



УДК 547.857.1.03/.04.057+547.857.1-026.8

СИНТЕЗ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ N₇-ЗАМЕЩЕННЫХ 8-(ГИДРОКСИМЕТИЛ)-3-МЕТИЛ-3,7-ДИГИДРО-1Н-ПУРИН-2,6-ДИОНА

А.О. ПРИЙМЕНКО¹**Д.А. ВАСИЛЬЕВ²****Е.В. АЛЕКСАНДРОВА²**¹⁾ КП «ФАРМАЦИЯ»²⁾ Запорожский государственный
медицинский университет

e-mail: artem555_86@mail.ru

Разработаны препаративные методики 8-(гидроксиметил)-3-метил-3,7-дигидро-1Н-пуриин-2,6-диона, изучены их физико-химические свойства, острая токсичность и нейротропная активность.

Ключевые слова: пуриндийон-2,6, синтез, биологическая активность.

Введение. Производные пурина и пуриндийона-2,6 обладают широким спектром биологической активности и с успехом применяются в медицинской практике для лечения самых различных заболеваний.

В тоже время, дефицит высокоэффективных и малотоксичных отечественных средств противоопухолевого, гипотензивного, бронхолитического, диуретического, нейротропного и других видов активности, предопределяет целесообразность их поиска в ряду производных пуриндийона-2,6, поскольку данные виды активности для них присущи [1-7].

В связи с этим поиск биологически активных веществ в ряду N₇-замещенных 8-(гидроксиметил)-3-метил-3,7-дигидро-1Н-пуриин-2,6-диона является весьма актуальным и представляет теоретическую и практическую значимость.

Целью работы является синтез N₇-замещенных 8-(гидроксиметил)-3-метил-3,7-дигидро-1Н-пуриин-2,6-диона и изучение их физико-химических и биологических свойств.

Материалы и методы. Объектом исследования являются 7-замещенные 8-(гидроксиметил)-3-метил-3,7-дигидро-1Н-пуриин-2,6-диона.

ИК-спектры сняты на приборе Bruker-ALPHA. ПМР-спектры записаны на приборе фирмы Varian (рабочая частота 200 МГц, растворитель ДМСО-*d*₆, внутренний стандарт – ТМС). Масс-спектры синтезированных соединений сняты на приборе фирмы Varian с прямым вводом образца в ионный источник. Условия съемки: ускоряющее напряжение – 3 кВ, ток эмиссии катода 1 мА, ионизирующее напряжение – 70 эВ, элементный анализ проведен на приборе ELEMENTAR vario EL cube.

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

Натриевая соль 8-(гидроксиметил)-3-метил-3,7-дигидро-1Н-пуриин-2,6-диона (II).

К 19,6 г (0,1 моль) соединения (I) в 300 мл воды прибавляют раствор 4,0 г (0,1 моль) NaOH в 30 мл воды и нагревают до образования истинного раствора. Затем упаривают в вакууме до образования твердого остатка. Остаток промывают на фильтре ацетоном, сушат и получают желаемый продукт.

7-Замещенные 8-(гидроксиметил)-3-метил-3,7-дигидро-1Н-пуриин-2,6-диона (III-VI).

Смесь 2,18 г (0,01 моль) соединения (I) и 0,12 моль алкилирующего реагента в 30 мл ДМФА нагревают при кипении в течение двух часов. Реакционную смесь охлаждают и выливают в 100 мл воды и отфильтровывают образовавшийся осадок. На анализ (III-VI) кристаллизуют из водного этанола.

Аммониевые соли 8-(гидроксиметил)-3-метил-3,7-дигидро-1Н-пуриин-2,6-диона (VII-X).

Смесь 1,96 г (0,01 моль) I и 0,012 моль соответствующего амина в 30 мл воды кипятят 40 минут. Упаривают в вакууме до образования первых кристаллов. Охлаждают. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают ацетоном, сушат при 60-70°C.

Результаты и их обсуждение. Полученные соединения (III-X) – кристаллические вещества белого или светло-желтого цвета. Соединения (III-VI) не растворимы в воде, растворимы в диоксане, ледяной уксусной кислоте, ДМФА при нагревании. Соединения (VII-X) легко растворимы в воде.

