

Д.Г. Іванченко, М.І. Романенко, М.В. Глущенко, Г.В. Милосердова, І.Ф. Бєленічев

**СИНТЕЗ ТА ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ ДІЇ
8-АРИЛІДЕНГІДРАЗИНО-1-п-ХЛОРОБЕНЗИЛТЕОБРОМІНІВ**

Запорізький державний медичний університет

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

Синтезовано ряд похідних 8-ариліденгідразино-1-*n*-хлоробензилтеобромінів, структура яких підтверджена методом ПМР-спектроскопії. Антиоксидантна активність синтезованих сполук вивчалась методом вільнорадикального окиснення. Показана перспектива вивчення антиоксидантів в ряду похідних 8-ариліденгідразино-1-*n*-хлоробензилтеоброміну.

В патогенезі більшості серцево-судинних захворювань провідна роль належить активації оксидативного стресу з утворенням первинних та вторинних дериватів вільнорадикального окиснення ліпідів, які модифікують більшість біомолекул з утворенням, зокрема, біологічно активних речовин. Це призводить до порушення гомеостазу та потребує фармакокорекції. Тому робота із синтезу нових сполук, що виявляють антиоксидантну активність є актуальною та перспективною, особливо, серед похідних ксантину, серед яких знайдені сполуки, які виявляють значну антиоксидантну активність [1-3].

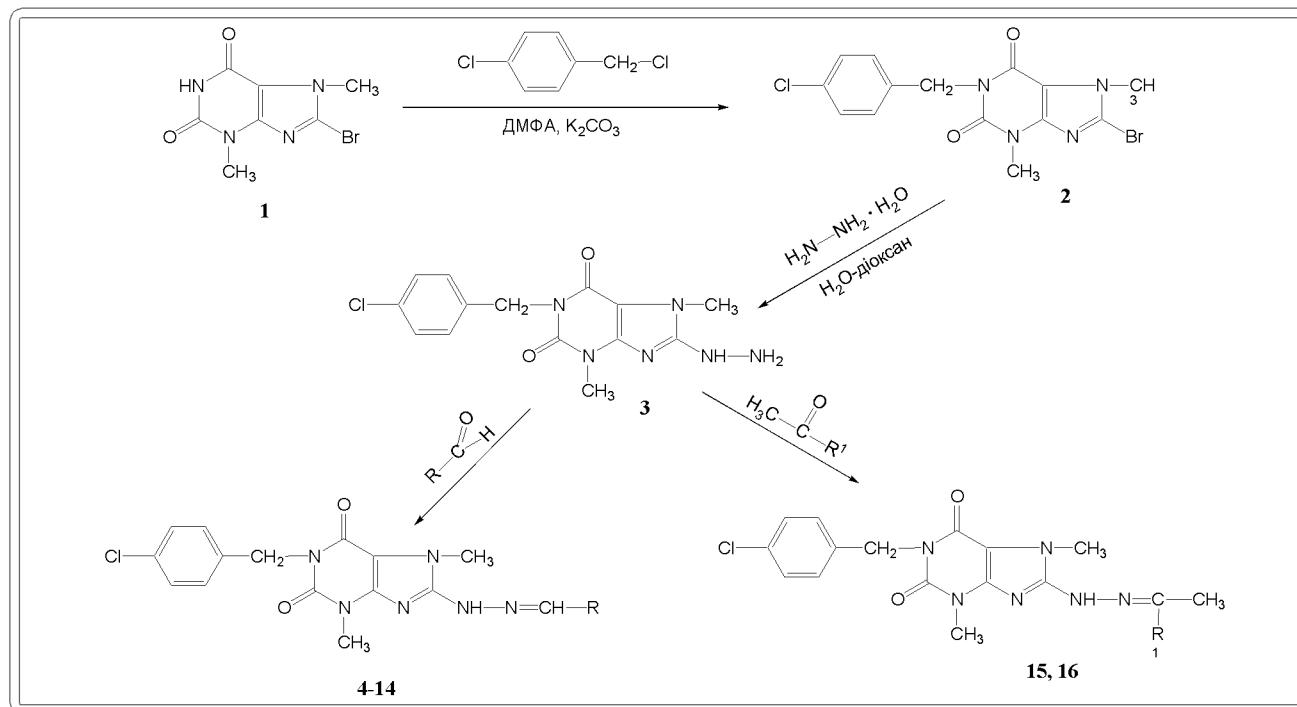
Мета даної роботи – пошук нових біологічно активних сполук антиоксидантної дії серед похідних ксантину, які в перспективі можна використати в комплексній терапії різних серцево-судинних захворювань.

