

НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ 8-АМИНОАЛЛОКСАЗИНА – АНАЛОГИ ФЛАВИНА С ПЕРСПЕКТИВНЫМИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ

Добренко М.А.^{1,2}, Сухова А.С.^{1,2}, Краснов К.А.²

¹*Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет) 190013, г. Санкт-Петербург, пр. Московский, д. 26, тел: (812) 494-92-45, office@technolog.edu.ru*

²*Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства» 192019, г. Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, д. 1, тел.: (812) 365-06-80, institute@toxicology.ru*

РЕЗЮМЕ

Получены и исследованы физико-химическими методами новые производные 8-аминоаллоксазина. Виртуальная оценка биологических свойств синтезированных соединений, проведенная с помощью программы PASS Online позволяет с высокой вероятностью ожидать эффектов, связанных с селективным воздействием на рибофлавин-зависимые ферментные системы, ферменты метаболизма ксенобиотиков, а также наличия у веществ респираторно-аналептической активности.

Ключевые слова: 8-аминоаллоксазины, синтез, реакция Пилоти, флавины, аналоги.

NEW DERIVATIVES OF 8-AMINOALLOXAZINE – FLAVIN ANALOGUES WITH PROMISING PHARMACOLOGICAL PROPERTIES

Dobrenko M.A.^{1,2}, Sukhova A.S.^{1,2}, Krasnov K.A.²

¹*St. Petersburg State Institute of Technology (Technical University), 190013, St. Petersburg, av. Moskovskiy, 26, phone: (812) 494-92-45, office@technolog.edu.ru*

²*The Federal State-Financed Institution Golikov Research Clinical Center of Toxicology under the Federal Medical Biological Agency, 192019, St. Petersburg, st. Bekhtereva, 1, phone:(812) 365-06-80, institute@toxicology.ru*

ABSTRACT

New derivatives of 8-aminoalloxazine were obtained and studied by physico-chemical methods. The virtual assessment of the biological properties of the synthesized compounds carried out using the PASS Online program allows us to expect with a high probability the effects associated with selective exposure to riboflavin-dependent enzyme systems, enzymes of xenobiotic metabolism, as well as the presence of respiratory-analeptic activity in substances.

Key words: 8-aminoalloxazines, synthesis, Piloty's reaction, flavins, analogues.

ВВЕДЕНИЕ

Флавины – органические молекулы, в основе которых лежит трехъядерная система изоаллоксазина. К их числу относятся биологически важные соединения, такие как витамин В₂ (рибофлавин, **1a**), флавинмононуклеотид (FMN) и флавинадениндинуклеотид (FAD), люмифлавин (**1b**), люмихром (**2**), и другие [1]. Флавины участвуют во множестве биологических реакций, включая окислительно-восстановительные процессы, перенос электрона, дегидрирование, транспорт водорода в дыхательной цепи, связывание металлов, необходимых в качестве кофакторов для деятельности ряда ферментов [2].

Розеофлавин (**1c**), природный пигмент, первоначально выделенный из *Streptomyces davawensis*, является антиметаболитом рибофлавина и обладает антимикробными свойствами. Розеофлавин подавляет рост *Lactobacillus casei*, грамположительных бактерий, таких как *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus* и *Sarcina lutea* и часто используется в качестве зонда при исследовании работы ферментов и белков [3, 4].

Синтетические аналоги и биомиметики флавинов – аллоксазины (**2**) и деазафлавины, такие как, производные резорурфина (**3**), обладают высокой субстратной активностью по отношению к клеточным флавин-зависимым мишеням. В связи с этим, например, алкоксирезорурфины (**3**) являются высоко информативными диагностическими реагентами для оценки состояния монооксигеназных систем организма и применяются для мониторинга воздействия токсичных веществ в окружающей среде на моделях *in vivo* и *in vitro* [5, 6].

