

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ЄВСЄВА ЛЮДМИЛА ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 615.011.4:547.857.4.057:615.015.4

**СИНТЕЗ, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ТА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ
ПОХІДНИХ 7-БЕНЗИЛ-8-БРОМОКСАНТИНІВ**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Запоріжжя – 2009

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Запорізькому державному медичному університеті Міністерства охорони здоров'я України.

Науковий керівник доктор фармацевтичних наук, професор **Романенко Микола Іванович**, Запорізький державний медичний університет, професор кафедри біохімії та лабораторної діагностики.

Офіційні опоненти:

доктор фармацевтичних наук, професор **Панасенко Олександр Іванович**, Запорізький державний медичний університет, завідувач кафедри токсикологічної та неорганічної хімії;

доктор фармацевтичних наук, професор **Георгіянц Вікторія Акопівна**, Національний фармацевтичний університет, завідувач кафедри якості, стандартизації та сертифікації ліків.

Захист відбудеться 15 січня 2010 р. о 10 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 17.600.03 при Запорізькому державному медичному університеті (69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Запорізького державного медичного університету (69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26).

Автореферат розісланий 5 грудня 2009 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

С. О. Васюк

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Сучасні фармакологічні препарати, при наявності фармакологічної активності, повинні бути малотоксичними, мати високий фармакотерапевтичний індекс та мінімальну побічну дію. Окрім цього, досить важливим аспектом є можливість застосування їх в педіатричній і геріатричній практиці. Препарати на основі природних та синтетичних пуринів і ксантинів увійшли до арсеналу найбільш часто вживаних лікарських засобів протипухлинної (6-меркаптопурин), бронхолітичної (еуфілін, сплантин), психотропної (кофеїн), коронаролітичної (пентоксифілін), антиагрегаційної (пентоксифілін), салуретичної (теокор), гіполіпідемічної (теофібрат), противірусної (ацикловір), міорелаксантичної (сплантин), антигіпертензивної (еуфілін), ноотропної (етофілін), та інших видів цінної фармакологічної дії.

Ксантини відіграють важливу роль у регуляції різноманітних функцій організму. Метаболізм пуринів і ксантинів в живих клітинах у ході еволюції був відпрацьований в досить значній мірі. Це пояснюється тим, що вказані гетероциклічні ядра є компонентами таких біомолекул, як нуклеозиди, нуклеотиди, нуклеїнові кислоти, антибіотики, алкалоїди тощо. Висока реакційна здатність пуринового ядра дає змогу здійснювати синтез невідомих похідних ксантинів, а це створює значний резерв для пошуку нових лікарських засобів широкого спектру дії.

Бензильний радикал є відомим фрагментом багатьох ліків. В медичній практиці знайшли застосування такі препарати, як дибазол, папаверин, натурин, дексетимід тощо, які містять в своїй молекулі цей залишок. Водночас, похідні 8-бромоксантину, які б мали в структурі бензильний радикал, практично не описані в літературі, а їх біологічна дія вивчена вкрай недостатньо.

Тому пошук біологічно активних речовин (БАР) серед похідних 7-бензил-3-метил(1,3-диметил)ксантинів і їх 8-заміщених є досить актуальним та має значну теоретичну і практичну значимість.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана у відповідності з планами ПК "Фармація" МОЗ України і є фрагментом науково-дослідної роботи Запорізького державного медичного університету за темою: «Отримання, фізико-хімічні властивості, біологічна дія та вивчення впливу ксантинових ксенобіотиків на метаболічні процеси» (№ державної реєстрації 0105U002815).

Мета і завдання дослідження. Розробка доступних методів синтезу неописаних раніше похідних 7-бензил-8-бромо-3-метилксантинів, вивчення їх будови за допомогою фізико-хімічних методів аналізу, проведення первинного фармакологічного скринінгу, відбір найбільш активних сполук для подальших фармакологічних та біологічних досліджень та встановлення деяких закономірностей «будова-дія».

Для досягнення поставленої мети були сформульовані наступні завдання:

1. Розробити доступні методи синтезу нових 7-бензил-8-бромоксантинів та вивчити їх реакційну здатність по відношенню до N-, O-, S-нуклеофільних реагентів (первинних, вторинних, циклічних амінів, амінокислот, гідразину, натрій алкоксидів, солей карбонових кислот, натрію сульфідру та тіоацетатної кислоти).

2. Запропонувати методи отримання невідомих N-(7-бензилксантиніл-8)-аміноалканових кислот.

3. Розробити препаративні методи одержання нових іліденопохідних 7-бензил-8-гідразиноксантинів.

4. Вивчити хімічні властивості неописаних в літературі 7-бензилксантиніл-8-тіоацетатних кислот, метою отримання їх функціональних похідних.

5. Визначити особливості полідентнонуклеофільного характеру молекул вперше синтезованих 7-бензил-8-тіоксантинів в реакціях з електрофілами (галогеналканами, бензилгалогенідами, галогеноспиртами, галогенкетонами та хлорацетамідом).

6. Вивчити за допомогою спектроскопічних та спектрометричних методів фізико-хімічні властивості синтезованих сполук з метою доведення їх будови.

7. Провести фармакологічний скринінг одержаних речовин і встановити закономірності «будова-дія».

Об'єкт дослідження. Похідні 7-бензил-8-бромоксантину, їх N¹- та C⁸-заміщені, які містять в своїй структурі спиртову, амідну, карбоксильну, меркапто-, а також іліденгідразинові групи.

Предмет дослідження. Способи синтезу, хімічні, фізико-хімічні та біологічні властивості 7-бензилксантинів.

Методи дослідження. Експериментальні методи органічної хімії (реакції електрофільного, нуклеофільного заміщення, нуклеофільного приєднання), фізико-хімічні методи (елементний аналіз, ІЧ-, ПМР-спектроскопія, мас-спектрометрія, метод тонкошарової хроматографії), фармакологічний скринінг *in vitro* та *in vivo*, методи математичної статистики при проведенні фармакологічного скринінгу синтезованих сполук.

Наукова новизна отриманих результатів. Розроблені доступні методи одержання 7-бензил-8-бромоксантинів, як синтонів для подальшого цілеспрямованого синтезу БАР із прогнозованою фармакологічною дією.

Вперше досліджена реакційна здатність 7-бензил-8-бромоксантинів до N-, O-, S-нуклеофілів (первинних, вторинних, циклічних амінів, амінокислот, гідразингідрату, алкоксидів натрію, солей карбонових кислот, натрію сульфідру та тіоацетатної кислоти), результатом цього були синтезовані неописані в літературі відповідні 8-N-, O-, S-заміщені похідні.

Встановлено, що реакція 7-бензил-8-бромоксантинів з етилбромідом, 1,3-дихлоробутеном-2, бензилгалогенідами, етилхлорацетатом та хлорацет

амідом приводить до утворення невідомих 1-заміщених 7-бензил-8-бромо-3-метилксантинів.

Встановлено, що при взаємодії 7-бензил-8-бромоксантинів з амінокислотами утворюються неописані в літературі N-(7-бензилксантиніл-8)-аміноалканові кислоти.

На основі вперше синтезованих нами 7-бензил-8-гідразиноксантинів одержані відповідні гідразони, з антиоксидантною та діуретичною дією.