У відповідності з вищевказаним нами були здійснені наступні перетворення на основі 8-бромотеоброміну (1) [4] (рис.1).

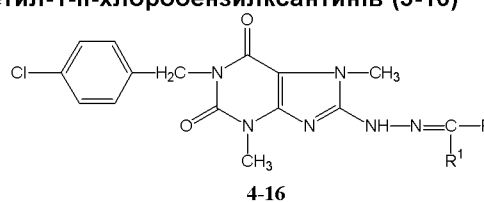
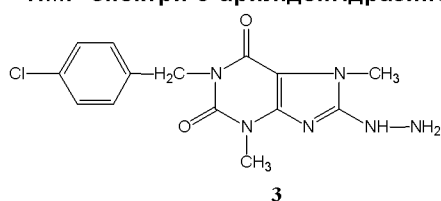
Як показано на схемі (рис.1) бензилювання 8-бро-

мотеоброміну *n*-хлоробензилхлоридом в середовищі диметилформаміду (ДМФА) в присутності безводного натрію карбонату з високим виходом веде до утворення неопisanого раніше 8-бромо-1-*n*-хлоробензилтеоброміну (2), який при нетривалому кип'ятінні, з надлишком гідрозину гідрату в суміші вода-діоксан, перетворюється на відповідний 8-гідразинотеобромін (3), на основі якого, реакцією конденсації з карбонільними сполуками (альдегіди та кетони), вперше були синтезовані відповідні 8-ариліденгідразино-1-*n*-хлоробензилзаміщені теоброміну (4-16). Останні являють собою забарвлені сполуки, нерозчинні в воді, розчинні в гарячому спирті, діоксані, ДМФА.

Будова синтезованих сполук однозначно доведена даними ПМР-спектроскопії (табл.1). Як видно з таблиці 1, в ПМР-спектрі вихідного 8-гідразинотеоброміну (3) фіксуються наступні сигнали протонів (м.ч.): 8,22 (с., 1H) – C8NH; 7,34-7,24 (кв., 4H) – CH_{аром.}; 4,97 (с., 2H) – N₁CH₂; 4,47 (пош.с., 2H) – NH₂; 3,58 (с., 3H) – N₇CH₃; 3,41 (с., 3H) – N₃CH₃, які повністю відповідають наведеній структурі. В спектрах ПМР-8-


Рис. 1 Схема синтезу 8-ариліденгідразино-1-*n*-хлоробензилтеобромінів

ПМР-спектри 8-ариліденгідразино-3,7-диметил-1-п-хлоробензилксантинів (3-16)



