

© Коллектив авторов, 2017

А. А. Спасов¹, Ф. А. Халиуллин², Д. А. Бабков¹, Г. А. Тимирханова²,
В. А. Кузнецова¹, Л. В. Науменко¹, Д. Р. Мулеева¹, О. Ю. Майка¹,
Т. Ю. Прохорова¹, Е. А. Стурова¹

СИНТЕЗ И АНТИДИАБЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ ТИАЗОЛО[2,3-*f*]ПУРИНА И ИХ АНАЛОГОВ

¹ ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Россия, 400131, Волгоград.

² ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Россия, 450008, Уфа.

Осуществлен синтез производных тиазоло[2,3-*f*]пурина и их аналогов: производных дигидротиазоло[2,3-*f*]пурина, 7-(тиетан-3-ил)пурина и 8-(2-гидроксипропилтио)пурина. Синтезированные соединения не оказывали влияния на реакцию гликирования белков глюкозой, слабо ингибировали гликогенфосфорилазу и показали отсутствие гемореологической активности. Обнаружены вещества, проявляющие гипотензивное действие, превосходящее активность дибазола. Ряд веществ проявляет гипогликемическое действие, превосходящее активность хлорпропамида и адебита. 2 соединения ингибировали дипептидилпептидазу-4, уступая препарату сравнения вилдаглиптину.

Ключевые слова: тиетаны; пурины; антидиабетическая активность.

По данным Международной федерации диабета (IDF), в настоящее время насчитывается порядка 415 миллионов больных сахарным диабетом, а к 2040 г. их число может достигнуть 642 миллионов [1]. Современный арсенал средств фармакологической коррекции нарушений обмена веществ при сахарном диабете в большинстве случаев не позволяет достичь адекватного гликемического контроля и предотвратить развитие микро- и макрососудистых осложнений [2 – 4]. Таким образом, разработка новых антидиабетических средств является актуальной и востребованной задачей.

Чаще всего, сахарный диабет 2 типа является проявлением метаболического синдрома, включающего, помимо нарушенной толерантности к глюкозе и дисфункции островкового аппарата поджелудочной железы, следующие основные компоненты: артериальную гипертензию, ожирение абдоминального типа, гиперлипидемию и гиперхолестеринемию. Комбинация этих факторов риска в разы повышает вероятность развития серьезных сердечно-сосудистых осложнений — атеросклероза, инфаркта миокарда, мозгового инсульта, внезапной смерти [5].

В предыдущей работе [6] нами показана гипогликемическая активность производных дигидротиазоло[2,3-*f*]пурина. Целью данного исследования является изучение биологической активности производных тиазоло[2,3-*f*]пурина и их структурных аналогов в отношении ряда антидиабетических мишеней — дипептидилпептидазы типа 4, гликогенфосфорилазы и образования конечных продуктов гликирования, а также оценка их влияния на артериальное давление и реологические свойства крови.

Реакцией 1,3-диметил-6-хлорметилтиазоло[2,3-*f*]пурин-2,4-(1*H*,3*H*)-диона (I) с циклогексиламином или имидазолом в этаноле синтезировали 6-замещенные 1,3-диметилтиазоло[2,3-*f*]пурин-2,4-(1*H*,3*H*)-дионы (IIa, б). Пропусканием через хлороформный раствор соединений IIa, б газообразного хлороводорода получали их гидрохлориды (IIIa, б) (схема 1). Строение соединения IIб подтверждено спектром ЯМР ¹H, в котором, кроме сигналов протонов NCH₃, NCH₂ и SCH групп, содержатся синглеты протонов имидазольного цикла при 7,3; 7,5 и 7,9 м. д.

Дигидрированные производные тиазолопуринов синтезировали, исходя из 8-бром-1,3-диметил-7-(тиетан-2-илметил)-1*H*-пурин-2,6-(3*H*,7*H*)-диона (IV). Реакцией соединения IV с пиперидином или пиперазина гексагидратом в этаноле получали 7-замещенные 1,3-диметил-6,7-дигидротиазоло[2,3-*f*]пурин-2,4-(1*H*,3*H*)-дионы (Va, б). Обработкой соединений Va, б этанольным раствором хлороводорода в диоксане синтезировали их гидрохлориды (VIa, б). Реакцией соединения Va с йодистым метилом в диоксане получали 1-[(1,3-диметил-2,4-диоксо-1,2,3,4,6,7-гексагидротиазоло[2,3-*f*]пурин-7-ил)метил]метилпиперидин-1-ия иодид (VII) (схема 2). Строение соединения Vб подтверждено спектрами ЯМР ¹H и ¹³C. Спектр ЯМР ¹H, кроме синглетов 2 групп NCH₃ и мультиплетов пиперазинометильного остатка, содержит мультиплет дигидротиазольного цикла в интервале 4,17 – 4,77 м. д. Образование дигидротиазольного цикла подтверждается также сигналами углеродов при 49,59 (C₃) и 51,54 (C₂) м. д. в спектре ЯМР ¹³C.

