

© Коллектив авторов, 2008

М. А. Калдрикян, А. В. Хекоян, Л. А. Григорян, Г. М. Пароникян,
Г. А. Дарбинян

СИНТЕЗ И МУТАГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ГИДРОХЛОРИДОВ S-(2-АЛКОКСИ-5-АЦЕТИЛБЕНЗИЛ)ИЗОТИОМОЧЕВИН 3-ЗАМЕЩЕННЫХ АМИНОМЕТИЛ-4-АЛКОКСИАЦЕТОФЕНОНОВ

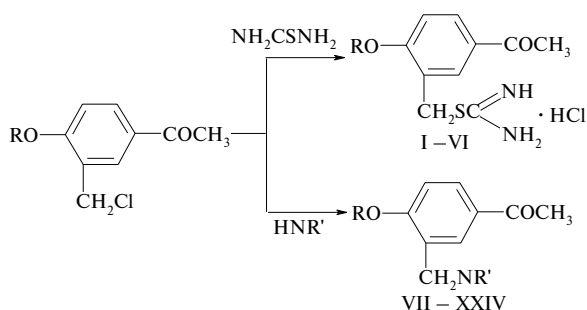
Институт тонкой органической химии им. А. Л. Мнджояна Национальной академии наук
Республики Армении, Ереван

Взаимодействием 2-алкокси-5-ацетилбензилхлоридов с тиомочевинной и вторичными аминами получены соответствующие гидрохлориды S-(2-алкокси-5-ацетилбензил)изотиомочевин и 3-замещенные аминометилацетофеноны. Последние переведены в гидрохлориды. Выявлены соединения с высокой мутагенной активностью.

Ранее 2-алкокси-5-ацетилбензилхлориды были использованы в синтезе замещенных бензилпиримидинов, оксимов и гидразонов, представляющих интерес для испытания их противоопухолевой, мутагенной и антибактериальной активности [1, 2].

Настоящая работа является продолжением этих исследований и посвящена получению гидрохлоридов S-(2-алкокси-5-ацетилбензил)изотиомочевин I – VI, 3-замещенных аминометил-4-алкоксиацетофенонов VII – XXIV с целью изыскания высокоактивного, устойчивого и безопасного при работе, удобного для исследования химического мутагена, а также расширения арсенала средств воздействия на живой организм.

Синтез осуществлен по схеме:



2-Алкокси-5-ацетилбензилхлориды получены хлорметилированием 4-алкоксиацетофенонов [3] с помощью формалина (в случае 4-метоксиацетофенона) или параформальдегида и хлористого водорода [4, 5]. Нами установлено, что хлорметилирование 4-алкоксиацетофенонов в условиях [5] протекает с такими же выходами (56 – 75 %) и при сокращении продолжительности протекания тока хлористого водорода в два раза.

Введением в реакцию 2-алкокси-5-ацетилбензилхлоридов с тиомочевинной в этаноле и с двукратным избытком вторичных аминов получены гидрохлориды S-(2-алкокси-5-ацетилбензил)изотиомочевин (I – VI) и 3-замещенные аминометилацетофеноны VII – XXIV соответственно. Последние действием безводного

эфирного раствора хлористого водорода переведены в гидрохлориды. Характеристики полученных соединений представлены в табл. 1, 2.

Чистота и индивидуальность гидрохлоридов изотиомочевин I – VI и аминов VII – XXIV (в виде оснований) подтверждены ТСХ, а строение доказано ЯМР ¹H спектроскопией (табл. 3) и данными элементного анализа.

Экспериментальная химическая часть

Спектры ЯМР ¹H сняты на приборе Mercury-300 в ДМСО-d₆. ТСХ проведена на пластинках Silufol UV-254. Проявление УФ-светом.

2-Алкокси-5-ацетилбензилхлориды. Получены действием формалина или параформа и хлористого водорода на 4-алкоксиацетофеноны при 40 – 45 °С по методу [1]. Выходы, физико-химические константы совпадают с литературными данными [4, 5].

