



Д.Г. Іванченко, М.І. Романенко, К.В. Александрова

Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних ксантину. I. 1-бензил-8-амінотеоброміни

Запорізький державний медичний університет

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

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

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

Розроблено прості лабораторні методи синтезу 8-аміно-1-бензилтеобромінів – потенційних біологічно активних речовин. Вивчено їх ПМР-спектроскопічні характеристики й антиоксидантну активність.

Разработаны простые лабораторные методы синтеза 8-амино-1-бензилтеоброминов – потенциальных биологически активных соединений. Изучены их ПМР-спектроскопические характеристики и антиоксидантная активность.

A simple laboratory methods of synthesis for 8-amino-1-benzyltheobromines – potential biologically active compounds were developed. Their NMR-spectroscopic characteristics and antioxidant activity were studied.

Добре відомо, що процеси вільнорадикального окислення відіграють важливу роль у метаболізмі клітин. Це пов'язано з 2 основними моментами: з одного боку, реакції вільнорадикального окислення (ВРО) є необхідним етапом різних метаболічних процесів, з іншого, підвищена інтенсивність ВРО у багатьох випадках є або наслідком, або причиною тих чи інших патологічних змін у клітинах і тканинах. Вільні радикали й особливо активні форми кисню надзвичайно реакційно здатні, оскільки мають у складі атоми кисню з додатковими неспареними електронами. Вони досить легко реагують з ліпідами, білками, нуклеїновими кислотами та вуглеводами. Це викликає пошкодження біополімерів, клітинних мембран і призводить до порушень метаболізму та структурної організації клітини.

В арсенал сучасних антиоксидантів входять як природні сполуки (α -токоферолу ацетат, убінон), так і синтетичні препарати (дибунол, емоксипін, мексидол) [1].

Усі зазначені препарати виявляють ряд побічних ефектів: вони є індукторами гіперчутливості I типу за Gell-Coombs, викликають диспепсичний синдром (нудота, блювота, діарея), порушують нервову регуляцію (збудження). Антиоксидантні препарати мають ряд протипоказань (вагітність, порушення функції нирок, рак сечового міхура). α -Токоферол та убінон нестійкі при тривалому зберіганні.

Отже, створення нових сучасних препаратів, що мають антиоксидантні властивості, є актуальним і перспективним напрямком.

Раніше показано перспективність пошуку антиоксидантів серед похідних теоброміну [2–6].

Мета роботи

Розробка простих лабораторних методів синтезу 8-аміно-1-бензилтеобромінів і вивчення антиоксидантної активності синтезованих сполук.

Матеріали і методи дослідження

Температуру плавлення визначали відкритим капілярним способом на приладі ПТП (М). Елементний аналіз виконано на приладі ElementarVarioLcube, ПМР-спектри

знято на спектрометрі BrukerSF-400 (робоча частота 400 МГц, розчинник ДМСО-*d*₆ або ДМСО-*d*₆ + CDCl₃, внутрішній стандарт – ТМС).

Аналітичні дані синтезованих сполук наведено в таблицях 1, 2.

Синтез 8-аміно-1-бензилтеобромінів (3–10)

Суміш 0,07 моль 1-бензил-8-бромотеоброміну (1, 2), 0,03 моль відповідного аміну, 40 мл 2-етоксіетанолу кип'ятять 4 години, охолоджують, додають 150 мл води, осад відфільтровують, промивають водою, водним пропанолом-2 і кристалізують з водного етанолу (3–6) чи водного пропанолу-2 (7–10).