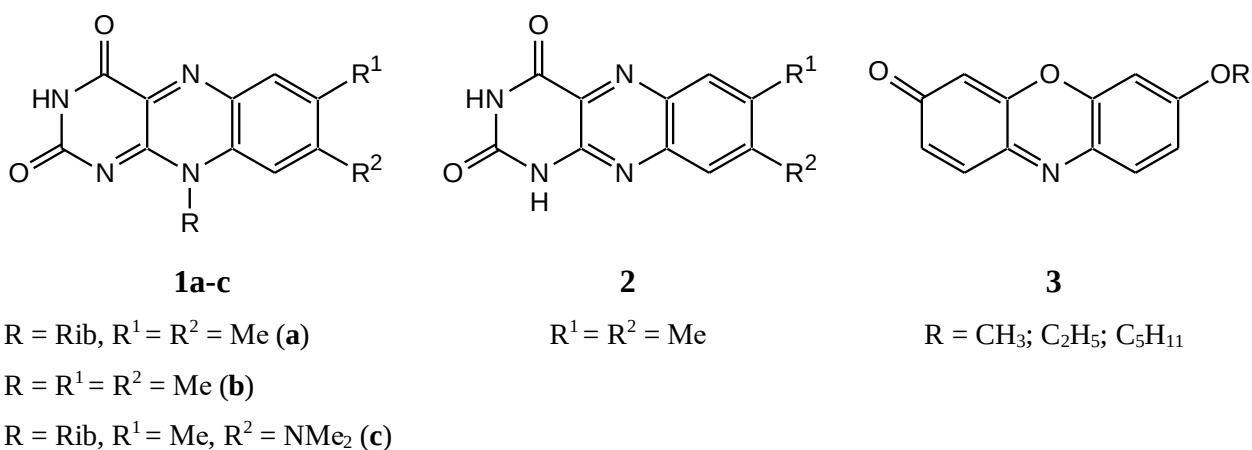


Рисунок 1 – Общие формулы производных и аналогов флавина.

Производные аллоксазина, такие как арабофлавин, галактофлавин, 5'-дезоксирибофлавин, изорибофлавин, рибофлавин-5'-сульфат являются активными антивитаминами [7], а 10-фенилзамещенные изоаллоксазины представляют собой

структурно новый класс антималярийных агентов [8]. Кроме того, аллоксазиновые или изоаллоксазиновые производные используются как эндогенные фотосенсибилизаторы для инактивации некоторых паразитов (*Pl. falciparum*) или вирусов (*West Nile Virus*) в жидкостях [9].

Таким образом, синтез и изучение новых производных и аналогов флавинового ряда представляют большой потенциальный интерес для фармакологии, биологии и биохимии. Однако до настоящего времени синтетические возможности получения подобных соединений остаются весьма ограниченными. Хотя для некоторых представителей, например для рибофлавина (**1a**), есть хорошо отработанные методы синтеза, но в целом этот класс гетероциклов нельзя назвать легко доступным. Из литературы известно не менее 8 подходов к получению аллоксазинов [7], но их общими проблемами являются многостадийность, неоднозначность протекания реакций в случае использования несимметрично замещенных субстратов, сложность получения функционально замещенных производных и т.д. При этом существует интересный путь синтеза 8-аминопроизводных аллоксазина из виолуровых кислот и *m*-фенилендиаминов на основе реакции Пилоти [10], возможности которой до настоящего времени оставались практически не изученными. Фактически, эта реакция была продемонстрирована всего на двух примерах, в которых были получены 8-аминоаллоксазин и его 7-метилпроизводное. В связи с этим, в настоящей работе мы исследовали синтетические возможности реакции Пилоти для получения новых производных аллоксазинового ряда.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Разработка методов синтеза производных аллоксазина с использованием реакции Пилоти.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Электронные спектры растворов синтезированных соединений в этиловом спирте записаны на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (фотометрический диапазон от -4,0 до +4,0 Abs (от 0 до 400% T), спектральный диапазон 190-900 нм, программное обеспечение UVProbe).

Спектры ЯМР ^1H были сняты в растворах DMSO- d_6 и CDCl_3 , записаны на спектрометре Bruker WM-400 (рабочая частота 400 МГц, программное обеспечение WIN-NMR Bruker-Franzen Analytik GmbH Version: 950 801.1), обработка спектров проводилась в программе MestReNova.

Тонкослойную хроматографию проводили на пластинках «TLC Silica gel 60 WF254s». В качестве элюента использовали систему этилацетат - уксусная кислота (10:1).

В работе использовались реагенты и растворители с чистотой не менее 99%. Производные виолуровой кислоты (**4-8**), за исключением коммерчески доступных соединений (**9**) и (**10**), синтезировали из соответствующих барбитуровых кислот по общему методу [11].

