичних протонів піридинового залишку фіксують у слабшому полі у вигляді синглету при 8,56 м.ч. (αCH), дублетів при 8,42 м.ч. (αCH) та 7,73 м.ч. (γCH). Сигнал піридинового протону в β-положенні реєструється разом з ароматичними протонами 1-п-хлоробензильного залишку, про що свідчить їх інтенсивність (5H). Метиленові протони бензильного залишку в положенні 1 резонують у досить вузькому інтервалі (5,0–4,96 м.ч.). Протони метильних груп, зв'язаних з атомами нітрогену в положеннях 3 та 7 ксантинової молекули, фіксують у вигляді інтенсивних синглетів при 3,36–3,40 м.ч. та 3,56–3,77 м.ч. відповідно. Наявність залишку аміну у положенні 8 підтверджують сигнали відповідної форми та інтенсивності (табл. 1). Протони NH-групи в положенні 8 реєструють у вигляді дублету при 6,62 м.ч. (2)

Таблиця 3

Біологічна дія 8-амінопохідних 1-п-хлоробензилтеоброміну (2-5)

Сполука	ЛД ₅₀ (M±m), мг/кг	Діуретична активність за 4 год, % до контролю	Анальгетична активність, %	Протизапальна активність, %	АОА, %		
					C = 10 ⁻³ моль/л	C = 10 ⁻⁵ моль/л	C = 10 ⁻⁷ моль/л
2	486,1±19,2	128,1	5,6	25,0	77,5	2,5	7,5
3	256,3±13,2	110,8	9,4	12,7	68,0	-46,0	-52,0
4	310,0±13,1	117,8	11,3	17,2	-74,0	-34,0	-52,0
5	420,1±18,3	108,1	–	19,7	61,3	-13,1	-19,4
Контроль	–	100	–	–	–	–	–
Гідрохлортиазид	–	169,8	–	–	–	–	–
Диклофенак натрію	–	–	45,8	42,7	–	–	–
Анальгін	–	–	44,3	42,0	–	–	–
Аскорбінова кислота	–	–	–	–	60,87	39,13	76,09
Тіотріазолін	–	–	–	–	33,90	22,60	7,63



Таблиця 4

Значення молекулярних дескрипторів синтезованих сполук (2–5)

Сполука	М, Да	Кількість			LogP	TPSA, Å ²	Молекулярна рефракція, м ³ /моль
		Атомів	Донорів Н ⁺	Акцепторів Н ⁺			
2	402	52	1	3	4,04±0,52	73,85	109,431
3	410	49	1	3	3,78±0,32	73,85	113,031
4	424	52	0	3	4,08±0,41	65,06	117,265
5	411	48	1	4	2,63±0,33	86,74	110,874

та триплетів при 7,52 м.ч. (3) та 7,60 м.ч. (5). Викладене однозначно підтверджує будову синтезованих сполук.

Попередньо здійснено розрахунки індексу Ліпінські, що для всіх синтезованих сполук дорівнює 0 (табл. 4), а отже отримані речовини відповідають вимогам «правил п'яти» [14]. Як видно з наведених даних, значення полярної поверхні та молекулярної рефракції відповідають критеріям Гхоша [15], що показує доцільність подальших досліджень.

Надалі використано програму PASS для SAR предикції [16]. Встановлено, що синтезовані речовини є перспективними діуретичними засобами (вірогідність – 60,7–75,0%).

Дослідження *in vitro* показали, що всі сполуки (за винятком 8-N-бензилметиламінопохідного (4)) за показником АОА в концентрації 10⁻³ моль/л перевищують еталони порівняння. Зі зменшенням концентрації для сполук 3–5 відзначено прооксидантну активність.

Гостра токсичність синтезованих сполук – у межах 256,3–486,1 мг/кг, тобто вони належать до помірно та малотоксичних речовин.

Аналізуючи показники діуретичної, протизапальної та анальгетичної активності (табл. 3), можна констату-

вати, що синтезовані сполуки поступаються еталонам порівняння. Слід зазначити, що остаточні висновки про перспективність чи безперспективність пошуку сполук з протизапальною, діуретичною, знеболюючою дією серед 8-аміно-1-*n*-хлоробензилтеобромінів можна буде зробити після додаткових досліджень. Тим більше, раніше [8] встановлено, що введення фурил-2-метиламінового замісника в положення 8 призводить до значного посилення діурезу, підвищення показників АОА та протизапальної дії.

Робота в даному напрямку триває.

Висновки

Розроблено доступні лабораторні методи синтезу 8-*R*-аміно-1-*n*-хлоробензилтеобромінів, будову яких доведено даними елементного аналізу, ПМР-спектроскопії.

Для прогнозування біологічних властивостей отриманих речовин використано методи молекулярного моделювання.

Вивчено гостру токсичність, анальгетичну, діуретичну, протизапальну та антиоксидантну дію синтезованих сполук, встановлено пріоритети для подальшого пошуку біологічно активних сполук.

