

М. С. Казунин, Б. А. Прийменко, Е. С. Пругло

Синтез, физико-химические и биологические свойства производных 3-(7-R-3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1H-пурин-8-ил)пропановой кислоты

Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова: острая токсичность, ксантин, гипохолестеринемическая активность.

Разработали препаративные методы синтеза производных 3-(7-R-3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1H-пурин-8-ил)пропановой кислоты, изучили показатели острой токсичности, а также гипотриглицеридемический и гипохолестеринемический виды активности.

Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 3-(7-R-3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1H-пурин-8-ил)пропанової кислоти

М. С. Казунін, Б. О. Прийменко, Є. С. Пругло

Розробили препаративні методи синтезу похідних 3-(7-R-3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1H-пурин-8-ил)пропанової кислоти, вивчили показники гострої токсичності, а також гіпотригліцеридемічний й гіпохолестеринемічний види активності.

Ключові слова: гостра токсичність, ксантин, гіпохолестеринемічна активність.

Synthesis, physicochemical and biological properties of 3-(7-R-3-methyl-2,6-dioxo-2,3,6,7-tetrahydro-1H-purin-8-yl)propanoic acid derivatives

M. S. Kazunin, B. O. Priyenko, Ye. S. Pruglo

The methods of synthesis of derivatives 3-(7-R-3-methyl-2,6-dioxo-2,3,6,7-tetrahydro-1H-purin-8-yl)propanoic acid were described in presented article. The indicators of acute toxicity as well as lipid-lowering and cholesterol-lowering types of activity were studied.

Key words: acute toxicity, xanthine, cholesterol-lowering activity.

Исследования, посвященные целенаправленному синтезу биологически активных веществ на основе природных ксантинов (теофиллин, теобромин, кофеин), привели к созданию высокоэффективных лекарственных средств, которые широко используются в медицинской практике. Многие производные ксантина находят применение в профилактике и лечении воспалительных заболеваний, иммунных расстройств, септического шока, нарушений кровообращения и желудочно-кишечных воспалений, для лечения астмы и заболеваний, связанных с нежелательным ангиогенезом [4–7]. Синтез различных производных N₁-, N₇-, а также 8-замещенных 3-метилпуридина-2,6 (ксантина) – перспективное направление для поиска новых веществ, которые могут найти применение в медицине и фармации.

Цель работы

Поиск новых биологически активных соединений среди производных ксантина и установление закономерности между исследуемой биологической активностью и особенностями их химического строения.

Материалы и методы исследования

ИК-спектры полученных соединений 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-311A фирмы Varian с непосредственным вводом образца в ионный источник. Условия съемки: ускоряющее напряжение – 3 кВ, ток эмиссии катода – 300 мкА, ионизирующее напряжение – 70 эВ. Температуру плавления определяли капиллярным способом на приборе ПТП (М). Данные элементного анализа синтезированных 7,8-дизамещенных 3-метилксантина на содержание азота соответствуют расчетным ($\pm 0,3\%$).

Экспериментальная часть

Синтез исходных 3-(3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1H-пурин-8-ил)пропановой кислоты (I) и 1-метил-7,8-дигидро-1H-пирроло[1,2-f]пурин-2,4,6(3H)-триона (II) описан ранее [1–3].

Синтез 3-(7-R''-3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1H-пурин-8-ил)пропанойл хлорида (III)

К 2,38 г (0,01 моль) карбоновой кислоты приливают 30 мл SOCl₂ и нагревают суспензию на песчаной бане при температуре 100°C в течение 5 часов. Отгоняют под вакуумом водоструйного насоса избыток SOCl₂ и используют вещество без дополнительной очистки.

Синтез 3-(7-R''-3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1H-пурин-8-ил)пропангидразидов (IVa, b)

К 50 мл диоксана приливают 10 мл гидразид гидрата и медленно присыпают 2,5 г (0,01 моль) хлорангидрида кислоты. Суспензию интенсивно перемешивают в течение 10 минут, а затем кипятят в течение 1 часа. Отделяют осадок, промывают водой, сушат. Для очистки гидразидов их переосаждают уксусной кислотой из 1N раствора NaOH.

