



УДК 547.857.1.057+547.857.1-026.8

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 8-В-3-МЕТИЛПУРИН-2,6(3Н,7Н)-ДИОНА

Д.А. ВАСИЛЬЕВ¹
А.О. ПРИЙМЕНКО²
Б.А. ПРИЙМЕНКО¹

¹⁾ *Коммунальное
предприятие «Фармация»,
г. Киев*

²⁾ *Запорожский
государственный
медицинский университет*

e-mail: quasilife@gmail.com

Разработаны препаративные методики получения 8-замещенных 3-метил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-диона, а также новой гетероциклической системы и проведен фармакологический анализ антимикобактериальных свойств синтезированных соединений.

Ключевые слова: пуридин-2,6, синтез, гетероциклы, гидразоны, микобактерии, противотуберкулезная активность.

Введение. В настоящее время практическая фармация испытывает недостаток в новых лекарственных препаратах. Поэтому разработка новых малотоксичных и высокоэффективных лекарственных препаратов для профилактики и лечения различных заболеваний является одной из приоритетных задач современной фармации.

Интерес к химии пурина обусловлен тем, что он играет фундаментальную роль в процессах жизнедеятельности и является структурной основой большого числа лекарственных препаратов. Все это свидетельствует о том, что синтез в ряду пурина и его производных представляет большой интерес в плане изыскания веществ, обладающих биологической активностью, которые могут найти применение в практической медицине [1-6].

Целью работы является разработка доступной методики синтеза неописанных ранее 8-замещенных 3-метил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дионов и получение на их основе различных азометинов для испытаний на проявление потенциальной биологической активности, а также изучение физико-химических свойств синтезированных соединений [7-9].

Материалы и методы. Объектом исследования являются 8-замещенные 3-метил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-диона и его производные.

ИК-спектры сняты на приборе Bruker-ALPHA. ПМР-спектры записаны на приборе SF:500.1335 MHz, растворитель – ДМСО, внутренний стандарт – ТМС. Масс-спектры записаны на приборе MAT-311A фирмы Varian с непосредственным вводом образца в ионный источник. Условия съемки: ускоряющее напряжение – 3 кВ, ток эмиссии катода 300 мкА, ионизирующее напряжение – 70 эВ, элементный анализ проведен на приборе ELEMENTAR vario EL cube.

8-(гидроксиметил)-3-метил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион (1) получен по методу [10].

3-Метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1Н-пурин-8-карбальдегид (2).

К 30,0 г (0,15 моль) 8-(гидроксиметил)-3-метил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-диона в 600 мл теплой воды небольшими порциями прибавляем 26,0 г (0,3 моль) диоксида марганца в течение 1 часа при интенсивном перемешивании. Получившуюся суспензию перемешивают еще 12 часов. Осадок отфильтровывают, промывают горячей водой. Раствор упаривают в вакууме до образования твердого остатка. Остаток промывают на фильтре ацетоном, сушат при 70-75°C.

Гидразон 3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1Н-пурин-8-карбальдегида (3).

Смесь 1,4 г (0,007 моль) 3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1Н-пурин-8-карбальдегида и 1,8 мл (0,036 моль) гидразин гидрата в 20 мл 50% уксусной кислоты кипятят 1 час. Охлаждают. Осадок отфильтровывают, промывают этанолом, эфиром, сушат при 70-75°C.

Илиденпроизводные гидразона 3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1Н-пурин-8-карбальдегида (4-11).

Смесь 1,0 г (0,005 моль) гидразона 3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1Н-пурин-8-карбальдегида и 0,005 моль соответствующего альдегида в 40 мл 50% уксусной кислоты кипятят 1 час. Охлаждают. Осадок отфильтровывают, промывают этанолом, эфиром, сушат при 70-75°C.

1-Метил[1,2,4]триазино[5,4-f]пурин-2,4(1Н,3Н)-дион (12).



