

## СИНТЕЗ, ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ТА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОХІДНИХ 2-(3,8- ДИМЕТИЛ-2,6-ДІОКСО-1,2,3,6-ТЕТРАГІДРО-7Н- ПУРИНІЛ-7)АЦЕТАТУ

Прийменко Б. О., Васильев Д. А., Казунін М.С., Прийменко А.О.,  
Самура І. Б., Кандибей К.І., Гнатов М.І.  
Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя

Хімія похідних пуриндіону-2,6 є однією із галузей органічної хімії, що найбільш інтенсивно розвивається. Дослідження у ряді пуриндіону-2,6 спрямовані на пошук нових реакцій та реагентів, супроводжуються значних розширення спектра практичного застосування похідних даної гетероциклічної системи.

За даними літератури [1], похідні метильованих ксантинів (3-метилксантин, теофілін, теобромін, кофеїн) виявляють різноманітну біологічну дію. Звичайний ряд синтетичних похідних пуриндіону-2,6 використовується в практичній медицині у якості лікарських препаратів (компламін, трентал, дипрофілін, етофілін, атрианс, пуринетол, флударабін, кладрібін, тіогуанін та ін.), що володіють різноманітною фармакологічною дією [1-18].

Синтез похідних етил-2-(3,8-диметил-2,6-діоксо-1,2,3,6-тетрагідро-7Н-пуриніл-7)ацетату представляє інтерес в плані синтезу потенційних біологічно активних сполук.

Мета роботи полягала в розробці методів синтезу неописаних раніше похідних етил-2-(3,8-диметил-2,6-діоксо-1,2,3,6-тетрагідро-7Н-пуриніл-7)ацетату, вивчення їх фізико-хімічних характеристик та біологічних властивостей.

**Матеріали та методи дослідження.** Об'єктом дослідження є 3,8-диметил-3,7-дигідро-1Н-пуридин-2,6-діон (I), на основі якого отримано етил-2-(3,8-диметил-2,6-діоксо-1,2,3,6-тетрагідро-7Н-пуриніл-7)ацетат (II). Реакцією останнього з N-нуклеофілами отримані сполуки III-VIII (рис. 1). Будову підтверджено даними ІЧ-, ПМР- спектроскопії та мас-спектроскопії.

Інфрачервоні спектри ( $4000-400\text{ см}^{-1}$ ) були записані на спектрофотометрії Bruker ALPHA FT-IR. Використовували метод порушеного повного віддзеркалення з застосуванням ATR-модуля. ПМР-спектри записані на приладі фірми Varian (робоча частота 200 МГц, розчинник ДМСО- $d_6$ , внутрішній стандарт ТМС) і приладі Bruker SF-400 (розчинник – ДМСО- $d_6$  +  $\text{CDCl}_4$ , внутрішній стандарт ТМС). Мас-спектри записані на приладах MAT-311A і 1200 L фірми Varian з прямим введенням зразка до іонного джерела. Умови зйомок стандартні: прискорююча напруга – 3 кВ, струм емісії катоду 300 мкА, іонізуюча напруга – 70еВ. Визначення елементарно аналізу сполук II-VIII проводились за допомогою елементарного аналізатору Elementar Vario L cube.

Квантовохімічні розрахунки зарядів досліджувальних сполук проведено за методом Extended Huckel на основі лінійної комбінації атомних орбіталей у відповідності до програми ChemOffice Free Trial 11.0.1.

Прогнозування біологічної активності синтезованих сполук проводилось за допомогою програми Accelrys Discovery Studio Free Trial та програми PASS C&T (Prediction of Activity Spectra for Substances).

3,8-Диметил-3,7-дигідро-1Н-пурин-2,6-діон (I) синтезовано за методом [8].

Етил-2-(3,8-диметил-2,6-діоксо-1,2,3,6-тетрагідро-7Н-пуриніл-7)ацетат (II, табл.1). Суміш (0,03 моль) 3,8-диметил-3,7-дигідро-1Н-пурин-2,6-діону (I) та 2,35 г (0,03 моль) натрію гідрокарбонату в 45 мл диметилформаміду нагрівають 15 хв. Потім у реакційну суміш додають 3,0 мл (0,03 моль) етилхлорацетату та кип'яють 3 години. Охолоджують, розбавляють водою до половини об'єму. Охолоджують. Осад, що випав відфільтровують і сушать при 70-75 °С.

