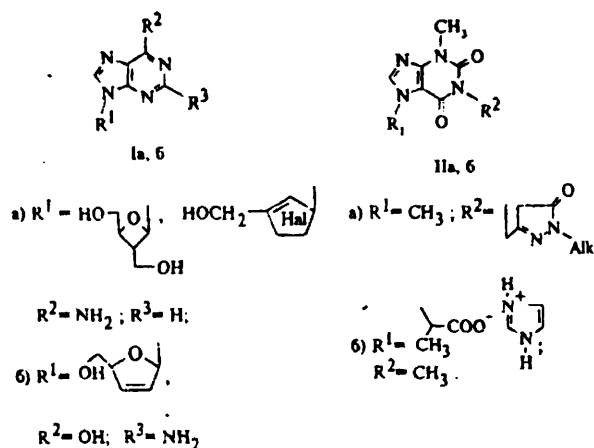


Г.В. Федорова, Э.И.Иванов, Л.А.Конуп, А.В.Мазепа, А.В.Лобач

## СИНТЕЗ И ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ КРАУНСОДЕРЖАЩИХ ПУРИНОВ

Физико-химический институт им. А.В.Богатского АН Украины, Одесса

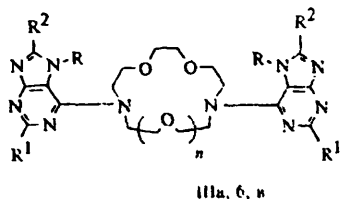
В настоящее время значительно возрос интерес к карбо- и гетероциклическим аналогам природных нуклеозидов типа Ia,б и IIa,б, среди которых найдены вещества с широким диапазоном фармакологических свойств [1 – 4], в том числе бактерицидной [5], противовоспалительной [6], противовирусной [7] и противомикробной активностью [8, 9].



О модификации пуринов краун-эфирами и исследовании фармакологических свойств макроциклических аналогов природных нуклеозидов в литературе очень мало сведений [9 – 13].

Возможности применения краунсодержащих пуринов, вероятно, достаточно широки: с одной стороны, они представляют собой потенциальные антимаболиты, а с другой — являются интересными объектами для изучения комплексобразования.

Первые попытки исследования противовирусных свойств соединений структуры III показали перспективность использования их относительно штаммов вируса гриппа A<sub>2</sub> Victoria и выявили их низкую токсичность [11]. Поскольку по своей структуре и свойствам краун-эфиры, модифицирующие пурины, аналогичны антибиотикам-ионофорам, а среди аминокраун-соединений найдены производные, обладающие противотуберкулезной и противомикробной активностью относительно различных тест-культур [14, 15], то используя пуриновую систему в качестве аминной компоненты, видимо, можно получить потенциальные противомикробные средства.



- a)  $R = \text{CH}_3$ ,  $R^1 = \text{Cl}$ ,  $R^2 = \text{H}$ ,  $n = 1, 2$   
 б)  $R = \text{H}$ ,  $R^1 = R^2 = \text{Cl}$ ,  $n = 1, 2$   
 н)  $R = \text{H}$ ,  $R^1 = R^2 = \text{H}$ ,  $n = 1, 2$

Ряд краунсодержащих пуринов, полученных конденсацией галогензамещенных пуринов с диаза-15(18)-краун-5(6) [ДА-15 (18)-К-5(6)], типа III [11], был продолжен краун-пуринами на основе 8-бромкофеина (IV) и 1-(β-хлорэтил)теобромина (V) (см. схему 1).

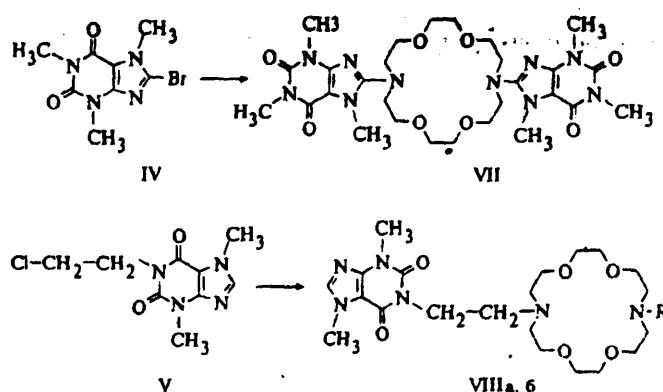


Схема 1.