Синтез 3-(7-R''-3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1H-пурин-8-ил)-N-R-пропанамидов (Va-i)

2,56 г (0,01 моль) хлорангидрида кислоты (I) растворяют в 30 мл уксусной кислоты и приливают 0,03 моль соответствующего амина. Кипятят раствор в течение 3 часов. При охлаждении выделяется кристаллический осадок, который отфильтровывают, промывают водой, сушат. Амиды (Va-i) кристаллизуют из водного раствора диоксана.

Синтез N'-арилден-3-(7-R''-3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1H-пурин-8-ил)пропангидразидов (VIa-i)

0,01 моль соответствующего гидразида кислоты растворяют в 100 мл 50% раствора уксусной кислоты при нагревании. В раствор добавляют 0,01 моль карбониль-

ного соединения и кипятят 1 час. Отфильтровывают осадок, промывают водой и сушат.

Синтез 8-(2-(1H-бензо[d]имидазол-2-ил)R)-7-R''-3-метил-1H-пурин-2,6(3H,7H)-диона (VII)

К 2,3 г (0,01 моль) карбоновой кислоты добавляют 1,1 г (0,01 моль) 1,2-диаминобензола и 50 мл 4N раствора HCl. Нагревают до растворения и кипятят 3 часа. При охлаждении выпадает кристаллический осадок гидрохлорида, его отделяют, растворяют в 100 мл горячей воды. При добавлении водного раствора аммиака выпадает свободное основание замещенного бензимидазола. Осадок отфильтровывают, промывают водой и сушат. Для очистки вещество кристаллизуют из водного раствора диоксана.

Строение полученных соединений подтверждено данными ИК- и ЯМР-спектроскопии. Так, в ИК-спектрах всех соединений присутствуют максимумы поглощения характерные для ксантинового фрагмента молекулы и для всех функциональных групп, находящихся в структуре.

В ЯМР-спектрах описанных соединений фиксируются однопротонные синглеты имидазольного N₇H (13,10–13,20 м.д.) и урацилового N₁H (10,93–12,20 м.д.) фрагментов. В циклическом амиде II отмечено отсутствие протона имидазольного фрагмента. В соединениях VI (a-l) обнаружены сигналы азометинового фрагмента -CH=N- (7,56–7,93 м.д.) Наличие ароматического кольца в соединениях IVa, Vb-Ve, Vi, VI (a-l) подтверждается мультиплетным сигналом в области 7,47–6,97 м.д. У всех синтезированных соединений в спектре обнаружены

сигналы метиленовых групп при 2,72–2,88 м.д. Данные ЯМР анализа представлены в *таблице 1*.

Таблица 1

ЯМР-спектры синтезированных веществ

Вещество	¹ H ЯМР, δ м.д.
II	11.28 (с, 1H), 3.37 (д, J = 15.5 Hz, 1H), 3.13 (д, J = 10.2, 6.6 Hz, 1H)
VII	13.22 (с, 1H N ₇ H), 12.15 (с, 1H N ₁ H), 10.85 (с, 1H N ₁ H), 7.74 – 7.29 (м, 1H аром), 7.25 – 6.83 (м, 1H аром), 3.40 (с, 3H), 3.33 – 3.18 (м, 1H N-CH ₃)
IVa	10.87 (с, 1H, N ₇ H), 2.80 (т, 2H, C ₈ CH ₂); 3.38 (с, 3H, N ₃ CH ₃); 5.56 (с, 2H, N ₂ CH ₂); 7.31-7.19 (м, 5H, CH аром), 5.88 (с, 2H, NH ₂); 9.10 (с, 1H, NH-NH ₂)
IVb	13.14 (с, 1H N ₇ H), 12.28 (с, 1H N ₁ H), 3.41 (с, 3H, N ₃ CH ₃), 5.86 (с, 2H, NH ₂); 9.05 (с, 1H, NH-NH ₂)
VIf	13.14 (с, 1H N ₇ H), 12.28 (с, 1H N ₁ H), 3.41 (с, 3H, N ₃ CH ₃), 11.15 (с, 1H NH), 2.76 (т, 2H), 2.95 (т, 2H), 7.31-7.19 (м, 5H, CH аром)
Vh	13.12 (с, 1H N ₇ H), 10.93 (с, 1H N ₁ H), 3.57 – 3.00 (м, 9H), 2.88 (дд, J = 5.1 Hz, 2H CH ₂), 2.72 (дт, J = 7.4 Hz, 2H CH ₂), 1.25 – 1.07 (м, 1H), 1.00 (т, J = 7.1 Hz, 1H)
Va	13.13 (с, 1H N ₇ H), 12.20 (с, 1H N ₁ H), 10.94 (с, 1H NH), 3.33 – 3.17 (м, 6H), 2.97 – 2.81 (м, 2H CH ₂), 2.75 (т, J = 7.2 Hz, 1H), 2.69 (т, J = 7.3 Hz, 1H), 1.19 (т, J = 7.5 Hz, 1H CH ₂), 1.14 (т, J = 7.2 Hz, 1H CH ₂), 1.00 (т, J = 7.1 Hz, 1H CH ₂)

