УДК 547.466.22'857.4–38.03/.04–026.8

М.І. Романенко[1], О.О. Мартинюк[1], С.О. Васюк[1], А.С. Коржова[1], Б.А. Самура[2], А.В. Таран[2]

Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості солей N-(3-метил-7-β-метоксиетилксантиніл-8-)аміноетанової кислоти

[1]*Запорізький державний медичний університет,*

[2]*Національний фармацевтичний університет, м. Харків*

Ключові слові: *ксантин, синтез,ПМР-спектроскопія, елементний аналіз, біологічна активність.*

Ключевые слова: *ксантин, синтез, ПМР-спкектроскопия, элементный анализ, биологическая активность.*

Key words: *xanthine, synthesis, NMR-spectroscopy, elemental analysis, biological activity.*

Розроблено прості лабораторні методи синтезу солей N-(3-метил-7-β-метоксиетилксантиніл-8-)аміноетанової кислоти, що виявляють діуретичну й аналгетичну дії. Будову синтезованих сполук підтверджено даними ІЧ- та ПМР-спектроскопії.

Разработаны простые лабораторные методы синтеза солей N-(3-метил-7-β-метоксиэтилксантинил-8-)аминэтановой кислоты, которые проявляют диуретическое и анальгетическое действие. Строение синтезированных соединений подтверждено данными ИК- и ПМР-спектроскопии.

Simple laboratory methods for the synthesis of N-(3-methyl-7-β-methoxyethylxanthinyl-8-) aminoethane acid salts were elaborated, which identified as diuretic and analgetic actions. The structure of synthesized substances was proved by data of IR- and NMR-**s**pectroscopy.

Відомо, що β-гідроксиетильний замісник є фармакофорною групою і структурним фрагментом багатьох біологічно активних сполук і не дарма ряд 7-β-гідроксиетилзаміщених теофіліну використовують у медичній практиці в якості ефективних лікарських засобів (етофілін, теофібрат, гесотанол тощо) [1]. Раніше [2–5] синтезовано ряд 8-заміщених 7-β-гідроксиалкіл-3-метилксантину, що виявляють гіпотензивну, бронхолітичну, антианафілактичну, протизапальну, діуретичну дії. Зазначене свідчить про перспективу пошуку нових біологічно активних речовин (БАР) серед похідних ксантину.

Мета роботи

Пошук нових діуретичних та аналгетичних засобів у ряді 7-β-метоксиетилксантину, що могли б знайти застосування в практичній медицині.

Матеріали і методи дослідження

Температуру плавлення визначали відкритим капіляр-ним способом на приладі ПТП (М). ІЧ-спектри синтезованих сполук записували на приладі фірми BrukerAlpha в області 4000–400 $см^{-1}$. Елементний аналіз виконано на приладі ElementarVarioLcube,ПМР-спектри знято на спектрометрі DrukerSF-400 (розчинник ДМСО-*d6* або ДМСО-*d6* + $CDCl_3$, внутрішній стандарт – ТМС). Дані елементного аналізу відповідають розрахованим.

Синтез 8-бромо-3-метил-7-β-метоксиетиксантину (2). Суміш 49,0 г (0,2 моль) 8-бромо-3-метилксантину (1)[6], 18,5 г (0,22 моль) $NaHCO_3$, 20,8 г (0,22 моль) β-метоксиетилхлориду, 200 мл диметилформаміду (ДМФА) кип'ятять 1 годину, охолоджують до 120°С і фільтрують, фільтрат охолоджують, осад, що утворився, відфільтровують, промивають льодяною водою і кристалізують з води. Фільтрат після відокремлення основного продукту випаровують у вакуумі досуха, а залишок кристалізують із води. Загальний вихід сполуки (2) 69,3% (*табл. 1*).