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

Антиоксидантну активність (АОА) вивчали *in vitro* методом неферментного ініціювання вільнорадикального окислення [7,8]. У якості субстрату використано суспензію яєчних ліпопротеїнів (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 окислення 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'ятять на водяній бані протягом 60 хвилин. Забарвлений комплекс малонового діальдегіду з ТБК вилучають додаванням *n*-бутанолу. Методом спектрофотометрії визначають концентрацію малонового діальдегіду, що свідчить про інтенсивність процесів вільнорадикального окислення. Антиоксидантну активність (у відсотках) визначали за формулою:

$$AOA = (C_{K1} - C_0 / C_{K1} - C_{K2}) \cdot 100\%,$$

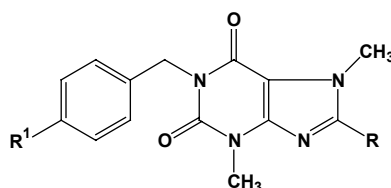
де C_{K1} , C_{K2} – вміст ТБК-реактантів у контрольних пробах, моль/л;

C_0 – вміст ТБК-реактантів у дослідній пробі, моль/л.

Дані з АОА похідних 8-амінозаміщених 1-бензилтеобромінів наведено в таблиці 4.

Таблиця 1

Величини хімічного зсуву в ПМР-спектрах 8-амінопохідних 1-R-бензилтеоброміну (3-10)



Сполука	R ¹	R	δ-шкала, м.ч.						
			CH _{аром}	C ⁸ NH (т, 1H)	N ¹ CH ₂ (с, 2H)	N ⁷ CH ₃ (с, 3H)	N ³ CH ₃ (с, 3H)	NCH ₂	Інші сигнали
3	H	NH(CH ₂) ₃ OH	7,29–7,25 (м, 5H)	7,03	5,02	3,56	3,35	3,49 (кв, 2H)	4,53 (т, 1H); 3,39 (кв, 2H); 1,74 (кв, 2H)
4	H	NHCH ₂ CH(OH)CH ₃	7,29–7,22 (м, 5H)	7,05	5,01	3,58	3,35	3,27–3,24 (м, 2H)	4,80 (д, 1H); 3,80–3,60 (м, 1H); 1,09 (д, 3H)
5	H	NH(CH ₂) ₃ OCH ₃	7,29–7,20 (м, 5H)	7,05	5,01	3,56	3,35	3,45–3,30 (м, 4H) + OCH ₂	3,24 (с, 3H); 1,82 (кв, 2H)
6	H	NH(CH ₂) ₃ OCH(CH ₃) ₂	7,29–7,20 (м, 5H)	7,02	5,01	3,56	3,35	3,45–3,30 (м, 4H)	3,53 (м, 1H); 1,79 (кв, 2H); 1,08 (д, 6H)
7	Cl	NH(CH ₂) ₃ OH	7,33–7,23 (кв, 4H)	6,91	4,96	3,56	3,38	3,50–3,48 (м, 4H) + OCH ₂	4,36 (т, 1H); 1,73–1,70 (м, 2H)
8	Cl	NHCH ₂ CH(OH)CH ₃	7,33–7,23 (кв, 4H)	6,86	4,96	3,59	3,34	3,32–3,28 (м, 2H)	4,61 (д, 1H); 3,82 (м, 1H); 1,09 (д, 3H)
9	Cl	NH(CH ₂) ₃ OCH ₃	7,33–7,23 (кв, 4H)	6,91	4,96	3,57	3,35	3,45 (м, 4H) + OCH ₂	3,27 (с, 3H); 1,8 (м, 2H)
10	Cl	NH(CH ₂) ₃ OCH(CH ₃) ₂	7,33–7,23 (кв, 4H)	6,90	4,96	3,56	3,35	3,43–3,35 (м, 4H) + OCH ₂	3,53 (м, 1H); 1,77 (кв, 2H); 1,10 (д, 6H)

Таблиця 2

Фізико-хімічні характеристики синтезованих сполук (3–10)