Синтез производных 8-аминоаллоксазина (Общая методика 1)

8-Амино-9-метилаллоксазин (**18**). В термостойкую колбу вместимостью 100 мл поместили 0,393 г (0,0025 моль) виолуровой кислоты (**9**), прилили 15 мл горячей воды и нагревали смесь до полного растворения. Затем к горячему раствору, при перемешивании, приливали раствор 0,305 г (0,0025 моль) 2,6-толуилендиамин (**11**) в 3 мл горячего спирта. Реакционную смесь перемешивали, нагревая до 100°C, в течение 10 минут, затем охлаждали и выдерживали при комнатной температуре полчаса. Выпавший кристаллический осадок отделяли на фильтре Шотта, промывали горячим водным спиртом 50%, сушили на воздухе. Продукт хроматографировали в системе этилацетат-уксусная кислота (10:1). Целевое соединение проявлялось на пластине «TLC Silica gel 60 WF254s» в виде пятна с желто-зеленой флуоресценцией, $R_f = 0,76$. Электронный спектр (EtOH), $\lambda_{\max}$, нм (Abs.): 238.5 (1.522), 299 (1.54), 435 (0.69). Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 2.32 (с, 3H, CH_3), 6.49 (с, 2H, NH_2), 7.26 (д, 1H, $J = 8$ Гц, $\text{CH}_{\text{аром}}$), 7.69 (д, 1H, $J = 8$ Гц, $\text{CH}_{\text{аром}}$), 11.42 (с, 1H, NH), 11.55 (с, 1H, NH). Элементный анализ: $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{O}_2\text{N}_5$ Вычислено: C 54.32%, H 3.73%, O 13.16%, N 28.79%. Найдено: C 54.43%, H 3.74%, O 13.20%, N 29.58%.

По аналогичной схеме из виолуровых кислот (**4-10**) и соответствующих м-фенилендиаминов (**11-13**) были синтезированы следующие соединения:

8-Амино-1,3,9-триметилаллоксазин (**19**). Электронный спектр (EtOH), $\lambda_{\max}$, нм (Abs.): 241.5 (1.979), 300.5 (1.557), 436.5 (0.745). Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 2.37 (с, 3H, CH_3), 3.33 (с, 3H, NCH_3), 3.63 (с, 3H, NCH_3), 6.52 (с, 2H, NH_2), 7.29 (д, 1H, $J = 8$ Гц, $\text{CH}_{\text{аром}}$), 7.75 (д, 1H, $J = 8$ Гц, $\text{CH}_{\text{аром}}$). Элементный анализ: $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{O}_2\text{N}_5$ Вычислено: C 57.56%, H 4.83%, O 11.80%, N 25.82%. Найдено: C 57.68%, H 4.84%, O 11.82%, N 25.90%.

8-Амино-1,3,7-триметилаллоксазин (**20**). Электронный спектр (EtOH), $\lambda_{\max}$, нм (Abs.): 242 (2.74), 292.5 (1.57), 425 (1.454). Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 2.32 (с, 3H, CH_3), 3.334 (с, 3H, NCH_3), 3.58 (с, 3H, NCH_3), 6.63 (с, 2H, NH_2), 6.88 (с, 1H, $\text{CH}_{\text{аром}}$), 7.75 (с, 1H, $\text{CH}_{\text{аром}}$). Элементный анализ: $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{O}_2\text{N}_5$ Вычислено: C 57.56%, H 4.83%, O 11.80%, N 25.82%. Найдено: C 57.73%, H 4.84%, O 11.83%, N 25.89%.

8-амино-1-(4-бромфенил)-7-метилаллоксазин (**21a, b**). Электронный спектр (EtOH), λ_{max} , нм (Abs.): 298.5 (0.493), 438.5 (0.28). Элементный анализ: $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_2\text{N}_5\text{Br}$ Вычислено: С 51.27%, Н 3.04%, О 8.04%, N 17.59%. Найдено: С 51.42%, Н 3.05%, О 8.06%, N 17.64%.

8-Амино-1-(4-этоксифенил)аллоксазина (**22a, b**). Электронный спектр (EtOH), λ_{max} , нм (Abs.): 240 (0.479), 297 (0.304), 436.5 (0.308). Спектр ЯМР ^1H (DMSO-d_6), δ , м.д.: 1.37 (т, 3H, $J = 6,8$ Гц, CH_3), 4.07 (м, 2H, $J = 7$ Гц, CH_2), 6.67 (с, 2H, NH_2), 6.79 (с, 2H, NH_2), 6.97-7.05 (м, 4H, $J = 9,2$ Гц, $\text{CH}_{\text{аром}}$), 7.13-7.28 (м, 6H, $J = 8,9$ Гц, $\text{CH}_{\text{аром}}$), 7.79+7.81 (0.5H+0.5H, д+д, $J = 8,2$ Гц, $\text{CH}_{\text{аром}}$, (изомеры 1+2)), 11.77 (с, 1H, NH), 11.88 (с, 1H, NH). Элементный анализ: $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{N}_5$ Вычислено: С 60.89%, Н 3.91%, О 14.31%, N 20.89%. Найдено: С 61.07%, Н 3.92%, О 14.35%, N 20.95%.