Схема 1

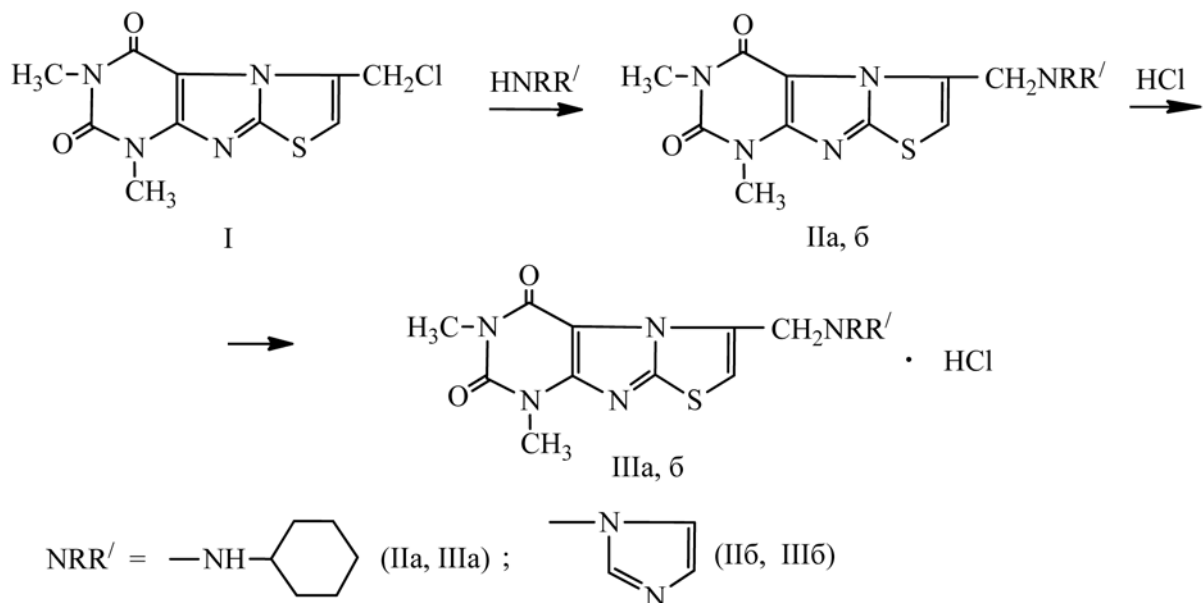
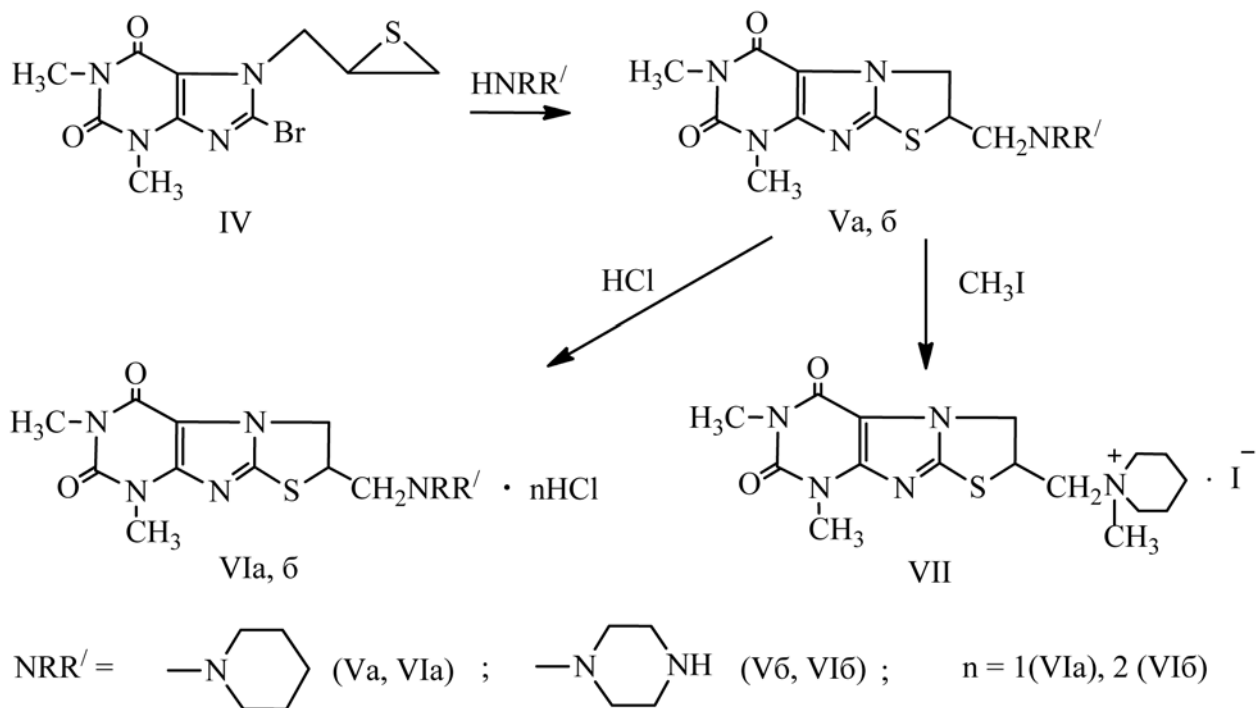