Таблиця 1

Характеристики синтезованих сполук

Сполука	Т пл., °С	Брутто формула	Розраховано, %			Знайдено, %			Вихід, %
			C	H	N	C	H	N	
2	217–218	$C_9H_{11}BrN_4O_3$	35,66	3,66	18,48	35,46	3,51	18,72	69,3
3	253–254	$C_{11}H_{15}N_5O_5$	44,44	5,09	23,56	44,65	5,32	23,65	64,0
4	201–202	$C_{13}H_{22}N_6O_6$	43,57	6,19	23,45	43,43	6,30	23,61	88,9
5	198–199	$C_{14}H_{24}N_6O_6$	45,16	6,50	22,57	45,25	6,41	22,45	85,6
6	246–247	$C_{17}H_{30}N_6O_6$	49,26	7,30	20,28	49,12	7,35	20,45	86,5
7	209–210	$C_{15}H_{24}N_6O_5$	48,91	6,57	22,81	48,76	6,48	22,92	81,1
8	221–222	$C_{16}H_{26}N_6O_5$	50,25	6,85	21,98	50,45	6,78	21,90	84,2
9	254–255	$C_{15}H_{24}N_6O_6$	46,87	6,29	21,86	46,65	6,24	21,59	84,2
10	230–231	$C_{16}H_{27}N_7O_5$	48,35	6,85	24,67	48,12	6,90	24,45	75,0
11	231–232	$C_{17}H_{29}N_7O_5$	49,62	7,10	23,83	49,45	7,21	23,76	77,5
12	259–260	$C_{15}H_{26}N_6O_5$	48,64	7,08	22,69	48,75	7,23	22,75	80,6
13	169–170	$C_{15}H_{26}N_6O_7$	44,77	6,51	20,88	44,56	6,68	20,69	90,0

© М.І. Романенко, О.О. Мартинюк, С.О. Васюк, А.С. Коржова, Б.А. Самура, А.В. Таран, 2012

Синтез N-(3метил-7-β-метоксиетилксантиніл-8-)аміноетанової кислоти (3). Розчин 3,0 г (0,01 моль) бромоксантину (2), 2,25 г (0,03 моль) гліцину, 1,2 г (0,03 моль) NaOH у суміші 30 мл води та 10 мл діоксану кип'ятять 5 годин, охолоджують, фільтрують, до фільтрату додають конц. HClдо pH=2. Через 24 години осад відфільтровують, промивають холодною водою та очищують методом переосадження з водного розчину $NaHCO_3$.

Синтез амонійних солей N-(3метил-7-β-метоксиетилксантиніл-8-)аміноетанової кислоти (4–13). Суміш 2,0 г (0,0064 моль) кислоти 3, 0,01 моль відповідного аміну, 5 мл води та 20 мл ізопропілового естеру підігрівають до утворення розчину і фільтрують, до фільтрату додають 50 мл ацетону і залишають при -5°С на 24 години. Осад, що утворився, відфільтровують, промивають ацетоном і діетиловим етером.

Аналітичні дані синтезованих сполук (2-14) наведено в *таблицях 1–3*.

Гостру токсичність солей N-(3-метил-7-β-метоксиетилксантиніл-8-)аміноетанової кислоти вивчали за методом Кербера [7]. Вивчення діуретичної дії отриманих сполук проводили на білих щурах вагою 170–195 г за методом Є.Б. Берхіна [8]. Синтезовані сполуки вводили внутрішньоочеревинно в дозі 1/100 $ЛД_{50}$. У якості еталону порівняння використовували гіпотіазид у дозі 25 мг/кг.

Аналгетичну дію синтезованих ксантинів вивчено на білих щурах вагою 160–185 г з використанням моделі «оцтових корчів», що викликають внутрішньоочеревинним введенням 1% водного розчину оцтової кислоти в дозі 1 мл на 100 г маси тіла тварини [9]. У якості еталону порівняння використано анальгін у дозі 25 мг/кг.

Таблиця 2

ІЧ-спектри синтезованих сполук

Сполука	ν, $см^{-1}$					
	N_1H	CH_3 (CH_2; CH)	C=O	C=N	+NH2	Інші
2	3145	3015; 2943; 2888; 2807	1668	1651	–	–
3	3152; 3172	3014; 2941; 2886; 2800	1697; 1660	1616	–	–
4	3217; 3151	3007; 2944; 2898; 2816	1696; 1678	1615	–	3416 (OH)
5	3180; 3158	2980; 2940; 2875; 2815	1677; 1643	1614	–	3329 (OH)
6	3270; 3145	2970; 2960; 2875; 2799	1693; 1660	1620	–	–
7	3324; 3081	2976; 2961; 2886; 2792	1675	1619	2520	–
8	3312; 3122	2951; 2927; 2875; 2809	1683	1616	2530	–
9	3383; 3149	3017; 2942; 2883; 2817	1683	1610	2451	–
10	3340; 3150	3016; 2948; 2875; 2807	1678; 1661	1613	2420	–
11	3337; 3152	2980; 2945; 2890; 2822	1678	1613	2488	–
12	3343; 3154	3017; 2943; 2884; 2815	1679; 1660	1612	2500	–
13	3391; 3151	3049; 2940; 2872; 2815	1681	1613	2560	–