8-Амино-7-метил-2-тиоаллоксазин (**23**). Электронный спектр (EtOH), λ_{max} , нм (Abs.): 218.5 (0.793), 228.5 (0.805), 288.5 (2,781), 442 (1,536). Спектр ЯМР ^1H (DMSO-d_6), δ , м.д.: 2.31 (с, 3H, CH_3), 6.47 (с, 2H, NH_2), 6.81 (с, 1H, $\text{CH}_{\text{аром}}$), 7.71 (с, 1H, $\text{CH}_{\text{аром}}$), 12.49 (с, 1H, NH), 12.92 (с, 1H, NH). Элементный анализ: $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{ON}_5\text{S}$ Вычислено: С 50.96%, Н 3.50%, О 6.17%, N 27.01%, S 12.36%. Найдено: С 51.11%, Н 3.51%, О 6.19%, N 27.09%, S 12.39%.

8-Амино-2-тиоаллоксазин (**24**). Электронный спектр (EtOH), λ_{max} , нм (Abs.): 288 (0.905), 445 (0.449). Спектр ЯМР ^1H (DMSO-d_6), δ , м.д.: 6.715 (д, 1H, $J = 4$ Гц, $\text{CH}_{\text{аром}}$), 6.89 (с, 2H, NH_2), 7.25 (д, 1H, $J = 8$ Гц, $\text{CH}_{\text{аром}}$), 7.795 (д, 1H, $J = 12$ Гц, $\text{CH}_{\text{аром}}$), 12.51 (с, 1H, NH), 12.94 (с, 1H, NH). Элементный анализ: $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{ON}_5\text{S}$ Вычислено: С 48.97%, Н 2.88%, О 6.52%, N 28.55%, S 13.07%. Найдено: С 49.11%, Н 2.89%, О 6.54%, N 28.64%, S 13.11%.

8-Амино-1,3-диметилаллоксазин (**25**). Спектр ЯМР ^1H (DMSO-d_6), δ , м.д.: 3.33 (с, 3H, NCH_3), 3.63 (с, 3H, NCH_3), 6.52 (с, 2H, NH_2), 6.715 (д, 1H, $J = 4$ Гц, $\text{CH}_{\text{аром}}$), 7.25 (д, 1H, $J = 8$ Гц, $\text{CH}_{\text{аром}}$), 7.795 (д, 1H, $J = 12$ Гц, $\text{CH}_{\text{аром}}$). Элементный анализ: $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}_5$ Вычислено: С 56.03%, Н 4.31%, О 12.44%, N 27.22%. Найдено: С 56.20%, Н 4.32%, О 12.48%, N 27.30%.

8-Амино-1,7-диметилаллоксазин (**26a, b**). Спектр ЯМР ^1H (DMSO-d_6), δ , м.д.: 1.58 (с, 3H, CH_3), 3.58 (с, 3H, NCH_3), 5.54 (с, 2H, NH_2), 6.96 (д, 1H, $J = 4$ Гц, $\text{CH}_{\text{аром}}$), 7.40 (д, 1H, $J = 8$ Гц, $\text{CH}_{\text{аром}}$), 10.62 (с, 1H, NH). Элементный анализ: $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}_5$ Вычислено: С 56.03%, Н 4.31%, О 12.44%, N 27.22%. Найдено: С 56.14%, Н 4.32%, О 12.46%, N 27.27%.

Синтез 8-аминоаллоксазин-6-карбоновой кислоты (**27**). В термостойкой колбе в 2,5 мл *N,N*-диметилацетамида растворяли 0,393 г (0,0025 моль) виолуровой кислоты (**9**) и 0,38 г (0,0025 моль) 3,5-диаминобензойной кислоты (**15**). Затем приливали 0,350 мл триэтиламина и нагревали смесь при 170 °С в течение получаса. Реакционную массу охлаждали и приливали 5 мл воды, выпавший кристаллический осадок отделяли на