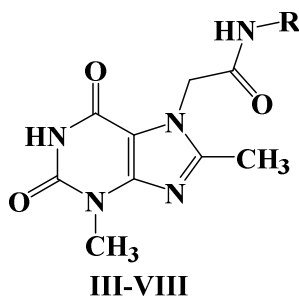
2-(3,8-диметил-2,6-діоксо-1,2,3,6-тетрагідро-7-пуриніл-7)-заміщені ацетгідрази (III-VI, табл.1).

Суміш (0,014 моль) II та 0,007 моль відповідного реагенту у 30 мл ацетатної кислоти кип'яють 1 год. Охолоджують, доводять 100 мл води. Осад відфільтровують, промивають ацетоном, сушать при 70 °С.

2-(3,8-диметил-2,6-діоксо-1,2,3,6-тетрагідро-7Н-пуриніл-7)-заміщені ацетаміди (VII, VIII, табл.1). Суміш (0,014 моль) II та 0,007 моль відповідного аміну у 30 мл н-пропанолу кип'яють 1 годину. Охолоджують, додають 100 мл H<sub>2</sub>O. Осад відфільтровують, промивають ацетоном, сушать при 70-75 °С.

Таблиця 1

### Фізико-хімічні характеристики 7-заміщених 3,8-диметил-3,7-дигідро-1Н-пурин-2,6-діону (III, IV, V, VI, VII, VIII)



Сполука	R	Т.пл., °С	Бруто-формула	Вихід, %
III	NH <sub>2</sub>	297-298	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> N <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	77
IV	HNC(S)NH <sub>2</sub>	175-176	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>7</sub> O <sub>3</sub> S	92
V	HNC(O)C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> (Br-м; OH-о)	>300	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> BrN <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	84
VI	HNC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	180-182	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> N <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	77
VII	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	215-216	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub>	88
VIII	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	229-230	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub>	90

Сполука	Знайдено, %			Обчислено, %		
	С	Н	N	С	Н	N
III	42,86	4,80	33,32	41,83	4,92	32,52
IV	38,37	4,24	31,62	38,58	4,21	31,49
V	42,78	3,34	18,51	42,59	3,35	18,62
VI	54,65	4,93	25,72	54,87	4,91	25,60
VII	57,32	4,85	22,22	57,50	4,83	22,35
VIII	58,89	5,25	21,45	58,71	5,23	21,39

**Результати дослідження та їх обговорення.** Для синтезу потенційних біологічно активних речовин, ними було вивчено 3,8-диметил-3,7-дигідро-1H-пурин-2,6-діону (I) з етилхлорцетратом, що призвело до отримання етил-2-(3,8-диметил-2,6-діоксо-1,2,3,6-тетрагідро-7H-пурил-7)-ацетату (II) рис. 1.

Нами встановлено, що нагрівання сполуки II з N-нуклеофілами в 30 мл ацетатної кислоти на протязі 1 години було отримано відповідні сполуки (III-VI, рис.1), а кипятіння II з відповідними амінами у 30 мл н-пропанолу реалізується одержанням речовин (VII; VIII, рис.1), сполуки III-VIII є зручними об'єктами для біологічних випробувань.

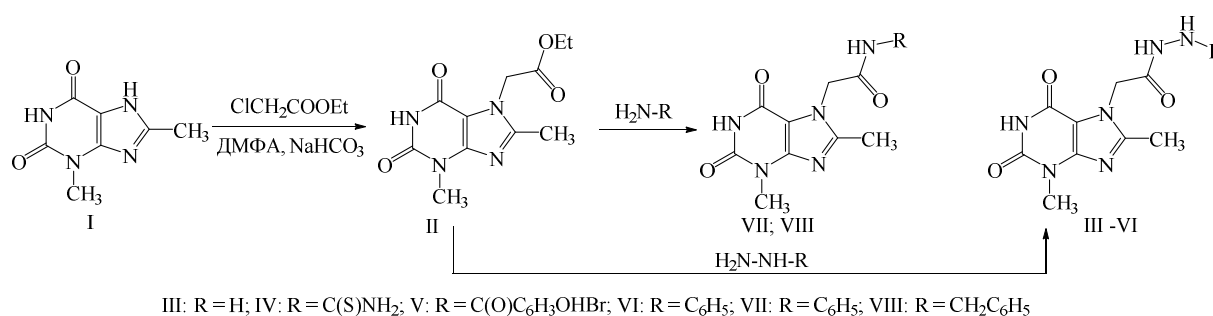


Рис. 1. Схема синтезу етил-2-(3,8-диметил-2,6-діоксо-1,2,3,6-тетрагідро-7H-пуриніл-7)ацетату (II) та його похідних III- VIII.