| № сп. | R | R ¹ | δ-шкала, м.ч. | |
|-------|--------------------------------|---|---------------------------------------|--|
| | | | NH | СНаром |
| 3 | — | — | 8,22 (пош.с., 1H) | 7,34-7,24 (кв., 4H) |
| 4 | H | C ₆ H ₄ OH-2 | 11,36 (с., 1H) | 7,47-6,81 (м., 8H) |
| 5 | H | C ₆ H ₄ OH-3 | 11,40 (с., 1H) | 7,38-6,7 (м., 8H) |
| 6 | H | C ₆ H ₄ OH-4 | 11,18 (с., 1H) | 7,45-6,75 (кв., 4H); 7,37-7,25 (кв., 4H) |
| 7 | H | C ₆ H ₃ (OH) ₂ -2,4 | 11,08 (с., 1H), 10,83 (пош.с., 1H) | 7,36-7,2 (м., 5H); 6,29-6,25 (м., 2H) |
| 8 | H | C ₆ H ₄ OCH ₃ -4 | 9,66 (пош.с., 1H) | 7,58-6,90 (кв., 4H); 7,38-7,24 (кв., 4H) |
| 9 | H | C ₆ H ₄ OCH ₃ -3 | 11,47 (с., 1H) | 7,38-6,86 (м., 8H) |
| 10 | H | C ₆ H ₄ Br | 11,51 (с., 1H) | 7,59-7,51 (кв., 4H); 7,37-7,25 (кв., 4H) |
| 11 | H | C ₆ H ₃ OCH ₃ -3-OH-4 | 11,21 (с., 1H) | 7,36-7,25 (кв., 4H); 7,18 (с., 1H); 6,98 (д., 1H); 6,76 (д., 1H) |
| 12 | H | C ₆ H ₃ (OCH ₃) ₂ -3,4 | 11,21 (с., 1H) | 7,38-7,26 (кв., 4H); 7,23 (с., 1H); 7,09 (д., 1H); 6,91 (д., 2H) |
| 13 | H | C ₆ H ₃ OH-2-Br-5 | 11,48 (с., 1H) | 7,66 (с., 1H); 7,36-7,24 (м., 5H); 6,82 (д., 1H) |
| 14 | H | C ₆ H ₃ OCH ₃ -2-Br-5 | 11,45 (с., 1H) | 7,84 (с., 1H); 7,43 (д., 1H); 7,37-7,25 (кв., 4H); 6,98 (д., 1H) |
| 15 | CH ₃ | C ₆ H ₄ OH-4 | 10,15 (с., 1H) | 7,56-7,05 (кв., 4H); 7,39-7,25 (кв., 4H) |
| 16 | CH ₃ | C ₆ H ₃ OCH ₃ | 10,25 (с., 1H) | 7,64-6,88 (кв., 4H); 7,38-7,26 (кв., 4H) |
| № сп. | δ-шкала, м.ч. | | | |
| | N ₁ CH ₂ | N=CH | NCH ₃ | Інші |
| 3 | 4,97 (с., 2H) | — | 3,58 (с., 3H); 3,41 (с., 3H) | 4,47 (пош.с., 2H) |
| 4 | 5,0 (с., 2H) | 8,34 (с., 1H) | 3,85 (с., 3H); 3,42 (с., 3H) | 10,62 (с., 1H) |
| 5 | 5,0 (с., 2H) | 7,97 (с., 1H) | 4,0 (с., 3H); 3,39 (с., 3H) | 9,3 (пош.с., 1H) |
| 6 | 5,0 (с., 2H) | 7,94 (с., 1H) | 3,98 (с., 3H); 3,41 (с., 3H) | 9,65 (пош.с., 1H) |
| 7 | 5,0 (с., 2H) | 8,22 (с., 1H) | 3,81 (с., 3H); 3,43 (с., 3H) | 9,6 (пош.с., 1H) |
| 8 | 5,0 (с., 2H) | 7,98 (с., 1H) | 3,83 (с., 3H); 3,43 (с., 3H) | 4,0 (с., 3H) |
| 9 | 5,01 (с., 2H) | 8,01 (с., 1H) | 3,81 (с., 3H); 3,42 (с., 3H) | 4,01 (с., 3H) |
| 10 | 5,0 (с., 2H) | 8,02 (с., 1H) | 3,98 (с., 3H); 3,42 (с., 3H) | |
| 11 | 5,0 (с., 2H) | 7,92 (с., 1H) | 3,84 (с., 3H); 3,41 (с., 3H) | 9,15 (пош.с., 1H); 3,99 (с., 1H) |
| 12 | 5,02 (с., 2H) | 7,98 (с., 1H) | 3,8 (с., 3H); 3,42 (с., 3H) | 4,02 (с., 3H); 3,72 (с., 3H) |
| 13 | 5,0 (с., 2H) | 8,3 (с., 1H) | 3,87 (с., 3H); 3,43 (с., 3H) | 10,77 (с., 1H) |
| 14 | 5,0 (с., 2H) | 8,34 (с., 1H) | 3,88 (с., 3H); 3,43 (с., 3H) | 3,95 (с., 3H) |
| 15 | 5,01 (с., 2H) | — | 3,99 (с., 3H); 3,42 (с., 3H) | 9,48 (с., 1H); 2,25 (с., 3H) |
| 16 | 5,02 (с., 2H) | — | 3,88 (с., 3H); 3,43 (с., 3H) | 4,02 (с., 3H); 2,26 (с., 3H) |

ариліденпохідних (4-16) реєструються всі сигнали протонів синтезованих сполук у відповідному полі з відповідною інтенсивністю.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ХІМІЧНА ЧАСТИНА

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

Синтез 8-бромо-1-п-хлоробензилтеоброміну (2)

Суміш 51,8 г (0,2 моль) 8-бромтеоброміну (1), 36 мл (0,21 моль) *n*-хлорбензилхлориду, 24,0 г (0,22 моль) безводного Na₂CO₃, 300 мл диметил-формаміду кип'ячать 5,5 годин, фільтрують, фільтрат охолод-

жують, осад відфільтровують, промивають водою та кристалізують із водного діоксану.