В ПМР-спектре (V) зарегистрированы сигналы: дублет протонов метиленовой группы (C₈-CH₂-OH) при 4,52-4,55 м.д., триплет протонов группы (C₈-CH₂-OH) при 5,59-5,65 м.д., синглет протонов метильной группы находящейся в третьем положении (N₃-CH₃) при 3,42 м.д.,



синглет протонов метиленовой группы ($N_7\text{-CH}_2\text{-C(O)-Ar}$) при 5,95 м.д., мультиплет протонов бензольного кольца при 7,51-8,06 м.д. также зафиксирован сигнал протона урацилового фрагмента ($N_1\text{-H}$) при 11,09 м.д.

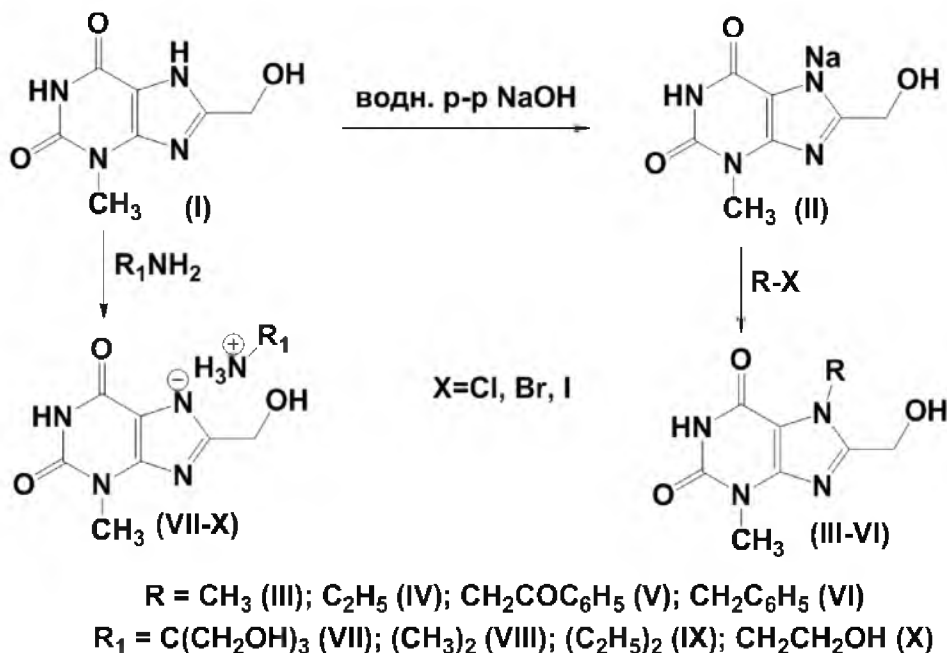


Рис. 1. Схема синтеза 7-замещенных 8-(гидрокси-метил)-3-метил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-диона

В масс-спектре (V), фиксируется пик M^+ с m/z 314, который соответствует брутто-составу $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_4$. Наличие фенильного радикала подтверждается регистрацией осколочных ионов с m/z 77 $[\text{C}_6\text{H}_5]^+$ и m/z 105 $[\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}]^+$. Эти ионы имеют максимальную интенсивность, так как процесс их образования обусловлен типичным β -распадом относительно гетарильного ядра, и α -распадом относительно карбонильной группы. Также наблюдается пик иона с m/z 209 $[\text{M} - \text{COC}_6\text{H}_5]^+$. Заместитель при атоме N_7 гипоксантинового цикла проявляется путем регистрации иона $[\text{M} - \text{CH}_2\text{COC}_6\text{H}_5]^+$ с m/z 195. Характер замещения при атоме C_8 подтверждается специфическим отрывом атома кислорода от иона $[\text{M} - \text{CH}_2\text{COC}_6\text{H}_5]^+$ – ион с m/z 179. Фрагментация соединения (V) представлена на схеме (рис. 2).

В ПМР-спектре (VI) фиксируются сигналы: дублет протонов метиленовой группы ($C_8\text{-CH}_2\text{-OH}$) при 4,49-4,52 м.д., синглет протонов метильной группы ($N_3\text{-CH}_3$) при 3,32 м.д., синглет протонов метиленовой группы ($N_7\text{-CH}_2\text{-Ar}$) при 5,54 м.д., мультиплет протонов бензольного кольца при 7,23-7,39 м.д., а также зафиксирован сигнал протона урацилового фрагмента ($N_1\text{-H}$) при 11,11 м.д.