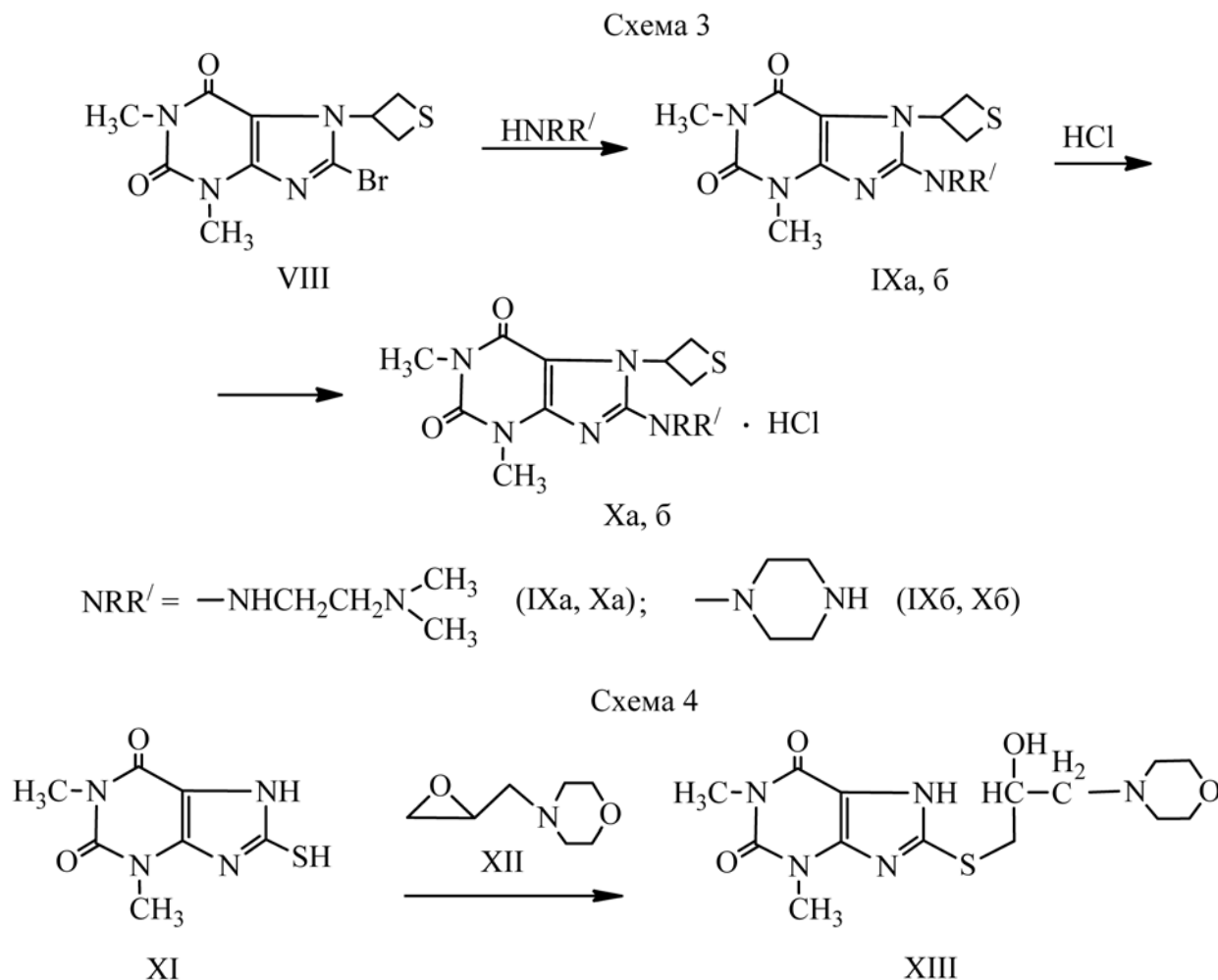
Схема 2



Тиетансодержащие аналоги дигидротиазолопуринов синтезировали, исходя из 8-бром-1,3-диметил-7-(тиетан-3-ил)-1*H*-пурин-2,6-(3*H*,7*H*)-диона (VIII). Реакцией соединения VIII с *N,N*-диметилэтилендиамином или пиперазина гексагидратом в этаноле получали 8-замещенные 1,3-диметил-7-(тиетан-3-ил)пурин-2,6-(3*H*,7*H*)-дионы (IXa, б). Обработкой соединений IXa, б этанольным раствором хлороводорода в диоксане синтезировали их гидрохлориды (Xa, б) (схема 3). Спектры ЯМР ^1H соединений IXa, б подтверждают сохранение тиетанового цикла, например мультиплетом NCH группы в интервале 5,3 – 5,7 м.д. Спектры содержат также сигналы протонов NCH₃ группы и протонов остатков соответствующих аминов. ИК-спектр соединения IXб содержит поглощение валентных колебаний N–H связи остатка пиперазина при 3340 см⁻¹.