Список літератури

1. Пат. 18109А Україна, МПК А61К 31/52, С07D 473/00. 2-(2-Гідрокси-5-бромбензиліден)-6-метил-2,3-дигідротіазоло-(3,2-А)пуридин-3,5, що має діуретичну та нейролептичну активність / М.І. Романенко, Б.О. Прийменко, Н.І. Пономаренко [та ін.] – № 94032884; заявл. 22.03.94; опубл. 01.07.97, Бюл. №5.
2. Pat. 7253176 B1 USA, IntCl. A61K 31/519. Immunosuppressive effect of 8-substituted xanthine derivative / M.J.A. Waeg, P.A.M.M. Herdewijn, W.E. Pfeiderer. – № 09/564200; заявл. 04.05.2000; опубл. 07.08.07. – 15 p.
3. Pat. 2008/0081816 A1 USA, A 61 K 31/522, C 07 D 473/04. Anti-inflammation activity of newly synthesized xanthine derivatives KMUP-1 and KMUP-3 / Ing-JunChen, Bin-NanWu, Jwu-LaiYeh. – appl. №11/538236, date of patent Apr. 3, 2008.
4. Pat. 2009/0209561 A1 USA, A 61 K 31/522, C 07 D 473/04. Xanthine derivative with HM74A receptor activity / R.J.D Hatley, I.L. Pinto. – appl. №11/577763, date of patent Aug. 20, 2009.
5. Pat. 2009/0131432 A1 USA, A 61 K 31/522, C 07 D 473/04. Xanthine derivatives, their preparation and their use in pharmaceutical compositions / F. Himmelsbach, E. Langkopf, M. Eckhardt et al. – appl. №12/355011, date of patent May 21, 2009.
6. Синтез та біологічні властивості 8-амінозаміщених 7-β-гідрокси-γ-(3' метилфенокси)пропіл-3-метилксантину / О.С. Шкода, М.І. Романенко, І.Б. Самура [та ін.] // Вісник фармації. – 2007. – №1 (49). – С. 3–8.
7. Пат. № 21412 Україна, МПК С07D 473/00. 1-п-Хлорбензил-8-(піридиніл-3')метиліденгідразинотеобромін, який виявляє антиоксидантну дію / Д.Г. Іванченко, М.І. Романенко, Р.В. Жмурін, І.Ф. Беленічев, Г.М. Милосердова – № u200610204 ; заявл. 25.09.06 ; опубл. 15.03.07, Бюл. №3 .
8. Пат. № 38873 Україна, МПК С07D 473/00. 8-N-(фурил-2) метиламіно-1-п-хлорбензилтеобромін, який виявляє діуретичну, протизапальну і антиоксидантну дію / Д.Г. Іванченко, М.І. Романенко, Б.А. Самура, Н.В. Крісанова – № u200809552; заявл. 21.07.08; опубл. 26.01.09, Бюл. №2 .
9. Гацура В.В. Методы первинного фармакологического исследования биологически активных веществ / В.В. Гацура. – М.: Медицина, 1974. – 144 с.
10. Берхин Е.Б. Методы изучения действия новых химических соединений на функцию почек / Е.Б. Берхин // Хим.-фармац. журн. – 1977. – Т. 11, №5. – С. 3–11.
11. Тринус Ф.П. Методы скрининга и фармакологического изучения противовоспалительных, анальгезирующих и жаропонижающих средств: Метод. реком. / Ф.П. Тринус, В.М. Клебанов, Н.А. Мохарт. – К.: Здоров'я, 1974. – 27 с.
12. 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. Erdelmeir, J. Chaudiere, J. Yadan. – appl. №702197, date of patent Mar. 10, 1998.
13. Беленічев І.Ф. Методи оцінки антиоксидантної активності речовин при ініціюванні вільно-радикальних процесів у дослідах in vitro: метод. реком. / І.Ф. Беленічев, Ю.І. Губський, В.В. Дунаєв, С.І. Коваленко. – К.: ДФЦ МОЗ України, 2002. – 26 с.
14. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings / Ch.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy, P.J. Feeney // Adv. Drug Del. Rev. – 2001. – №46. – P. 3–26.
15. Ghose A.K. A Knowledge-Based Approach in Designing Combinatorial or Medicinal Chemistry Libraries for Drug Discovery. 1. A Qualitative and Quantitative Characterization of Known Drug Databases / A.K. Ghose, V.N. Viswanadhan, J.J. Wendoloski // J. Comb. Chem. – 1999. – №1. – P. 55–68.
16. Geronikaki A. Computer-aided prediction for medicinal chemistry via the Internet / A. Geronikaki, D. Druzhilovsky, A. Zakharov, V. Poroikov // SAR QSAR Environ. Res. – 2008. – №19 (1–2). – P. 27–38

Відомості про авторів:

Іванченко Д.Г., к. фарм. н., асистент каф. біохімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.

Романенко М.І., д. фарм. н., професор каф. біохімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.

Самура Б.А., д. фарм. н., професор, зав. каф. фармакоterapiї НФаУ.

Таран А.В., к. фарм. н., доцент каф. фармакоterapiї НФаУ.

Корнієнко В.І., зав. каф. фармакології та токсикології Харківської зооветеринарної академії.

Адреса для листування:

Іванченко Дмитро Григорович. 69035, м. Запоріжжя, пр-т Маяковського, 26, каф. біологічної хімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.

Тел.: (0612) 34 24 42.

E-mail: ivanchenkodima@yandex.ru

Надійшла в редакцію 15.03.2012 р.