Гидрохлориды S-(2-алкокси-5-ацетилбензил)изотиомочевин (I – VI). Смесь 0,05 моль 2-алкокси-5-ацетилбензилхлорида, 3,8 г (0,05 моль) измельченной тиомочевин и 50 мл абсолютного этанола нагревают на водяной бане в течение 5 – 6 ч. Отгоняют 30 – 35 мл этанола и по охлаждению к остатку приливают 100 мл абсолютного эфира. Выпавшие кристал-

Т а б л и ц а 1

Характеристика соединений I – VI

Соединение	R	Выход, %	Т. пл., °С	R _f [*]	Брутто-формула
I	CH ₃	98,5	159 – 160	0,74	C ₁₁ H ₁₅ ClN ₂ O ₂ S
II	C ₂ H ₅	80,0	206 – 207	0,80	C ₁₂ H ₁₇ ClN ₂ O ₂ S
III	C ₃ H ₇	75,0	156 – 157	0,78	C ₁₃ H ₁₉ ClN ₂ O ₂ S
IV	изо-C ₃ H ₇	83,3	85 – 86	0,82	C ₁₃ H ₁₉ ClN ₂ O ₂ S
V	C ₄ H ₉	60,0	152 – 153	0,83	C ₁₄ H ₂₁ ClN ₂ O ₂ S
VI	изо-C ₄ H ₉	56,1	130 – 131	0,81	C ₁₄ H ₂₁ ClN ₂ O ₂ S

* Хроматографическая система: бутанол — уксусная к-та — вода (1:1:2).

Характеристика соединений VII – XXIV

Соединение	R	NR'	Выход, %	Т. пл., °С/мм. рт. ст.	Rf	d ₄ 20	n _D ²⁰	Брутто-формула
VII	CH ₃	N(C ₂ H ₅) ₂	63,4	149 – 152/4	0,66	1,0292	1,5068	C ₁₄ H ₂₁ NO ₂
VIII	C ₂ H ₅	–"	78,2	165 – 167/3	0,72	0,9998	1,5070	C ₁₅ H ₂₃ NO ₂
IX	C ₃ H ₇	–"	75,5	142 – 143/2	0,74	0,9912	1,5048	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂
X	изо-C ₃ H ₇	–"	68,7	141 – 143/3	0,73	0,9954	1,5042	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂
XI	C ₄ H ₉	–"	67,3	147 – 148/1	0,68	0,9980	1,5072	C ₁₇ H ₂₇ NO ₂
XII	изо-C ₄ H ₉	–"	75,1	148 – 150/2	0,75	0,9970	1,5058	C ₁₇ H ₂₇ NO ₂
XIII	CH ₃	1-пиперидил	74,6	177 – 180/3	0,70	1,0778	1,5545	C ₁₅ H ₂₁ NO ₂
XIV	C ₂ H ₅ *	–"	72,3	183 – 185/2	0,60	-	-	C ₁₆ H ₂₃ NO ₂
XV	C ₃ H ₇	–"	70,0	166 – 167/2	0,72	1,0345	1,5388	C ₁₇ H ₂₅ NO ₂
XVI	изо-C ₃ H ₇	–"	66,9	157 – 159/2	0,68	1,0402	1,5406	C ₁₇ H ₂₅ NO ₂
XVII	C ₄ H ₉	–"	68,5	166 – 168/3	0,75	1,0270	1,5342	C ₁₈ H ₂₇ NO ₂
XVIII	изо-C ₄ H ₉	–"	62,7	159 – 160/2	0,71	1,0296	1,5362	C ₁₈ H ₂₇ NO ₂
XIX	CH ₃ *	4-морфолил	75,6	167 – 169/2	0,56	-	-	C ₁₄ H ₁₉ NO ₃
XX	C ₂ H ₅ ***	–"	74,3	200 – 203/3	0,64	-	-	C ₁₅ H ₂₁ NO ₃
XXI	C ₃ H ₇	–"	72,5	172 – 173/1	0,60	1,0936	1,5108	C ₁₆ H ₂₃ NO ₃
XXII	изо-C ₃ H ₇	–"	67,2	161 – 163/2	0,70	1,0920	1,5055	C ₁₆ H ₂₃ NO ₃
XXIII	C ₄ H ₉	–"	66,8	174 – 177/3	0,72	1,0631	1,5062	C ₁₇ H ₂₅ NO ₃
XXIV	изо-C ₄ H ₉	–"	61,3	171 – 173/3	0,69	1,0629	1,5057	C ₁₇ H ₂₅ NO ₃

Примечание: * Т. пл. 52 – 55 °С; ** Т. пл. 61 – 62 °С; *** Т. пл. 51 – 52 °С; хроматографическая система: бутанол — аммиак — вода (8:5:12).