Синтез производных 3-(7-R-3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1H-пурин-8-ил)пропановой кислоты приведен на *схеме 1*, а физические свойства указанных веществ представлены в *таблице 2*.

Схема 1

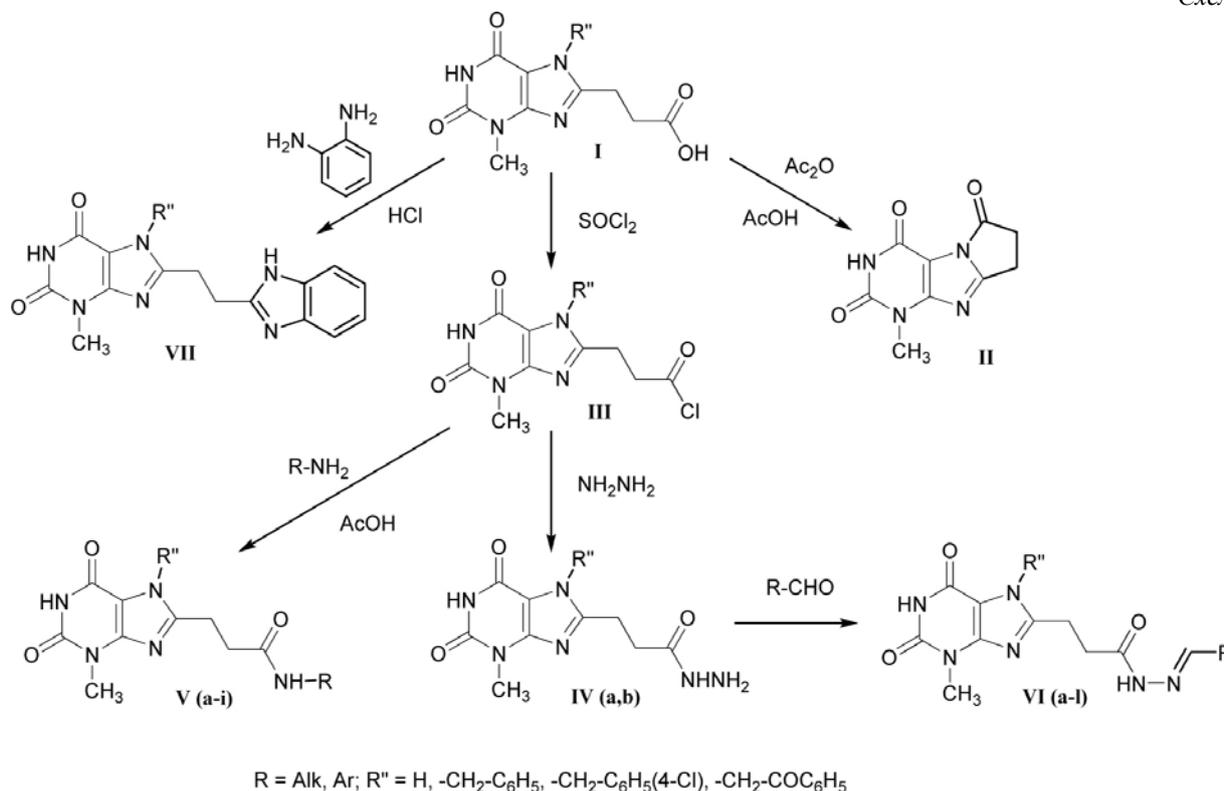
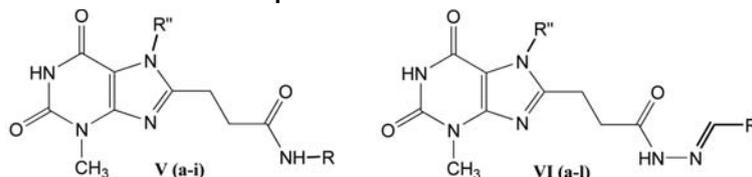