Реакція взаємодії сполуки II з N-нуклеофілами відбувається за механізмом нуклеофільного заміщення. На Карбоні карбонільної групи складноефірні угруповання етил-2-(3,8-диметил-2,6-діоксі-1,2,3,6-тетрагідро-7H-пуриніл-7)ацетату (II) зосереджен високий позитивний заряд (+0,587789), що свідчить про можливість нуклеофільної атаки на даний реакційний центр. Тому на основі квантово-хімічного розрахунку зарядів на основі комбінацій атомних орбіталей (метод Extended Huckel, ChemOffice 11.01), запропоновано імовірний механізм отримання похідних етил-2-(3,8-диметил-2,6-діоксо-1,2,3,6-тетрагідро-7H-пуриніл-7) ацетат (II), рис. 2.

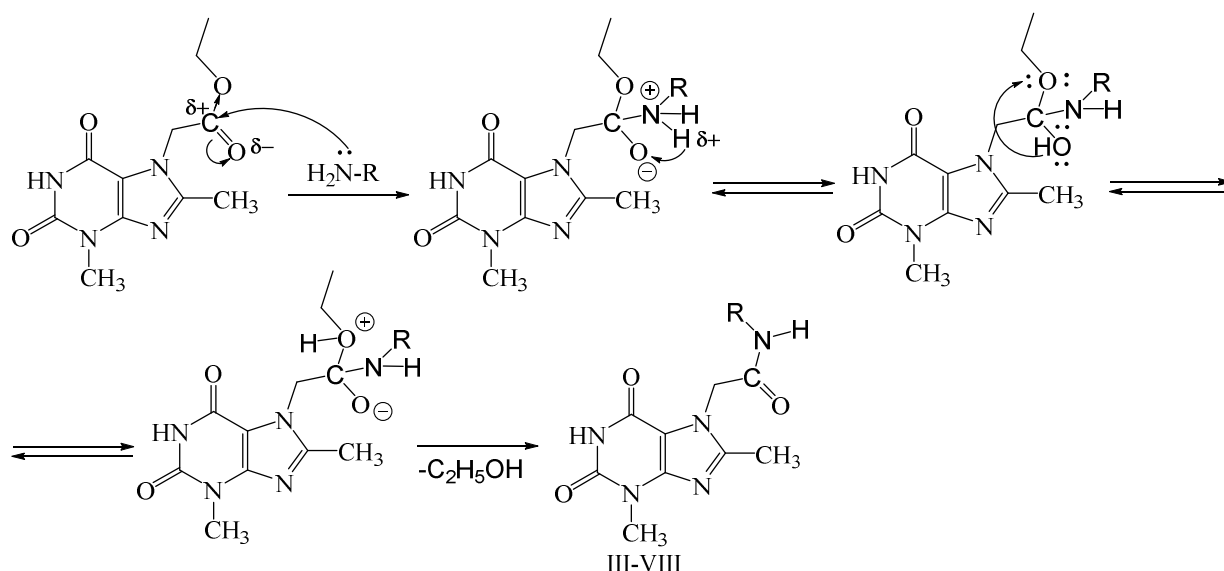


Рис. 2. Схема передбачуваного механізму утворення похідних етил-2-(3,8-диметил-2,6-діоксо-1,2,3,6-тетрагідрo-7Н-пуриніл-7)ацетату (III-VIII).

В ІЧ-спектрах (II-VIII) спостерігається смуги валентних коливань амідних карбонілів при  $1710-1680\text{ см}^{-1}$  у вигляді широкої смуги. Також спостерігаються смуги валентних коливань груп  $-C=C-$  в області  $1620-1610\text{ см}^{-1}$ ,  $\text{CH}_3-$   $2950\text{ см}^{-1}$ . Сигнали ПМР-спектрів сполук II-VIII наведені у таблиці 2.