Реакцией 8-мерkapто-1,3-диметил-1*H*-пурин-2,6-(3*H*,7*H*)-диона (XI) с 2-(морфолинометил)оксираном (XII) в *n*-пропанол синтезировали ациклический аналог дигидротиазолопуринов — 8-[2-гидрокси-3-морфолинопропил)тио]-1,3-диметил-1*H*-пурин-2,6-(3*H*,7*H*)-дион (XIII) (схема 4). Спектр ЯМР ^1H соединения XIII подтверждает наличие остатка морфолина, например триплетом O(CH₂)₂ группы с центром при 3,76 м.д. В спектре также наблюдаются сигналы NCH₃ групп и протонов пропильного остатка, уширенные синглеты при 4,16 и 7,86 м.д.,

соответствующие ОН и NH протонам. ИК-спектр соединения XIII содержит поглощение валентных колебаний N-H и O-H связей при 3090 – 3130 и 3415 cm^{-1} .



Экспериментальная химическая часть

Спектры ЯМР ^1H записаны на приборе “Tesla BS 567” с рабочей частотой 100 МГц в CDCl_3 (внутренний стандарт ТМС, соединения Vб, IXб, XIII) и трифторуксусной кислоте (внутренний стандарт ГМДС, соединения Пб, IXа). Спектр ЯМР ^{13}C соединения Vб записан на приборе “JEOL FX-90 Q” с рабочей частотой 22,5 МГц в CDCl_3 (внутренний стандарт — ТМС). ИК-спектры соединений в виде суспензий в вазелиновом масле сняты на приборе “UR-20”. Температуры плавления определяли на приборе “SMP 11”. Результаты элементных анализов на С, Н и N соответствуют вычисленным значениям.

Выходы и характеристики синтезированных соединений приведены в табл. 1. Исходные соединения синтезировали по известным методикам: соединение I [7], IV [8], VIII [9], XI [10], XII [11]. Синтез соединений Па, Ша описан нами в [12], соединения Va – в [6].

6-[(1H-Имидазол-1-ил)метил]-1,3-диметилтиазоло[2,3-f]пурин-2,4-(1H,3H)-дион (Пб). В 10 мл абсолютного этанола осторожно растворяют 0,28 г (12 ммоль) натрия металлического, после окончания выделения пузырьков газа добавляют 0,82 г (12 ммоль) имидазола. К полученному раствору приливают 60 мл диметилформамида, упаривают этанол на водяной бане. К оставшемуся раствору прибавляют 2,85 г (10 ммоль) соединения I, кипятят 8 ч. Охлаждают, выпавший осадок фильтруют, промывают водой, сушат. Получают соединение Пб. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 3,1 (с, 3H, 3- CH_3); 3,3 (с, 3H, 1- CH_3); 4,3 (уш.с., 2H, 6- CH_2); 7,1 (с, 1H, 7-H); 7,3 (уш.с., 1H, 4'-H); 7,5 (уш.с., 1H, 5'-H); 7,9 (с, 1H, 2'-H).

6-[(1H-Имидазол-1-ил)метил]-1,3-диметилтиазоло[2,3-f]пурин-2,4-(1H,3H)-диона гидрохлорид (Шб). Через раствор 1,58 г (5 ммоль) соединения Пб в 20 мл хлороформа пропускают газообразный хлороводород в течение 5 – 10 мин до pH 2. Выпавший осадок фильтруют, промывают хлороформом, сушат. Получают соединение Шб.

1,3-Диметил-7-(пиперазин-1-илметил)-6,7-дигидротиазоло[2,3-f]пурин-2,4-(1H,3H)-дион (Vб). Смесь 3,31 г (10 ммоль) соединения IV и 9,70 г (50 ммоль) пиперазина гексагидрата в 100 мл этанола кипятят 5 ч. Охлаждают, выпавший осадок фильтруют, промывают водой, сушат. Получают соединение Vб. Спектр ЯМР ^1H , δ ,

м.д.: 2,47 – 2,65 (м, 4Н, N(CH₂)₂); 2,75 – 3,00 (м, 6Н, N(CH₂)₃); 3,35 (с, 3Н, 3-СН₃); 3,51 (с, 3Н, 1-СН₃); 4,17 – 4,77 (м, 3Н, SCH и NCH₂). Спектр ЯМР ¹³С, δ, м.д.: 27,91 (3-СН₃); 29,91 (1-СН₃); 45,86 (HN(CH₂)₂); 49,59 (С₆); 51,54 (С₇); 54,48 (N(CH₂)₂); 61,90 (7-СН₂); 106,98; 151,27; 152,35; 153,57; 156,60 (углероды пурина).

1,3-Диметил-7-(пиперидин-1-илметил)-6,7-дигидропиазоло[2,3-*f*]пурин-2,4-(1*H*,3*H*)-диона гидрохлорид (VIa). К раствору 1,78 г (5 ммоль) соединения Va в 50 мл диоксана прибавляют по каплям при перемешивании 5 % раствор хлороводорода в этаноле до pH 2. Выпавший осадок фильтруют, промывают диоксаном, сушат. Получают соединение VIa.

1,3-Диметил-7-(пиперазин-1-илметил)-6,7-дигидропиазоло[2,3-*f*]пурин-2,4-(1*H*,3*H*)-диона дигидрохлорид (VIб). Получают аналогично соединению VIa.

1-(((1,3-Диметил-2,4-диоксо-1,2,3,4,6,7-гексагидропиазоло[2,3-*f*]пурин)-7-ил)метил)-1-метилпиперидин-1-ия йодид (VII). Раствор 3,56 г (10 ммоль) соединения Va и 4,26 г (30 ммоль) йодистого метила в 100 мл диоксана кипятят 3 ч. Охлаждают, выпавший осадок фильтруют, промывают диоксаном, сушат. Получают соединение VII.