фильтре Шотта и промывали водой. Для очистки сырой продукт растворяли в воде с добавлением аммиака, центрифугировали, осадок отбрасывали. Раствор подкисляли соляной кислотой до кислой реакции, выпавший осадок фильтровали, продукт сушили на воздухе. Электронный спектр (EtOH + 10 мкл уксусной кислоты), λ_{max} , нм (Abs.): 299.5 (0.056), 453 (0.041). Электронный спектр (EtOH + 10 мкл аммиака), λ_{max} , нм (Abs.): 242.5 (0.169), 293 (0.07), 440 (0.048). Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 6.875 (д, 1H, $J = 4$ Гц, $\text{CH}_{\text{аром}}$), 7.08 (с, 2H, NH_2), 7.885 (д, 1H, $J = 4$ Гц, $\text{CH}_{\text{аром}}$), 9.23 (с, 1H, COOH), 11.68 (с, 1H, NH), 11.83 (с, 1H, NH). Элементный анализ: $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{O}_4\text{N}_5$ Вычислено: С 48.36%, Н 2.58%, О 23.42%, N 25.63%. Найдено: С 48.51%, Н 2.59%, О 23.49%, N 25.71%.

Синтез 8-амино-7-хлораллоксазина (**28**). В 10 мл предварительно нагретой до температуры кипения уксусной кислоте растворяли 0,393 г (0,0025 моль) виолуровой кислоты (**9**) и 0,356 г (0,0025 моль) 4-хлор-1,3-фенилендиамина (**16**). Реакционную смесь кипятили при 120°C 3 часа в колбе с обратным холодильником. Степень протекания реакции контролировали при помощи ТСХ. Реакционную массу охлаждали до комнатной температуры и приливали 15 мл воды, при этом выпадал черный осадок. Осадок фильтровали, промывали водой с добавлением аммиака до щелочной реакции, отделяли на фильтре Шотта. Для очистки влажный продукт промывали хлороформом, затем фильтровали и сушили на воздухе. Электронный спектр (EtOH), λ_{max} , нм (Abs.): 244.5 (0.607), 292 (0.378), 417.5 (0.229). Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 6.84 (с, 2H, NH_2), 6.96 (с, 1H, $\text{CH}_{\text{аром}}$), 8.06 (с, 1H, $\text{CH}_{\text{аром}}$), 11.52 (с, 1H, NH), 11.67 (с, 1H, NH). Элементный анализ: $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{O}_2\text{N}_5\text{Cl}$ Вычислено: С 45.56%, Н 2.29%, О 12.14%, N 26.56%, Cl 13.45%. Найдено: С 45.70%, Н 2.30%, О 12.18%, N 26.64%, Cl 13.49%.

Синтез 8-амино-1,3-диметил-7-метоксиаллоксазина (**29**). В термостойкую колбу поместили 0,174 г (0,0009 моль) 1,3-диметилвиолуровой кислоты (**4**), прилили 4 мл горячего водного спирта 50% и нагревали смесь до полного растворения. Затем к горячему раствору, при перемешивании, приливали раствор 0,130 г (0,0009 моль) 1-метокси-2,4-фенилендиамина (**17**) в 1 мл метанола. Реакционную смесь нагревали 30 минут при температуре кипения, затем охлаждали до комнатной температуры. Выпавший осадок отделяли и отбрасывали. Раствор упаривали, промывали 5 мл водного аммиака 2%, затем 5 мл уксусной кислоты 5%. Продукт экстрагировали из раствора 10 мл хлороформа, добавляли осушителя, декантировали. Полученный раствор пропускали через силикагель, разделяя на фракции. Целевую фракцию определяли при помощи ТСХ. Для осаждения продукта раствор центрифугировали, хлороформ декантировали. Осадок промывали небольшим количеством раствора этилацетат : гексан (1:1), сушили на воздухе. Электронный спектр (EtOH), λ_{max} , нм (Abs.): 245 (1.891), 422 (1.004). Спектр ЯМР ^1H

(CDCl₃-d), δ, м.д.: 3.60 (с, 3H, NCH₃), 3.80 (с, 3H, NCH₃), 4.06 (с, 3H, OCH₃), 4.94 (с, 2H, NH₂), 7.02 (с, 1H, CH_{аром}), 7.50 (с, 1H, CH_{аром}). Элементный анализ: C₁₃H₁₃O₃N₅. Вычислено: С 54.35%, Н 4.56%, О 16.71%, N 24.38%. Найдено: С 54.51%, Н 4.57%, О 16.76%, N 24.45%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

В настоящей работе мы показали, что взаимодействие виолуровых кислот с производными *m*-фенилендиамина, известное как реакция Пилоти, может быть использовано для синтеза значительного круга производных 8-аминоаллоксазина (Рисунок 2). Нам удалось найти условия для эффективного протекания циклоконденсации производных виолуровой кислоты с 1,3-фенилендиаминами, и получить соединения (**18-30**) (Таблица 1).