Синтез 8-гідразино-1-п-хлоробензилтеоброміну (3)

Суміш 3,83 г (0,01 моль) 8-бромо-1-п-хлоробензилтеоброміну (2), 4 мл гідразингідрату, 20 мл води, 40 мл діоксану кип'ячать 3 години, додають 40 мл води, розчин охолоджують, осад, що утворився, відфільтровують, промивають водою, ізопропіловим спиртом, ефіром та кристалізують із водного діоксану.

Синтез 8-ариліденгідразино-1-п-хлоробензилтеобромінів (4-16)

При нагріванні розчиняють 1,3 г (4 ммоль) 8-гідразинотеоброміну (3) у суміші 15 мл води, 15 мл ізоп-

ропілового спирту та 10 крапель концентрованої НСІ. До отриманого розчину додають 5 ммоль відповідного альдегіду чи кетону. Кип'ячать 10-15 хвилин, охолоджують, осад відфільтровують, промивають водою, 50% розчином пропанолу-2, ефіром, сушать.

Дані про сполуки 2-16 наведені в таблиці 2.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА БІОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

Антиоксидантну активність (АОА) вивчали *in vitro* методом неферментного ініціювання вільнорадикального окиснення [5]. 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 вільнорадикального окиснення ініціюють додаванням 25 мМ розчину FeSO₄·7H₂O. Суміш інкубують 60 хвилин при 37°C. Реакцію зупиняють 50% розчином трихлороцтової кислоти з трилоном Б. Після центрифугування протягом 30 хвилин до розчину тіобарбітурової кислоти (ТБК) додають надосадову рідину і кип'ячать 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 вільнорадикального окиснення. Антиоксидантну активність (у відсотках) визначали за формулою:

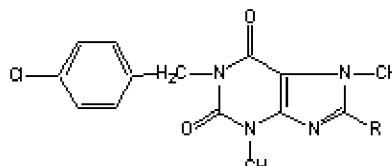
$$AOA = \left(\frac{C_{k1} - C_0}{C_{k1} - C_{k2}} \right) 100\%, \text{ де}$$

C_{k1}, C_{k2} – вміст ТБК-реактивів у контрольних пробах, моль/л;

C₀ – вміст ТБК-реактивів у дослідній пробі, моль/л.

Таблиця 2

Характеристика синтезованих сполук (2-16)



| № сп. | Емпірична формула | T _{топл.} , °C | Вихід, % |
|-------|---|-------------------------|----------|
| 2 | C ₁₄ H ₁₂ BrClN ₄ O ₂ | 210-1 | 95,3 |
| 3 | C ₁₄ H ₁₅ ClN ₆ O ₂ | 220-1 | 91,2 |
| 4 | C ₂₁ H ₁₉ ClN ₆ O ₃ | 253-4 | 85,2 |
| 5 | C ₂₁ H ₁₉ ClN ₆ O ₃ | 245-6 | 79,5 |
| 6 | C ₂₁ H ₁₉ ClN ₆ O ₃ | 254-5 | 90,9 |
| 7 | C ₂₁ H ₁₉ ClN ₆ O ₄ | 283-4 | 87,9 |
| 8 | C ₂₂ H ₂₁ ClN ₆ O ₃ | 236-8 | 83,3 |
| 9 | C ₂₂ H ₂₁ ClN ₆ O ₃ | 230-2 | 83,3 |
| 10 | C ₂₁ H ₁₈ BrClN ₆ O ₂ | 242-3 | 75,0 |
| 11 | C ₂₂ H ₂₁ ClN ₆ O ₄ | 234-6 | 90,4 |
| 12 | C ₂₃ H ₂₃ ClN ₆ O ₄ | 237-9 | 88,1 |
| 13 | C ₂₁ H ₁₈ BrClN ₆ O ₃ | 243-5 | 77,3 |
| 14 | C ₂₂ H ₂₀ BrClN ₆ O ₃ | 231-3 | 30,5 |
| 15 | C ₂₂ H ₂₁ ClN ₆ O ₃ | 227-9 | 88,9 |
| 16 | C ₂₃ H ₂₃ ClN ₆ O ₃ | 221-2 | 80,2 |

Дані АОА похідних 3-метил-7-п-хлорбензил-8-гідразіноксантину (3-16) наведено в таблиці 3.