В масс-спектре (VI) зафиксирован пик M^+ с m/z 286, который отвечает брутто-составу $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_3$. Регистрируются ион с m/z 195 $[\text{M} - \text{C}_7\text{H}_7]^+$, который характеризует наличие бензильного радикала в седьмом положении соединения (VI), а ион с m/z 166 $[\text{Ф} - \text{HNCO}]^+$ подтверждает присутствие заместителя в положении 8 анализируемого соединения. Масс-распад (VI) под действием электронного удара изображен на схеме (рис. 3).

На первой стадии биологических исследований полученных соединений изучается острая токсичность, что позволяет в определенной мере уменьшить количество и интенсивность проявлений побочных реакций в условиях их клинического применения [9,10].

Исследования проводили по методу Кербера и экспресс-методу В.Б. Прозоровского [9] на белых нелинейных крысах. В экспресс-методу В.Б. Прозоровского использовали 4 группы животных, по 2 наблюдения в каждой с дополнительным использованием одной предыдущей и последующей дозы. Наблюдения проводились через 2-4 часа. Результаты исследований приведены в таблице 1.

В результате исследования острой токсичности было установлено, что LD_{50} этого класса химических соединений находится в пределах от 592 до 782 мг/кг, за классификацией К.К. Сидорова они относятся к IV классу токсичности – малотоксичные вещества.