Сполука	T _{плавл} ¹ , °C	Знайдено, %			Емпірична формула	Вирахувано, %			Вихід, %
		C	H	N		C	H	N	
3	196-197	59,78	6,48	20,10	C ₁₇ H ₂₁ N ₅ O ₃	59,46	6,16	20,40	46
4	197-198	59,49	6,13	20,43	C ₁₇ H ₂₁ N ₅ O ₃	59,46	6,16	20,40	40
5	172-174	60,32	6,75	19,85	C ₁₈ H ₂₃ N ₅ O ₃	60,49	6,49	19,59	75
6	153-154	62,52	6,86	18,48	C ₂₀ H ₂₇ N ₅ O ₃	62,32	7,06	18,18	88
7	154-156	54,10	5,40	18,49	C ₁₇ H ₂₀ ClN ₅ O ₃	54,04	5,34	18,54	26
8	168-169	53,98	5,38	18,58	C ₁₇ H ₂₀ ClN ₅ O ₃	54,04	5,34	18,54	34
9	177-178	55,45	5,38	17,95	C ₁₈ H ₂₂ ClN ₅ O ₃	55,17	5,66	17,87	71
10	133-134	57,15	6,30	16,53	C ₂₀ H ₂₆ ClN ₅ O ₃	57,21	6,24	16,68	49

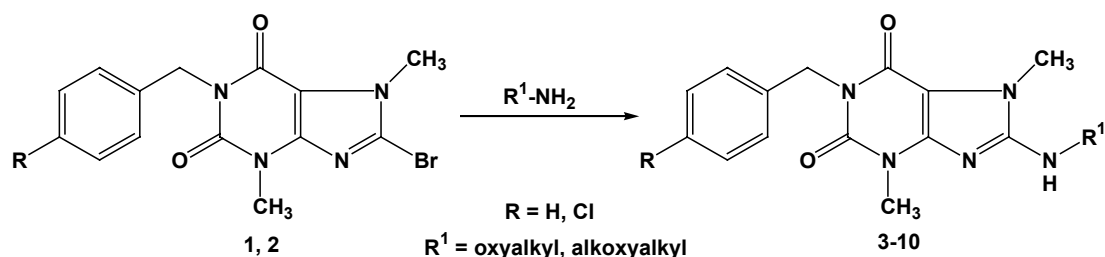
Результати та їх обговорення

Взаємодією 1-бензил-8-бромтеобромінів (1, 2) [5,9] з первинними амінами в середовищі 2-етоксиганолу отримано ряд неописаних раніше 8-N-оксіалкіл(3, 4, 7, 8)- та 8-N-алкоксіалкіл(5, 6, 9, 10)-1-бензилтеоброміни (схема 1).

Будову синтезованих сполук однозначно доведено даними ПМР-спектроскопії (табл. 1). Так, у ПМР-спектрах отриманих сполук 3–6 реєструють сигнали ароматичних протонів у вигляді мультиплетів (R=H) в

інтервалі 7,29–7,20 м.ч. та кватетів (R=Cl) при 7,33–7,23 м.ч. (7–10) відповідної інтенсивності, метиленові протони бензильного залишку в положенні 1 резонують у вигляді інтенсивних синглетів при 5,02–4,96 м.ч. Наявність N⁷- та N³-метильних груп у молекулі ксантину підтверджується сигналами в ділянці 3,59–3,56 м.ч. та 3,38–3,34 м.ч. відповідно у вигляді інтенсивних синглетів. Форма, розташування та інтенсивність сигналів протонів залишків амінів у положенні 8 повністю відповідає їх будові.

Попередньо здійснено розрахунки властивостей син-



тезованих сполук на відповідність «правилам п'яти» Ліпінські [10], адже сполуки з поганою проникністю вважають малоперспективними. Встановлено, що всі отримані сполуки відповідають вимогам «правил п'яти», тобто індекс Ліпінські для всіх речовин дорівнює 0 (табл. 3). Надалі використано фільтр Гхоша [11]. Як видно з наведених у таблиці 3 даних, значення полярної поверхні (*PolarSurfaceArea*) та молекулярної рефракції не перевищують 140 \AA^2 та $130 \text{ м}^3/\text{моль}$ відповідно, а отже сполуки відповідають критеріям Гхоша.