- a)  $R = \text{H}$ ,  
 б)  $R = 2-(3,7\text{-диметил-2,6-диоксопуридин-1-ил})\text{этил}$

Реакции проходили в условиях кипячения в абсолютном этаноле, в случае синтеза VII замещение брома на остаток ДА-18-К-6 удалось осуществить при использовании автоклава.

В продолжение начатых исследований по синтезу и изучению пуринов, содержащих краун-эфирные заместители, нами предлагается новый вариант модифицирования пуринов. Как известно, аминолиз карбоциклических эпоксиэфиров первичными и вторичными аминами приводит к раскрытию эпиксидного кольца и образованию аминоспиртов [16]. Используя в качестве аминокомпоненты диазкраун-эфир, а в качестве эпоксипроизводных 7-(2,3-эпоксипропил)теобромин (VIa) 7-(2,3-эпоксипропил)теобромин (VIб) [17] мы получили новые краунпроизводные IX и X. Реакция проходит по схеме 2 в абсолютном этаноле при нагревании эпоксипропилпуринов с избытком краун-эфира. Синтезированные соединения VII – X выделены в индивидуальном состоянии и представляют собой белые кристаллические вещества. Физико-химические свойства новых краун-пуринов и данные элементного анализа представлены в таблице 1.

## Физико-химические характеристики синтезированных соединений

Соединение	Выход, %	Т. пл., °С	M <sub>найд.</sub>	M <sub>расч.</sub>	Спектр ПМР (CDCl <sub>3</sub> ), δ, м. д.	ИК-спектр, CHCl <sub>3</sub> , см <sup>-1</sup>
V	94	152	242,5	242,66	2,89(2H, т, 2'-CH <sub>2</sub> ), 3,58(3H, с, CH <sub>3</sub> -3N), 3,98(3H, с, CH <sub>3</sub> -7N), 4,25(2H, т, 1'-CH <sub>2</sub> ), 7,50(1H, с, CH)	2970, 2860, 1710, 1660, 1380, 740, 610
VII	48	190	646,0	646,70	2,70(8H, т, CH <sub>2</sub> ), 3,38(6H, с, CH <sub>3</sub> -1N), 3,53-3,71(16H, м, CH <sub>2</sub> ), 3,60(6H, с, CH <sub>3</sub> -3N)	2990, 2950, 2870, 1690, 1650, 1510, 1380, 1100
VIIIa	14	162	468,0	468,5	2,75(8H, т, CH <sub>2</sub> -N), 2,91(2H, т, 2'-CH <sub>2</sub> ), 3,56(3H, с, CH <sub>3</sub> -3N), 3,60-3,70(16H, м, CH <sub>2</sub> ), 3,98(3H, с, CH <sub>3</sub> -7N), 4,06(2H, т, 1'-CH <sub>2</sub> ), 7,50(1H, с, CH)	3460, 2990, 2960, 2870, 2880, 1700, 1650, 1600, 1350, 1100, 610
VIIIб	42	128	674,0	674,7	2,76(8H, т, CH <sub>2</sub> -N), 2,97(4H, т, 2'-CH <sub>2</sub> ), 3,58(6H, с, CH <sub>3</sub> -N), 3,62-3,73(16H, м, CH <sub>2</sub> ), 3,89(6H, с, CH <sub>3</sub> -7N), 4,09(4H, т, 1'-CH <sub>2</sub> ), 7,50(2H, с, CH)	2990, 2950, 2870, 1700, 1650, 1600, 1360, 1200, 1100, 600
IX	37	138	734,0	734,8	2,65(8H, т, CH <sub>2</sub> -N), 3,39(6H, с, CH <sub>3</sub> -3N), 3,47-3,50(16H, м, CH <sub>2</sub> ), 3,57(6H, с, CH <sub>3</sub> -7N), 7,82(2H, с, CH)	3300, 2980, 2930, 2860, 2800, 1695, 1380, 1100, 610
X	28	97	734,0	734,8	2,90(8H, м, CH <sub>2</sub> -N), 5,57(6H, с, CH <sub>3</sub> -3N), 3,62-3,82(16H, м, CH <sub>2</sub> ), 3,89(2H, м, 1'-CH <sub>2</sub> ), 4,00(6H, с, CH <sub>3</sub> -7N), 4,18(1H, м, 2'-CH), 4,31(2H, дд, 3'-CH <sub>2</sub> ), 7,50(2H, с, CH)	3360, 2980, 2960, 2900, 2800, 1700, 1650, 1380, 1100