1,3-Диметил-8-[(2-диметиламиноэтил)амино]-7-(тиетан-3-ил)-1*H*-пурин-2,6-(3*H*,7*H*)-дион (IXa). Смесь 3,31 г (10 ммоль) соединения VIII и 1,68 г (20 ммоль) *N,N*-диметилэтилендиамина в 50 мл этанола кипятят 5 ч. Охлаждают, выпавший осадок фильтруют, промывают водой, сушат. Получают соединение IXa. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 2,65 (д, 6Н, J 5 Гц, N(CH₂)₂); 2,88 – 3,26 (м, 10Н, 1- и 3- СН₃, S(CH)₂, NCH₂); 3,50 – 3,84 (м, 4Н, S(CH)₂, 8-NCH₂); 5,30 – 5,68 (м, 1Н, NCH).

1,3-Диметил-8-(пиперазин-1-ил)-7-(тиетан-3-ил)-1*H*-пурин-2,6-(3*H*,7*H*)-дион (IXб). Смесь 3,31 г (10 ммоль) соединения VIII и 9,70 г (50 ммоль) пиперазина гексагидрата в 50 мл этанола кипятят 3 ч. Фильтруют в горячем виде. Фильтрат охлаждают, выпавший осадок фильтруют, промывают водой, сушат. Получают соединение IXб. ИК-спектр, ν_{\max} , см⁻¹: 1610, 1655, 1690 (C=O, C=N, C=C); 3340 (N-H). Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 2,92 – 3,32 (м, 10Н, S(CH)₂, 2 N(CH₂)₂); 3,40 (с, 3Н, 1-СН₃); 3,48 (с, 3Н, 3-СН₃); 4,20 – 4,44 (м, 2Н, S(CH)₂); 5,26 – 5,70 (м, 1Н, NCH).

1,3-Диметил-8-[(2-диметиламиноэтил)амино]-7-(тиетан-3-ил)-1*H*-пурин-2,6-(3*H*,7*H*)-диона гидрохлорид (Xa). Получают аналогично соединению VIa.

1,3-Диметил-8-(пиперазин-1-ил)-7-(тиетан-3-ил)-1*H*-пурин-2,6-(3*H*,7*H*)-диона гидрохлорид (Xб). Получают аналогично соединению VIa.

8-[(2-Гидрокси-3-морфолинопропил)тио]-1,3-диметил-1*H*-пурин-2,6-(3*H*,7*H*)-дион (XIII). Смесь 2,12 г (10 ммоль) соединения XI и 1,72 г (12 ммоль) соединения XII в 50 мл *n*-пропанола кипятят 3 ч. Охлаждают, добавляют 150 мл диэтилового эфира, выпавший осадок фильтруют, промывают диэтиловым эфиром, сушат. Получают соединение XIII. ИК-спектр, ν_{\max} , см⁻¹: 1120 (C=O); 1610, 1650, 1715 (C=O, C=N, C=C); 3090 – 3130 (N-H); 3415 (O-H). Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 2,33 – 2,78 (м, 8Н, SCH₂, N(CH₂)₃); 3,06 – 3,60 (м, 7Н, 1- и 3- СН₃, CH); 3,76 (4Н, т, J 5 Гц, O(CH₂)₂); 4,16 (уш.с., 1Н, OH); 7,86 (уш.с., 1Н, NH).

Экспериментальная биологическая часть

Активность дипептидилпептидазы-4 *in vitro*. Для оценки ингибиторной активности соединений в отношении дипептидилпептидазы-4 вносили 40 мкл плазмы крови здоровых добровольцев в 50 мкл 0,1 М трис-НСl буферного раствора (pH 8,0). В полученную смесь прибавляли 10 мкл раствора исследуемого вещества заданной концентрации в трис-буферном растворе и преинкубировали при 37 °С в течение 5 мин. Затем вносили в реакционную смесь 100 мкл 1 мМ раствора субстрата дипептидилпептидазы-4 гли-про-*n*-нитроанилида (Sigma, США).

Таблица 1

Выходы и характеристики синтезированных соединений

Соединение	Выход, %	$T_{\text{пл}}$, °С (растворитель)	Брутто-формула
IIб	33	237 – 239 (изо-пропанол)	C ₁₃ H ₁₂ N ₆ O ₂ S
IIIб	42	283 – 285 (этанол)	C ₁₃ H ₁₃ ClN ₆ O ₂ S
Vб	79	218 – 220 (этанол)	C ₁₄ H ₂₀ N ₆ O ₂ S
VIa	88	252 – 254 (этанол)	C ₁₅ H ₂₂ ClN ₅ O ₂ S
VIб	98	246 – 248 (этанол)	C ₁₄ H ₂₂ Cl ₃ N ₆ O ₂ S
VII	88	253 – 254 (этанол)	C ₁₆ H ₂₄ JN ₅ O ₂ S
IXa	57	199 – 200 (этанол)	C ₁₄ H ₂₂ N ₆ O ₂ S
IXб	70	223 – 224 (этанол)	C ₁₄ H ₂₀ N ₆ O ₂ S
Xa	91	263 – 264 (этанол)	C ₁₄ H ₂₃ ClN ₆ O ₂ S
Xб	91	239 – 241 (этанол)	C ₁₄ H ₂₁ ClN ₆ O ₂ S
XIII	96	170 – 171*	C ₁₄ H ₂₁ N ₅ O ₄ S

* Этанол — диэтиловый эфир, соотношение 1:3.