Проведено дослідження реакційної здатності 7-бензил-8-тіоксантинів в реакціях з галогеналканами, галогеналкенами, фенілалкілгалогенідами, циклоалкіламіноетиленгалогенідами, галогеноспиртами, галогенкетонами, амідами галогенкарбонових кислот та встановлено, що алкілування перебігає виключно по атому сульфуру.

Розроблені препаративні методи синтезу невідомих естерів, амідів, гідразидів та солей N-(7-бензилксантиніл-8)тіоацетатних кислот.

В ході виконання роботи було отримано 187 нових сполук – похідних 7-бензилксантинів, які містять різноманітні замісники в положенні 8. Фармакологічним випробуванням (вивчено гостру токсичність, діуретичну, анальгетичну, протизапальну, антиоксиданту та кардіопротективну активності) було піддано 148 синтезованих похідних 7-бензилксантинів.

Наукова новизна чотирьох синтезованих сполук: 3-метил-7-*n*-фторобензил-8-(α -метил)-*n*-метоксибензиліденгідразиноксантин, 3-метил-7-*n*-фторобензил-8-*n*-метилбензиліденгідразиноксантин, 3-метил-7-*n*-хлоробензил-8-*n*-хлорбензиліден-гідразиноксантин, 1,3-диметил-7-*n*-хлоробензил-8-*n*-метоксибензиліденгідраино-ксантин, які виявляють значну антиоксидантну та діуретичну активності, захищена 4 патентами України на корисну модель.

Практичне значення отриманих результатів. Розроблені доступні методи синтезу нових 8-бромо-7-бензилксантинів, досліджена їх реакційна здатність по відношенню до N-, O-, S-нуклеофільних реагентів та отримана низка нових сполук – потенційних БАР.

Розроблені препаративні методи синтезу та одержані не описані в літературі N-(7-бензилксантиніл-8)аміноалканові кислоти – перспективні синтони для подальшої модифікації ксантинової молекули.

На основі вперше синтезованих 7-бензил-8-гідразиноксантинів запропоновані методи отримання їх іліденопохідних з ароматичними та гетероароматичними альдегідами і кетонами. Доведена можливість одержання невідомих 7-бензил-8-(3',5'-диметилпіразоліл-1')ксантинів нагріванням 8-гідразиноксантинів з надлишком ацетилацетону в середовищі концентрованої ацетатної кислоти.

Визначені шляхи синтезу та отримані нові 8-тіопохідні 7-бензилксантинів.

Розроблені та порівняні методи синтезу (7-бензилксантиніл-8)-тіоалканових кислот: шляхом алкілування відповідних 7-бензил-8-тіоксантинів галогенокислотами та шляхом заміщення атому бром у молекулі 7-бензил-8-бромоксантинів на залишок тіоацетатної кислоти.

Відпрацьовані синтетичні підходи до одержання їх функціональних похідних (естерів, амідів, гідрозидів та солей).

Досліджена гостра токсичність, діуретична, анальгетична, протизапальна, антиоксидантна та кардіопротективна активності синтезованих сполук і встановлені деякі закономірності «будова-дія».

За результатами дослідження відібрана та рекомендована для поглиблених доклінічних випробувань сполука-лідер – 3-метил-7-*n*-хлоро-бензил-8-*n*-хлоробензиліденгідразиноксантин (14), яка виявляє високу діуретичну та антиоксидантну активність, а також має значні кардіопротективні властивості.

Матеріали дисертації впроваджено в науково-дослідний і навчальний процеси на кафедрах Національного фармацевтичного університету, Запорізького державного медичного університету та Кримського державного медичного університету ім. С. І. Георгієвського.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійно виконаним дослідженням автора, науковим керівником визначена тема і складена програма дослідження. Дисертант особисто виконав патентно-інформаційний пошук і проаналізував літературу за даною проблемою. За участю наукового керівника розробив та визначив науково-методичні підходи щодо синтезу, встановлення будови та досліджень біологічної активності 8-заміщених 7-бензилксантинів. Виконав синтетичну експериментальну частину роботи, провів статистичний аналіз отриманих даних, інтерпретував та систематизував отримані результати, сформулював висновки.

Співавторами наукових праць є науковий керівник, а також науковці разом з якими проводились спільні дослідження фізико-хімічних та біологічних властивостей синтезованих сполук.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи були представлені і обговорені на науково-практичних конференціях студентів і молодих вчених «Сучасні аспекти медицини і фармації» (Запоріжжя, 2004, 2007, 2008 та 2009), Всеукраїнських науково-практичних конференціях з міжнародною участю «Ліки – людині» (Харків, 2009), Міжвузівська студентська наукова конференція «Наукові основи створення лікарських препаратів» (Харків, 2004), VI Національному з'їзді фармацевтів (Харків, 2005), Міжнародна студентська конференція «Молодь – медицині майбутнього» (Одеса, 2005), Міжнародній науково-практичній конференції «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2007).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 15 наукових робіт: 4 статі у наукових фахових виданнях, 7 тез доповідей, отримано 4 патенти України на корисну модель.

Об'єм і структура дисертації. Дисертаційна робота складається з вступу, огляду літератури, чотирьох розділів власних експериментальних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел літератури і додатків. Дисертація викладена на 193 сторінках друкованого тексту (обсяг

основного тексту 119 сторінок), вміщує 42 таблиці, ілюстрована 55 рисунками та містить 8 додатків. Список використаної літератури включає 224 джерел, з яких 118 – іноземні.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Синтез, властивості та біологічна дія похідних ксантину

Враховуючи великий обсяг даних літератури, які присвячені методам хімічної модифікації ксантинової молекули та її різноманітних гетероанельованих похідних, в даному огляді ми, головним чином, обмежилися розглядом методів синтезу 7,8-дизаміщених ксантину, що пояснюється широким спектром біологічної дії вказаних похідних, значними синтетичними можливостями для подальшої модифікації молекули ксантину, а також близькістю до теми проведених досліджень. Огляд літератури охоплює період за останнє десятиріччя, за винятком робіт, в яких вперше була здійснена або модифікована та чи інша реакція на основі ксантину.

Синтез, хімічні та фізико-хімічні властивості 7-бензил-8-бромоксантинів

Враховуючи значну та різнобічну біологічну активність похідних ксантину, з метою пошуку нових біологічно активних речовин нами були розроблені прості лабораторні методики синтезу 7-бензил-8-бромоксантинів.

Вихідні 8-бромо-3-метилксантин (1) та 8-бромотеофілін (2) були синтезовані окиснювальним бромуванням 3-метилксантину та теофіліну.

Бензилування 8-бромоксантинів (1; 2) здійснювали короткочасним нагріванням їх з бензилхлоридом, *n*-метилбензилхлоридом, *n*-фторо-(хлоро)бензилхлоридом в диметилформаміді (ДМФА) в присутності еквімолярної кількості натрію гідрокарбонату за схемою (рис. 1):

Рис. 1. Схема синтезу вихідних 7-бензил-8-бромоксантинів

Необхідно зазначити, що температури плавлення 7-бензилпохідних 3-метилксантину вищі, ніж у відповідних похідних теофіліну, що можна пояснити утворенням міжмолекулярних водневих зв'язків між урацькими фрагментами похідних 3-метилксантину.