Таблиця № 2

Сигнали ПМР-спектрів 7-заміщених 3,8-диметил-3,7-дигідрo-1Н-пурил-2,6,діону (II; III; IV; V; VI; VII; VIII)

Сполука	R	$\delta$ , м.ч.				
		NH (с.)	N <sub>3</sub> -CH <sub>3</sub> (с.)	CH <sub>аром</sub> (м)	N <sub>7</sub> -CH <sub>2</sub> (с.)	Інші протони
II		11,07	3,32	—	5,95	O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> (к) 4,07-4,16; O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> (т) 1,22-1,25
III	—NH <sub>2</sub>	10,91	3,40	—	5,87	—
IV		11,10	3,39	—	5,81	—
V		11,03	3,46	7,34-7,22	5,95	5,31 (с.) C-OH
VI		10,96	3,35	7,84-7,49	5,61	—
VII		11,12	3,35	7,79-7,51	5,65	—
VIII		11,08	3,48	8,03-7,71	5,98	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -CH <sub>2</sub> (с.) 4,40

У мас-спектрі сполуки II зафіксовано пік молекулярного іона  $M^+$  з  $m/z$  238, який відповідає брутто-складу  $C_{10}H_{14}N_4O_3$ . Наявність замісника у  $N_7$  підтверджується іонами з  $m/z$  165,  $m/z$  166, а іони з  $m/z$  238,  $m/z$  165,  $m/z$  166,  $m/z$  138,  $m/z$  123,  $m/z$  96 доводять будову урацилового фрагменту досліджуваної сполуки (рис. 3)

У мас-спектрі сполуки III зафіксовано пік  $M^+$  з  $m/z$  252, який відповідає брутто-складу  $C_9H_{12}N_6O_3$ . Наявність замісника у  $N_7$  підтверджують з  $m/z$  220,  $m/z$  180, а іони з  $m/z$  224,  $m/z$  181,  $m/z$  154,  $m/z$  152,  $m/z$  109,  $m/z$  82 доводять будову урацилового фрагменту сполуки (III, рис.4).

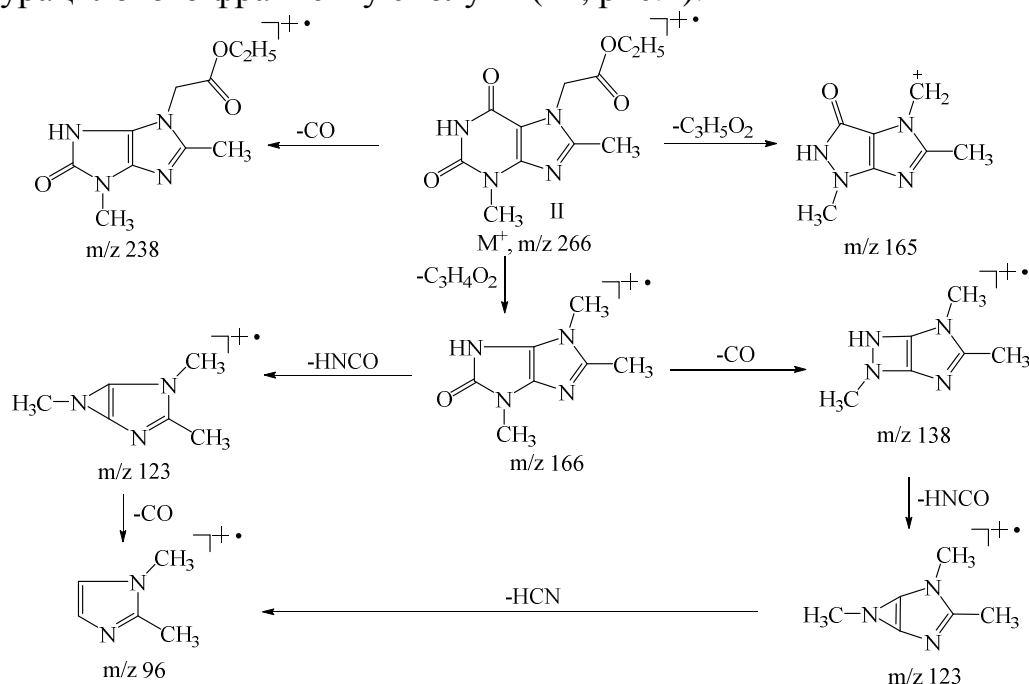


Рис. 3. Схема мас-розпаду 2-(3,8-диметил-2,6-діоксі-1,2,3,6-тетрагідро-7Н-пуриніл-7)ацетату (II).

