УДК 547.543:547.26'122

С.В. Василюк, Г.М. Хоміцька, Г.Б. Шиян, В.І. Лубенець
Національний університет "Львівська політехніка",
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології

МОЖЛИВІ ШЛЯХИ СИНТЕЗУ КАРБОКСИМЕТИЛОВОГО ЕСТЕРУ 2,3-ДІОКСО-1,2,3,4-ТЕТРАГІДРОХІНОКСАЛІН-6-ТІОСУЛЬФОКИСЛОТИ ТА ПРОГНОЗОВАНИЙ СКРИНІНГ ФІЗІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ОТРИМАНИХ ПІД ЧАС ДОСЛІДЖЕНЬ СПОЛУК

© Василюк С.В., Хоміцька Г.М., Шиян Г. Б., Лубенець В.І., 2009

Досліджено можливі шляхи синтезу карбоксиметилового естеру 2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрохіноксалін-6-тіосульфокислоти. На основі даних віртуального фармакологічного скринінгу (PASS) синтезованих в ході досліджень сполук виявлено перспективні напрямки їх експериментальних біологічних досліджень.

The possible ways of synthesis of carboxymethyl ester of 2,3-dioxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoxaline-6-thiosulfonic acid have been investigated. On the basis of information of virtual pharmacological screening (PASS) of the compounds synthesized during researches have been found out perspective directions of their experimental biological researches.

Постановка проблеми, аналіз останніх досліджень і публікацій. Гетероциклічні сполуки – один із найважливіших з практичного погляду класів органічних сполук. Вони доволі поширені в природі і відіграють важливу роль в таких ключових процесах життєдіяльності, як дихання, фотосинтез, робота ферментативного апарату та передача спадкових ознак. Серед гетероциклів особливої уваги заслуговують нітрогеновмісні гетероциклічні системи – потенційні донори *NO*.

Перспективними нітрогеновмісними гетероциклами з погляду високої біологічної активності є хіноксалінони. Вказані сполуки проявляють антидіабетичні, протипухлинні і противірусні (в тому числі й проти ретровірусів, таких як ВІЛ) ефекти [1, 2].

Відомо, що 1,4-дигідро-(1H,4H)-хіноксалін-2,3-діони є антагоністами рецепторів N-метил-D-аспартату, а деякі хіноксалінони проявили себе як конкурентні антагоністи α-аміно-3-гідрокси-5-метил-4-ізоксазолпропіонатних рецепторів, завдяки чому вони належать до невеликої групи сполук, що проявляють ефект при різних патофізіологічних станах, таких як загальна і фокальна ішемія, епілепсія, розсіяний склероз, хвороби Паркінсона і Альцгеймера [3–8].

Хіноксалінони є важливими структурами для створення нових лікарських субстанцій завдяки спорідненості до бензодіазепінів, проте вони мало досліджені внаслідок обмежених способів їх синтезу. Обмеженими є також відомості про сульфуровмісні похідні хіноксалінонів, тому перспективним є створення комбінаторних бібліотек, сконцентрованих на сульфуровмісних, зокрема й тіосульфонатних, похідних хіноксалінонів.

Мета роботи – дослідження можливих шляхів синтезу карбоксиметилового естеру 2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрохіноксалін-6-тіосульфокислоти, отримання нових тіосульфосполук та пошук перспективних напрямків їх експериментальних біологічних досліджень.

Експериментальна частина. ІЧ спектри знімали на спектрофотометрі "SPECORD M 80" (суспензія у вазеліновому маслі та запресовка в таблетках з KBr); спектри H^1 ЯМР записано на спектрометрі "Varian VXR-300", (хімічні зсуви ^1H виражені в δ - шкалі відносно тетраметилсилану,

розчинник DMSO-D_6, а інтегральні інтенсивності відповідають зробленим віднесенням); чистоту синтезованих речовин контролювали за допомогою ТШХ та елементним аналізом, виконаним на стандартній апаратурі для мікроаналізу.

Комп'ютерне прогнозування біологічної активності синтезованих сполук здійснене за допомогою програми PASS [9,10].

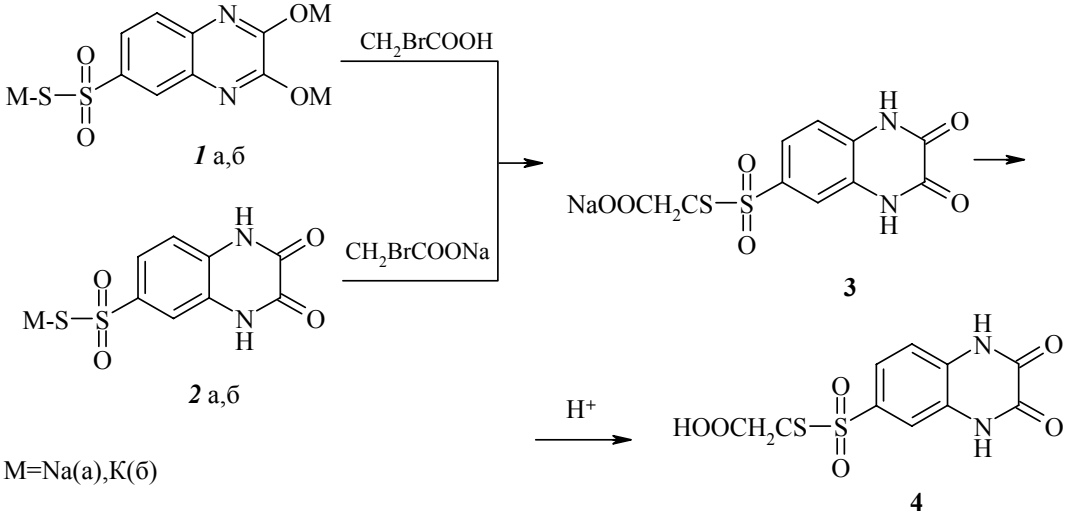
Ацетонітрильний естер 2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрохіноксалін-6-тіосульфокислоти (5). До суспензії 15 г (0,05 моль) тіосульфонату (2а) в 70 мл ацетону при кімнатній температурі додавали 3 мл (0,05 моль) хлорацетонітрилу. Реакційну масу витримували при кімнатній температурі одну добу та фільтрували. З фільтрату розчинник видаляли у вакуумі. Осад, що випав, фільтрували, промивали водою і кристалізували з придатного розчинника. Вихід 8,23г (60%).