Таблица 2

Физические свойства производных 3-(7-*R*-3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1Н-пурин-8-ил) пропановой кислоты

№	R	R''	T пл.	Выход, %	Эмпирическая формула
IVa	-	-CH ₂ -C ₆ H ₅	235-238	62	C ₁₆ H ₁₈ N ₆ O ₃
IVb	-	H	350 разл	84	C ₉ H ₁₂ N ₆ O ₃
II	-	-	291-293	81	C ₉ H ₈ N ₄ O ₃
VII	-	H	330 разл	55	C ₁₅ H ₁₄ N ₆ O ₂
Va	-CH ₂ -CH ₂ -OH	H	273-275	89	C ₁₁ H ₁₅ N ₅ O ₄
Vb	-C ₆ H ₅ (4-F)	H	286-288	80	C ₁₅ H ₁₄ FN ₅ O ₃
Vc	-C ₆ H ₅ (2-CF ₃)	H	294-295	85	C ₁₆ H ₁₄ F ₃ N ₅ O ₃
Vd	-C ₆ H ₅ (2,6-CH ₃)	H	283-285	80	C ₁₇ H ₁₉ N ₅ O ₃
Ve	-C ₆ H ₅ (2-CH ₃)	H	279-281	81	C ₁₆ H ₁₇ N ₅ O ₃
Vf	-CH ₂ -COOH	H	250 разл	57	C ₁₁ H ₁₃ N ₅ O ₅
Vg	-CONH ₂	H	300 разл	55	C ₁₀ H ₁₂ N ₆ O ₄
Vh	-N(C ₂ H ₅) ₂	H	270-272	83	C ₁₃ H ₁₉ N ₅ O ₃
Vi	-C ₆ H ₅ (2,6-CH ₃)	-CH ₂ -C ₆ H ₅	218-220	35	C ₂₄ H ₂₉ N ₅ O ₃
VIa	-C ₆ H ₅ (4-NO ₂)	H	300 разл	97	C ₂₀ H ₁₇ N ₇ O ₆
VIb	-C ₆ H ₅ (2-OH-3-OCH ₃ -5-C ₃ H ₆)	H	273-275	41	C ₂₀ H ₂₂ N ₆ O ₅
VIc	-C ₆ H ₅ (3-OCH ₃ -4-OH-5-I)	H	291-295	79	C ₁₇ H ₁₇ IN ₆ O ₅
VId	-C ₆ H ₅ (3-OCH ₃ -4-OH-5-NO ₂)	H	274-279	94	C ₁₇ H ₁₇ N ₇ O ₇
VIe	-C ₆ H ₅ (3-OCH ₃ -4-OH)	H	271-273	72	C ₁₇ H ₁₈ N ₆ O ₅
VI f	-C ₆ H ₅	H	260-262	56	C ₁₆ H ₁₆ N ₆ O ₃
VIg	-C ₆ H ₅ (4-N(CH ₃) ₂)	H	280 разл	40	C ₁₈ H ₂₁ N ₇ O ₃
VIh	-C ₆ H ₅ (4-N(CH ₃) ₂)	-CH ₂ -COC ₆ H ₅	219-222	45	C ₂₆ H ₂₇ N ₇ O ₄
VII	-C ₅ H ₈	-CH ₂ -C ₆ H ₅	255-257	95	C ₂₁ H ₂₄ N ₆ O ₃
VIj	-C ₅ H ₈	-CH ₂ -C ₆ H ₅ (4-Cl)	234-236	91	C ₂₁ H ₂₃ ClN ₆ O ₃
VIk	-C ₆ H ₅ (4-NO ₂)	-CH ₂ -C ₆ H ₅ (4-Cl)	250-252	67	C ₂₃ H ₂₀ ClN ₇ O ₅
VII	-C ₆ H ₅ (4-N(CH ₃) ₂)	-CH ₂ -C ₆ H ₅ (4-Cl)	240-242	66	C ₂₅ H ₂₆ ClN ₇ O ₃