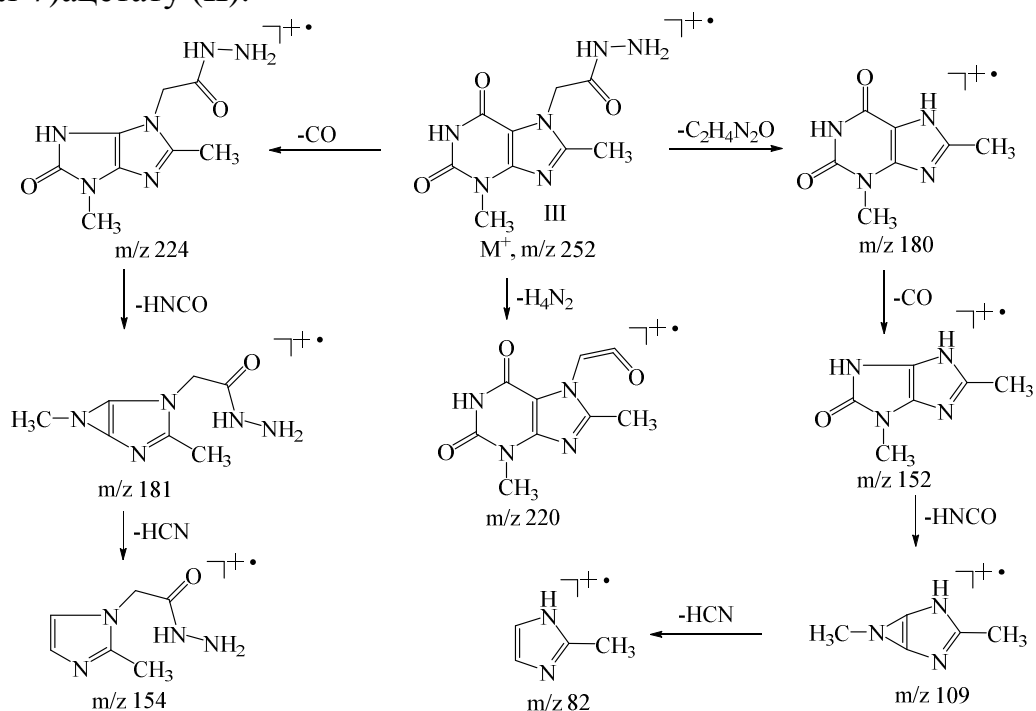


Рис. 4. Схема мас-розпаду сполуки III під дією електронного удару.

Структуру сполук III-VIII підтверджено даними елементного складу, ІЧ-, ПМР-спектроскопії та мас-спектроскопії.

Проведено біологічний скринінг сполук III-VIII, проявляють діуретичну, протимікробну, протитуберкульозну, нейротропну дію.

Таким чином результати комп'ютерного прогнозування біологічної активності сполук III-VIII (програма PASS) співпадають з первинним скринінгом, що свідчить про необхідність продовження пошуку біологічно активних сполук в ряді похідних пуриндіону-2,6.

### Висновки

1. Здійснено синтез похідних 2-(3,8-диметил-2,6-діоксо-1,2,3,6-тетрагідро-7Н-пуриніл-7)ацетату.
2. Проведено первинний біологічний скринінг синтезованих сполук.
3. Структура синтезованих сполук підтверджено даними елементного аналізу, даними ІЧ-, ПМР-спектроскопії та мас-спектроскопії.

