

© Коллектив авторов, 2017

Ф. А. Халиуллин, Ю. В. Шабалина, Г. Г. Давлятова, Л. А. Валеева

СИНТЕЗ И АНТИДЕПРЕССИВНЫЕ СВОЙСТВА 3-МЕТИЛ-7-(1,1-ДИОКСОТИЕТАН-3-ИЛ)-8- ЦИКЛОГЕКСИЛАМИНО-1-ЭТИЛ-1H-ПУРИН-2,6(3H,7H)-ДИОНА

ФГБОУ ВО "Башкирский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения РФ, Россия, 450008, Уфа.

Взаимодействием 8-бром-3-метил-7-(1,1-диоксотиетан-3-ил)-1-этил-1H-пурин-2,6(3H,7H)-диона с циклогексиламином синтезирован 3-метил-7-(1,1-диоксотиетан-3-ил)-8-циклогексиламино-1-этил-1H-пурин-2,6(3H,7H)-дион, обладающий антидепрессивной активностью, наиболее выраженной в дозе 1,6 мг/кг.

Ключевые слова: ксантины; тиетаны; синтез; антидепрессивная активность.

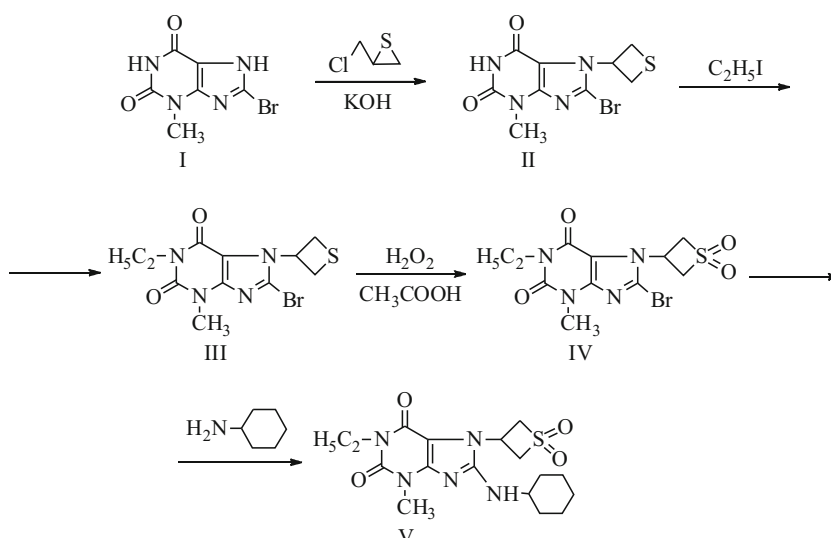
Большинство фармакологических эффектов алкалоидов пуринового ряда связано с блокадой рецепторов аденозина. Кофеин, ослабляя или устраняя тормозящее влияние аденозина, улучшает функционирование высших отделов головного мозга, устраняет утомление, сонливость, повышает умственную работоспособность, а также функционирование отделов ствола головного мозга, регулирующих дыхание и артериальное давление [1]. Планируя синтез новых соединений, влияющих на центральную нервную систему, мы использовали введение в положение 7 1H-пурин-2,6(3H,7H)-диона диоксотиетанового цикла, ряд производных которого проявил высокую антидепрессивную активность [2]. Учитывая данные по 8-циклоалкиламино-1H-пурин-2,6(3H,7H)-дионам как сильным и селективным антагонистам аденозиновых рецепторов [3], в качестве заместителя в положении 8 выбрали циклогексиламин.

Целью настоящей работы является синтез и изучение антидепрессивной активности нового производно-

го 1H-пурин-2,6(3H,7H)-диона — 3-метил-7-(1,1-диоксотиетан-3-ил)-8-циклогексиламино-1-этил-1H-пурин-2,6(3H,7H)-диона.