Результаты и их обсуждение

С целью изучения токсикологических свойств соединений, производных ксантина, необходимо было определить степень выраженности их повреждающего действия на организм экспериментальных животных и оценить их безопасность.

При изучении острой токсичности выбрали табличный экспресс-метод по В.Б. Прозоровскому. В основе метода – использование полученных веществ в дозах, которые

размещены по логарифмической шкале с интервалом 0,1, а все возможные достоверные результаты ЛД₅₀ и их погрешности рассчитывают предварительно по программе пробит-анализа. Для эксперимента брали по две крысы линии Вистар массой 220–280 г для исследования одной дозы соединения, предварительно взвешенных и помеченных спиртовым раствором фуксина и бриллиантового зеленого. Показатели острой токсичности полученных веществ представлены в таблице 3.

Таблица 3

Показатели острой токсичности синтезированных веществ

Вещество	ЛД ₅₀						
IVa	485±11	Vc	421±72	Vi	490±46	VI f	306±42
IVb	458±14	Vd	266±45	VIa	450±35	VIg	450±54
II	263±26	Ve	166±16	VIb	485±11	VIh	225±18
VII	566±68	Vf	263±26	VIc	309±29	VII	243±56
Va	661±64	Vg	284±34	VId	192±41	VIj	246±23
Vb	382±82	Vh	306±70	VIe	496±66	VIk	357±43
						VII	250±43

В результате исследования острой токсичности установили, что ЛД₅₀ синтезированных веществ находятся в пределах 661–166 мг/кг и относятся к IV классу токсичности. Амиды формул Vd, Ve, имеющие в своем остатке арильные группы, проявляют большую токсичность, чем соединения, содержащие алкильные заместители. Циклический амид II проявляет умеренную токсичность в пределах 263±26 мг/кг. Производное бензимидазола VII, а также амид Va, содержащий гидроксиэтильный фрагмент, оказались наименее токсичными.

Для обнаружения потенциальных соединений с гипотриглицеридемической и гипохолестеринемической активностью среди производных ксантина использована модель Yousafzai-Siddiqi [8]. В течение 5 дней взрослым крысам-самцам линии Вистар массой 220–280 г вводили атерогенную смесь (холестерин в дозе 40 мг/кг с масляным 0,125% раствором эргокальциферола в дозе 350 000 Ед/кг) зондово перорально. Водную суспензию производных ксантинов вводили животным через 1 час после приема атерогенной смеси. На пятый день после очередного введения животных оставляли без корма. На шестой день животных наркотизировали диэтиловым эфиром, выполняли лапаротомию с обнажением брюшной аорты. Кровь центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 минут. В сыворотке определяли содержание триглицеридов и холестерина ферментативным методом. Для эксперимента использовали по 7 животных для исследования 1 вещества, предварительно взвесив и пометив спиртовым раствором фуксина и бриллиантового зеленого. Соединения вводили в виде водной суспензии жестким зондом интрагастрально. В качестве контроля вводили атерогенную смесь с дистиллированной водой. Эталон сравнения – аторвастатин в дозировке 10 мг/кг. Данные о гипотриглицеридемической и гипохолесте-

ринемической активности полученных веществ представлены в *таблице 4*.