Смесь 1,5 г (0,072 моль) гидразона 3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1Н-пурин-8-карбальдегида и 15 мл (0,4 моль) муравьиной кислоты кипятят 10 часов. Охлаждают. Осадок отфильтровывают, промывают этанолом, эфиром, сушат при 80°C.

Определение чувствительности к *Mycobacterium tuberculosis*.

Среду Левенштейна-Йенсена с исследуемой концентрацией веществ разливали по 5 мл в стерильные пробирки и сворачивали в скошенном виде при 85°C на протяжении 30 минут в аппарате для свертывания сыворотки крови. На готовую среду проводили посев суспензии лабораторного штамма H₃RV, откалиброванную по стандарту мутности – 1 McF (300·10⁶ микр/тел в 1 мл) и разведенную до 10⁻⁴ стерильным физраствором. В качестве разведений использовались 10⁻² и 10⁻⁴, из них параллельно были сделаны два контрольных посева на среду Левенштейна-Йенсена без добавления исследуемых соединений. Посевы инкубировали в термостате при 37°C. Учет результатов проводили через 3-4 недели при появлении хорошего роста на контрольных посевах.

Результаты и их обсуждение. Нами разработаны препаративные способы синтеза 3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1Н-пурин-8-карбальдегида и его гидразона (рис.1).

Исходным синтоном для получения соединения (2) выступил 8-(гидроксиметил)-3-метил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион (1). Для дальнейшей функционализации молекулы исходного соединения нами было проведено селективное превращение первичной спиртовой группы в альдегидную с помощью универсального окислителя – оксида марганца (IV). Соединение (2) является очень реакционноспособным, что подтвердилось последующей реакцией А_N с гидразин гидратом(рис.1).

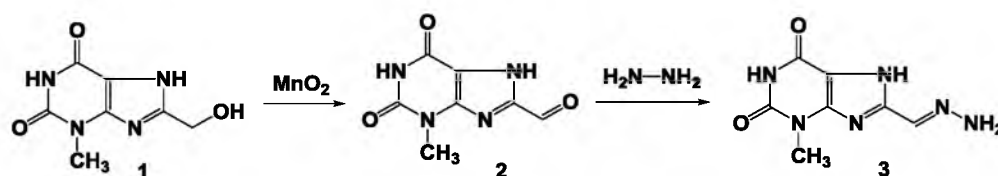


Рис. 1. Функциональные превращения 8-(гидроксиметил)-3-метил-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-диона

В ПМР-спектре соединения (2) фиксируются следующие сигналы: синглет протона формильной группы (С₈-CH=O) при 9,84 м.д., синглет протонов метильной группы (N₃-CH₃) при 3,31 м.д., сигналы протонов урацилового фрагмента (N₁-H) при 11,13 м.д. и имидазольного (N₇-H) при 13,31 м.д.

В масс-спектре 3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1Н-пурин-8-карбальдегида (2) наблюдается пик М⁺ с m/z 194, который соответствует брутто-составу C₇H₆N₄O₃. Характер замещения при атоме С₈ подтверждается специфическим отрывом атома кислорода от иона [М-О]⁺ – ион с m/z 179. Распад урацилового фрагмента молекулы подтверждается наличием ионов с m/z 136, 123, 108, 95, 68 (рис. 2).

В масс-спектре гидразона 3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1Н-пурин-8-карбальдегида (3) наблюдается пик М⁺ с m/z 208, который соответствует брутто-составу C₇H₈N₆O₂. Наличие заместителя в положении 8 подтверждают ионы с m/z 165 [М-CH₃NH₂]⁺, m/z 139 [М-С₂H₃N₃]⁺, m/z 138 [Ф-Н]⁺, а осколочные ионы с m/z 180 [М-СО]⁺, m/z 165 [М-ННСО]⁺, m/z 137 [Ф₁-СО]⁺ доказывают строение урацилового фрагмента исследуемого соединения (3, рис. 3).