Синтез нового производного 1H-пурин-2,6(3H,7H)-диона проводили, исходя из доступного 8-бром-3-метил-1H-пурин-2,6(3H,7H)-диона (I), по следующей схеме. Реакцией соединения I с 2-хлорметилтираном в воде в присутствии эквимолярного количества гидроксида калия в результате тиран-тиетановой перегруппировки получали 8-бром-3-метил-7-(тиетан-3-ил)-1H-пурин-2,6(3H,7H)-дион (II). Алкилированием соединения II йодистым этилом в диметилформамиде в присутствии эквимолярного количества гидроксида калия синтезировали 8-бром-3-метил-7-(тиетан-3-ил)-1-этил-1H-пурин-2,6(3H,7H)-дион (III).

8-Бром-3-метил-7-(1,1-диоксотиетан-3-ил)-1-этил-1H-пурин-2,6(3H,7H)-дион (IV) получен окислением соединения III 10-кратным мольным избытком пероксида водорода в среде ледяной уксусной кислоты. 3-Метил-7-(1,1-диоксотиетан-3-ил)-8-циклогексилами-



но-1-этил-1*H*-пурин-2,6(3*H*,7*H*)-дион (V) синтезировали реакцией соединения IV с 3-кратным мольным избытком циклогексиламина в среде диметилформамида.

Нуклеофильное замещение атома брома подтверждается наличием в спектре ЯМР ¹H соединения V сигналов протонов циклогексиламина. Спектр содержит сигналы (CH₂)₅ протонов, перекрывающиеся с сигналами протонов CH₃ группы 1-этильного заместителя в интервале 1,10 – 2,15 м.д., мультиплет протона NCH группы в интервале 3,42 – 3,48 м.д. и дублет протона NH группы при 5,61 м.д. В спектре наблюдаются характерные сигналы протонов диоксотиаганового цикла: 2 “ложных” триплета в интервалах 4,52 – 4,63 и 4,90 – 5,02 м.д., соответствующие 2 S(CH)₂ группам, и мультиплет в интервале 5,78 – 5,92 м.д., соответствующий 7-CH группе. Спектр содержит также сигналы протонов 1-этильного заместителя и синглет 3-метильной группы 1*H*-пурин-2,6(3*H*,7*H*)-диона.

ИК-спектр соединения V содержит полосы поглощения валентных колебаний N-H связи в интервале 3360 – 3400 см⁻¹, что также подтверждает наличие остатка циклогексиламина. Присутствие интенсивных полос поглощения валентных симметричных и асимметричных колебаний связей SO₂ группы при 1139 и 1313 см⁻¹ свидетельствует о сохранении диоксотиаганового цикла.

Экспериментальная химическая часть

ИК-спектры соединений в таблетках с бромидом калия сняты на приборе “Инфралюм ФТ-02”. Спектр ЯМР ¹H снят на приборе “Bruker AM-300” с рабочей частотой 300 МГц. В качестве растворителя использован дейтерированный хлороформ, в качестве внутреннего стандарта — сигнал растворителя.

Температуру плавления синтезированных соединений определяли на приборе SMP-30. Индивидуальность соединений подтверждали методом тонкослойной хроматографии на пластинках “Sorbfil” в системе хлороформ — этиловый спирт (объемное соотношение 1:3) или в системе *n*-бутиловый спирт — уксусная кислота — вода (объемное соотношение 4:1:2). Пятна

проявляли парами йода во влажной камере. Данные элементного анализа синтезированных соединений соответствуют вычисленным значениям.

Соединение II получали по методике [4], соединения III, IV — по методике [5]. 2-Хлорметилтиран синтезировали по методике [6].

3-Метил-7-(1,1-диоксотиаган-3-ил)-8-циклогексиламино-1-этил-1*H*-пурин-2,6(3*H*,7*H*)-дион (V). Раствор 1,13 г (3 ммоль) соединения IV и 0,89 г (9 ммоль) циклогексиламина в 25 мл диметилформамида кипятят 1 ч. Охлаждают, разбавляют водой до выпадения осадка, выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой, сушат. Получают 0,60 г (50 %) соединения V. *T*_{пл.} = 228 – 230 °С (этиловый спирт). C₁₇H₂₅N₅O₄S. ИК-спектр (KBr), *v*_{max}, см⁻¹: 1139, 1313 (SO₂ вал.), 1616, 1647, 1694 (C=C, C=N, C=O), 3360 – 3400 (N-H вал.). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), *δ*, м.д.: 1,10 – 2,15 (м, 13H, CH₃ и (CH₂)₂); 3,54 (с, 3H, 3-CH₃); 3,71 – 3,87 (м, 1H, CH); 4,08 (к, 2H, J 6,9 Гц, 1-CH₂); 4,52 – 4,63 (м, 2H, S(CH)₂); 4,90 – 5,02 (м, 2H, S(CH)₂); 5,61 (д, 1H, J 6,9 Гц, 8-NH); 5,78 – 5,92 (м, 1H, 7-CH).

