

Рекомендована д-м фармац. наук, проф. Р.Б. Лесиком
УДК 547.834:547.853.7:547.859.1

СИНТЕЗ 2-R₁-6-R₂-4,8-БІС-(4-МЕТОКСИАНІЛІНО)-ПІРИМІДО [5,4-d]ПІРИМІДИНІВ

© **О.В. Колесніков, С.В. Русанова, С.М. Коваленко, В.П. Черних**

Національний фармацевтичний університет, Харків

Резюме: проведено синтез 2, 4, 6, 8-тетразаміщених піримідо[5, 4-d]піримідинів, досліджено їх реакції з N-нуклеофілами при використанні надлишку нуклеофілу на кожній стадії. Проведено регіоселективне заміщення атомів галогену у 2,4,6,8-тетрахлорпіримідо[5,4-d]піримідини.

Ключові слова: 2,4,6,8-тетрахлорпіримідо[5,4-d]піримідин, 2,4,6,8-тетразаміщені піримідо[5,4-d]піримідини, циклінзалежні кінази.

ВСТУП. Раніше нами були отримані бензиламино похідні піримідо[5,4-d]піримідинів [1]. Мета даної роботи – здійснити синтез інших похідних піримідо[5,4-d]піримідинів з різноманітними амінами. Як амін ми використовували 4-метоксианілін. Піримідо[5,4-d]піримідини – недостатньо вивчені гетероциклічні системи, які викликають інтерес в контексті можливості створення препаратів, подібні за структурою до пуринів [2,16,19]. Останнім часом особливу зацікавленість викликають інгібітори циклінзалежних кіназ, до яких належить похідне пурину– 2-аміно-6-циклогексилметоксипурин, що інгібує комплекси цикліну В₁/CDK₁ та цикліну А₃/CDK₂ в низьких концентраціях [5]. Такі пурини є аналогами еталонних інгібіторів заміщених–2-R-аміно-6-циклогексил-метоксипуринів [2,10,11,18].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Як вихідні сполуки для синтезу цільових продуктів використовували 2,4,6,8-тетрахлорпіримідо[5,4-d]піримідин (ТСРР) **1**, який отримували з 1,5-дигідропіримідо[5,4-d]піримідин-2,4,6,8-(3Н, 7Н)-тетраону за описаною в літературі методикою [8].

З огляду на можливість регіоселективного заміщення атомів хлору в сполуці **1**, нами було сплановано вивчення її реакційної здатності.

ТСРР **1** – класичний попередник 2,4,6,8-тетразаміщених піримідо[5,4-d]піримідинів, до яких належить відомий коронарний вазодилататор дипіридамом [13-15]. Для синтезу ТСРР **1** використовували декілька методів. Ми встановили, що найбільш придатним методом є нагрівання водного розчину 5-амінооротової кислоти при 210 °С у присутності розчину амоніаку і ціанату калію. Це приводить до утворення тетраону [8]. Тетраон було ізольовано як динатрієву сіль, яка була перетворена у ТСРР **1** обробкою сумішшю фосфору оксихлориду і фосфору пентахлориду.

Згідно з даними ТСРР вступає в реакцію з надлишком амінів постадійно [3,6]. Таке протікання реакції викликане тим, що заміщення легше відбувається за положеннями С-4 та С-8, ніж за положеннями С-2 і С-6. Реакція 4-метоксианіліну з ТСРР **1** (у молярному співвідношенні 2,1 : 1) в ТГФ при кімнатній температурі приводила до утворення 4,8-біс-(4-метоксианіліно)-2,6-дихлорпіримідо[5,4-d]піримідину **2** з гарним виходом. Подальша реакція з етаноламіном в ТГФ приводила до утворення 4,8-біс-(4-метоксианіліно)-6-хлор-2-(2-гідроксиетиламіно)піримідо[5,4-d]піримідину **4**, тоді як використання чистого етаноламіну у співвідношенні (1:2) при 120 °С дає 2,6-біс-(2-гідроксиетиламіно)-4,8-біс-(4-метоксианіліно)-піримідо[5,4-d]піримідин **3**. Відновлювальне дегалогенування **4** дає 4,8-біс-(4-метоксианіліно)-2-(2-гідроксиетиламіно)піримідо[5,4-d]піримідин **5** (схема). Фізико-хімічні та спектральні характеристики сполук (**2-5**) наведено в таблицях 1 і 2.