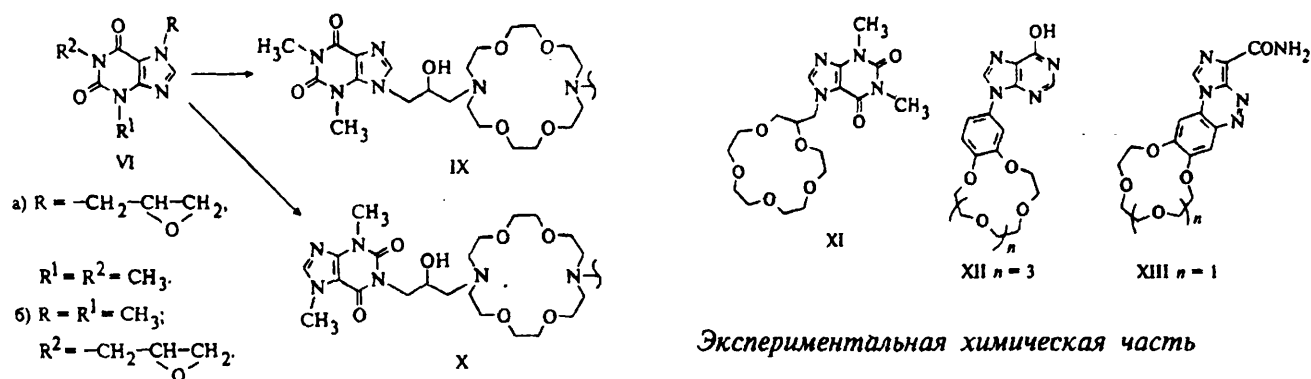


Схема 2.

В спектрах ПМР (CDCl<sub>3</sub>) краун-пурины VII – X обнаруживают уширенный мультиплет в области 3,5 – 3,73 м. д. и триплет в области 2,70 – 2,79 м. д., что подтверждает присутствие в молекуле макроциклического фрагмента ДА-18-К-6. В ИК-спектрах соединений VII – X наблюдается появление сильной уширенной полосы при 1100 см<sup>-1</sup>, характерной для простой эфирной связи макроциклического кольца. Появление гидроксильной группы в соединениях IX и X проявляется широкой полосой в области 3300 – 3500 см<sup>-1</sup>. Массы молекулярных ионов соединений, измеренные масс-спектрометрически, соответствуют рассчитанным, данные элементного анализа удовлетворяют вычисленным значениям содержания С, Н и N. Исследование противомикробного действия синтезированных соединений VII – X проводили в сравнении с образцом IIIa [11] этого же ряда и с представителями таких рядов, как 15-краун-5-метилпурины типа XI и бензо-12-краун-4-илпурины XII [13], а также с макроциклическим аналогом пурина – 4-аминокарбонилимидазо[5,1-с]триазин [5,6-д]бензо-12-краун-4 (XIII) [13] с целью установления наиболее предпочтительного молифицирующего краун-эфира для обеспечения максимальной эффективности противомикробного действия.