Аналізуючи показники антиоксидантної дії синтезованих сполук (табл. 4), можна сказати, що сполукою-лідером є 1-*n*-хлоробензил-8- γ -метоксипропіламінотеобромін (9), який за даним параметром

активніший за еталони порівняння (тіотріазолін, аскорбінова кислота). Аналог сполуки 9 – 1-бензил-8- γ -метоксипропіламінотеобромін (5) – суттєво поступається за показниками зазначеної активності. З введенням додаткової метильної групи в γ -положення метоксипропіламінового залишку АОА 1-бензилпохідного (6) майже не відрізняється від такої 1-*n*-хлоробензилпохідного (10) в усіх концентраціях. Але, порівнюючи 1-бензил-8- γ -*i*-пропоксипропіламінотеобромінів (6, 10) з 1-*n*-хлоробензил-8- γ -метоксипропіламінотеоброміном (9), видно, що в концентраціях 10^{-5} і 10^{-7} моль/л АОА суттєво знижується.

Як свідчать дані таблиці 4, заміна γ -гідроксипропільного

Таблиця 3

Значення молекулярних дескрипторів синтезованих сполук (3–10)

Сполука	М, Да	Кількість			LogP	TPSA, A^2	Молекулярна рефракція, $\text{м}^3/\text{моль}$
		Атомів	Донорів Н ⁺	Акцепторів Н ⁺			
3	343	46	2	7	1,50±0,32	94,08	94,771
4	343	46	2	7	1,43±0,38	94,08	94,324
5	357	49	1	7	1,86±0,34	83,08	99,522
6	385	55	1	7	2,62±0,29	83,08	108,688
7	378	46	2	7	2,10±0,30	94,08	99,576
8	378	46	2	7	2,03±0,35	94,08	99,128
9	395	49	1	7	2,49±0,32	83,08	104,327
10	420	55	1	7	3,24±0,28	83,08	113,493

Таблиця 4

Антиоксидантна активність 8-амінопохідних 1-*R*-бензилтеоброміну (3–10)

Сполука	С, моль/л	АОА, %	Сполука	С, моль/л	АОА, %
3	10^{-3}	30,56	7	10^{-3}	-85,00
	10^{-5}	30,56		10^{-5}	-112,50
	10^{-7}	39,85		10^{-7}	-72,50
4	10^{-3}	28,93	8	10^{-3}	-102,50
	10^{-5}	18,78		10^{-5}	-166,25
	10^{-7}	28,93		10^{-7}	-163,50
5	10^{-3}	21,30	9	10^{-3}	84,89
	10^{-5}	16,67		10^{-5}	60,44
	10^{-7}	12,04		10^{-7}	61,78
6	10^{-3}	64,47	10	10^{-3}	71,56
	10^{-5}	23,86		10^{-5}	21,78
	10^{-7}	28,93		10^{-7}	24,00
Тіотріазолін	10^{-3}	33,90	Аскорбінова кислота	10^{-3}	60,87
	10^{-5}	22,60		10^{-5}	39,13
	10^{-7}	7,63		10^{-7}	76,09

залишку (3,7) на β -гідроксипропільний (4,8) призводить до зниження показників АОА. Причому у випадку з 1-*n*-хлоробензилтеобромінами погіршення антиоксидантних властивостей є більш вираженим. Порівнюючи АОА 1-бензил(3, 4)- та 1-*n*-хлоробензилтеобромініл-8-аміноспиртів (7, 8), видно, що введення атому хлору в пара-положення бензильного радикалу призводить до вияву прооксидантних властивостей.

Аналізуючи отримані дані та результати попередніх досліджень [6], можна зазначити, що введення γ -гідроксипропіламіну у положення 8 молекули 1-бензилтеоброміну не призводить до збільшення показників АОА відносно аскорбінової кислоти, а введення метильної групи в пара-положення бензильного залишку

призводить до зниження активності. Заміна метильної групи на атом хлору призводить до вияву прооксидантних властивостей. Для остаточних висновків необхідно провести додаткові дослідження. Робота в даному напрямку триває.