Регіоселективність, що спостерігається, стосується здатності делокалізувати негативний заряд, що з'являється внаслідок нуклеофільної атаки на С-2/С-6 та С-4/С-8. Атака на С-4/С-8 дає різновид, в якому негативний заряд на нітрогені (наприклад, N-3) може бути делокалізований на сусідньому CN-зв'язку, тоді як атака на С-2/С-6 не призводить до стабілізації взаємодії. При взаємодії з нуклеофільними реагентами утворюються здебільшого продукти α-заміщення. Переважний напрям заміщення в α-положенні зумовлений тим, що, по-перше, в α-положенні ТСРР електронна густина нижча, ніж у β-положенні (статичний фактор), а, по-друге, при атаці нуклеофілу в α-положенні утворюється стабільніший, а тому енергетично більш вигідний для молекули

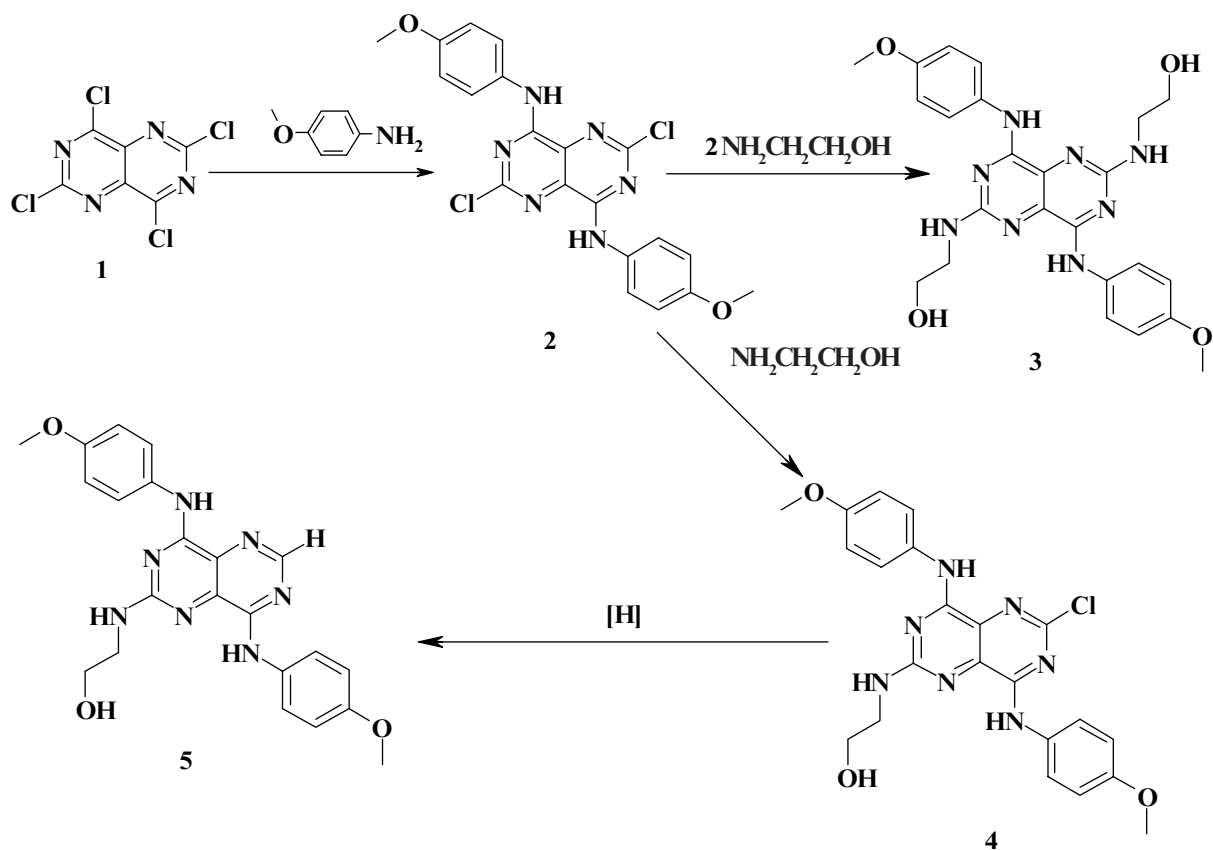


Схема 1.