Инкубировали при 37 °С в течение 15 мин и регистрировали образование *n*-нитроанилина по величине оптической плотности при длине волны 405 нм [13], используя микропланшетный ридер Infinite M200 PRO (Tecan, Австрия). В качестве положительного контроля использовали вилдаглиптин (Sigma, США) [14].

Активность гликогенфосфорилазы *in vitro*. Для оценки ингибиторной активности соединений в отношении гликогенфосфорилазы 100 мкл 50 мМ HEPES буферного раствора (рН 7,2), содержащего 100 мМ КСl, 2,5 мМ MgCl₂, 0,5 мМ глюкозо-1-фосфата (Sigma #G6875, США) и 1 мг/мл гликогена, инкубировали с 0,2 ЕД/мл мышечной гликогенфосфорилазы кролика (Sigma #P1261, США) и 5 мкл раствора исследуемого вещества заданной концентрации при 30 °С в течение 30 мин. Затем вносили в реакционную смесь 150 мкл раствора, содержащего 1,05 % (NH₄)₂MoO₄ и 0,034 % малахитового зеленого. Определяли количество высвобожденного фосфат-аниона через 20 мин при 30 °С по величине оптической плотности при длине волны 620 нм [15], используя микропланшетный ридер Infinite M200 PRO (Tecan, Австрия). В качестве положительного контроля использовали экспериментальный ингибитор гликогенфосфорилазы CP-316819 (Sigma #PZ0189, США) [16].

Реакцию гликирования белков глюкозой моделировали в реакционной смеси, содержащей глюкозу (500 мМ) и бычий сывороточный альбумин (БСА) (1 мг/мл), растворенные в фосфатном буферном растворе (рН 7,4) с добавлением азидата натрия в концентрации 0,02 % для предупреждения бактериального роста [17]. Все вещества растворяли в ДМСО. В экспериментальные образцы прибавляли изучаемые вещества в конечных концентрациях 10⁻³ и 10⁻⁴ М, в контрольные образцы добавляли растворитель в аналогичном объеме. Все экспериментальные образцы инкубировали в течение 24 ч при 60 °С. По истечении срока инкубации проводили определение специфической флуоресценции гликированного БСА на спектрофлуориметре F-7000 (Hitachi, Япония) при λ_{ex} 370 нм и λ_{em} 440 нм. Антигликирующую активность рассчитывали по отношению к показателю флуоресценции контрольных образцов. В качестве вещества сравнения использовали известный ингибитор неферментативного гликозилирования — аминогуанидин [18].

О гемореологической активности судили по изменению вязкости крови кролика в условиях моделирования нарушений реологических свойств крови *in vitro*, заключающегося в инкубировании крови при 42,5 °С в течение 60 мин. Производилась стандартизация образцов крови к единому гематокриту 45 у.е. Изучаемые вещества прибавлялись к образцам крови в конечной концентрации 10 мкМ. В качестве препарата сравнения использовали пентоксифиллин (Aventis, Германия). Вязкость крови измеряли на вискозиметре АКР-2 (Россия). Влияние веществ на показатели вязкости крови оценивали по изменению индекса агрегации эритроцитов, который рассчитывается как отношение вязкости крови при скорости сдвига 3 с⁻¹ к вязкости крови при 100 с⁻¹.

Гипогликемическую активность оценивали при внутрибрюшинном введении исследуемых веществ взрослым самцам крыс-альбиносов в дозе 50 мг/кг. Забирали образцы венозной крови из хвостовой вены и измеряли