Наявність N¹H-групи у 7-бензилпохідних-8-бромо-3-метилксантину спонукала нас вивчити деякі реакції електрофільного заміщення з метою розширення ряду похідних ксантину, які можна використати в якості вихідних синтонів для подальшої модифікації ксантинової молекули як по положенню 8, так і по положенню 1.

Встановлено, що нагрівання 7-бензил-8-бромоксантинів (3) з етилбромідом, 1,3-дихлоробутеном-2, бензилгалогенідами, етилхлорацетатом та хлорацетамідом в середовищі безводного ДМФА в присутності еквімолярної кількості натрію карбонату веде до утворення відповідних 1-заміщених 7-бензил-8-бромо-3-метилксантинів (4–7) (рис. 2).

Слід зазначити, що реакцію з гліцидолом проводили в пропанолі-1 у присутності каталітичної кількості гідроксиду калію.

Рис. 2. Схема реакцій 7-бензил-8-бромо-3-метилксантинів з електрофільними реагентами

1,7-Дизаміщені 8-бромо-3-метилксантину (4–8) відрізняються від вихідних сполук значно нижчими температурами плавлення та кращою розчинністю в органічних розчинниках.

На основі синтезованих нами 7-бензил-8-бромоксантинів (3) були вивчені їх реакції з різноманітними амінами, що дало змогу значно розширити ряд 7,8-дизаміщених ксантину – потенційних біоактивних сполук. Як показано на рис. 3, нагрівання 7-бензил-8-бромоксантинів (3) з надлишком аміну протягом 3–5 годин в середовищі водного спирту, водного діоксану, водного ДМФА, етоксіетанолу або ДМФА приводить до утворення відповідних аміно-, алкіламіно-, алліламіно-, циклогексиламіно-, арилалкіламіно-, (фуріл-2')метиламіно-, діалкіламіноетиламіно-, гідроксіалкіламінозаміщених 7-бензилксантинів (9–10).

Слід зазначити, що реакцію з надлишком аміаку (9, 10) проводили шляхом нагрівання вихідних реагентів у сталевому автоклаві при температурі 180–190 °С. Реакцію з нижчими алкіламінами можна проводити при нижчій температурі (160–170 °С), оскільки їх нуклеофільні властивості є суттєво вищими, ніж у аміаку.

Рис. 3. Схема реакцій 7-бензил-8-бромоксантинів з амінами

Нами також встановлено, що синтезований 1-етил-7-*n*-метилбензил-8-бромо-3-метилксантин (4) також вступає в реакцію нуклеофільного заміщення в аналогічних умовах.

Будова отриманих сполук доведена за допомогою даних ІЧ-, ПМР-спектроскопії та мас-спектрометрії.

Оскільки амінокислоти є структурною основою білків, ферментів та інших біоактивних сполук організму людини, ми припустили, що введення амінокислотного залишку в положення 8 ксантинової молекули повинно значно поліпшити фармакологічні характеристики ксантинової молекули за рахунок покращення їх проникності через клітинні мембрани та можливого зміцнення зв'язків з активними чи алостеричними центрами ферментів.

Як показано на рис. 4, реакція 8-бромоксантинів (3) з гліцином, α - і β -аланінами, фенілаланіном та ϵ -амінокапроною кислотою відбувається лише

Рис. 4. Схема реакції 7-бензил-8-бромоксантинів з аміноалкановими кислотами

в присутності гідроксиду натрію та 2–3-кратного надлишку відповідної амінокислоти в середовищі вода-метанол, вода-діоксан або вода-етоксіетанол з утворенням N-(ксантиніл-8)аміноалканових кислот (12) (рис. 4).

Деградація ксантиніл-8-аміноалканових кислот, під дією електронного удару, перебігає за двома напрямками (рис. 5).

Рис. 5. Схема мас-розпаду 2-N-(7'-*n*-метилбензилтеофілін-8'-іл)-амінопропанової кислоти

Синтез та деякі перетворення на основі 7-бензил-8-гідразиноксантинів

Розробка простих лабораторних методик синтезу 8-гідразиноксантинів має велике практичне значення як для одержання нових функціонально-заміщених похідних цих сполук, так і для введення в положення 8 ксантинової молекули залишків азатетрациклів.

Вихідні 7-бензил-8-гідразиноксантини (13) були синтезовані з високими виходами (82,4%–98,0%), нагріванням відповідних 7-бензил-8-бромоксантинів (3) в середовищі водного діоксану з надлишком гідразингідрату (рис. 6).

Рис. 6. Схема реакції 7-бензил-8-бромоксантинів з гідразингідратом

Середовище водного діоксану у співвідношенні 1:2 та 8-кратний надлишок гідрзингідрату нами було обране в результаті експериментальних досліджень, які показали, що в даній суміші розчинників добре розчиняються вихідні бромоксантини та гідрзингідрат, а продукти нуклеофільного заміщення атома броду на гідрзиногрупу виділяються в процесі синтезу у вигляді осаду і, як правило, не містять домішок вихідних сполук та «зшитих» (*bis*-заміщених гідрзинів) продуктів реакції.

Нами встановлено, що отримані 8-гідрзиноксантини є досить реакційно здатними сполуками і при короткочасному кип'ятінні з еквімолярною кількістю відповідного ароматичного або гетероциклічного альдегіду, чи кетону в середовищі водного діоксану в присутності каталітичної кількості хлористоводневої кислоти чи в суміші «вода-діоксан-ацетатна кислота», утворюють відповідні 8-іліденгідрзиноксантини (14–16) (рис. 7).

Рис. 7. Схема взаємодії 7-бензил-8-гідрзиноксантинів з карбонільними сполуками

Рис. 8. Схема реакцій 7-бензил-8-гідрзиноксантинів з гетероциклічними карбонільними сполуками

Ми вивчили взаємодію 8-гідразиноксантинів (13) з ди- та три- карбонільними сполуками (ізатин, бромізатин, аллоксан). Як показано на рис. 8, реакція перебігає в аналогічних умовах з утворенням відповідних іліденових похідних (17, 18).

На нашу думку, введення в положення 8 залишку піразолу повинно привести до підсилення аналгетичної та протизапальної активності. З цією метою нами було розроблено простий препаративний метод синтезу раніше неописаних в літературі похідних 8-(піразоліл-1')-ксантину (19) (рис. 9).

Рис. 9. Схема реакції 7-бензил-8-гідразиноксантинів з ацетилацетоном

Як показано на схемі, нагрівання 8-гідразиноксантинів 13 з надлишком свіжеперегнаного ацетилацетону в середовищі концентрованої ацетатної кислоти призводить до утворення відповідних 7-бензил-8-(3',5'-диметил-піразоліл-1')-ксантинів (19).

Циклізацію 8-гідразиноксантинів у похідні піразолу при взаємодії з ацетилацетоном однозначно підтверджують дані ІЧ-, ПМР-спектроскопії та мас-спектрометрії.