Таблиця 1. Фізико-хімічні характеристики сполук 2-5

Сполука	Вихід, %	Брутто-формула	Експерим., %	Розрахован., %	T _{пл.} , °C
2	62	C ₂₀ H ₁₆ Cl ₂ N ₆ O ₂	C 54.12 H 3.61 N 19.26	C 54.19 H 3.64 N 18.96	226-228
3	72	C ₂₄ H ₂₈ N ₈ O ₄	C 58.59 H 5.68; N 22.95	C 58.53 H 5.73 N 22.75	210-212
4	91	C ₂₂ H ₂₂ ClN ₇ O ₃	C 56.59 H 4.62 N 21.15	C 56.47 H 4.75 N 20.95	198-200
5	45	C ₂₂ H ₂₃ N ₇ O ₃	C 61.12 H 5.16 N 22.92	C 60.96 H 5.35 N 22.62	166-167

σ-комплекс, ніж при атаці в β-положення (динамічний фактор). Тому при нуклеофільному заміщенні в α-положенні утворюється σ-комплекс, в якому негативний заряд може бути делокалізований без порушення ароматичної системи сусіднього кільця, тоді як у σ-комплексі, що утворюється при заміщенні в β-положенні, делокалізація негативного заряду можлива тільки за рахунок порушення ароматичної системи сусіднього кільця, що спричиняє додаткову витрату енергії.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Спектри протонного магнітного резонансу (ПМР) виміряні в D₆-диметилсульфоксиді (d6-DMSO), на спектрометрі VXR-200 з робочою частотою 200 МГц.

Вихідна сполука 4 і усі сполуки, отримані з неї, були захищені від прямого джерела світла через їхню потенційну фоточутливу природу [9, 12, 17]. Тетрагідрофуран був дистильований з натрієм і бензофеноном і використовувався негайно [4,7].

2,4,6,8-Тетрахлорпіримідо [5,4-d] піримідин 1
До розчину 1.06 г (6.19 ммоль) 5-амінооротової кислоти та 2.54 г (31.36 ммоль) ціанату калію додавали 25% розчин амоніаку (63.2 ммоль) і перемішували протягом 30 хв. Отриману суміш нагрівали до 140 °C до утворення густої пасти. Подальше нагрівання пасти при 210°C протягом 30 хв приводило до утворення твердої речовини бежевого кольору. Її було охолоджено,

Таблиця 2. Спектральні характеристики сполук 2-5

Сполука	Сигнали ПМР-спектра, δ_H
2	3.88 (6 H, s, 2 CH_3O), 7.01-7.12 (4 H, d, J 9.0 Hz, Ar-H3/5), 7.80-7.84 (4 H, d, J 9.0 Hz, Ar-H2/6) 8.41-8.52 (2H, br s, ArNH)
3	3.60 (8 H, m, $NH(CH_2)_2OH$), 3.88 (6 H, s, 2 CH_3O), 4.77 (2 H, br s, CH_2OH), 7.01-7.11 (6 H, m, 2Ar-H3/5, 2 CH_2NH), 7.81-7.85 (4 H, d, J 9.0 Hz, 2Ar-H2/6)
4	3.69 (4 H, m, $NH(CH_2)_2OH$), 3.87 (3 H, s, CH_3O), 3.89 (3 H, s, CH_3O), 4.81 (1H, br s, CH_2OH), 7.01-7.05 (3 H, d, J 8.8 Hz, Ar-H3/5, CH_2NH), 7.09-7.14 (2H, d, J 8.8 Hz, Ar-H3/5), 7.83-7.87 (2 H, d, J 8.8 Hz, Ar-H2/6), 7.99-8.04 (2 H, d, J 8.8 Hz, Ar-H2/6),
5	3.69 (4 H, m, $NH(CH_2)_2OH$) 3.88 (3 H, s, CH_3O), 3.91 (3 H, s, CH_3O), 4.81 (1 H, br s, CH_2OH), 7.01-7.11 (5 H, m, 2Ar-H3/5, CH_2NH), 7.92-7.96 (2 H, d, J 8.6 Hz, Ar-H2,6), 7.67-7.81 (2 H, d, J 8.6 Hz, Ar-H2,6), 8.43 (1 H, s, N=C-H)

подрібно з водою і відфільтровано. Після висихання речовину розчиняли в 125 мл (0.1 М) киплячого розчину гідроксиду натрію. Жовтий розчин залишали для охолодження. Утворений осад відфільтровували. Отримували 0.88 г блідих помаранчевих кристалів з виходом 73 %, які використовували в подальших експериментах.