лы отфильтровывают, промывают небольшим количеством абсолютного эфира и перекристаллизовывают из этанола (табл. 1).

3-Замещенные аминоксалоацетофеноны (VII – XXIV). Смесь 0,05 моль 2-алкокси-5-ацетилбензилхлорида и 0,11 моль соответствующего вторичного амина в 50 мл абсолютного бензола нагревают на водяной бане в течение 10 ч. Затем приливают 10 % соляную кислоту до кислой реакции на конго, отделяют бензол, водный слой насыщают углекислым калием, приливают несколько капель 20 % раствора едкого натра и экстрагируют эфиром, высушивают над серно-

кислым натрием. После удаления эфира остаток перегоняют в вакууме (табл. 2).

Экспериментальная биологическая часть

Мутагенное действие изучали на ауксотрофных штаммах: *Esherichia coli F-678*, нуждающихся в аминокислотах треонин и лейцин и в витамине В₁, *Actinomyces rimosus* 222 (исходный штамм BS-21), нуждающийся в лизине и на индикаторных штаммах *Salmonella typhimurium* TA-1935 и TA-1950, несущие мутацию типа замены основания в ДНК. Оба штамма сальмо-

Таблица 3

Характеристика ¹H ЯМР-спектров синтезированных соединений

Соединение	Спектры ЯМР ¹ H, δ, м. д.
I	2,55(с, 3H, CH ₃), 3,9(с, 3H, OCH ₃), 4,45(с, 2H, SCH ₂), 7,1 – 8,1(м, 3H, ар Н), 9,4(ушир. с., 4NH, NH, NH ₂ , HCl)
III	1,05(к, 3H, OCH ₂ CH ₂ CH ₃), 1,8(к, 2H, OCH ₂ CH ₂ CH ₃), 2,5(с, 3H, CH ₃), 4,1(т, 2H, OCH ₂ CH ₂ CH ₃), 4,5(с, 2H, SCH ₂), 7 – 8,1(м, 3H, ар Н), 9,3(ушир. с., 4H, NH, NH ₂ , HCl)
VIII	1,3(т, 6H, N(CH ₂ CH ₃) ₂), 1,45(т, 3H, OCH ₂ CH ₃), 2,6(с, 3H, COCH ₃), 3,1(к, 4H, N(CH ₂ CH ₃) ₂), 4,1(к, 2H, OCH ₂ CH ₃), 4,2(т, 2H, CH ₂), 7,2 – 8,3(м, 3H, ар Н), 9,9(ушир. с., 1H, HCl)
XIV	1,5(т, 3H, OCH ₂ CH ₃), 1,9(м, 8H, пипер.), 2,6(с, 3H, COCH ₃), 3,0(м, 2H, пипер.), 3,5(с, 2H, CH ₂), 4,3(к, 2H, OCH ₂ CH ₃), 7,2 – 8,5(м, 3H, ар Н), 10,9(ушир. с., 1H, HCl)
XVI	1,4(с, 6H, OCH(CH ₃) ₂), 1,9(м, 8H, пипер.), 2,6(с, 3H, COCH ₃), 3,35(м, 2H, пипер.), 4,2(с, 2H, CH ₂), 4,85(м, 1H, OCH(CH ₃) ₂), 7,15 – 8,5(м, 3H, ар Н), 11,45(ушир. с., 1H, HCl)
XVII	1,0(т, 3H, OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃), 1,4(м, 2H, OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃), 1,8(м, 8H, пипер.), 2,6(с, 3H, COCH ₃), 2,85(м, 2H, OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃), 3,4(м, 2H, пипер.), 4,2(т, 2H, OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃), 4,35(с, 2H, CH ₂), 7,2 – 8,2(м, 3H, ар Н), 10,3(ушир. с., 1H, HCl)
XVIII	0,9(д, 6H, OCH ₂ CH(CH ₃) ₂), 1,9(м, 8H, пипер.), 2,2(м, 1H, OCH ₂ CH(CH ₃) ₂), 2,6(с, 3H, COCH ₃), 3,4(м, 2H, пипер.), 3,95(д, 2H, OCH ₂ CH(CH ₃) ₂), 4,3(с, 2H, CH ₂), 7,2 – 8,4(м, 3H, ар Н), 10,5(ушир. с., 1H, HCl)
XX	1,35(т, 3H, OCH ₂ CH ₃), 2,57(с, 3H, COCH ₃), 3,3(м, 8H, морф.), 4,2(к, 2H, OCH ₂ CH ₃), 4,85(с, 2H, CH ₂), 7,2 – 8,0(м, 3H, ар Н), 10,85(ушир. с., 1H, HCl)
XXIII	1,0(т, 3H, OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃), 1,5(м, 2H, OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃), 1,8(м, 2H, OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃), 2,53(с, 3H, COCH ₃), 3,8(м, 8H, морф.), 4,15(т, 2H, OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃), 4,35(с, 2H, CH ₂), 7,1 – 8,4(м, 3H, ар Н), 11,1(ушир. с., 1H, HCl)
XXIV	1,3(д, 6H, OCH ₂ CH(CH ₃) ₂), 2,4(с, 3H, COCH ₃), 3,3(м, 8H, морф.), 3,8(д, 2H, OCH ₂ CH(CH ₃) ₂), 4,0(с, 2H, CH ₂), 4,8(м, 1H, OCH ₂ CH(CH ₃) ₂), 7,2 – 8,4(м, 3H, ар Н), 11,3(ушир. с., 1H, HCl)