Вивчення реакцій 7-бензил-8-бромоксантинів з O-, S-вмісними нуклеофілами та реакційна здатність 8-тіопохідних

Як свідчать дані літератури, найбільш вивченою реакцією ксантинів є реакція 8-галогеноксантинів з нітрогеновмісними нуклеофілами (первинні та вторинні аміни, гідразин). Слід також зазначити, що 8-N-заміщені ксантинів є найбільш вивченими сполуками і в біологічному аспекті. Враховуючи вищесказане, ми вивчили реакції 8-бромо-7-бензилксантинів (3) з сірковмісними та оксигеновмісними нуклеофілами, що дало б змогу отримати неописані раніше, а отже не вивчені сполуки.

1,8- та 7,8-дизаміщені похідні метильованих ксантинів виявляють значну фармакологічну активність і є перспективними сполуками для створення оригінальних лікарських препаратів різноманітної дії. Надалі ми розробили прості лабораторні методики синтезу неописаних раніше 8-тіозаміщених похідних 7-бензилксантинів.

Вихідні 7-бензил-8-тіоксантини (20) з високими виходами (77–99,3%) були отримані кип'ятінням 7-бензил-8-бромоксантинів (3) протягом 2 годин, з подвійним надлишком $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ в середовищі свіжоперегнаного

диметилформаміду (схема 10). Також нами була досліджена взаємодія 3-метил-7-бензил-8-бромоксантину (3) з анілідом тіогліколевої кислоти, нуклеофільність якого значно менша в порівнянні з $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$. Як з'ясувалось реакція перебігає у середовищі свіжоперегнаного диметилформаміду в присутності натрію ацетату протягом 5 годин та реалізується утворенням аніліду 3-метил-7-*n*-метилбензил-(ксантиніл-8)-тіоацетатної кислоти (21) (рис. 10).

Рис. 10. Схема реакції 7-бензил-8-бромоксантинів з S-нуклеофілами

Оскільки ми не виключали можливість утворення ди(ксантиніл-8)сульфідів в реакції 8-бромоксантинів з Na_2S в диметилформаміді, а даних ІЧ- та ПМР-спектроскопії у вирішенні цього питання недостатньо, ми інтерпретували мас-спектр 7-*n*-хлоробензил-8-тіотеофіліну. В мас-спектрі тіоксантину реєструється пік молекулярного іону з m/z 336, що відповідає розрахованій масі та доводить наявність парної кількості атомів нітрогену в молекулі. Наявність іону з m/z 338 [$\text{M}^+ + 2$] та інтенсивністю $\sim 30\%$ від M^+ доводить присутність одного атому хлору в молекулі отриманого тіоксантину, а отже відсутність ди(ксантиніл-8)сульфідів, навіть у якості домішок. Розпад молекулярного іону під дією електронного удару в першу чергу пов'язаний з елімінуванням *n*-хлоробензильного залишку у положенні 7 молекули, про що свідчать іони з m/z 125 (100%) та 127 (31,2%). Іон утворений після відщеплення бензильного радикалу з m/z 211, має будову 8-тіотеофіліну і його подальша деградація пов'язана з руйнацією диметилурацилової частини молекули.

В подальших дослідженнях нами була вивчена реакційна здатність 8-тіоксантинів 20 з різноманітними електрофільними реагентами (алкіл-, алкеніл-, бензил-, фенілалкіл-, циклоалкіламіноетиленгалогенідами). Встановлено, що взаємодія вищевказаних синтонів перебігає при їх нетривалому кип'ятінні в середовищі водного пропанолу-2 в присутності еквімолярної кількості гідроксиду натрію з утворенням відповідних 8-тіозаміщених (22-26) (рис. 11).

Рис. 11. Схема взаємодії 7-бензил-8-тіоксантинів з алкілюючими реагентами

Нами була вивчена реакція 7-бензил-8-тіоксантинів з галогеноспиртами, галогенетерами, галогенокетонами, естерами галогенокислот, хлорацетамідом. Реакція алкілювання перебігає в лужному середовищі водного пропанолу-2 при кип'ятінні протягом 10–30 хвилин (рис. 12) з утворенням відповідних S-заміщених (27–30).

Рис. 12. Схема реакції 7-бензил-8-тіоксантинів з галогеноспиртами, галогенетерами, галогенокетонами, естерами галогенокислот та хлорацетамідом

Будова синтезованих 8-тіозаміщених ксантину однозначно доведена даними ІЧ та ПМР-спектроскопії та мас-спектрометрії.

Аналіз мас-спектру 8-*n*-пропілтіо-7-*n*-хлоробензилтеофіліну дозволив однозначно довести його структуру, а, отже, незаперечно підтвердити факт S-алкілювання 8-тіоксантинів. Як показано на рис. 13, в мас спектрі чітко фіксується пік молекулярного іону з m/z 378, що відповідає розрахованій молекулярній масі, його подальший розпад показаний на схемі:

Рис. 13. Схема мас-розпаду 8-*n*-пропілтіо-7-*n*-хлоробензилтеофіліну

З метою розширення ряду перспективних в плані створення нових лікарських засобів біологічно активних сполук похідних ксантинів, нами була досліджена реакція бромоксантинів (3) з тіогліколевою кислотою. Модифікацію ксантинової молекули проводили нагріванням вихідних сполук протягом 6-7 годин у середовищі водного діоксану з еквімолярною кількістю гідроксиду натрію (рис. 14). Для доведення структури 7-бензил-8-тіоацетатних кислот (31) вони були також отримані шляхом алкілування 8-тіопохідних ксантину (20) хлороцтовою кислотою. Реакція перебігає в присутності подвійного надлишку лугу в середовищі водного пропанолу-2 протягом 20 хвилин. Зразки ксантиніл-8-тіоацетатних кислот (31), отриманих різними методами не дають депресії температур плавлення та мають ідентичні ІЧ- та ПМР-спектри.

Рис. 14. Схема синтезу та реакції (7-бензил-3-метилксантиніл-8)-тіоетанових кислот

Надалі нами була вивчена реакція етерифікації 7-бензил-(ксантиніл-8)-тіоацетатних кислот (31) з нижчими спиртами. Естери тіоацетатних кислот (32) були отримані кип'ятінням вихідних сполук (31) з відповідним спиртом,

протягом 2 годин в середовищі діоксану в присутності каталітичної кількості сульфатної кислоти (рис. 14). Слід зазначити, що метиловий естер (3-метил-7-*n*-метилбензилксантиніл-8)-тіоацетатної кислоти, який був отриманий алкілуванням 3-метил-7-*n*-метилбензил-8-тіоксантину метилхлорацетатом виявився тотожним естеру отриманому за реакцією етерифікації. Їх фізико-хімічні властивості ідентичні.

Наявність карбоксигрупи дозволила нам розробити простий препаративний метод отримання солей 7-бензил-(ксантиніл-8)-тіоацетатних кислот (33) з сильними органічними основами (первинними та вторинними амінами аліфатичного та гетероциклічного ряду). Реакція перебігає при розчиненні вихідних сполук у середовищі водного метанолу з подальшим випарюванням розчинників. Отримані з високими виходами водорозчинні солі ксантиніл-8-тіоацетатних кислот (33) є дуже перспективними біологічно активними речовинами (рис. 14).

Реакція метилового естеру 7-*n*-метилбензил-(ксантиніл-8)-тіоацетатної кислоти (32) з надлишком гідрзингідрату перебігає з високим виходом у середовищі водного діоксану та реалізується утворенням відповідного гідрзиду ксантиніл-8-тіоацетатної кислоти (34) (рис. 15).