Таблица 2

Биологическая активность исследованных соединений

Соединение	Гипотензивная, ED ₂₀ , мг/кг	Изменение индекса агрегации эритроцитов, Δ% (m ± SEM)	Антигликирующая активность, % (m ± SEM)		ДПП4 ингибирующая активность, (10 ⁻⁴ М), % (m ± SEM)	ГФ ингибирующая активность, (10 ⁻⁴ М), % (m ± SEM)	Гипогликемические свойства (50 мг/кг в.б.), глюкоза крови к исходному, Δ% (m ± SEM)	
			10 ⁻³ М	10 ⁻⁴ М			через 2 ч	через 4 ч
Ша	- ¹	-12,2 ± 0,9*	14,54 ± 9,19	-12,43 ± 4,10	83,32 ± 1,93*	8,84 ± 10,88	-38,76 ± 4,7*	-32,40 ± 5,7*
Шб	31,6	30,0 ± 6,3*	-3,79 ± 3,72	-0,18 ± 1,89	-5,78 ± 1,68	2,72 ± 3,24	-9,98 ± 4,8	0 ± 5
VIa	3,1	4,19 ± 0,3*	15,59 ± 6,29	-0,83 ± 7,16	4,36 ± 2,17	17,32 ± 2,65*	-22,80 ± 3,36*	-18,69 ± 5,30
VIб	- ²	9,0 ± 1,2	11,80 ± 5,91	0,75 ± 6,70	7,95 ± 2,09	12,29 ± 10,52	-34,79 ± 5,1*	-22,30 ± 2,8*
VII	46,8	3,1 ± 0,2	-0,50 ± 2,39	-16,98 ± 1,60	67,11 ± 3,12*	12,92 ± 5,75	-35,04 ± 16,2	-33,7 ± 3,1*
Ха	3,5	-0,7 ± 0,9	16,98 ± 4,41	5,07 ± 4,39	6,38 ± 0,98	7,91 ± 9,02	-27,16 ± 7,6	-22,98 ± 2,1*
Хб	7,1	5,69 ± 1,0	3,87 ± 3,79	-3,30 ± 5,11	9,3 ± 0,84*	9,51 ± 6,85	- ³	- ³
XIII	7,1	5,8 ± 0,2	-20,33 ± 11,72	-0,72 ± 6,92	5,50 ± 0,36*	23,09 ± 1,71*	-8,61 ± 1,09*	-15,41 ± 9,31
Дибазол	22,1							
Пентоксифиллин		-18,6 ± 2,5*						
Аминогуанидин			57,83 ± 0,58*	6,01 ± 2,12				
Вилдаглиптин					99,65 ± 1,16*			
CP-316819						94,54 ± 1,52*		
Хлорпропамид							-11,0 ± 0,01*	-12,0 ± 0,015*
Адебит							-24,0 ± 2,01*	-23,0 ± 0,1*

* Данные статистически значимы по отношению к контролю (U-тест Манна – Уитни, p < 0,05).

¹ Не растворимо в воде.

² В дозе 5 мг/кг — гибель.

³ Исследования не проводились.

концентрацию глюкозы с помощью анализатора Biosen C_Line (EKF Diagnostics, Германия) в 0,2 и 4 ч. В качестве препаратов сравнения использовали хлорпропамид и адебит.

Гипотензивное действие исследовали в острых опытах на белых крысах, наркотизированных этаминалом натрия (50 мг/кг, внутривенно) при внутривенном введении испытываемых веществ. Артериальное давление измеряли в сонной артерии ртутным манометром в течение 1 ч. В качестве показателя гипотензивного действия соединений рассчитывали величину ED₂₀ — дозу, в которой соединение на 30 – 60 мин снижало артериальное давление на 20 %. Препаратом сравнения служил дибазол.

Результаты и их обсуждение

Полученные производные тиазоло[2,3-*f*]пурина и их структурные аналоги были исследованы на наличие гипотензивной, гемореологической и антидиабетической активности. Результаты приведены в табл. 2. В частности, при изучении активности на целых животных показано, что вещества данной серии обладают выраженными гипотензивными свойствами. Соединения VIa, Xa, Xб и XIII превосходят препарат сравнения дибазол по величине ED₂₀. Имидазол-замещенное производное IIIб и соединение VII, содержащее четвертичный атом азота в боковой цепи, проявили в 10 – 15 раз меньший уровень активности по сравнению с наиболее активным соединением серии VIa. Это позволяет сделать вывод о том, что гипотензивная активность ассоциирована с липофильным радикалом в боковой цепи (остатком пиперидина, пиперазина, морфолина или алкиламино) и снижается при наличии ароматического заместителя или четвертичного атома азота.

По влиянию на процессы агрегации эритроцитов практически все изучаемые производные пурина оказались неактивными и даже проявили проагрегантные свойства, как имидазолметилпроизводное IIIб. Исключение составляет соединение IIIa, отличающееся наличием циклогексиламинометильного радикала, однако и это вещество уступает пентоксифиллину по абсолютным значениям индекса агрегации эритроцитов. В целом, отсутствие изменений индекса агрегации эритроцитов свидетельствует об отсутствии влияния соединений данного ряда на деформабельность эритроцитов и вязкость крови.

Синтезированные производные тиазоло[2,3-*f*]пурина и их структурные аналоги изучены *in vitro* для оценки антидиабетических свойств. Проведено определение их влияния на активность дипептидилпептидазы типа 4 (ДПП4), гликогенфосфорилазы (ГФ) и образование конечных продуктов гликирования. Изученные соединения в концентрации 0,1 – 1,0 мМ не проявили статистически значимой антигликирующей активности. Слабые гликогенфосфорилаза-ингибирующие свойства отмечены для соединений VIa и XIII, содержащих в боковой цепи остаток пиперидина и морфолина, соответственно, однако они существенно уступают препарату сравнения СР-316819. В то же время показано, что 2 соединения (IIIa и VII, содержащие остаток циклогексиламина и *N*-метилпиперидиния, соответственно) являются ингибиторами дипептидилпептидазы типа 4, уступая препарату сравнения вилдаглиптину в концентрации 100 мкМ. Для наиболее активного соединения IIIa определена величина IC₅₀, составившая 39,14 мкМ (для вилдаглиптина величина IC₅₀ 0,034 мкМ в параллельном эксперименте). Среди аналогов пурина описаны структурно близкие наномолярные ингибиторы ДПП4, содержащие 3-аминопиперидиновый фрагмент [19]. Это позволяет предположить, что введение аминогруппы в положение 3 циклогексиламинового остатка соединения IIIa позволит увеличить его сродство к активному центру фермента и усилить его ингибиторную активность.