Таблиця 3

ПМР-спектри синтезованих сполук

Сполука	N_1H (с,1Н)	C_8NH (т, 1Н)	N_7CH_2 (т, 2Н)	$NHCH_2$ (д, 2Н)	OCH_3 (с, 3Н); NCH_3 (с, 3Н)	CH_2O (т, 2Н)	NCH_2 (аміну)	Інші сигнали
2	11,29	–	4,38	–	3,31; 3,22	3,66	–	–
3	10,65	7,25	4,19	3,98	3,23; 3,21	3,61	–	–
4	8,76	6,69	4,14	3,68	3,27; 3,26	3,62	2,82 (т, 2Н)	4,35 (т, 1Н, OH); 3,57 (т, 2Н, OCH_2)
5	8,15	6,67	4,15	3,67	3,28; 3,27	3,6	2,79 (д.д, 1Н); 2,56 (д.д, 1Н)	4,37 (т, 1Н, OH); 1,8 (д, 3Н)-CH_3; 3,8 (м, 1Н,CHO)
8	10,91	6,69	4,16	3,66	3,27; 3,26	3,61	2,93 (т, 4Н)	1,65 (м, 4Н,$(CH_2)_2$); 1,54 (м, 2Н,CH_2)
9	10,61	6,98	4,18	3,82	3,27; 3,26	3,6	2,89 (т, 4Н)	3,65 (т, 4Н, $O(CH_2)_2$)
13	–	6,81	4,16	3,74	3,27; 3,26	3,62 (м, 6Н) + $O(CH_2)_2$	2,91 (т, 4Н)	4,35 (т, 2Н,OH)

Результати та їх обговорення

У якості вихідної сполуки використано 8-бромо-3-метил-7-β-метоксиетилксантин (2), синтезований взаємодією 8-бромо-3-метилксантину(1) та β-метоксиетилхлориду в ДМФА за наявності еквімолярної кількості $NaHCO_3$ (*схема 1*). У ПМР-спектрі бромоксантину 2 реєструють сигнали протонів метиленових і метильної груп замісника в положенні 7 при 4,38 м.ч. (т, 2Н – N_7CH_2); 3,66 м.ч. (т, 2Н – OCH_2) та 3,31 м.ч. (с, 3Н – OCH_3). Протони урацилової частини молекули фіксуються у вигляді синглетів при 11,29 (1Н – NH) та 3,22 м.ч. (3Н – NCH_3) (*табл. 3*).

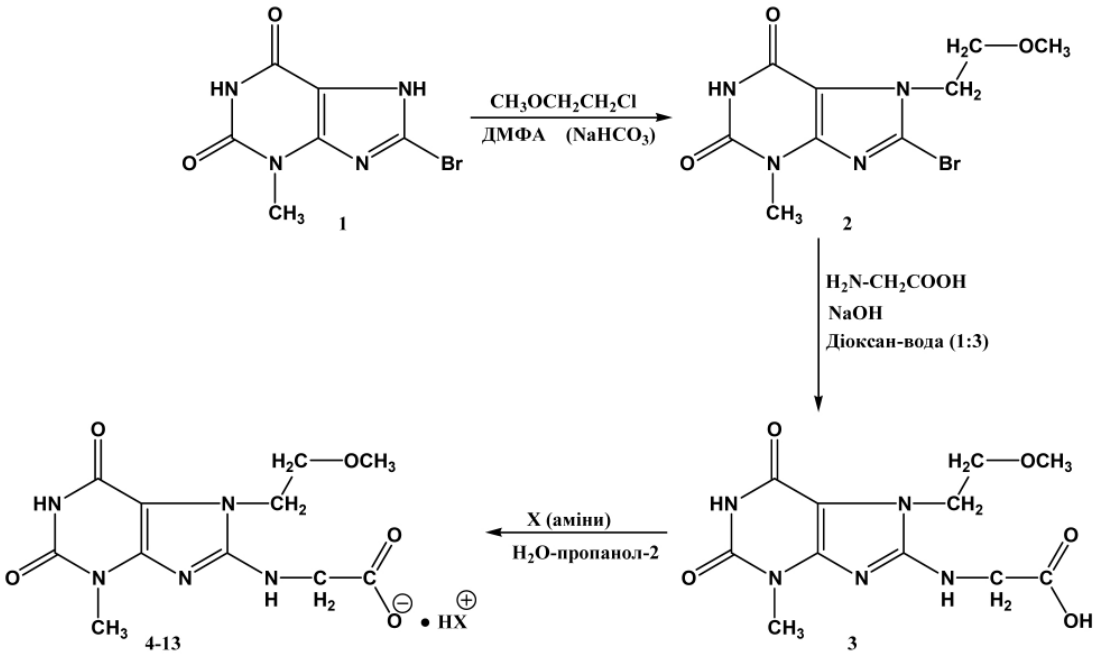
Характер сигналів, їх інтенсивність і місцеположення однозначно доводить будову вихідної сполуки.