нелл ауксотрофы по гистидину. На штамме сальмонелл ТА-1950 изучали также процессы метаболических превращений исследуемых соединений. Мутагенную активность изучали известными методами [6–9]. Положительным контролем служил известный мутаген-этиленмин (ЭМ). Наследственный характер обратных и прямых (морфологических) мутаций проверяли в нескольких пассажах.

Как видно из табл. 4, изученные соединения I–XXIV обладают мутагенным действием. Среди них гидрохлориды S-(2-алкокси-5-ацетилбензил)изотиомочевин (I–VI) проявляют сильное мутагенное действие в отношении лизинового локуса, а также треонинового локуса кишечной палочки. По влиянию на лизиновый локус актиномицетов (при одинаковой выживаемости спор) соединения III и V превосходят ЭМ соответственно в 1,85 и 3,6 раза. Результаты изучения мутагенного и токсического действия соединений I–VI в отношении *Salmonella typhimurium* TA-1535 показывают, что они, при сравнительно высокой выживаемости клеток объекта, обладают высокой мутагенной активностью, индуцируют обратные мутации по гистидиновому локусу максимально в 500 раз больше контроля. Соединения III и V при одинаковом или в 2 раза большем проценте выживших клеток индуцируют реверсии больше контроля соответственно в 15,5 и 10,5 раз, т. е. метаболиты исходных соединений также обладают, хотя и в меньшей степени, мутагенной активностью.

Результаты исследования измерений морфологических признаков колоний актиномицетов, подвергнутых воздействию соединений III и V, показывают, что последние индуцируют прямые мутации в 2,41 и 1,91 раз больше контроля соответственно.

Сравнительные данные мутагенного действия соединений III и V и N-нитрозометилмочевин (НММ) на актиномицетах показывают, что первые при концентрациях в 2–4 раза меньших, чем НММ, индуцируют обратные мутации в 5–8 раз больше известного мутагена.

Соединения III и V оказывают избирательное, сильное мутагенное действие на лизиновый локус актиномицетов и по активности превосходят ЭМ в 9 и 13 раз, а НММ в 5 и 8 раз соответственно.