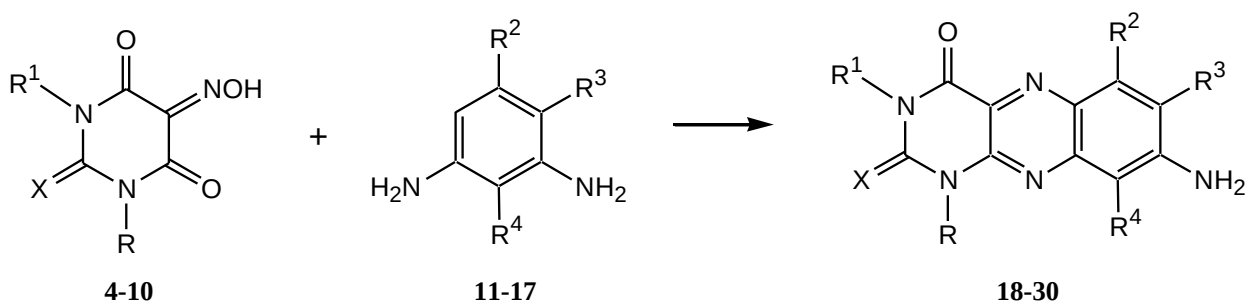


Рисунок 2 – Схема синтеза производных аллоксазина (**18-30**)

№ соединения	Заместители	Общий выход
18	X = O; R = R ₁ = R ₂ = R ₃ = H; R ₄ = CH ₃	75%
19	X = O; R = R ₁ = R ₃ = CH ₃ ; R ₂ = R ₄ = H	78%
20	X = O; R = R ₁ = R ₄ = CH ₃ ; R ₂ = R ₃ = H	80%
21a	X = O; R = 4-BrC ₆ H ₄ ; R ₁ = R ₂ = R ₄ = H; R ₃ = CH ₃	92% (смесь изомеров)
21b	X = O; R ₁ = 4-Br C ₆ H ₄ ; R = R ₂ = R ₄ = H; R ₃ = CH ₃	
22a	X = O; R = 4-EtOC ₆ H ₄ ; R ₁ = R ₂ = R ₃ = R ₄ = H	80% (смесь изомеров)
22b	X = O; R ₁ = 4-EtO C ₆ H ₄ ; R = R ₂ = R ₃ = R ₄ = H	
23	X = S; R = R ₁ = R ₂ = R ₄ = H; R ₃ = CH ₃	85%
24	X = S; R = R ₁ = R ₂ = R ₃ = R ₄ = H	60%
25	X = O; R = R ₁ = CH ₃ ; R ₂ = R ₃ = R ₄ = H	75%
26a	X = O; R = R ₃ = CH ₃ ; R ₁ = R ₂ = R ₄ = H	86% (смесь изомеров)
26b	X = O; R ₁ = R ₃ = CH ₃ ; R = R ₂ = R ₄ = H	
27	X = O; R = R ₁ = R ₃ = R ₄ = H; R ₂ = COOH	20%
28	X = O; R = R ₁ = R ₂ = R ₄ = H; R ₃ = Cl	15%
29	X = O; R = R ₁ = CH ₃ ; R ₂ = R ₄ = H; R ₃ = OCH ₃	13%

30	X = O; R = C ₆ H ₁₃ ; R ₁ = R ₂ = R ₄ = H	90%
----	--	-----

Таблица 1. Синтезированные производные 8-аминоаллоксазина (**18-30**)

Мы установили, что циклоконденсация 1-алкилзамещенных виолуровых кислот (**5-8**) с 1,3-фенилендиаминами (**11-13**) протекает региоселективно, с образованием преимущественно *N*³-алкил-8-аминоаллоксазинов. Селективность реакции зависит от структуры заместителя. По данным ¹H ЯМР, 1-метилвиолуровая кислота (**7**), вступая в реакцию с 1,3-ФДА (**12**), образует смесь *N*¹- и *N*³-метил-8-аминоаллоксазинов (**26a**) 25% и (**27b**) 75%, то есть селективность реакции невысокая. Аналогичным образом протекает реакция между *N*-арилвиолуровыми кислотами (**5, 6**) и *m*-фенилендиаминами (**11, 13**) с образованием продуктов (**21a-b, 22a-b**). А 1-*n*-гексил ВК (**8**) в аналогичной реакции дает практически чистый 1-*n*-гексилаллоксазин (**30**).