Висновки

Розроблено доступні лабораторні методи синтезу 8-аміно-1-бензилтеобромінів, будову яких доведено даними елементного аналізу, ПМР-спектроскопії.

Для прогнозування властивостей отриманих речовин використано методи молекулярного моделювання.

Вивчено антиоксидантну дію синтезованих сполук, встановлено пріоритети для подальшого пошуку біологічно активних сполук.

Список літератури

1. *Машковский М.Д.* Лекарственные средства / М. Д. Машковский. – М.: ООО «ИЗ-ВО Новая Волна», 2005. – с. 729–734.
2. Пат. № 18713 Україна, МПК C07D 473/00. 1-*n*-Метилбензил-8-*m*-метоксибензиліденгідразинотеобромін, який виявляє антиоксидантну дію / М.І. Романенко, Д.Г. Іванченко, Р.В. Жмурін, І.Ф. Беленічев – №200605854; заявл. 29.05.06; опубл. 15.11.06, Бюл. №11.
3. Пат. № 21412 Україна, МПК C07D 473/00. 1-*n*-Хлорбензил-8-(піридиніл-3')метиліденгідразинотеобромін, який виявляє антиоксидантну дію / Д.Г. Іванченко, М.І. Романенко, Р.В. Жмурін, І.Ф. Беленічев, Г.М. Милосердова – № u200610204; заявл. 25.09.06; опубл. 15.03.07, Бюл. №3.
4. Пат. № 38873 Україна, МПК C07D 473/00. 8-*N*-(фурил-2) метиламіно-1-*n*-хлоробензилтеобромін, який виявляє діуретичну, протизапальну і антиоксидантну дію / Д.Г. Іванченко, М.І. Романенко, Б.А. Самура, Н.В. Крісанова – № u200809552; заявл. 21.07.08; опубл. 26.01.09, Бюл. №2.
5. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 8-амінопохідних 1-бензилтеоброміну / М.І. Романенко, Д.Г. Іванченко, Б.Б. Самура та ін. // Запороз. мед. журн. – 2006. – №3 (36). – С. 142–146.
6. Синтез та вивчення антиоксидантної активності 8-*R*-аміно-1-бензилтеобромінів / Д.Г. Іванченко, М.І. Романенко, К.В. Александрова, Н.В. Крісанова, О.О. Мартинюк // Вісник фармації. – 2009. – №1 (57). – С. 3–6.
7. Pat. 5726063 USA, G01N 33/52. Method of colorimetric analysis of malonicdialdehydes 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.
8. *Беленічев І.Ф.* Методи оцінки антиоксидантної активності речовин при ініціюванні вільно-радикальних процесів у дослідях invitro: Метод. рекомендації / І.Ф. Беленічев, Ю.І. Губський, В.В. Дунаєв, С.І. Коваленко. – К.: ДФЦ МОЗ України, 2002. – 26 с.
9. Синтез та вивчення антиоксидантної дії 8-*S*-заміщених 1-*n*-хлоробензилтеоброміну / Д.Г. Іванченко, М.І. Романенко, Л.В. Євсєєва та ін. // Запороз. мед. журн. – 2007. – №6 (45). – С. 125–128.
10. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings / Ch.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy, P.J. Feeney // Adv. DrugDel. Rev. – 2001. – №46. –P. 3–26.
11. *Ghose A.K.* A Knowledge-Based Approach in Designing Combinatorial or Medicinal Chemistry Libraries for Drug Discovery. 1. A Qualitative and Quantitative Characterization of Known Drug Databases / A.K. Ghose, V.N. Viswanadhan, J.J. Wendoloski // J. Comb. Chem. – 1999. – №1. – P. 55–68.

Відомості про авторів:

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

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

Александрова К.В., д. хім. н., професор, зав. каф. біохімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.

Адреса для листування:

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

Тел.: (0612) 34 24 42.

E-mail: ivanchenkodima@yandex.ru

Надійшла в редакцію 1.12.2011 р.