Як видно із наведених в таблиці 3, майже всі сполуки в концентрації 10⁻³ моль/л виявляють антиоксидантну дію, яка становить 57,25%-94,29%. Сполуки 5,9,11,12, які в концентрації 10⁻³ моль/л мають досить високі показники антиоксидантної дії, із зменшенням концентрації змінюють дію на протилежну – прооксидантну. Найбільш високу антиоксидантну дію в концентраціях 10⁻³ моль/л виявляють сполуки 3 (91,57%), 13 (94,29%), 15 (94,29%), які за хімічною структурою є іліденопохідними. У вказаній концентрації ці сполуки більш активні ніж еталони порівняння – аскорбінова кислота та тіотриазолін. Сполуки 13,15 після додаткових досліджень можуть бути впроваджені в медичну практику в якості антиоксидантних препаратів.

На основі отриманих даних можна сказати, що наявність гідрокси-, метоксигруп та атома бром, які знаходяться у спряженні з метиліденовою групою у положенні 8 ксантинової молекули, призводить до зростання антиоксидантних показників.

Раніше нами була вивчена АОА іліденопохідних 8-гідразіно-1-п-метилбензилтеоброміну, чим було дове-

Таблиця 3

Антиоксидантна активність 8-ариліденгідразіно-1-п-хлоробензилксантинів

| № сп. | М.м | С, моль/л | АОА, % | № сп. | М.м | С, моль/л | АОА, % |
|-------|-----|------------------|--------|-------|-----|------------------|--------|
| 3 | 335 | 10 ⁻³ | 91,57 | 11 | 469 | 10 ⁻³ | 80,0 |
| | | 10 ⁻⁵ | 35,96 | | | 10 ⁻⁵ | -13,33 |
| | | 10 ⁻⁷ | 37,64 | | | 10 ⁻⁷ | -13,33 |
| 4 | 439 | 10 ⁻³ | 77,54 | 12 | 483 | 10 ⁻³ | 57,25 |
| | | 10 ⁻⁵ | 34,78 | | | 10 ⁻⁵ | -18,12 |
| | | 10 ⁻⁷ | 0,00 | | | 10 ⁻⁷ | -1,45 |
| 5 | 439 | 10 ⁻³ | 61,54 | 13 | 518 | 10 ⁻³ | 94,29 |
| | | 10 ⁻⁵ | -20,51 | | | 10 ⁻⁵ | 80,0 |
| | | 10 ⁻⁷ | -25,61 | | | 10 ⁻⁷ | 62,86 |
| 6 | 439 | 10 ⁻³ | 76,92 | 14 | 532 | 10 ⁻³ | 85,00 |
| | | 10 ⁻⁵ | 35,90 | | | 10 ⁻⁵ | 48,24 |
| | | 10 ⁻⁷ | 10,26 | | | 10 ⁻⁷ | 54,71 |
| 7 | 455 | 10 ⁻³ | 83,33 | 15 | 453 | 10 ⁻³ | 94,29 |
| | | 10 ⁻⁵ | 20,0 | | | 10 ⁻⁵ | 60,0 |
| | | 10 ⁻⁷ | 0,00 | | | 10 ⁻⁷ | 51,43 |
| 8 | 453 | 10 ⁻³ | 78,26 | 16 | 467 | 10 ⁻³ | 88,82 |
| | | 10 ⁻⁵ | 33,33 | | | 10 ⁻⁵ | 30,29 |
| | | 10 ⁻⁷ | 37,68 | | | 10 ⁻⁷ | 23,24 |
| 9 | 453 | 10 ⁻³ | 84,78 | * | 188 | 10 ⁻³ | 60,87 |
| | | 10 ⁻⁵ | -21,74 | | | 10 ⁻⁵ | 39,13 |
| | | 10 ⁻⁷ | -2,9 | | | 10 ⁻⁷ | 76,09 |
| 10 | 502 | 10 ⁻³ | 89,33 | ** | 246 | 10 ⁻³ | 33,90 |
| | | 10 ⁻⁵ | 39,89 | | | 10 ⁻⁵ | 22,60 |
| | | 10 ⁻⁷ | 25,84 | | | 10 ⁻⁷ | 7,63 |

Примітка: * – еталон порівняння (аскорбат);

** – еталон порівняння (тіотриазолін).



дено перспективність подальшого пошуку антиоксидантів в ряду похідних теоброміну [6]. З метою отримання нових перспективних похідних теоброміну нами була проведена модифікація молекули за рахунок введення атому хлору в *n*-положення бензильного радикалу при першому атомі нітрогену. Вивчення антиоксидантної дії показало доцільність модифікації тому, що майже всі сполуки (**4,6,7,10,15,16**) за показником АОА перевищують аналоги на 1-*n*-метилбензилтеоброміні. Лише *m*-гідроксибензиліденпохідне (**5**) є виключенням із закономірності.