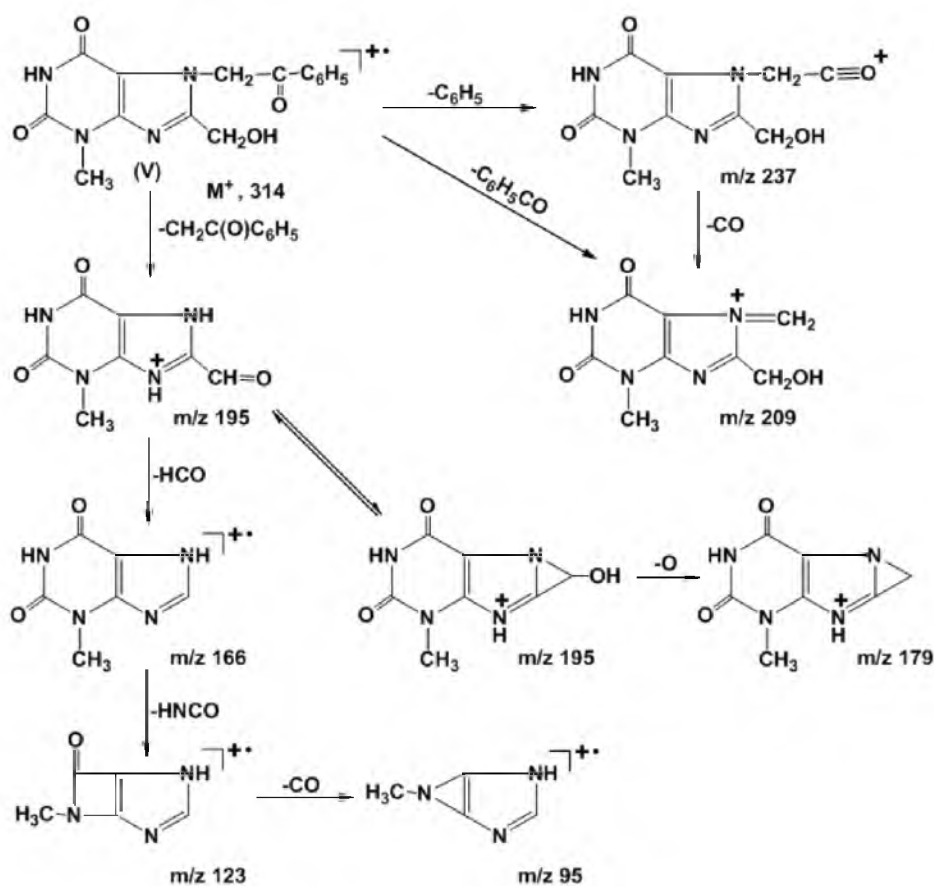


Рис. 2. Схема масс-распада соединения (V) под действием электронного удара

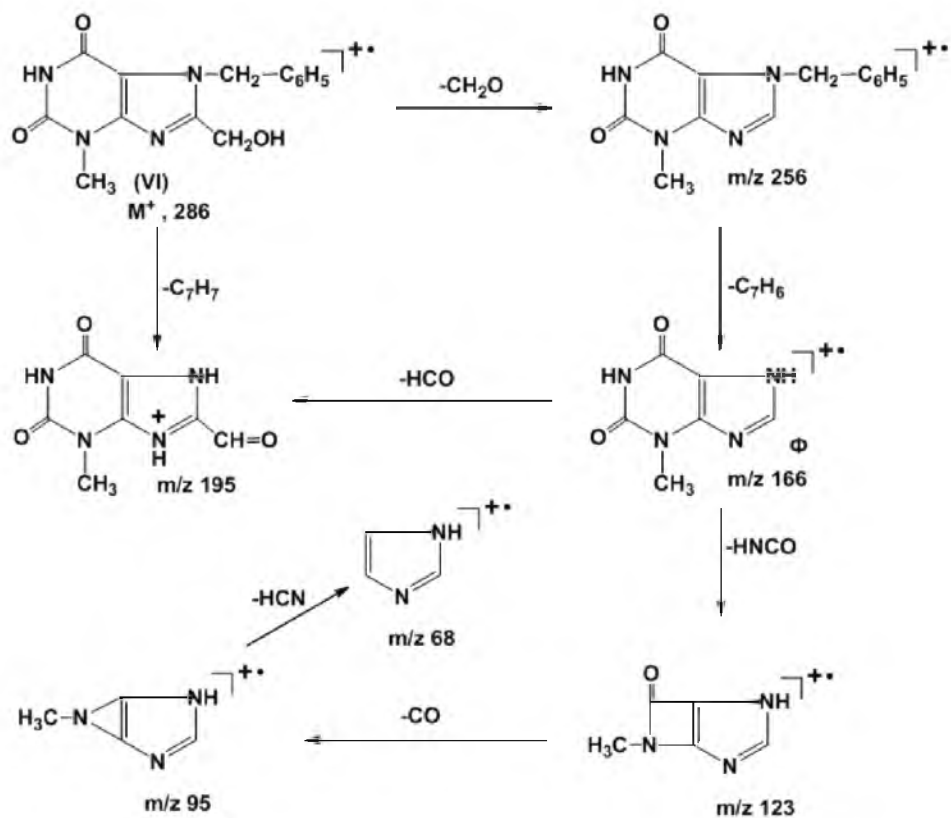


Рис. 3. Схема фрагментации соединения (VI) под действием электронного удара



Таблица 1

Результаты исследования острой токсичности

Соединение №	Амин	ЛД ₅₀ (M±m)
VII	H ₂ N-C(CH ₂ OH)	662,0±41,8
VIII	NN(CH ₃) ₂	840,0±25,5
IX	NN(C ₂ H ₅) ₂	782,0±22,7
X	H ₂ N-CH ₂ -CH ₂ OH	592,0±21,5

Влияние синтезированных соединений на продолжительность этаминал-натриевого сна изучали с помощью теста взаимодействия с барбитуратами на белых крысах весом 160-205 г по 7 крыс в каждой группе. Крысам контрольной группы внутрибрюшинно вводили этаминал-натрий в дозе 30 мг/кг (контроль) и продолжительность наркотического сна принимали за 100%. Растворы исследуемых соединений (VII-X) вводили внутрибрюшинно в дозе 0,05 ЛД₅₀ в виде водного раствора. Через 30 мин вводили этаминал-натрий в дозе 30 мг/кг. Продолжительность действия сна этаминал-натриевого сна определяли во времени, в течение которого животные находились в боковом положении, т.е. с момента утраты рефлекса переворачивания. Эталоном сравнения служили аминазин (нейролептик фенотиазинового ряда – 5 мг/кг и кофеин – ксантиновый психостимулятор), который вводили крысам третьей группы в дозе 10 мг/кг. Результаты исследований приведены в таблице 2.