Рис. 15. Схема синтезу функціональних похідних (7-бензил-3-метилксантиніл-8)-тіоетанової кислоти

Короткочасним кип'ятінням вищеназваного естеру з первинними аліфатичними амінами в середовищі водного метанолу були синтезовані раніше не описані алкіламіді ксантиніл-8-тіоацетатних кислот (35) (рис. 15).

В подальших дослідженнях ми вивчили взаємодію 7-бензил-8-бромоксантинів з алкоголями натрію. Як показано на рис. 16, взаємодія 8-бромо-7-бензилксантинів (3) зі свіжоперегнаними спиртами в присутності надлишку

Рис. 16. Схема реакції 7-бензил-8-бромотеофілінів зі спиртами

металевого натрію приводить до утворення простих етерів сечової кислоти (36). Слід зазначити, що взаємодія 7-бензилксантинів (3) з неперегнаним метанолом в присутності металевого натрію приводить до утворення відповідних 8-гідрокси-7-бензилксантинів (37), це пояснюється присутністю води у технічному метанолі.

Реакція з метоксиетанолом, етоксиетанолом чи пропанолом-1 перебігає при короткочасному кип'ятінні протягом 1–2 годин, а при використанні метанолу або пропанолу-2 – при більш жорстких умовах (в сталевому автоклаві протягом 5 годин та температурі 140 °С).

Дослідження біологічної активності синтезованих сполук

Лабораторні дослідження гострої токсичності, діуретичної, анальгетичної та протизапальної активності синтезованих сполук проводились на кафедрі фармакотерапії НФаУ під керівництвом проф. Б. А. Самури, а дослідження антиоксидантної та кардіопротективної активності було виконано в ЦНДЛ ЗДМУ під керівництвом зав. кафедри фармакології проф. І. Ф. Беленічева, за що ми висловлюємо їм щире подяку.

Гостра токсичність (ЛД₅₀) синтезованих сполук була вивчена за методом Кербера у дослідах на дорослих білих мишах. ЛД₅₀ отриманих речовин у відповідності з класифікацією К. К. Сидорова, знаходиться в межах 256–2550 мг/кг, тобто вони відносяться до IV класу токсичності. Було доведено, що похідні ксантину мають меншу токсичність порівняно з відповідними теофіліновими аналогами. Серед похідних 8-N-метилбензил-аміно-7-бензилксантинів токсичність зростала в ряду 7-*n*-фторобензил-, 7-бензил-, 7-*n*-хлоробензилзаміщених ксантину. Серед похідних 8-тіо-ксантинів найменш токсичною виявилась піперидинова сіль 7-*n*-фторобензил-(ксантиніл-8)-тіоетанової кислоти (33) – її токсичність дорівнює 2550 мг/кг.

Вивчення діуретичної дії отриманих сполук – похідних 7-бензил-ксантинів проводили на білих щурах за методом Берхіна Є. Б. Синтезовані сполуки вводили інтрагастрально у вигляді тонкої водної суспензії, стабілізованої твіном-80, за допомогою тонкого зонду в дозі $\frac{1}{20}$, або $\frac{1}{100}$ ЛД₅₀ з 5% водним навантаження. В якості еталону порівняння використовували водні суспензії гіпотіазиду та фуросеміду в дозах 25 мг/кг та 20 мг/кг маси тіла тварини відповідно. Всього було досліджено 58 сполук. За результатами наших досліджень діуретична активність 19 сполук перевищувала еталон порівняння гіпотіазид, а 5 були активнішими за фуросемід. Встановлено, що 3-метил-7-*n*-хлоробензил-8-*n*-хлорбензиліденгідразиноксантин (14) виявляв дуже високу діуретичну дію (239,8%), що майже в півтори рази перевищувала дію гіпотіазиду, та на 38,4% – фуросемід.

Анальгетична дія синтезованих ксантинів була вивчена на білих щурах лінії Вістар масою 160–210 г, з використанням моделі «ацетатних корчів», які викликали внутрішньоочеревинним введенням 0,75% розчину ацетатної кислоти. Протизапальна дія була вивчена на моделі гострого асептичного

набряку, викликаного субплантарним введенням в задню лапку 0,1 мл 1% розчину карагеніну. Досліджувані речовини вводили експериментальним шурам інтрагастрально з розрахунку $1/20$ ЛД₅₀ в залежності від маси тіла. В якості еталону порівняння використовували водні суспензії диклофенаку та анальгіну в дозах 8 мг/кг та 25 мг/кг маси тіла тварини відповідно. Всього було досліджено 22 сполуки.

Антиоксидантну активність вивчали *in vitro* за допомогою метода неферментного ініціювання ВРО. В якості еталонів порівняння використовували аскорбінову кислоту (вітамін С), тіотриазолін, α -токоферола ацетат (вітамін Е) та дибунол. Всього було досліджено 90 сполук. Перевищували еталони порівняння: тіотриазолін – 49 сполук, вітамін С – 18 сполук. Найбільшу антиоксидантну активність в усіх концентраціях серед синтезованих речовин цієї групи виявляв 3-метил-7-*n*-хлоробензил-8-*n*-хлорбензиліденгідразиноксантин (14), який в концентрації 10^{-3} моль/л виявляв антиоксидантну активність на 51% та 19% вищу в порівнянні з еталонними препаратами тіотриазоліном та аскорбіною кислотою відповідно. Нами було відзначено, що в концентрації 10^{-7} моль/л ця сполука виявляла таку ж саму антиоксидантну дію, як і в концентрації 10^{-3} моль/л, що дає змогу використовувати її в значно меншій концентрації.

Грунтуючись на отриманих нами даних про значну антиоксидантну активність 3-метил-7-*n*-хлоробензил-8-*n*-хлорбензиліденгідразиноксантину (14), ми знайшли за необхідне провести поглиблене фармакологічне дослідження кардіопротективної та антиоксидантної дії цієї речовини.

Дослідження проводили на 40 щурах лінії Вістар, масою 160–180 г, обох статей. У щурів використовували коронарогенно-метаболічну модель гострого інфаркту міокарда (ГІМ), відтворену за допомогою пітуїтрину та ізадрину. Досліджувану речовину вводили перорально на крохмальному слизу за допомогою металевого зонда раз на добу за 30 хвилин у дозі 30 мг/кг до введення пітуїтрину. В якості препарату порівняння використовували рибоксин в дозі 100 мг/кг. За допомогою сучасних біохімічних методів дослідження визначали маркери ушкодження міокарда – активність кардіоспецифічного ізоензиму лактатдегідрогенази (ЛДГ₁), маркерні продукти окисної модифікації білка (ОМБ) – альдегідфенілгідрозони (АФГ) і карбоксилфенілгідрозони (КФГ) та стан антиоксидантної системи міокарда оцінювали за активністю супероксиддисмутази (СОД). Результати цих досліджень відображені в таблицях 1 і 2.

Отримані кількісні результати обробляли методом варіаційно-статистичного аналізу середніх величин на персональному комп'ютері з використанням ліцензійного програмного пакета Statistica® 6.1 for Windows і наступним аналізом отриманих матеріалів. Обчислювали середню арифметичну величину (M), середнє квадратичне відхилення (σ) і стандартну помилку середньої арифметичної (m). Достовірність відмінностей порівнюваних величин визначали за допомогою критерію Ст'юдента (T). За достовірну мінімальну вірогідність розходжень приймалася $p \leq 0,05$.