Для остаточних висновків щодо впливу замісників на АОА похідних теоброміну необхідно значно розширити коло синтетичних 1,8-дизаміщених теоброміну.

ВИСНОВКИ

1. Розроблено препаративний метод синтезу 8-ариліденгідразіно-1-*n*-хлорбензилтеобромінів;

2. Проведено ПМР-спектроскопічне вивчення синтезованих сполук;

3. Методом неферментного ініціювання вільнорадикального окиснення вивчена антиоксидантна дія отриманих речовин. Встановлено, що введення атому хлору в *n*-положенні бензильного замісника при 1 атомі нітрогену суттєво збільшує антиоксидантну активність синтезованих похідних теоброміну. Показана перспектива подальшого пошуку антиоксидантних сполук серед похідних теоброміну.

ЛІТЕРАТУРА

1. Патент 18713 Україна, МПК C07D473/04. 1-п-Метилбензил-8-м-метоксибензиліденгідразинотеобромін, який виявляє антиоксидантну дію. / Романенко М.І., Іванченко Д.Г., Жмурін Р.В. та ін.-Заявл. 29.05.2006.
2. Романенко М.І., Іванченко Д.Г., Жмурін Р.В. та ін. Синтез, фізико-хімічні та антиоксидантні властивості іліденпохідних 8-гідразіно-1-п-метилбензилтеоброміну // Запорозький медичинський журнал.-2005.-№5.-С.144-147.
3. Романенко М.І., Іванченко Д.Г., Самура Б.Б. та ін. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 8-амінопохідних 1-бензилтеоброміну // Запорозький медичинський журнал.-2006.-№3.-С.142-146.
4. Eckstein M., Gorczyca M, Zlyc A. Uber die oxidative bromierung von methylxantinen // Acta-Pharm.-Jugoslav.-1972.-№4.-P.133-136.
5. 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.
6. Романенко М.І., Іванченко Д.Г., Жмурін Р.В., Євсєєва Л.В., Шкода О.С., Милосердова Г.В., Крисанова Н.В., Беленічев І.Ф., Павлов С.В. Синтез, фізико-хімічні властивості іліденпохідних 8-гідразіно-1-п-метилбензилтеоброміну // Запорозький мед. журнал.-2005.-№6.-2005.-С.144-147.

Надійшла 11.12.2007р.

Д.Г.Іванченко, Н.І.Романенко, М.В.Глущенко, А.В.Милосердова, І.Ф.Беленічев

Синтез и изучение антиоксидантного действия производных 8-арилденгидразино-1-п-хлорбензилтеоброминов
Синтезирован ряд производных 8-арилденгидразино-1-п-хлорбензилтеоброминов, структура которых подтверждена методом ПМР-спектроскопии. Антиоксидантная активность синтезированных соединений изучалась методом свободнорадикального окисления. Показана перспектива изучения антиоксидантов в ряду производных 8-арилденгидразино-1-п-хлорбензилтеобромина.
Ключевые слова: синтез, антиоксидантное действие, ПМР-спектроскопия, ксантин, теобромин

D.G.Ivanchenko, N.I.Romanenko, M.V.Gluschenko, A.V.Miloserdova, I.F.Belenichev

Synthesis and studying antioxidative actions of 8-arylidenehydrazino-1-p-chlorobenzyltheobromine derivatives

It was developed the preparative way for the synthesis of 8-arylidenehydrazino-1-p-chlorobenzyltheobromine derivatives. 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-arylidenehydrazino-1-p-chlorobenzyltheobromine derivatives with antioxidative activity.

Key words: synthesis, antioxidative activity, PMR-spectroscopy, xantine, theobromine

Відомості про авторів:

Іванченко Д.Г., асистент кафедри біологічної хімії ЗДМУ;

Романенко М.І., д.фарм.н., професор, завідувач кафедри біохімії ЗДМУ;

Глущенко М.В., студентка IV курсу фарм. факультету ЗДМУ;

Милосердова Г.В., ст. лаборант кафедри біологічної хімії ЗДМУ;

Беленічев І.Ф., д.біол.н., професор, завідувач кафедри фармакології ЗДМУ.

Адреса для листування:

Романенко Микола Іванович, 69035, м.Запоріжжя, пр.Маяковського 26, ЗДМУ, кафедра біологічної хімії.

Тел.: (0612) 34-24-42. E-mail: romanenko@zsmu.zp.ua