Надалі реакцією бромоксантину 2 з гліцином у середовищі діоксан-вода за наявності натрію гідроксиду отримано N-(3-метил-7-β-метоксиетилксантиніл-8-) аміноетанову кислоту (3) (*схема 1*). У ПМР-спектрі амінокислоти 3 фіксується синглет при 10,65м.ч. та триплет при 7,25м.ч., зумовлені резонансним поглинанням протонів, зв'язаних з атомами нітрогену в положеннях 1 і 8 молекули відповідно. Метиленові протони залишку гліцину резонують у вигляді дублету при 3,98 м.ч., а метиленові протони замісника в положенні 7 утворюють 2 триплети при 4,19 м.ч. (2Н-N_7CH_2) та 3,61 м.ч. (2Н-OCH_2). Протони метильних груп резонують у сильнішому полі у вигляді двох дуже близько розташованих інтенсивних синглетів при 3,23 м.ч. та 3,21 м.ч.

Отримана кислота, на наш погляд, є досить перспективним синтоном для подальшої модифікації молекули ксантину шляхом отримання різноманітних функціональних похідних карбоксигрупи.

Для отримання водорозчинних похідних амінокислоти 3 реакцією останньої з органічними амінами-фармакофорами синтезовано ряд солей (4–13) – зручних об'єктів для фармакологічних досліджень. Реакції проводили при підігріванні кислотного та основного компонентів в еквімолярній кількості до їх розчинення в середовищі пропанол-вода. Слід зазначити, що збільшення кількості води призводить до зменшення виходу цільових продуктів і потребує випаровування розчинів у вакуумі, що ускладнює процес їх виділення. ІЧ- та ПМР-спектри синтезованих сполук (*табл. 2, 3*) однозначно підтверджують їх будову. Так, наприклад уПМР-спектрі піперидинію 3-метил-7-β-метоксиетилксантиніл-8-аміноацетату (8) (*табл. 3*) фіксується поширений синглет при 10,91 м.ч., зумовлений резонансом амідного протону в положенні 1, форма якого визначається процесами обміну з амонійними протонами піперидинового залишку. Протон NH-групи залишку гліцину в положенні 8 фіксується у вигляді триплету у сильнішому полі при 6,69 м.ч., а протони метиленової групи – у вигляді дублету при 3,66 м.ч. Метиленові протони катіону піперидинію утворюють 3 групи сигналів при 2,93 м.ч. (т, 4Н) – $N(CH_2)_2$; 1,65 м.ч. (м, 4Н) та 1,54 (м, 2Н), метиленові протони метоксиетильного залишку в положенні 7 фіксуються у вигляді триплетів при 4,16 м.ч. (2Н, N_7CH_2) та 3,61 м.ч. (2Н, CH_2O). Метильні протони, зв'язані з атомами оксигену та нітрогену утворюють два синглети відповідної інтенсивності при 3,27 м.ч. та 3,26 м.ч. ПМР-спектри інших солей відповідають їх будові. Слід зазначити, що смуги валентних коливань NH_3^+груп (солі 4-6) перекриваються в ІЧ-спектрах смугами поглинання

Схема 1



X=Коламін (4); 2-гідроксипропіламін (5); 1-і-пропоксипропіламін (6); піролідин (7); піперидин (8); морфолін (9); N-метилпіперазин (10); N-етилпіперазин (11); діетиламін (12); ди(β–гідроксіетил)амін (13)

аліфатичних СН-зв'язків в області ~ 3000 $см^{-1}$. Смуги вбирання NH_2^+-зв'язків у солях зі вторинними амінами (7–13) реєструють в інтервалі 2560–2420 $см^{-1}$ у вигляді широкої полоси середньої інтенсивності.

Отримані солі (4–13) – білі кристалічні сполуки, що добре розчинні у воді, нерозчинні в діетиловому етері, ацетоні.