Таблиця 1

Вплив 3-метил-7-*n*-хлоробензил-8-*n*-хлорбензиліден-гідразиноксантину на вміст продуктів ОМБ в ішемізованому міокарді

Група тварин	Продукти ОМБ, у.о./г білка	
	АФГ (270 нм)	КФГ (363 нм)
Інтактні тварини	5,4±0,33	8,0±0,31
Тварини з ГІМ	17,2±1,78	32,5±2,12
Тварини з ГІМ + № 14	12,1±1,24	17,2±1,27
Тварини с ГІМ + рибоксин	16,0±2,40	21,7±1,75

Примітка. $p \leq 0,05$

Таблиця 2

Вплив 3-метил-7-*n*-хлоробензил-8-*n*-хлорбензиліден-гідразиноксантину на показники ішемії та ушкодження серцевого м'яза при експериментальному ГІМ

Група тварин	ЛДГ ₁ , ммоль/л/ч	СОД, у.о./мг/хв
Інтактні тварини	0,32±0,02	138,1±9,5
Тварини з ГІМ	1,58±0,17	71,4±5,5
Тварини з ГІМ + № 14	0,97±0,02	97,4±7,3
Тварини з ГІМ + рибоксин	1,50±0,10	77,3±3,2

Примітка. $p \leq 0,05$

В результаті проведених нами досліджень біологічних властивостей похідних 7-бензилксантинів була виявлена сполука-лідер – 3-метил-7-*n*-хлоробензил-8-*n*-хлорбензиліденгідразиноксантин (14), який має значну діуретичну, антиоксидантну та кардіопротективну активності та може бути рекомендований для подальших поглиблених доклінічних випробувань.

ВИСНОВКИ

1. Вперше запропоновані прості у виконанні методики синтезу неописаних раніше 1-*R*-7-бензил-8-заміщених ксантинів (187 сполук), будова яких доведена даними сучасних фізико-хімічних методів аналізу (ІЧ-, ПМР-спектроскопія, мас-спектрометрія). Вивчена їх біологічна дія, що дозволило встановити деякі закономірності в ряді «будова-дія» та відібрати найбільш перспективну сполуку для подальших доклінічних досліджень.

2. Розроблено простий лабораторний спосіб отримання 7-бензилпохідних 8-бромоксантинів та вивчені їх реакції з різними моно- та амбідентними нуклеофілами (аміаком, первинними, вторинними аліфатичними, ароматичними та гетероциклічними амінами, амінокислотами) в результаті чого був синтезований значний ряд невідомих раніше 8-амінопохідних.

3. Запропонована проста лабораторна методика синтезу 7-бензил-8-гідразиноксантинів реакцією відповідних бромоксантинів з надлишком гідразингідрату в середовищі водного діоксану.

4. Вивчені реакції 7-бензил-8-гідразиноксантинів з альдегідами та кетонами ароматичного та гетероциклічного рядів та ацетилацетоном в результаті чого були вперше синтезовані різноманітні 8-бензиліден-гідразиноксантини та 8-(піразоліл-1)ксантини, які є перспективними біологічно активними сполуками.

5. Вперше синтезовані 7-бензилпохідні 8-тіоксантинів та вивчені їх реакції з різноманітними електрофільними реагентами (алкіл-, алкеніл-, фенілалкіл-, циклоалкіламіноетилгалогенідами, галогеноспиртами, галогенкетонами, галогенетерами, галогенокислотами та галогенестерами, та хлорацетамідом), в результаті яких були синтезовані відповідні S-заміщені 7-бензилксантини та функціональні похідні (7-бензилксантиніл-8)-тіоацетатних кислот.

6. Досліджено фізико-хімічні властивості синтезованих сполук, в тому числі проведено спектроскопічне вивчення отриманих речовин за допомогою методів ІЧ- і ПМР-спектроскопії та мас-спектрометрії, встановлені деякі особливості їх спектральних характеристик в залежності від будови.

7. Встановлено, що синтезовані сполуки відносяться до IV класу токсичності і виявляють значну антиоксидантну, діуретичну, анальгетичну, протизапальну та кардіопротективну дію. Встановлені певні закономірності в ряді «будова-дія».

8. Вперше в дослідах *in vivo* та *in vitro* виявлена сполука 3-метил-7-*n*-хлорбензил-8-*n*-хлорбензиліденгідразиноксантину, який проявляв високу ($p \leq 0,05$) кардіопротективну, антиоксидантну та діуретичну активність.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Синтез та вивчення антиоксидантної дії похідних 3-метил-7-*n*-хлорбензил-8-гідразиноксантину / М. І. Романенко, Д. Г. Іванченко, Л. В. Євсєєва, Р. В. Жмурін, Г. В. Милосердова, М. В. Глущенко, І. Ф. Беленічев, С. В. Павлов // Запороз. мед. журн. – 2006. – № 2 (35). – С. 144–148. (Дисертантом самостійно проводився аналіз частини літературних джерел, написано розділ на підставі власних матеріалів та результатів дослідження, забезпечено оформлення статті).

2. Синтез та антиоксидантна дія іліденгідразинопохідних 3-метил-7-*n*-фторобензилксантину / Л. В. Євсєєва, М. І. Романенко, Д. Г. Іванченко, І. Ф. Беленічев, В. І. Носаченко, А. В. Самко // Запороз. мед. журн. – 2007. – № 4 (43). – С. 154–157. (Дисертантом самостійно проводився аналіз частини літературних джерел, написано розділ на підставі власних матеріалів та результатів дослідження, забезпечено оформлення статті).

3. Синтез та біологічна дія 8-амінозаміщених 3-метил-7-*n*-хлорбензилксантину / М. І. Романенко, Л. В. Євсєєва, Д. Г. Іванченко,

Б. О. Прийменко, І. Ф. Беленічев, І. Б. Самура, В. І. Серіков, А. В. Самко // Запороз. мед. журн. – 2007. – № 6 (45). – С. 112–116. (Дисертантом самостійно проводився аналіз частини літературних джерел, написано розділ на підставі власних матеріалів та результатів дослідження, забезпечено оформлення статті).

4. Исследование острой токсичности и диуретической активности аммонийных солей 1,7-дизамещённых 3-метилксантинил-8-тиоуксусной кислоты / В. И. Корненко, Б. А. Самура, В. Е. Литаров, В. А. Николаев, Н. И. Романенко, Л. В. Евсеева, Д. Г. Иванченко // Запороз. мед. журн. – 2008. – № 5 (50). – С. 128–130. (Дисертантом самостійно проводився аналіз частини літературних джерел, написано розділ на підставі власних матеріалів та результатів дослідження, забезпечено оформлення статті).

5. Пат. 23243 Україна, МПК С07D 473/00. 3-метил-7-*n*-фторбензил-8-(α -метил)-*n*-метоксибензиліденгідразіноксантин, який проявляє антиоксидантну дію / М. І. Романенко, Л. В. Євсєєва, І. Ф. Беленічев, Д. Г. Иванченко, С. В. Павлов. – № у 2007 00885 ; заявл. 29.01.07 ; опубл. 10.05.07, Бюл. № 6. (Дисертантом самостійно проводився збір частини первинного матеріалу, виконана експериментальна частина, аналіз отриманих даних, проводилася робота за патентами).