2-Тиовиолуровая кислота (**10**) является еще более слабым электрофилом, чем ее кислородный аналог, однако, этого оказалось достаточно для того, чтобы реакция протекала с образованием соответствующих 8-амино-2-тиоаллоксазинов (**23, 24**).

Наибольшей реакционной способностью среди производных *m*-фенилендиамина (**11-17**) обладает 2,4-толуилендиамин (**12**), при этом реакция протекает с большим выходом и образуется более чистый продукт. Снижение реакционной способности 2,6-толуилендиамина (**11**) связано с возникновением стерического затруднения. Так как 4-хлор-1,3-фенилендиамин (**16**) является слабым нуклеофилом, а виолуровая кислота слабым электрофилом, то для повышения реакционной способности ВК (**9**) и получения целевого 8-амино-7-хлораллоксазина (**28**) реакцию проводили в уксусной кислоте. С учетом плохой растворимости 3,5-диаминобензойной кислоты (**15**) в этиловом спирте и уксусной кислоте, реакция проводилась в *N,N*-диметилацетамиде. Для повышения реакционной способности 3,5-диаминобензойной кислоты в ходе синтеза добавляли основание (триэтиламин), что способствовало ионизации карбоксильной группы, в результате чего ее электроноакцепторный эффект снижался. В данных условиях нами была получена 8-аминоаллоксазин-6-карбоновая кислота (**27**).

Все синтезированные соединения были охарактеризованы методами электронной спектроскопии, ЯМР ¹H, ТСХ.

В спектре ЯМР ¹H производных 8-амино-2-тиоаллоксазина сигналы NH протонов пиримидинового кольца смещены в слабое поле и наблюдаются в области 12-13 м.д. из-за влияния атома серы. Один из сигналов (*N*¹H) уширен в связи с тем, что он не имеет прочной внутримолекулярной водородной связи с атомом кислорода, в отличие от *N*³H.

Сигналы остальных протонов мало смещены относительно соответствующих сигналов в спектре кислородного аналога (таблица 2).

№ соединения	CH ₃	NH ₂	CH _{аром}	CH _{аром}	N ¹ H	N ³ H
18	2.32	6.49	7.26	7.69	11.42	11.55
23	2.31	6.47	6.81	7.71	12.49	12.92

Таблица 2. Химические сдвиги (δ , м.д.) протонов в спектрах ЯМР ^1H растворов соединений (**18**, **23**) в ДМСО- d_6 .

Все синтезированные производные 8-аминоаллоксазина представляют собой интенсивно окрашенные кристаллические соединения. В растворах они обладают интенсивной флуоресценцией, что отличает их от исходных и побочных продуктов, и позволяет идентифицировать данные соединения на ТСХ. На рисунке 3 представлены электронные спектры раствора производных 8-аминоаллоксазина в этиловом спирте.

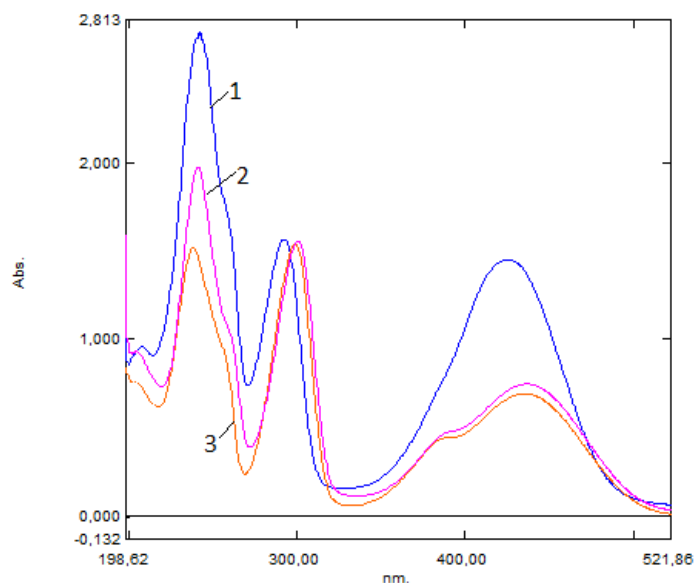


Рисунок 3 – Электронные спектры соединений при концентрации 0,01 мг/мл
1 – 8-амино-1,3,7-триметилаллоксазин (**19**), 2 – 8-амино-1,3,9-триметилаллоксазин (**20**),
3 – 8-амино-9-метилаллоксазин (**18**)

Производные 8-аминоаллоксазина обладают характерными спектрами флуоресценции (поглощение 250–300 нм, испускание – 550–575 нм). Наличие интенсивной флуоресценции в желто-зеленой области позволяет ожидать, что эти вещества могут в дальнейшем использоваться в биологических исследованиях в качестве флуоресцентных меток или зондов.