Таким образом, гидрохлориды S-(2-пропокси-5-ацетилбензил)- и S-(2-бутокси-5-ацетилбензил)изотиомочевин III и V как сильные химические мутагены могут найти применение в селекционной работе — в создании новых полезных форм растений и животных и в изучении новых мутагенных штаммов микроорганизмов для микробиологической промышленности.

Таблица 4
Мутагенное и токсическое действие соединений I–XXIV в отношении *Act. rimosus* 222

Соединение	Доза, ммоль	Время, ч	Выживаемость, %	Частота ревертантов (лус. ⁺) на 10 ⁵ выживших спор	
				число	% к контролю
I	100	3	0,6	332	8300
II	100	3	0,1	1000	25000
III	50	1,5	0,03	10160	254000
IV	50	2,5	0,09	10368	259200
V	25	0,5	0,018	14812	370300
VI	25	4	0,08	7600	190000
VII	100	5	2	200	5000
VIII	—	5	11	72	1800
IX	—	5	0,6	380	9500
X	—	4	1	152	3800
XI	—	2	0,4	716	17900
XII	—	2	1	266	6660
XIII	0,1	5	2,0	200	6000
XIV	—	5	11,0	36	900
XV	—	4	0,4	750	18750
XVI	—	5	1,0	334	8600
XVII	—	2	0,03	3332	83300
XVIII	—	2	0,5	1000	25000
XIX	0,2	4	15,5	32	800
XX	—	4	10,0	80	2000
XXI	0,1	4	5,0	80	2000
XXII	—	4	2,0	68	1700
XXIII	—	3	0,15	2664	66600
XXIV	—	4	2,6	160	4000

ЛИТЕРАТУРА

1. М. А. Калдрикан, А. В. Хекоян, Б. Т. Гарибджанян, Г. М. Степанян, *Арм. хим. ж.*, **24**(4), 318–323 (1981).
2. М. А. Калдрикан, А. В. Хекоян, Г. М. Пароникян и др., *Хим.-фарм. журн.*, № 11, 1407 (1989); [Деп. в ВИНТИ 4.05.89–12 с].
3. А. Л. Мнджоян, Г. А. Геворгян, М. З. Пахлеванян, С. Н. Астратян, *Арм. хим. ж.*, **22**(8), 693–698 (1969).
4. I. E. Proft and K. Druх, *J. Prakt. Chem.*, **4**, 236–238; *Chem. Abstr.*, **51**, 12037 (1957).
5. Trave, *Gazz. chim. ital.*, **81**, 773–776 (1951); *Chem. Abstr.*, **46**, 8048g (1952).
6. Г. М. Пароникян, Л. Г. Акопян, *Генетика*, **13**, 1621–1625 (1977).
7. М. Фонштейн, С. К. Абилов, А. М. Зехнов, А. А. Шапиро, *Генетика*, **12**, 119–125 (1976).
8. V. Mallig, *Mutat. Res.*, **13**, 425–429 (1971).
9. А. Рапопорт, А. Г. Домраева, *Сб. хим. мутагенез и селекция*, Наука, Москва, (1971), сс. 18–28.

Поступила 18.09.06

SYNTHESIS AND MUTAGEN ACTIVITY OF S-(2-ALKOXY-5-ACETYL BENZYL)ISOTHIUREA HYDROCHLORIDES AND 3-SUBSTITUTED AMINOMETHYL-4-ALKOXYACETOPHENONES

M. A. Kaldrikyan, A. V. Khekyan, L. A. Grigoryan, G. M. Paronikyan, and G. A. Darbinyan

Mndzhoyan Institute of Fine Organic Chemistry National Academy of Sciences of Republic of Armenia, Yerevan, Armenia

A series of new S-(2-alkoxy-5-acetylbenzyl)isothioureia salts and 3-substituted aminomethyl-acetophenones have been obtained by interaction of 2-alkoxy-5-acetylbenzylchlorides with thioureia and secondary amines. The mutagen activity of the synthesized compounds has been studied.