Таблица 4

Показатели гипотриглицеридемической и гипохолестеринемической активности

Вещество, шифр	Уровень триглицеридов, ммоль/л, М±m	Соотношение по сравнению с контролем, Δ%	Уровень холестерина, ммоль/л, М±m	Соотношение по сравнению с контролем, Δ%
Vla	2,27±0,127	13,34	2,53±0,116	-10,41
Vf	2,28±0,153	13,98	2,04±0,152	-27,79
Vlg	1,57±0,055	-21,47	2,32±0,048	-17,99
Vh	1,55±0,048	-22,82	2,12±0,078	-25,06
Аторвастатин	1,76±0,099	-12,34	1,91±0,201	-32,54
Контроль	2,00±0,035	100	2,83±0,030	100

Анализ полученных данных показывает, что соединения Vlg на 21,47% и Vh на 22,82% снижают уровень триглицеридов, превосходя при этом эталон сравнения аторвастатин. Об общем уровне холестерина можно сказать, что исследуемые группы соединений в условиях эксперимента снижали его на 10–27%. Так, вещества Vf и Vh снижают его уровень на 27,79% и 25,06% соответственно.

Выводы

Разработаны препаративные методы синтеза гидразидов, амидов, гидразонов производных 3-(7-R-3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1Н-пурин-8-ил)пропановой кислоты, описаны их физико-химические характеристики. Изучены показатели острой токсичности синтезированных веществ, а также гипотриглицеридемическая и гипохолестеринемическая виды активности.

Список литературы

1. Синтез, физико-химические и биологические свойства производных 2-((3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1Н-пурин-8-ил)-метилтио)алкановых кислот / Приймєнко А.О., Казунин М.С., Васильев Д.А., та ін. // Ліки – людині: Мат. XXVIII всеукр. науково-практ. конф. з міжнародною участю. – Харків, 2011. – С. 336–341.
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. Приймєнко, Д.А. Васильев, Б.А. Приймєнко // Акт. питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2011. – Вип. XXIV, №1. – С. 89–92.
3. Синтез, физико-химические свойства 3-(3-метилксантинил-8)пропановой кислоты и некоторых ее производных / М.С. Казунин, А.О. Приймєнко, Д.А. Васильев, Б.А. Приймєнко. // Запорож. мед. журн. – 2010. – №3 (12). – С. 103–107.
4. Синтез и гипотриглицеридемическая активность 7,8-дизамещенных 3 метилксантина / Н.И. Романенко, Б.А. Приймєнко, В.С. Якушев и др. // Запорож. мед. журн. – 2004. – №3. – С. 127–129.
5. Pat. US 7495004 B2 Int. Cl. C07D 473/04. A61K 31/522. Purine derivatives as liver X receptor agonists / Boggs et al. – Заявл. 20.05.2003; Оpubл. 24.02.2009.
6. Pat. US 6,437,124 Appl. No.: 09/872,546; C07D 473/00 (20060101). Substituted (1,3-bis(cyclohexylmethyl)-1,2,3,6-tetrahydro-2,6-dioxo-9H-purin-8-yl) phenyl derivatives, their preparation and their use in the treatment of inflammatory conditions and immune disorders / Daluge, et al. – Заявл. 01.06.2001; Оpubл. 20.07.2002.
7. Pat. US 6608069 Int. C17 A61K 31/522. C07D 473/06. Phenyl xanthine derivatives / Daluge et al. – Заявл. 11.08.1999; Оpubл. 19.08.2003.
8. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. О.В. Стефанова. – К.: ВД «Авіцена», 2001. – 528 с.

Сведения об авторах:

Казунин М. С., ассистент каф. органической и биоорганической химии ЗГМУ.
 Приймєнко Б. А., д. фарм. н., профессор каф. органической и биоорганической химии ЗГМУ.
 Пругло Е. С., ассистент каф. клинической фармации, фармакотерапии и УЭФ ФПО ЗГМУ.

Надійшла в редакцію 04.09.2013 р.