6. Пат. 32691 Україна, МПК С07D 473/00. 3-метил-7-*n*-фторбензил-8-*n*-метилбензиліденгідразіноксантин, який виявляє антиоксидантну дію / М. І. Романенко, Л. В. Євсєєва, Д. Г. Иванченко. – № у 2008 00575 ; заявл. 17.01.08 ; опубл. 26.05.08, Бюл. № 10. (Дисертантом самостійно проводився збір частини первинного матеріалу, виконана експериментальна частина, аналіз отриманих даних, проводилася робота за патентами).

7. Пат. 38583 Україна, МПК С07D 473/00. 3-метил-7-*n*-хлорбензил-8-*n*-хлорбензиліденгідразіноксантин, який виявляє антиоксидантну дію / М. І. Романенко, Л. В. Євсєєва, Н. В. Крісанова. – № у 2008 09550 ; заявл. 21.07.08 ; опубл. 12.01.09, Бюл. № 1. (Дисертантом самостійно проводився збір частини первинного матеріалу, виконана експериментальна частина, аналіз отриманих даних, проводилася робота за патентами).

8. Пат. 41586 Україна, МПК С07D 473/00. 1,3-диметил-7-*n*-хлорбензил-8-*n*-метоксибензиліденгідразіноксантин, який виявляє діуретичну та антиоксидантну дії / М. І. Романенко, Л. В. Євсєєва, К. В.Александрова, Б. О. Самура, І. Б. Самура. – № у 2009 00336 ; заявл. 19.01.09 ; опубл. 25.05.09, Бюл. № 10. (Дисертантом самостійно проводився збір частини первинного матеріалу, виконана експериментальна частина, аналіз отриманих даних, проводилася робота за патентами).

9. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 7-бензилксантинів / Л. В. Левченко, Ю. Ю. Шкода, І. М. Романенко, Г. В. Милосердова, А. О. Прийменко // Матеріали підсумкової 62 студ. наук. конф., 21 квіт. 2004 р. – Запоріжжя, 2004. – С. 33. (Дисертантом самостійно проводився аналіз літературних джерел, виконано синтетичну частину дослідження, написання тез).

10. Синтез та біологічні властивості метильованих похідних ксантину / Л. В. Євсєєва, Г. В. Милосердова, І. М. Романенко, А. Б. Прийменко, Р. В. Жмурін, Ю. О. Якубова, Н. О. Кочерга // Молодь – медицині майбутнього : тези доповідей міжнар. студент. наук. конф., 21–22 квіт. 2005 р. – О., 2005. – С. 99. (Дисертантом самостійно проводився аналіз літературних джерел, виконано синтетичну частину дослідження, написання тез).

11. Євсєєва Л. В. Синтез та фармакологічна дія 1,8-дизаміщених 7-бензил-3-метилксантину / Л. В. Євсєєва, О. Ю. Сапронова, С. В. Павлов // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики : збірник наукових статей. – Запоріжжя, 2007. – Вип. XIX, т. 2. – С. 339. (Дисертантом самостійно проводився аналіз літературних джерел, виконано синтетичну частину дослідження, написання тез).

12. Пошук антиоксидантних сполук в ряду 7-бензилксантинів / Л. В. Євсєєва, Г. В. Милосердова, Р. В. Жмурін, М. В. Глущенко // Хист (Всеукр. мед. журн. молодих вчених). – Чернівці, 2007. – Вип. 9. – С. 152–153. (Дисертантом самостійно проводився аналіз літературних джерел, виконано синтетичну частину дослідження, написання тез).

13. Синтез та біологічні властивості 1,8-дизаміщених 7-бензилксантинів / Л. В. Євсєєва, М. І. Романенко, Г. В. Милосердова, І. Б. Самура // Фармацевтичний часопис. – 2007. – № 4 (4). – С. 10–11. (Дисертантом самостійно проводився аналіз літературних джерел, виконано синтетичну частину дослідження, написання тез).

14. Євсєєва Л. В. Синтез та вивчення антиоксидантної активності серед похідних 7-бензилксантину / Л. В. Євсєєва // Матеріали V міжнар. наук. конф. студентів та молодих вчених «Молодь та медицина майбутнього», 2–3 квіт. 2008 р. – Вінниця, 2008. – С. 288–289. (Дисертантом самостійно проводився аналіз літературних джерел, виконано синтетичну частину дослідження, написання тез).

15. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 7-бензилксантиніл-8-аміноалканових кислот та їх похідних / Л. В. Євсєєва, М. І. Романенко, К. О. Мартиненко, О. Б. Макоїд, Л. Є. Білоконь // Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, дослідження та апробації лік. засобів : XXVI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 12 берез. 2009 р. : тези доповідей – Х., 2009. – С. 20–21. (Дисертантом самостійно проводився аналіз літературних джерел, виконано синтетичну частину дослідження, написання тез).

АНОТАЦІЯ

Євсєєва Л. В. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 7-бензил-8-бромоксантинів. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2009.

Основною метою роботи був синтез нових високоефективних та малотоксичних 7-бензилксантинів і їх 8-заміщених з потенційною діуретичною, антиоксидантною, анальгетичною та протизапальною активністю, встановлення закономірностей зв'язку між хімічною будовою і біологічною дією, а також відбір сполук з найвищою біологічною активністю для подальших поглиблених доклінічних випробувань. Запропоновано препаративні методики синтезу і одержано ряд нових 8-аміно(гідразино-, іліденгідразино-, алкілокси-, арилкарбонілокси-, карбоксиалкіламіно-, тіо- та ін.)-7бензилксантинів. Для підтвердження будови та чистоти використовували елементний, ІЧ-, ПМР та мас-спектральні методи аналізу. Фармакологічний скринінг показав, що синтезовані сполуки відносяться до IV класу токсичності і виявляють значну антиоксидантну, діуретичну, анальгетичну, протизапальну та кардіопротективну дію. В результаті проведених нами досліджень біологічних властивостей похідних 7-бензилксантинів була виявлена сполука-лідер – 3-метил-7-*n*-хлоробензил-8-*n*-хлорбензиліденгідразиноксантин, який має значну діуретичну, антиоксидантну та кардіопротективну активності та може бути рекомендований для подальших поглиблених доклінічних випробувань.

Ключові слова: 7-бензилксантин, аміни, гідразини, гідразони, синтез, фізико-хімічні властивості, фармакологічний скринінг.

АННОТАЦІЯ

Евсеева Л. В. Синтез, физико-химические и биологические свойства производных 7-бензил-8-бромоксантинов. – Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. Запорожский государственный медицинский университет МЗ Украины, Запорожье, 2009.

Диссертация посвящена синтезу новых 7-бензилксантинов и их 8-замещенных высокоэффективных и малотоксичных соединений с потенциальной диуретической, антиоксидантной, анальгетической и противовоспалительной активностью, установлению закономерностей связи между химическим строением синтезированных соединений и биологическим действием, а также отбору соединений с наиболее высокой биологической активностью и для дальнейших доклинических испытаний.