### Література

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства / Машковский М.Д. // -15-е изд.- М.: «Издательство новая волна», 2005. – 1200 С.
2. А.с. 869286 СССР, МКИ<sup>3</sup>С07Д437/06, А61К31/52. Гидрохлорид 7-п-толуилметил-8-(4-в,г-диоксипропилперазино)-3-метилксантина, проявляющий гипотензивную, диуретическую и нейролептическую активность / Б.А. Прийменко, Б.А. Самура. С.Н. Гармаш (СССР).- №2930417/23.04; 23.05.80.
3. Синтез и поиск количественных соотношений структура-свойства в ряду 8-алкалзамещенных 7-*R*-3-метил-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-диона / Д.А. Васильев, А.О. Прийменко, М.С. Казунин и др. // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики. 2011.- №2.-С.55-58.
4. Synthesis and immunobiological activity of base substituted 2-amino-3-(purin-9-yl)-propanoic acid derivatives / P. Dolbko, A. Hala, Z. Zhdek // Bioorg. Med.Chem.-2005.-Vol.13.-P.2349-2354.
5. 6-Oxo and 6-thiopurine analogs as antimycobacterial agents / A.K. Pathak, V. Pathak, L.E. Seitz // Bioorg. Med. Chem.-2003.-Vol.21.-P.1685-1695.
6. Synthesis and in vitro biological evaluation of 2,6,9-trisubstituted purines targeting multiple cyclin-dependent kinases / Marek Zatloukal, Radek Jorda, Tombl Gucka // Eur. J. Med.Chem.-2013.Vol.61-P.61-72.
7. Novel derivatives of 6-mercaptopurine: Synthesis, characterization and antiproliferative activities of S-allylthio-mercaptopurines / T. Miron, F. Ardit-ti, L. Konstantinovski [et al.] // Eur. J. Med. Chem. – 2009. – Vol. 44. – P. 541-550.
8. Прийменко А. О. Синтез, физико-химические и биологические свойства некоторых N<sub>7</sub>-замещенных 8-(гидроксиметил)-3-метил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-диона / А. О. Прийменко, Д. А. Васильев, Е. В. Александрова // Научные Ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация. – 2013. – № 4(147). – С. 203-208.
9. Design, synthesis and evaluation of analogs of initiation factor 4E (eIF4E) cap-binding antagonist Bn<sup>7</sup>-GMP / Y. Jia, T. Chiu, E. A. Amin [et al.] // Eur. J. Med. Chem. – 2010. – Vol. 45. – P. 1304-1313.

10. Synthesis and in vitro biological evaluation of 2,6,9-trisubstituted purines targeting multiple cyclin-dependent kinases / M. Zatloukal, R. Jorda, T. Gucký [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2013. – Vol. 61. – P. 61-72.
11. 6-Oxo and 6-thio purine analogs as antimycobacterial agents / A. K. Pathak, V. Pathak, L. E. Seitz [et al.] // *Bioorg. Med. Chem.* – 2013. – Vol. 21. – P. 1685-1695.
12. Antimicrobial and cytotoxic activity of agelasine and agelasimine analogs / A. Vik, E. Hedner, C. Charnock [et al.] // *Bioorg. Med. Chem.* – 2007. – Vol. 15. – P. 4016-4037.
13. Design, synthesis, theoretical calculations and biological evaluation of new non-symmetrical choline kinase inhibitors / B. Rubio-Ruíz, A. Conejo-García, P. Ríos-Marco [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2012. – Vol. 50. – P. 154-162.
14. Exploring human adenosine A3 receptor complementarity and activity for adenosine analogues modified in the ribose and purine moiety / P. V. Rompaey, K. A. Jacobson, A. S. Gross // *Bioorg. Med. Chem.* – 2005. – Vol. 13. – P. 973-983.
15. Synthesis, biological and modeling studies of 1,3-di-n-propyl-2,4-dio-xo-6-methyl-8-(substituted) 1,2,3,4-tetrahydro [1,2,4]-triazolo [3,4-f]-purines as adenosine receptor antagonists / G. Pastorin, C. Bolcato, B. Cacciari [et al.] // *Il Farmaco.* – 2005. – Vol. 60. – P. 643-651.
16. Protection from myocardial stunning by ischaemia and hypoxia with the adenosine A3 receptor agonist, IB-MECA / H. L. Maddock, N. M. Gardner, N. Khandoudi [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 477(3). – P. 235-245.
17. Structure activity relationships at human and rat A2B adenosine receptors of xanthine derivatives substituted at the 1-, 3-, 7-, and 8-positions / S. Kim, M. A. Marshall, N. Melman [et al.] // *J. Med. Chem.* – 2002. – Vol. 45. – P. 2131-2138.
18. Roy K. QSAR of adenosine receptor antagonists. Part 3: Exploring physicochemical requirements for selective binding of 1,2,4-triazolo[5,1-i]purine derivatives with human adenosine A3 receptor subtype / K. Roy, J. T. Leonard, C. Sengupta // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2004. – Vol. 14. – P. 3705-3709.