Экспериментальная биологическая часть

Опыты были поставлены на 120 беспородных мышак-самцах массой 20 – 23 г, выращенных в ГУП “Иммунопрепарат” (Уфа). Животные находились в стандартных условиях вивария при естественном светотемновом режиме, свободном доступе к воде и полнорационному корму в соответствии с ГОСТом Р50258-92.

При выполнении экспериментов были строго соблюдены все требования Европейской конвенции “О защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или иных научных целей” (Страсбург, 1986 г.), Федерального закона Российской Федерации от 01.01.1997 г. “О защите животных от жестокого обращения”, приказа Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 23 августа 2010 г. № 708н “Об утверждении Правил лабораторной практики” и ГОСТа 51000.3-96 “Общие требования к испытательным лабораториям”.

Таблица 1
Влияние соединения V на время иммобилизации и индекс депрессивности мышак в тесте TST и FST при однократном введении

Группа	Иммобилизация (TST), Ме [25 %, 75 %]	Иммобилизация (FST), Ме [25 %, 75 %]	ИД (FST), Ме [25 %, 75 %]
Контроль <i>n</i> = 23	74 [72, 83]	193 [180, 210]	1,0 [1,0, 1, 2]
Флуоксетин <i>n</i> = 14	106 [73, 123]	165* [103, 201]	0,6* [0, 4, 0, 8]
V, 56 мг/кг, <i>n</i> = 8	115 [70, 130]	198 [127, 213]	0,7* [0, 5, 0, 8]
V, 37,5 мг/кг, <i>n</i> = 8	116 [62, 163]	207 [191, 228]	0,9 [0, 7, 1, 1]
V, 22,5 мг/кг, <i>n</i> = 8	72 [30, 94]	204 [184, 215]	0,9 [0, 7, 1, 1]
V, 12,5 мг/кг, <i>n</i> = 8	108 [85, 137]	115* [108, 160]	0,7 [0, 7, 0, 9]
V, 6,2 мг/кг, <i>n</i> = 8	126* [91, 181]	198 [133, 211]	0,6* [0, 4, 0, 8]
V, 3,1 мг/кг, <i>n</i> = 8	105 [67, 126]	179 [100, 195]	0,6* [0, 4, 0, 6]
V, 1,6 мг/кг, <i>n</i> = 8	120 [75, 153]	164 [133, 205]	0,4* [0, 4, 0, 5]

* *p* < 0,05 по сравнению с контролем (для *U*-критерия Манна — Уитни).

Влияние соединения V на параметры индивидуального поведения мышей в тесте “открытое поле”

Группа	ДА	Н	Вс	Су	Ц	ОИА
Контроль $n = 9$	78 [70, 86]	15 [14, 19]	0 [0, 0]	7 [5, 14]	9 [7, 10]	28 [22, 37]
V, 56 мг/кг, $n = 8$	67 [46, 5, 74]	17 [8, 5, 20, 5]	0 [0, 1]	10 [6, 5, 13]	7 [6, 5, 10, 5]	28,5 [17, 5, 31]
V, 37,5 мг/кг, $n = 8$	74 [64, 76]	17 [13, 23]	2 [0, 5]	20 [14, 23]	15 [13, 19]	41 [37, 47]
V, 22,5 мг/кг, $n = 8$	73 [63, 5, 76]	14 [8, 5, 18]	0 [0, 0]	7 [5, 5, 12]	10 [7, 11, 5]	25,5 [14, 5, 28, 5]
V, 12,5 мг/кг, $n = 8$	69 [58, 5, 75]	13 [11, 16]	0 [0, 0]	8 [5, 5, 11, 5]	5,5 [4, 7, 5]	22,5 [17, 5, 26, 5]
V, 6,2 мг/кг, $n = 8$	65 [62, 72]	18 [12, 21]	0 [0, 0]	8 [4, 15]	8 [5, 9]	31 [19, 39]
V, 3,1 мг/кг, $n = 8$	59,5 [44, 87]	19 [16, 19]	0 [0, 0]	9 [6, 12]	8 [7, 9]	25 [22, 31]
V, 1,6 мг/кг, $n = 8$	78,5 [68, 85]	17,5 [16, 21]	0 [0, 0]	11 [7, 17]	8 [8, 8]	33 [25, 36]