## Экспериментальная химическая часть

Спектры ПМР сняты на спектрометре "AM-250 Bruker" при 250 МГц в CDCl<sub>3</sub>, внутренний стандарт – ТМС. Масс-спектры зарегистрированы на спектрометре "Varian MAT-2" при ионизирующем напряжении 70 эВ и температуре, превышающей температуру плавления анализируемых веществ. ИК-спектры записаны на спектрофотометре "Specord UR-75" в растворе хлороформа. Выделение продуктов осуществляли методом колоночной хроматографии на силикагеле L 100/250, элюент хлороформ. Индивидуальность полученных соединений и ход синтеза контролировали методом ТСХ на пластинках "Silufol UV-254", система для хроматографирования ацетон : гексан = 1 : 2 и хлороформ : метанол = 8 : 1, проявитель – УФ-лучи.

N,N'-Бис(1,3,7-триметил-2,6-диоксопурин-8-ил)-7,16-диаза-1,4,10,13-тетраоксооктадекан (VII). К раствору 0,5 г (0,0011 М) 8-бромкофеина в абсолютном ДМФА (30 мл), помещенному в автоклав, прибавляют 0,57 г (0,0011 М) ДА-18-К-6 и 0,2 г (0,0011 М) безводного K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Выдерживают автоклав при t = 150 – 160 °С в течение 30 ч. По окончании реакции растворитель отгоняют на роторном испарителе при пониженном давлении и остаток перекристаллизовывают из спирта.

1-(β-Хлорэтил)-3,7-диметил-2,6-диоксопурин (V).

Смешивают 1,5 г (0,0067 М) 1-(2'-гидроксиэтил)теобромину с 10-кратным избытком тионилхлорида (8 мл) в абсолютном бензоле (50 мл), добавляют 2 – 3 капли абсолютного ДМФА в качестве катализатора и кипятят 2 ч. Охлаждают, отфильтровывают выпавший осадок, промывают бензолом, эфиром и сушат на воздухе.

Таблица 2

## Антимикробная активность краунсодержащих пуринов

Соединение	Минимальные подавляющие концентрации, мкг/мл					
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Planococcus citreus</i>	<i>Streptococcus faecalis</i>	<i>Escherichia coli M-17</i>	<i>Staphylococcus aureus P-209</i>	<i>Sarcina flora</i>
IIIa	> 625	> 625	> 625	> 1000	> 1000	> 1000
VII	118	118	11	> 1000	11	—
VIII	750	750	150	> 1000	750	—
IX	234	234	23	> 1000	23	234
X	375	375	23	> 1000	23	—
XI	469	469	469	1000	469	469
XII	469	469	> 625	> 1000	469	469

N-[2-(3,7-Диметил-2,6-диоксопуридин-1-ил)этил]-7,16-диаза-1,4,10,13-тетраоксооктадекан (VIIIa) и N,N'-бис[(3,7-диметил-2,6-диоксопуридин-1-ил)этил]-7,16-диаза-1,4,10,13-тетраоксооктадекан (VIIIб). Смешивают 1,21 г (0,005 М) V в 40 мл безводного ДМФА с 0,65 г (0,0025 М) ДА-18-К-6 и 0,35 г (0,0025 М) безводного K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> и греют на масляной бане в атмосфере азота при t = 100 – 110 °С 40 ч. По окончании реакции остаток в воде, экстрагируют хлороформом и загружают в хроматографическую колонку. Основной продукт после разделения реакционной смеси представляет собой дизамещенный краун-эфир VIIIб, в качестве сопутствующего продукта был выделен монозамещенный VIIIа.

N,N'-Бис[β-окси-γ-(1,3-диметил-2,6-диоксопуридин-7-ил)пропил]-7,16-диаза-1,4,10,13-тетраоксооктадекан (IX). К раствору 0,95 г (0,004 М) VIa в безводном этаноле (75 мл) прибавляют 0,786 г (0,003 М) ДА-18-К-6 и кипятят 4 ч. Спирт отгоняют при пониженном давлении, остаток подвергают хроматографическому разделению на колонке, последовательно элюируя хлороформом и системой растворителей хлороформ : метанол = 98 : 2, 97 : 3, 95 : 5. выделившееся вещество перекристаллизовывают из ацетонитрила.

N,N'-Бис[β-окси-γ-(3,7-диметил-2,6-диоксопуридин-1-ил)пропил]-7,16-диаза-1,4,10,13-тетраоксооктадекан получают аналогично IX, время реакции 8 ч.