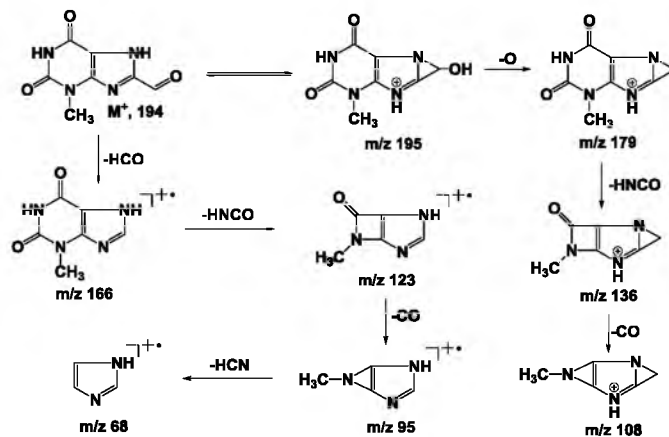


Рис. 2. Схема масс-распада 3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1Н-пурин-8-карбальдегида

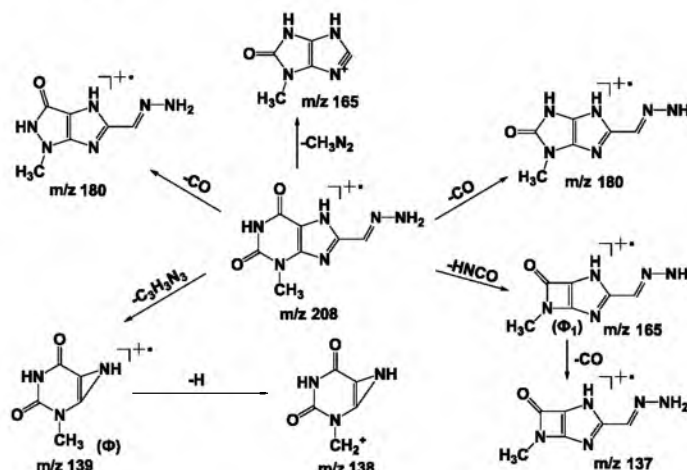


Рис. 3. Схема масс-распада гидразона 3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1Н-пурин-8-карбальдегида

Соединение (3) представляет интерес в плане поиска биологически активных соединений. Так, для более детального изучения потенциальной биологической активности производных гидразона 3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1Н-пурин-8-карбальдегида (3) нами была изучена реакция нуклеофильного присоединения-отщепления данного вещества с карбонильными соединениями алифатической, алициклической, ароматической и гетероциклической природы.

Полученные илиденовые производные значительно расширили ряд 8-замещенных пуридинона-2,6 и дали возможность изучения биологических свойств в зависимости от характера заместителя, т.к. появление новых фармакофорных центров в молекуле пуридинона-2,6 привело к расширению спектра фармакологической активности.

Как показано на рис.4, непродолжительное кипячение исходного гидразона (3) с альдегидами или кетонами в среде 50% водной уксусной кислоты приводит к получению соответствующих азометинов (4-11).

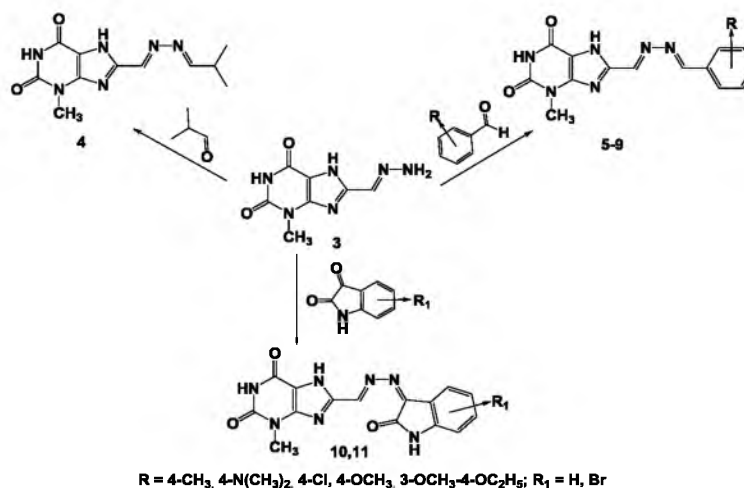


Рис. 4. Схема модификации молекулы гидразона 3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1Н-пурин-8-карбальдегида