Примечание: ДА — двигательная активность, Н — норка, Вс — вертикальная стойка, Су — стойка с упором, Ц — вход в центр, ОИА — ориентировочно-исследовательская активность.

Острую токсичность синтезированного соединения V определяли при однократном внутрибрюшинном введении в диапазоне доз от 100 до 1500 мг/кг. Контрольные и опытные группы наблюдались в течение 1 сут непрерывно, далее на протяжении 14 сут — 1 раз в день. Для регистрации картины интоксикации учитывали общее состояние, поведенческие реакции, время возникновения и характер судорог, сроки гибели животных. Далее устанавливали зависимость доли погибших животных (%) от дозы испытуемого вещества. Для расчета LD_{50} использовали метод Литчфилда и Уилкоксона [7].

Антидепрессивные свойства соединения исследовали в тестах “подвешивание за хвост” (TST) и “принудительное плавание” в модификации Е. В. Щетинина (FST) [8 – 11]. Антидепрессивный эффект оценивали по длительности иммобилизации (ИМ TST, ИМ FST) и индексу депрессивности (ИД FST). Визуальную оценку поведения животных проводили с использованием программы “BrainTest”, разработанной на кафедре фармакологии № 1 с курсом клинической фармакологии БГМУ [12].

Влияние соединения V на индивидуальное поведение мышей определяли в тесте “открытое поле” [13].

Опыты проведены с учетом биологических ритмов, описанных в работе [14].

При изучении антидепрессивной активности соединения V вводили внутрибрюшинно в виде суспензии в дозах, равных 1/20, 1/30, 1/50, 1/90, 1/180, 1/360 и 1/720 от LD_{50} (56, 37,5, 22,5, 12,5, 6,2, 3,1 и 1,6 мг/кг соответственно). Каждую дозу испытывали на 8 – 23 лабораторных животных. Суспензию готовили с использованием стабилизатора Твин-80. Животные контрольной группы получали эквивалентное количество 0,9 % раствора натрия хлорида с Твин-80. В качестве препарата позитивного контроля использовали флуоксетин в дозе 10 мг/кг.

Статистический анализ проводили с помощью программы Statistica 6.1, используя непараметрические U -критерий Манна – Уитни и H -критерий Крускала — Уоллиса. Отличия считали достоверными при $p < 0,05$ [15].

В результате изучения острой токсичности установлено, что LD_{50} исследуемого соединения V составляет

1123 мг/кг, т.е. по классификации К. К. Сидорова он относится к классу малотоксичных соединений.

В тесте TST (табл. 1) после однократного внутрибрюшинного введения время иммобилизации контрольных мышей составило 74 с. В опытной группе мышей под влиянием соединения V в дозе 6,2 мг/кг наблюдалось статистически значимое увеличение времени неподвижности в 1,7 раз по сравнению с контролем. Во всех остальных, кроме группы, получившей соединение V в дозе 22,5 мг/кг, отмечалась тенденция к повышению длительности иммобилизации.

В тесте FST время неподвижности и ИД контрольной группы составили 193 с и 1,0 соответственно. Препарат сравнения флуоксетин статистически значимо снижал данные показатели на 14,5 и 40 %. Под влиянием соединения V время иммобилизации опытных животных оставалось на уровне контрольных значений. Только в дозе 12,5 мг/кг данный показатель статистически значимо снижался до 115 с. Однако на индекс депрессивности соединение V влияло в широком диапазоне доз. В опытных группах животных, получивших однократную инъекцию соединения V в дозах 56, 6,2, 3,1 и 1,6 мг/кг, ИД снижался на 30, 40, 40 и 60 % соответственно по сравнению с контролем.