Фармакологічні дослідження показали, що $ЛД_{50}$ солей 4–13 лежить у межах 615–2360 мг/кг, тобто вони є практично нетоксичними речовинами. Майже всі вивчені сполуки за винятком N-етилпіперазинової солі (11) мають діуретичний ефект у межах 9,6–159%, причому 2-гідроксипропіламонію(6)-, морфолінію(9)-, N-метилпіперазинію(10)-, діетиламонію(12)-, дигідроксіетиламонію(13) ксантиніл-8-аміноетаноати перевищують активність еталону порівняння гіпотіазиду, що збільшує діурез на 68,3%.

Анальгетичну дію синтезованих солей порівнювали з анальгіном. Отримані результати свідчать, що солі 5, 7, 9 та 11 не виявляють знеболюючої дії. Інші сполуки зменшують кількість ацетатних корчів на 12,9–38,7%. Тільки одна сполука, а саме діетиламонію N-(3-метил-7-β-метоксиетилксантиніл-8-)аміноетаноат(12) (38,7%) виявилась активнішою за анальгін, знеболююча дія якого складає 31,6%.

Отже, подальші дослідження з пошуку нетоксичних діуретиків та анальгетиків у даному ряді похідних ксантину є перспективним напрямком створення оригінальних лікарських засобів зазначеної дії.

Висновки

Розроблено простий лабораторний метод отримання N-(3-метил-7-β-метоксиетилксантиніл-8-)аміноетанової кислоти та її водорозчинних солей, будову яких доведено даними ІЧ- та ПМР-спектроскопії.

Вивчено гостру токсичність, діуретичну та знеболюючу дію синтезованих речовин, у результаті встановлено, що отримані сполуки є практично нетоксичними, а деякі з них за діуретичною та аналгетичною дією перевершують гіпотіазид та анальгін – еталони порівняння.

Список літератури

1. *Машковский М.Д.* Лекарственныесредства / М.Д. Машковский. – 15-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: ООО «Изд-во Новая Волна», 2005. – 1200 с.
2. Пошук потенціальних біологічно активних сполук серед похідних 3-метил-7-(β-гідрокси-γ-фенокси)пропіл-8-меркаптоксантину / М.І. Романенко, Б.О.Прийменко, О.С. Шкода [та ін.] // Запорож. мед. журн. – 2003. – №4 (19). – С. 98–100.
3. Пат. 25470 Україна, МПК C07D 473/00. 3-метил-7-(*β*-гідрокси-*γ*-ізопропокси)пропіл-8-N-*β*-фенілетиламіноксантин, який виявляє діуретичну дію / М.І. Романенко, І.Ф. Белєнічев, Р.В. Жмурін, І.М. Романенко. – № u 2007 03558 ; заявл. 02.04.07; опубл. 10.08.07, Бюл. №12.
4. Пат. 27723 Україна, МПК C07D 473/00. 7-*β*-Гідрокси-*γ*-(2',4'-дихлорофенокси)-пропіл-8-N-(N'-*β*-гідроксіестил) піперазино-3-метилксантин, що виявляє гіпохолестеринемічну дію / М.І. Романенко, А.О. Остапенко, І.М. Бєлай [та ін.]. – № u 2007 07711; заявл. 09.07.07; опубл. 12.11.07, Бюл. №18.
5. Синтез та біологічні властивості 8-амінозаміщених 7-β-гідрокси-γ-(3'-метилфенокси)-пропіл-3-метилксантину / О. С. Шкода, М. І. Романенко, І. Б. Самура [та ін.] // Вісник фармації. – 2007. – №1 (49). – С. 3–8.
6. Получение 3-метил-8-бромксантина и его алкилирование / Б.А. Прийменко, Н.И. Романенко, С.Н. Гармаш [и др.] // Укр. хим. журн. – 1985. – Т.51, №6. – С. 660–663.
7. *Гацура В.В.* Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ / В.В. Гацура.– М.: Медицина, 1974. – 144 с.
8. *Берхин Е.Б.* Методы изучения действия новых химических соединений на функцию почек / Е.Б. Берхин // Хим. фарм. журн. – 1977. – Т.11, №5. – С. 3–11.
9. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. О. В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.

Відомості про авторів:

Романенко М.І., д. фарм. н., професор каф. біологічної хімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.
Мартинюк О.О., лаборант НДР ЗДМУ.
Васюк С.О., д. фарм. н., професор, зав. каф. аналітичної хімії ЗДМУ.
Коржова А.С., к. фарм. н., доцент каф. аналітичної хімії ЗДМУ.
Самура Б.А., д. фарм. н., професор, зав. каф. фармакотерапії НФаУ.
Таран А.В., к. фарм. н., доцент каф. фармакотерапії НФаУ.

Надійшла в редакцію 29.08.2012 р.