В ПМР-спектрах синтезированных илиденовых производных по сравнению со спектрами исходного гидразона 3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1Н-пурин-8-карбальдегида появляются интенсивные дублеты протонов $C_8-CH=N=N=CH$ в интервале 8,45-8,59 м.д., обусловленные резонансным поглощением азометиновых протонов альдегидного остатка. В спектрах продуктов конденсации с производными бензальдегида фиксируются дополнительные сигналы протонов бензольного кольца в области 6,72-7,79 м.д. Все остальные сигналы протонов подтверждают наличие заместителей в 8 положении пуринового ядра и полностью соответствуют их строению.

Нами была изучена реакция гетероциклизации гидразона 3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1Н-пурин-8-карбальдегида, реализовавшаяся образованием неописанной ранее системы 1-метил[1,2,4]триазино[5,4-f]пурин-2,4(1Н,3Н)-диона (12, рис. 5).



В ПМР-спектре соединения (12) фиксируются следующие сигналы: синглеты протонов триазинового фрагмента при 9,09 м.д. и 8,68 м.д. соответственно, синглет протонов метильной группы (N_3-CH_3) при 3,54 м.д., сигналы протонов урацилового фрагмента (N_1-H) при 11,07 м.д.

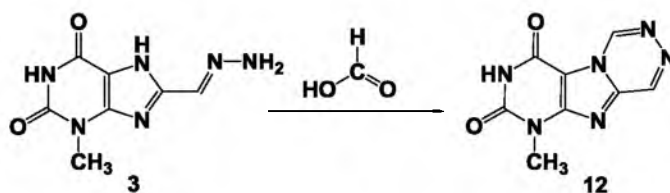


Рис. 5. Синтез 1-метил[1,2,4]триазино[5,4-f]пурин-2,4(1H,3H)-диона

Илиденовые производные гидразона 3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1H-пурин-8-карбальдегида (4-11) были подвергнуты испытанию на противотуберкулезную активность.

Исследуемые соединения были взяты в концентрации 0,2 мкг/мл среды, идентичной концентрации изониазида в среде Левенштейна-Йенсена при определении устойчивости к антибиотикам по методу Канетти *in vitro*. В качестве культуры, выбранной для тестирования, использовали лабораторный штамм $H_{37}RV$, чувствительный к антибактериальным препаратам группы ГИНК.

Микобактерии штамма $H_{37}RV$ проявили 100% чувствительность к соединениям 3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1H-пурин-8-карбальдегид [(2-гидроксифенил)метил]гидразон, 3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1H-пурин-8-карбальдегид [(2,4-диметоксифенил)метил]гидразон, 3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1H-пурин-8-карбальдегид [(3-нитрофенил)метил]гидразон, 3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1H-пурин-8-карбальдегид [5-бromo-2-оксо-1,2-дигидро-3H-индол-3-илиден]гидразон, 3-метил-2,6-диоксо-2,3,6,7-тетрагидро-1H-пурин-8-карбальдегид [2-метилпропилиден]гидразон.

Выводы.

1. Разработаны новые препаративные методики синтеза 8-замещенных 3-метил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-диона, его производных и неописанной ранее гетероциклической системы 1-метил[1,2,4]триазино[5,4-f]пурин-2,4(1H,3H)-диона.
2. Установлено тонкое химическое строение синтезированных соединений с помощью ИК-, ПМР-спектроскопии и масс-спектрометрии.
3. Обнаружены вещества, проявляющие высокую антибактериальную активность по отношению к микобактериям штамма $H_{37}RV$.