Далее изучена гипогликемическая активность данной серии производных при однократном введении экспериментальным животным. Установлено, что соединения IIIa, VIб и VII превосходят препараты сравнения хлорпропамид и адебит, а соединения VIa и Xa сравнимы с ними. Таким образом, гипогликемическая активность более выражена для производных, содержащих в боковой цепи аминотетил в составе алифатического или алициклического фрагмента. Если для соединения IIIa вероятной мишенью сахароснижающего действия является дипептидилпептидаза типа 4, то выяснение механизма гипогликемического действия остальных веществ требует дополнительного изучения.

Настоящая работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-25-00139).

ЛИТЕРАТУРА

1. Diabetes Facts and Figures, *International Diabetes Federation* (2015), at <<http://www.idf.org/WDD15-guide/facts-and-figures.html>>
2. M. L. Mohler, Y. He, Z. Wu, et al., *Med. Res. Rev.*, **29**(1), 125 – 195 (2009).
3. A. A. Spasov, V. I. Petrov, N. I. Chepliaeva, et al., *Vestn. Ros. Akad. Med. Nauk*, **2**, 43 – 49 (2013); at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23819328>
4. А. А. Спасов, В. И. Петров, В. И. Минкин (ред.), *Антидиабетогенный потенциал бензимидазолов: химия, фармакология, клиника*, изд-во ВолгГМУ, Волгоград (2016).
5. И. И. Дедов, М. В. Шестакова, *Saxar. diabot*, **4**, 2 – 6 (2002).
6. Ф. А. Халиуллин, Ж. В. Мироненкова, А. Ж. Гильманов и др., *Хим.-фарм. журн.*, **28**(9), 33 – 34 (1994); *Pharm. Chem. J.*, **28**(9), 647 – 649 (1994).

7. Ю. В. Строкин, И. А. Красовский, В. Е. Усков и др., *Синтез и доклиническое изучение новых биологически активных веществ*, Башнипинефть, Уфа (1988), сс. 5 – 8.
8. Ф. А. Халиуллин, *Дис. докт. фарм. наук*, Уфа (1998).
9. Ф. А. Халиуллин, В. А. Катаев, Ю. В. Строкин, *Химия гетероцикл. соедин.*, № 4, 516 – 518 (1991).
10. С. Н. Гармаш, Н. В. Коваль, Б. А. Прийменко и др., *Химия гетероцикл. соедин.*, № 11, 1534 – 1539 (1987).
11. А. М. Пакен, *Эпоксидные соединения и эпоксидные смолы*, Госхимиздат, Ленинград (1962).
12. В. М. Дианов, И. Г. Чикаева, Г. А. Тимирханова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **28**(8), 21 – 23 (1994); *Pharm. Chem. J.*, **28**(8), 555 – 557 (1994).
13. V. Matheeußen, A.-M. Lambeir, W. Jungraithmayr, et al., *Clin. Chim. Acta*, **413**(3 – 4), 456 – 462 (2012).
14. F. X. Pi-Sunyer, A. Schweizer, D. Mills, et al., *Diabetes Res Clin. Pract.*, **76**(1), 132 – 138 (2007).
15. H. H. Hess and J. E. Derr, *Anal. Biochem.*, **63**(2), 607 – 613 (1975).
16. S. W. Suh, J. P. Bergher, C. M. Anderson, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **321**(1), 45 – 50 (2007).
17. A. Jedsadayamata, *Naresuan Univ. J.*, **13**(2), 35 – 41 (2005).
18. P. J. Thornalley, *Arch. Biochem. Biophys.*, **419**(1), 31 – 40 (2003).
19. R. Kurukulasuriya, J. J. Rohde, B. G. Szczepankiewicz, et al., *Bioorg. Med. Chem. Let.*, **16**(24), 6226 – 6230 (2006).

Поступила 11.05.17

SYNTHESIS AND ANTIDIABETIC ACTIVITY OF THIAZOLO[2,3-*F*]PURINE DERIVATIVES AND THEIR ANALOGS

A. A. Spasov¹, F. A. Khaliullin², D. A. Babkov¹, G. A. Timirkhanova², V. A. Kuznetsova¹, L. V. Naumenko¹, D. R. Muleeva¹, O. Yu. Maika¹, T. Yu. Prokhorova¹, and E. A. Sturova¹

¹ Volgograd State Medical University, Volgograd, 400131 Russia

² Bashkir State Medical University, Ufa, Bashkortostan, 450008 Russia

A series of derivatives of thiazolo[2,3-*f*]purine and their analogs (derivatives of dihydrothiazolo[2,3-*f*]purine, 7-(thietan-3-yl)purine, and 8-(2-hydroxypropylthio)purine) have been synthesized and studied. The synthesized compounds had no effect on the reaction of protein glycation by glucose, slightly inhibited glycogen phosphorylase, and showed no hemorheological activity. Some substances exhibited a hypotensive effect exceeding the activity of dibazol. A number of substances produced a hypoglycemic effect exceeding the activity of chlorpropamide and adebit. Two compounds inhibited dipeptidylpeptidase-4, but less significantly in comparison to vildagliptin.

Keywords: thietanes; purines; antidiabetic activity.