До 1.05 г (25 ммоль) отриманого продукту додавали 250 мл (75 ммоль) оксихлориду фосфору та 30 г (50 ммоль) пентахлориду фосфору у середовищі азоту. Суміш нагрівали зі зворотним холодильником протягом 15 год. Оксихлорид фосфору був вилучений дистиляцією в вакуумі водоструминного насосу у вигляді твердої речовини коричневого кольору, до залишку якої додавали 350 мл подрібненого льоду. Утворений розчин з осадом відфільтровували. Осад було висушено і проекстраговано хлороформом з використанням апарату Сосклета. Після видалення розчинника отримали блідо-жовтий порошок, що використовувався безпосередньо. Вихід 3.44 г (51 %).

2,6-Дихлоро-4,8-біс-(4-метоксианіліно)піримідо[5,4-d]піримідин 2

До 0.8 г (2.96 ммоль) ТСРР 4 у 50 мл сухого ТГФ, що розмішуються під азотом при 25 °С, додавали 1.0 г (7.24 ммоль) клію карбонату і 0.76 г (6.20 ммоль) 4-метоксианіліну. Отриману суспензію перемішували при кімнатній температурі протягом 1 години. Додавання води (80 мл) прискорило випадання осаду. Утворений осад перекристалізували з гарячого етилацетату. Отримували сполуку у вигляді жовтого порошку, вихід якої складав 0.80 г (62 %).

2,6-Біс(2-гідроксиетиламіно)-4,8-біс(4-метоксианіліно)піримідо[5,4-d]піримідин 3

До 0.10 г (0.24 ммоль) сполуки 7 у середовищі азоту додали 2.01 г (2 мл; 33,2 ммоль) етаноламіну, нагрівали до 120 °С протягом 18 годин. Після охолодження розчину додавали (20 мл) води та екстрагували етилацетатом (100 мл). Органічний розчинник був висушений над (Na_2SO_4) і вилучений під вакуумом. Залишок перекристалізовано з етилацетату. Вихід 0.08 г (72 %).

6-Хлор-2-(2-гідроксиетиламіно)-4,8-біс-(4-метоксианіліно)піримідо[5,4-d]піримідин 4

До 0.50 г (13 ммоль) сполуки 7 у 10 мл сухого ТГФ під азотом додавали 10.12 г (10мл; 16.6 ммоль) 2-етаноламіну. Одержано розчин нагрівали до 65 °С протягом 6 годин. Після цього суспензію охолоджено та додано води (50 мл), яка осаджувала речовину і розчиняла сіль. Перекристалізували з етилацетату, та отримували жовту речовину з виходом 0.48 г (91 %).

2-(2-Гідроксиетиламіно)-4,8-біс-(4-метоксианіліно)-піримідо[5,4-d]піримідин 5

0.25 г (0.50 ммоль) 6-хлор-2-(2-гідроксиетиламіно)-4,8-біс-(4-метоксианіліно)-піримідо[5,4-d]піримідин 9, 0.24 г 10 % Pd/C, 0.13 г КОН і ТГФ (40 мл) змішували у середовищі азоту. Колба була ізольована та насичена воднем до тиску до 3 атм., реакційну суміш перемішували протягом 7 днів. Очищували перекристалізацією з етилацетату, що приводило до утворення сполуки білого кольору. Вихід 0.10 г (45 %).

ВИСНОВКИ. 1. Вивчено реакції нуклеофільного заміщення 2,4,6,8-тетрахлорпіримідо[5,4-d]

піримідину з 4-метоксианіліном та з 2-етаноламіном.

2. Встановлено умови реакції для утворення 2,4,6,8-тетразаміщених піримідо[5,4-d]піримідинів з різною комбінацією замісників у різних

положеннях структури, які викликають інтерес як потенційні інгібітори ЦЗК.

Будова синтезованих сполук підтверджена фізико-хімічними методами та ПМР-спектроскопією.