Предложены новые методики синтеза 7-бензилпроизводных 8-бромоксантинов и изучены их реакции с разными моно- и амбидентными нуклеофилами (аммиаком, первичными, вторичными, алифатическими, ароматическими и гетероциклическими аминами), в результате чего был синтезирован ряд неописанных ранее 8-аминопроизводных. Разработаны препаративные методы синтеза и получены неописанные в литературе N-(7-бензилксантинил-8)аминоалкановые кислоты – перспективные синтоны для дальнейшей модификации ксантиновой молекулы.

Впервые исследована реакционная способность 7-бензил-8-бромоксантинов к N-, O-, S-нуклеофилам (первичным, вторичным, циклическим аминам, аминокислотам, гидразингидрату, натрий алкоксидам, солям карбоновых кислот, натрий сульфиду и тиацетатной кислоте), в результате этого были синтезированы неописанные в литературе соответствующие 8-N-, O-, S-замещённые производные.

Показано, что на основе впервые синтезированных нами 7-бензил-8-гидразиноксантинов получены соответствующие гидразоны, с антиоксидантным и диуретическим действием. На основе синтезированных 7-бензил-8-гидразиноксантинов предложены методы получения их илиденпроизводных с ароматическими и гетероароматическими альдегидами и кетонами. Доказана возможность получения неизвестных ранее 7-бензил-8-(3',5'-диметилпиразолил-1')-ксантинов нагреванием 8-гидразиноксантинов с избытком ацетилацетона в среде ледяной ацетатной кислоты.

Проведено исследование реакционной способности 7-бензил-8-тиоксантинов в реакциях алкилирования галогеналканами, галогеналкенами, фенилалкил-галогенидами, циклоалкиламиноэтилгалогенидами, бензилгалогенидами, галогеноспиртами, галогенкетонами, амидами галогенкарбоновых кислот. Установлено, что данное взаимодействие проходит исключительно по атому серы, что позволило осуществить синтез 8-тиопроизводных – потенциальных биологически активных веществ. Разработаны и сравнены методы синтеза (7-бензилксантинил-8)-тиоалкановых кислот: путём алкилирования соответствующих 7-бензил-8-тиоксантинов галогенокислотами и путём замещения атома брома в молекуле 7-бензил-8-бромоксантинов на остаток тиацетатной кислоты. Отработаны синтетические подходы к получению их функциональных производных (эфиров, амидов, гидразидов и солей).

Строение синтезированных соединений подтверждено элементарным анализом, методами ПМР-, ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии и встречными синтезами.

Был проведен фармакологический скрининг синтезированных производных 7-бензилксантинов. Исследования показали, что ЛД₅₀ этих веществ находится в пределах 256–2550 мг/кг, т.е. все эти соединения относятся к IV классу токсичности. Также было показано, что большинство синтезированных соединений имеют выраженную диуретическую, анальгетическую, противовоспалительную, антиоксидантную и кардиопротективную активности.

Согласно результатам наших исследований, диуретическая активность 19 веществ превышала эталон сравнения гипотиазид, а 5 из них были более активными, чем фуросемид. Установлено, что 3-метил-7-*n*-хлорбензил-8-*n*-хлорбензилиден-гидразиноксантин оказывал значительно выраженное диуретическое действие (239,8%), почти в полтора раза превышающее действие гипотиазида, и на 38,4% – фуросемида.

Это же соединение обладало наибольшим антиоксидантным действием во всех концентрациях. Так, в концентрации 10^{-3} моль/л, антиоксидантная активность 3-метил-7-*n*-хлорбензил-8-*n*-хлорбензилиден-гидразиноксантина была на 51% та 19% выше по сравнению с эталонными препаратами тиотриазолином и аскорбиновой кислотой соответственно. Нами было отмечено, что в концентрации 10^{-7} моль/л это вещество обладало таким же антиоксидантным действием, как и в концентрации 10^{-3} моль/л, что даёт возможность применять его в значительно меньшей концентрации.

В результате проведенных биологических исследований производных 7-бензилксантинов было найдено вещество-лидер – 3-метил-7-*n*-хлорбензил-8-*n*-хлорбензилиденгидразиноксантин, который имеет значительную диуретическую, антиоксидантную и кардиопротективную активности и может быть рекомендованным для дальнейших углубленных доклинических испытаний. Научная новизна и биологическое действие этого вещества, а также трёх соединений, имеющих значительную антиоксидантную и диуретическую активности (3-метил-7-*n*-фторобензил-8-(α -метил)-*n*-метоксибензилиденгидразиноксантин, 3-метил-7-*n*-фторобензил-8-*n*-метилбензилиденгидразиноксантин и 1,3-диметил-7-*n*-хлорбензил-8-*n*-метоксибензилиденгидразиноксантин), защищены 4 патентами Украины на полезную модель.

Ключевые слова: 7-бензилксантин, амины, гидразины, гидразоны, синтез, физико-химические свойства, фармакологический скрининг.

ANNOTATION

Evseyeva L. V. Synthesis, physicochemical and biological properties of 7-benzyl-8-bromoxanthine derivatives. – Manuscript.

Thesis for the Candidate's scientific degree in Pharmacy in specialty 15.00.02 – Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. Zaporizhzhian State Medical University Ministry of Public Health of Ukraine, Zaporizhzhya, 2009.

The main task of the work was the synthesis of new high-efficient and low-toxicity substances with potential diuretic, antioxidative, analgesic and antiinflammatory activity among neosynthesized 7-benzylxantines and their 8-replaced and also ascertainment of binding regularities between chemical structure and biological activity and also substances sampling for following in-depth pre-clinical testing. Preparative synthetic methods of new 8-amino(hydrazine-, ilidenhydrazine-, alkyloxi-, arylcarbonyloxi-, carboxialkylamino-, thio- etc)-7-benzylxantines were suggested and a number of substances were synthesized. The structure of the compounds obtained was proved and confirmed by the ultimate analysis, by methods IR-, NMR- and mass-spectroscopy. The pharmacological screening showed that synthesized substances are related to IV toxicity class and showed high antioxidative, diuretic, analgesic, antiinflammatory and cardioprotective activity. In results of investigation of 7-benzylxantines' biological activity we developed the leader-compound – 3-methyl-7-*p*-chlorobenzyl-8-*p*-chlorobenzylidenhydrazinoxantine – which has considerable diuretic, antioxidative

and cardioprotective action and may be recommended for in-depth pre-clinical testing.

Key words: 7-benzylxanthine, amines, hydrazines, hydrazones, synthesis, physicochemical properties, pharmacological screening.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АФГ – альдегідфенілгідрозон
БАР – біологічно активна речовина
ВРО – вільнорадикальне окиснення
ГІМ – гострий інфаркт міокарда
ДМФА – диметилформамід
ІЧ – інфрачервоний
КФГ – карбоксифенілгідрозон
ЛД₅₀ – летальна доза
ЛДГ₁ – лактатдегідрогеназа-1
ОМБ – окисна модифікація білка
ПМР – протонний магнітний резонанс
СОД – супероксиддисмутаза

Підписано до друку 01.12.2009. Гарнітура Times New Roman.
Папір друкарський. Формат 60x90/16. Умовн. друк. арк. 0,9.
Наклад – 100 прим. Зам. № 7077.

Надруковано з оригінал-макету в типографії
Запорізького державного медичного університету.
м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26.