## Экспериментальная биологическая часть

Изучение противомикробной активности исследуемых соединений IIIa, VII – XIII проводили методом двукратных серийных разведений [18] в стандартном мясоептонном бульоне при температуре 37 °С. Антимикробную активность краун-пуринов оценивали по их минимальным концентрациям, подавляющим рост микроорганизмов (МПК). Для исследований использовали 6 тест-культур: *Bacillus subtilis*, *Planococcus*

*citreus*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus P-209*, *Sarcina flora* и *Escherichia coli M-17*. Для определения МПК готовили стерильные спиртовые или водно-спиртовые растворы исследуемых соединений. Микробная нагрузка составляла 2 · 10<sup>9</sup> КОЕ в 1 мл суточной бульонной культуры. Данные о противомикробном действии изученных соединений представлены в таблице 2. Из установленных величин МПК следует, что соединения IIIa, VII – XIII проявляют противомикробную активность по отношению ко всем тест-культурам за исключением *Escherichia coli M-17*. Макроциклическое производное кофеина, замещенное по положению 8 пуринового ядра (VII), оказалось наиболее эффективным по величине МПК относительно патогенных культур *Streptococcus faecalis* и *Staphylococcus aureus P-209*. Проведенные исследования показывают, что практический интерес могут представить соединения VII, IX и X – производные ДА-18-К-6; следует также отметить, что противомикробная активность производных азакраун-эфиров выявлена впервые.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Barchi J. J., Marques V. F., Dricoll J. S. et al. // J. med. Chem. — 1991. — Vol. 34, — No 5. — P. 1647 – 1655.
2. Coe D. M., Roberts S. M., Storer R. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. — 1992. — No 20. — P. 2695 – 2704.
3. Пат. 4816575, 1989 США //РЖ Химия. — 1990. — Т. 40136П.
4. Kitagawa M., Hasegawa S., Saito S. et al. //Tetrahedron Lett. — 1991. — Vol. 32. — No 29. — P. 3531 – 3534.
5. Заявка 39009646 1990 ФРГ //РЖ Химия. — 1991. — Т. 90167П.
6. Пат. 97348, 1989 СРР //Там же. — Т. 50122П.
7. Пат. 4904585, 1990 США //Там же. — Т. 20129П.
8. Пат. 98193, 1989 СРР //Там же. — Т. 60191П.
9. Minsook K., Gokel G. W. // J. chem. Soc. Chem. Commun. — 1987. — No 22. — P. 1686 – 1688.
10. Holy P., Belogradary M., Stibor I. et al. //Collect. czechosl. chem. Commun. — 1987. — Vol. 52. — No 2. — P. 2971 – 2982.
11. Иванов Э. И., Федорова Г. В., Ясинская О. Г. и др. //Хим.-фарм. журн. — 1992. — № 9 – 10. — С. 66 – 68.
12. Федорова Г. В., Иванов Э. И., Ясинская О. Г. и др. //Українська конф. з органічної хімії, 17: Тези доповідей. — Тернопіль — 1992. — Ч. 1 — С. 202.
13. Федорова Г. В., Шапиро Ю. Е., Иванов Э. И. и др. //Химия гетероцикл. соединений. — 1993. — № 10. — С. 1349 – 1352.
14. Попова В. А., Подгорная Н. В., Посторский И. Я., Фролова Н. Н. //Хим.-фарм. журн. — 1976. — № 6. — С. 66 – 68.
15. Котляр С. А., Городнюк В. П., Конуп И. П., Конуп Л. А. //Там же. 1989. — № 5. — С. 3 – 6.
16. Sollidie-Cavallo A., Bencheqroum M. //J. org. Chem. — 1992. — Vol. 57. — P. 5831 – 5834.
17. Fukuda H. //Yakugaku Zassi. — 1963. — Vol. 83. — P. 925 – 929.
18. Лабинская А. С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. — 4-е изд. — М.: — 1978. — С. 86 – 91.

Поступила 05.04.94