Література

1. Колесніков О.В., Черних В.П., Русанова С.В. Постадійне перетворення 2,4,6,8-тетра-хлоропіримідо[5,4-d]піримідину у 2,4,6,8-тетразаміщені піримідо[5,4-d]піримідини // Запорізький медичний журнал. – 2007. – № 4. – С. 158-160.
2. Лоріє Ю.Ю. // Онкогематология. – 2006. – Т8, №1. – С. 20-45.
3. Ambrus J.L., Stadler I., Kulaylat M., Koreshi A., Akhtar S. // J. Medicine. – 1996. – Vol. 27, – P. 21-32.
4. Armarego W.L.F., Perrin D.D.. Purification of Laboratory Chemicals // Butterworth Heinemann Press, Oxford. – 1996, 4th ed.
5. Arris C.E., Boyle F.T., Calvert A.H., Curtin N.J. // J. Med. Chem. – 2000. – Vol. 43. – P. 2797.
6. Barlow H.C., Bowman K.J., Curtin N.J., Calvert A.H., Golding B.T., Huang B., Loughlin P.J., Newell D.R., Smith P.G. // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 2000. – Vol. 10. – P. 585-589.
7. Clegg W., Elsegood R.J., Teat S.J., Redshaw C., Gibson V.C. // J. Chem. Soc., Dalton Trans. – 1998. – P. 3037-3040.
8. Fischer F.G., Roch J. // Liebigs Ann. Chem. – 1951. – Vol. 572. – P. 217-229.
9. Golding B.T., Mitchinson A., Clegg W., Elsegood M.R.J., Griffin R.J. // J. Chem. Soc., Perkin Trans. – 1999. – P. 349-356.
10. Kaufmann H., Raderer M., Wohrer S. et al. Antitumor activity of rituximab plus thalidomide in patients with relapsed/refractory mantle cell lymphoma // Blood. – 2004. – Vol. 104. – P. 2269-2271.
11. Kawada M., Yamagoe S., Murakami Y., Suzuki K., Mizuno S., Uehara Y. // Oncogene. – 1997. – Vol. 15. – P.629-637.
12. Kigasawa K., Shimizu S., Ohkubo K., Hayashida S., Ohkubo K. // J. Pharm. Soc. Jpn. – 1984. – Vol. 104. – P. 1191.
13. Khunti K., Baker R., Grimshaw G. // Br. J. Gen. Pract. – 2000. – Vol. 50. № 450. – P. 50-54.
14. Leppo J.A. // J. Nucl. Cardiol. – 1996. – Vol. 3. – P. 22-26.
15. Luger P., Roch J. // Acta Crystallogr. Sect. C: Cryst. Struct. Commun. – 1983. – Vol. 39, № 10. – P. 1454-1458.
16. O'Connor O.A., Wright J., Moskowicz C. // J. Clin. Oncol. – 2005. – Vol. 23. – P.676-684.
17. Riale V., Meijer L. // Anticancer Res. – 1991. – Vol. 11. – P. 1581.
18. Schulze-Gahmen U., Brandson J., Jones H.D., Morgan D.O., Meijer L., Vesely J., Kim S.-H. // Proteins: Struct., Funct., Genet. – 1995. – Vol. 22, – P. 378-391.
19. Tort F., Camacho E., Bosch F. // Haematologica. – 2004. – Vol. 89. – P. 314-319.

СИНТЕЗ 2-R₁-6-R₂-4,8-БИС-(4-МЕТОКСИАНИЛИНО)-ПИРИМИДО[5,4-d]ПИРИМИДИНОВ

А.В. Колесников, С.В. Русанова, С.Н. Коваленко В.П. Черных

Национальный фармацевтический университет, Харьков

Резюме: осуществлён синтез 2,4,6,8-тетразамещённых пиримидо[5,4-d]пиримидинов, исследованы реакции с N-нуклеофилами при использовании избытка нуклеофила на каждой стадии. Проведено региоселективное замещение атомов галогена в 2,4,6,8-тетрахлоропиримидо[5,4-d]пиримидины.

Ключевые слова: 2,4,6,8-тетрахлоропиримидо[5,4-d]пириимидин, 2,4,6,8-тетразамещённые пиримидо[5,4-d]пиримидины, циклинзависимые киназы.

SYNTHESIS OF 2-R₁-6-R₂-4,8-BIS-(4-METHOXYANILINE)PYRIMIDO[5,4-d]PYRIMIDINES

O.V. Kolesnikov, S.V. Rusanova, S.M. Kovalenko, V.P. Chernykh

National Pharmaceutical University, Kharkiv

Summary: the synthesis of 2,4,6,8-tetrasubstituted pyrimido[5,4-d]pyrimidines was conducted, their reactions with N-nucleophiles using surplus of nucleophyl on each stage were researched. Regioselective substitution of halogen atoms into 2,4,6,8-tetrachloropyrimido[5,4-d]pyrimidine was carried out.

Key words: 2,4,6,8-tetrachloropyrimido[5,4-d]pyrimidine, 2,4,6,8-tetrasubstituted pyrimido[5,4-d]pyrimidines, cycline-dependent kinases.