Литература

1. Antiparkinsonian effects of novel adenosine A_{2A} receptor antagonists / A. Drabczynska, M. Zygumt, J. Sapa [et al.] // Arch. Pharm. Chem. Life Sci. – 2011. – № 1. – С. 20-27.
2. Phosphodiesterase inhibitor 3-isobutyl-methyl-xanthine affects rabbit ovaries and oviduct / A.V. Sitrotkin, P. Chrenek, S. Chadio [et al.] // European Journal of Pharmacology. – 2010. – Vol. 643. – P. 145-151.
3. Recent advances in the synthesis of purine derivatives and their precursors // Uttaro J.-P., Broussous S., Mathé C., Périgaud C. – Tetrahedron. – 2013. – Vol. 69. – P. 2131-2136.
4. Structure-based drug design and potent anti-cancer activity of tricyclic 5:7:5-fused diimidazo[4,5-d:4',5'-f][1,3]diazepines / [Kondaskar A., Kondaskar S., Fishbein J.C. et al.] // Bioorganic & Medicinal Chemistry. – 2013. – Vol. 21, Issue 3. – P. 618-631.
5. Synthesis of novel 1-alkyl-8-substituted-3-(3-methoxypropyl)xanthines as putative A_{2B} receptor antagonists / [M.I. Nieto, M.C. Balo, J. Brea et al.]. // Bioorganic & Medicinal Chemistry. – 2009. – Vol. 17, Issue 9. – P. 3426-3432.
6. El-Tayeb, A. Synthesis and structure-activity relationships of 2-hydrazinyladenosine derivatives as A_{2A} adenosine receptor ligands / A. El-Tayeb, S. Gollos // Bioorganic & Medicinal Chemistry. – 2013. – Vol. 21, Issue 2. – P. 436-447.
7. Legraverend M. / Recent advances in the synthesis of purine derivatives and their precursors // M. Legraverend. – Tetrahedron. – 2008. – Vol. 64. – P. 8585-8603.
8. Синтез, физико-химические свойства 3-(3-метилксантинил-8)пропановой кислоты и некоторых ее производных / М.С. Казунин, А.О. Прийменко, Д.А. Васильев, Б.А. Прийменко // Запорожский медицинский журнал – 2010. – № 3. – 103-107.
9. Синтез, строение и физико-химические свойства 1-метил-7,8-дигидро-1H-пирроло[1,2-f]пурин-2,4,6(3H)-триона и некоторых его производных / М.С. Казунин, А.О. Прийменко, Д.А. Васильев, Б.А. Прийменко // Акт. питания фармац. і мед. науки та практики – 2011. – № 1. – С. 89-92.
10. Масс-спектрометрическое изучение некоторых 7-моно- и 7,8-дизамещенных и конденсированных производных 3-метилксантина / Б.А. Прийменко, Д.В. Свентух, А.О. Прийменко и др. // Журнал орг. та фарм. хімії. – 2006. – Т.4, вип.1(13). – С.70-79.



SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF SOME DERIVATIVES OF 8-R-3-METHYLPURINE-2,6(3H,7H)-DIONE

D.A. VASYLYEV¹
A.O. PRIIMENKO²
B.O. PRIIMENKO¹

¹⁾ *Public enterprise «Pharmacy», Kiev*

²⁾ *Zaporozhye State
Medical University*

e-mail: quasilife@gmail.com

Preparative methods of synthesis of 8-substitued 3-methylpurine-2,6(3H,7H)-dione were developed. The new heterocyclic system of purinedione-2,6 was synthesized. The pharmacological analysis of antimycobacterial activity of synthesized compounds was made.

Keywords: purinedione-2,6, synthesis, heterocycles, hydrazones, mycobacterium, antimycobacterial activity.