Для всех синтезированных производных 8-аминоаллоксазина было проведено компьютерное прогнозирование биологической активности при помощи системы PASS. Результаты виртуального скрининга показали высокую вероятность наличия таких видов активности, как:

1. Ингибирующее действие на определенные типы ферментов, такие как птерин-деаминаза, алканальная монооксигеназа (ФМН-связанная), тестостерон 17-бета-дегидрогеназа (НАДФ +), 4-гидроксифенилацетат-3-монооксигеназа, липопротеинлипаза, глицин-амидинотрансфераза и др.
2. Активность, связанная с субстратом CYP2, влияющего на процессы метаболизма лекарственных препаратов и стероидов.
3. Респираторно-аналептическая активность.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, 8-аминоаллоксазины, получаемые из виолуровых кислот на основе реакции Пилоти, представляют собой группу структурных аналогов рибовлавина с перспективными биологическими свойствами. Данные виртуальной оценки позволяют ожидать наличия у них высокой субстратной активности по отношению к ферментам метаболизма ксенобиотиков, стероидов, а также к ряду бактериальных ферментов, что в свою очередь, делает вероятным наличие перспективных антимикробных свойств. Синтезированные вещества могут также представлять интерес для биохимических исследований как флуоресцентные субстраты цитохромов и диагностические зонды.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коротченкова, Н.В. Химическая технология витаминов: учебное пособие/ Н.В. Коротченкова, А.А. Иозеп. – СПб.: Проспект Науки, 2012. – 224 с.
2. Солдатенков, А.Т. Основы органической химии лекарственных веществ/ А.Т. Солдатенков, Н.М. Колядина, И.В. Шендрик. – М.: Химия, 2001. – 192 с.
3. Lee E.R., Roseoflavin is a natural antibacterial compound that binds to FMN riboswitches and regulates gene expression/ E.R. Lee, K.F. Blount, R.R. Breaker// RNA Biol. – 2009 – Vol. 6, № 2. – P. 187–194.
4. Müller, F. Ed. Chemistry and Biochemistry of Flavoenzymes: Volume II// F. Ed. Müller. CRC Press, 1991 – P. 516.
5. Kubota, A. Alkoxyresorufin (methoxy-, ethoxy-, pentoxy- and benzyloxyresorufin) O-dealkylase activities by in vitro-expressed cytochrome P450 1A4 and 1A5 from common cormorant (*Phalacrocorax carbo*)/ A. Kubota, E.-Y. Kim, H. Iwata// Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology. – 2009 – Vol. 149, № 4. – P. 544–551.
6. Lubet, R.A. The induction of alkoxyresorufin metabolism: A potential indicator of environmental contamination/ R.A. Lubet, F.P. Guengerich, R.W. Nims// Archives of Environmental Contamination and Toxicology. – 1990 – Vol. 19, № 2. – P. 157–163.
7. Березовский, В.М. Химия алло- и изоаллоксацинов / В.М. Березовский, Т.В. Еременко// Успехи химии. – 1963. – Т. 32, №6. – С. 671–706.
8. Halladay, P. K. An Investigation of Benzo[g]pteridine-2,4(3H,10H)-diones (Flavins) as Antimalarials: A Thesis submitted for the Degree of Doctor of Philosophy of The Australian National University, 1990. 146 p.
9. EP 1471940 (A2) МПК A61K 35/14 Inactivation of west nile virus and plasmodium falciparum using alloxazine-derivating photosensitisers /Reddy H., Goodrich R.P. Published 03.11.2004.
10. Piloty, O. Ueber die Harnsäuregruppe / O. Piloty, K. Finckh // Leib. Ann. – 1904. – Bd. 333, №1. – S. 22–71.
11. Biltz, H. 5-Nitrobarbitursäuren / H. Biltz, K. Sedlatscheck// Chem. Ber. – 1924. – Bd. 57, №2. – S. 339–349.