Таблица 2

Влияние синтезированных соединений на продолжительность этаминал-натриевого сна

Соединение	Доза мг/кг	Продолжительность наркотического сна, мин.		% к контролю
		M±m	Доверительный интервал при p=0,05	
VII	33,1	120,7±7,5	102,4±139,0	119,5
VIII	42,0	202,4±8,3	192,1±222,7	200,4
IX	39,1	82,3±6,2	68,7±97,4	81,5
X	29,6	105,3±4,8	94,6±117,2	104,0
Контроль		101,0±6,1	86,0±116,0	100
Аминазин	5,0	184,2±3,1		175,59
Кофеин-бензоат натрия	30,0	104,7±4,0		100,0

Все вышесказанное свидетельствует о перспективе поиска соединений с нейротропной активностью в ряду производных пуридинона-2,6.

Выводы.

1. Разработаны новые препаративные методики получения 7-замещенных 8-(гидроксиметил)-3-метил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-диона.
2. Строение синтезированных соединений установили с помощью современных физико-химических методов исследования: ИК-, ПМР-спектроскопии и масс-спектрометрии.
3. Изучена острая токсичность синтезированных соединений и установлено, что они относятся к IV классу токсичности – малотоксичные вещества.
4. Учитывая результаты первичного фармакологического скрининга, можно резюмировать, что целесообразно продолжить поиск соединений, обладающих нейротропной активностью в ряду производных пуридинона-2,6.

Литература

1. Антиаритмические свойства ди- и трициклических замещенных ксантина / И.Б. Самура, Б.А. Приймченко // Запорожский медицинский журнал. – 2002. – №4. – с. 69-72.
2. Коронаролитическая активность гидрохлорида 3-метил-7-(β-гидрокси-γ-N-пиперидинопропил)-8-N-пиперидиноксантина / Н.И. Романенко, Б.А. Приймченко, Е.А. Чубарев и др. // Запорожский медицинский журнал. – 2003. – №6. – С. 248-250.
3. Синтез и изучение противовоспалительной активности производных триазино[3,4-f]ксантина / Н.И. Романенко, Б.А. Приймченко, Б.А. Самура и др. // Запорожский медицинский журнал. – 2004. – №5. – с. 141-143.
4. Louis D.Q. Fundamentals of heterocyclic chemistry: importance in nature and in the synthesis of pharmaceuticals / D.Q. Louis. – Wiley 2010. – 327 p.
5. Pat. 2010/0279969 USA, МКИ6 А61К 31/70. Azido purine nucleosides for treatment of viral infections / R.F. Schinazi, J.W. Mellors, N.P. Sluis-Cremer [et al.]. – № 12/599951; заявл. 14.05.2008 ; опубли. 04.11.2010; НКИ 514/45.



6. Phosphodiesterase inhibitor 3-isobutyl-methyl-xanthine affects rabbit ovaries and oviduct / A.V. Sitrokin, P. Chrenek, S. Chadio [et al.] // *European Journal of Pharmacology*. – 2010. – Vol. 643. – P. 145-151.
7. Pat. 7763625 USA, МКИ6 А01N 43/90. Agents for treating migraine / M. Takeuchi, P. Jefferson, M. Takayama [et al.]. – № 10/587264 ; заявл. 28.01.2005 ; опубл. 27.06.2010; НКИ 514/263.2.
8. 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.
9. Прозоровский В. Б. О выборе метода построения кривой летальности и определение средней летальной дозы / В. Б. Прозоровский // *Журн. общей биологии*. – 1960. – Т. 21, № 3. – С. 221-228.
10. Транхтенберг Л. М. Проблема нормы в токсикологии / Л. М. Транхтенберг, В. О. Шефтель, Ф. А. Оникиенко. – М. : Медицина, 1991. – 208 с.

SYNTHESIS, PHYSICO-CHEMICAL AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF SOME N₇-SUBSTITUED 8-(HYDROXYMETHYL)-3-METHYL-3,7-DIHYDRO-1H-PURINE-2,6-DIONE

A.O. PRIIMENKO¹

D.A. VASYLYEV²

E.V. ALEXANDROVA²

¹⁾ *CO «PHARMACY»*

²⁾ *Zaporozhye State Medical University*

e-mail: artem555_86@mail.ru

Preparative methods of synthesis of 8-(hydroxymethyl)-3-methyl-3,7-dihydro-1H-purine-2,6-dione were developed. Physico-chemical properties, acute toxicity and neurotropic activity were studied.

Keywords: purinedione-2,6, synthesis, biological activity.