В тесте “открытое поле” (табл. 2) показатели двигательной и ориентировочно-исследовательской активности, эмоциональной тревожности под влиянием соединения V не отличались от таковых контрольной группы, что указывает на отсутствие у соединения V седативной и психостимулирующей активности.

Таким образом, 3-метил-7-(1,1-диоксоэтан-3-ил)-8-циклогексиламино-1-этил-1*H*-пури-2,6(3*H*,7*H*)-дион обладает антидепрессивным действием, наиболее выраженным в дозе 1,6 мг/кг массы тела, относится к классу малотоксичных веществ и не влияет на эмоциональную тревожность, двигательную и ориентировочно-исследовательскую активность лабораторных мышей.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Новая волна, Умеренков (2014).
2. Патент России 2424799 (2011); *Бюл. изобрет.*, № 21 (2011); Режим доступа: <http://www1.fips.ru / Archive / PAT />

3. T. Katsushima, L. Nieves, and J. Wells, *J. Med. Chem.*, **33**(7), 1906 – 1910 (1990).
4. Ф. А. Халиуллин, В. А. Катаев, Ю. В. Строкин, *Химия гетероцикл. соедин.*, **4**, 516 – 518 (1991).
5. Ф. А. Халиуллин, Ю. В. Шабалина, Р. М. Шарафутдинов, *Ж. орган. химии*, **46**(5), 698 – 701 (2010).
6. C. C. J. Culvenor, W. Davies, and K. H. Pausacker, *J. Chem. Soc.*, 1050 – 1052 (1946).
7. М. А. Беленький, *Элементы количественной оценки фармакологического эффекта*, Медгиз, Ленинград (1963).
8. В. В. Багметова, И. Н. Тюренков, Ю. В. Чернышева, Д. Д. Бородин, *Нейронаука для медицины и психологии. Сборник научных статей IX Международного междисциплинарного конгресса*, Москва (2013), сс. 70 – 71.
9. Е. В. Щетинин, В. А. Батурин, Э. Б. Арушанян и др., *Ж. высш. нервной деятельности*, **5**, 958 – 964 (1989).
10. L. Steru, R. Chermat, B. Thierry, et al., *Psychopharmacology*, Berlin (1985).
11. Л. А. Валеева, Г. Г. Давлятова, Ю. В. Шабалина и др., *Хим.-фарм. журн.*, **50**(6), 8 – 11 (2016); *Pharm. Chem. J.*, **50**(6), 358 – 361 (2016).
12. Р. А. Габидуллин, И. Л. Никитина, О. А. Иванова, Е. К. Алёхин, А. с. РФ № 2008610170 (2009).
13. Р. У. Хабриев, *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Медицина, Москва (2005).
14. Л. А. Валеева, О. Ю. Годоражи, *Мед. вестник Башкортостана*, **4**(2), 186 – 188 (2009).
15. С. Гланц, *Медико-биологическая статистика*, Практика, Москва (1998).

Поступила 28.06.17

SYNTHESIS AND ANTIDEPRESSANT PROPERTIES OF 8-CYCLOHEXYLAMINO-1-ETHYL-3-METHYL-7-(1,1-DIOXOTHETAN-3-YL)-1H-PURINE-2,6(3H,7H)-DIONE

F. A. Khaliullin, Yu. V. Shabalina, G. G. Davlyatova, and L. A. Valeeva

Bashkir State Medical University, Ufa, Bashkortostan, 450008 Russia

8-Cyclohexylamino-1-ethyl-3-methyl-7-(1,1-dioxothietan-3-yl)-1H-purine-2,6(3H,7H)-dione was synthesized via the interaction of 8-bromo-1-ethyl-3-methyl-7-(1,1-dioxothietan-3-yl)-1H-purine-2,6(3H,7H)-dione with cyclohexylamine. The synthesized compound exhibits antidepressant activity that the most expressed in a dose of 1.6 mg/kg.

Keywords: xanthines; thietanes; synthesis; antidepressant activity.