Карбамідометиловий S-естер 2,3-діоксо–1,2,3,4-тетрагідрохіноксалін-6-тіосульфокислоти (6). 5 г (0,017 моль) ацетонітрильного тіосульфоестеру (5) в 20 мл оцтової кислоти нагрівали з 12 мл 25% розчину сульфатної кислоти 4 год. До реакційної маси додавали активоване вугілля, витримували ще 5 хв і фільтрували. Фільтрат охолоджували до кімнатної температури і поступово розбавляли льодяною водою вдвічі. Утворений розчин нейтралізували розчином соди до pH 7. Осад, що випав, відфільтровували, кристалізували з водного етанолу. Вихід карбамідометилового тіосульфоестеру (6) 3,48г (65%).

Карбоксиметиловий S-естер 2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідро-хіноксалін-6-тіосульфокислоти (4). 5 г (0,017 моль) ацетонітрильного тіосульфоестеру (5) нагрівали з 25 мл 25% розчину сульфатної кислоти 3,5год, додавали активоване вугілля, витримували ще 5 хв і фільтрували. Фільтрат охолоджували до кімнатної температури і поступово розбавляли льодяною водою вдвічі. Утворений розчин нейтралізували розчином соди до pH 7. Осад, що випав, фільтрували, кристалізували з водного етанолу. Вихід тіосульфоестеру (4) 3,76г (70%).

Обговорення результатів. Перспективними біологічно активними речовинами є алкілові естери 2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрохіноксалін-6-тіосульфокислоти. Доцільність їх синтезу підтверджено віртуальним скринінгом біологічної активності вказаних сполук з використанням комп'ютерної програми PASS [11]. Прогнозування біологічної активності вказує на те, що алкілові естери 2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрохіноксалін-6-тіосульфокислоти з високою ймовірністю (~ 80%) матимуть нейрогенний знеболювальний (Antineurogenic pain) та антиартритний (Antiarthritic) ефекти. Однак, проведення подальших експериментальних біологічних досліжень цих естерів ускладнюється їх низькою гідрофільністю.

З метою підвищення гідрофільності алкілових S-естерів 2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідро-хіноксалін-6-тіосульфокислоти нами досліджено можливі шляхи введення гідрофільної групи, зокрема, карбоксильної в алкіловий фрагмент цих сполук.



1 а,б

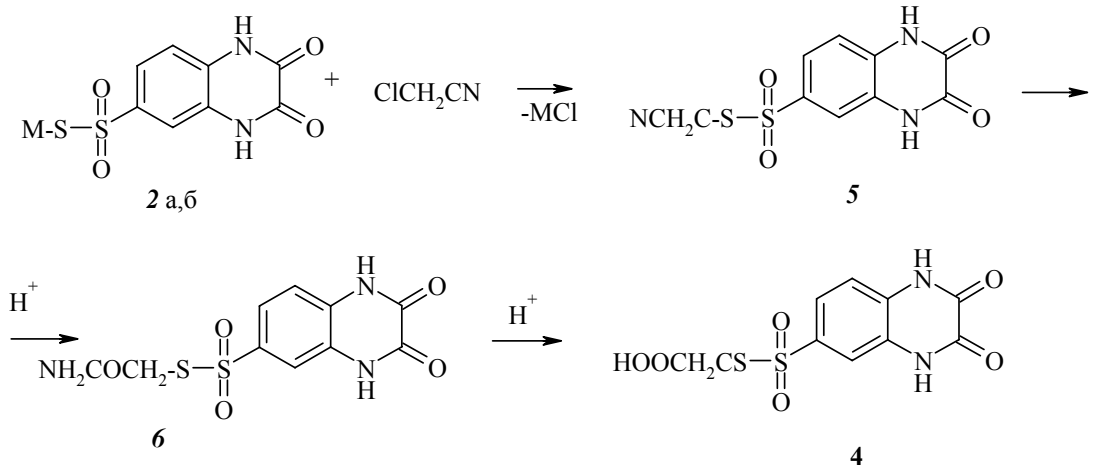
2 а,б

3

4

У попередніх наших роботах було описано синтез карбоксиметилового S-естеру 2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрохіноксалін-6-тіосульфокислоти взаємодію солей 2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрохіноксалін-6-тіосульфокислоти (2а,б) з натрієвою сіллю бромоцтової кислоти або взаємодією солей 2,3-гідроксихіноксалін-6-тіосульфокислоти (1а,б) з бромоцтовою кислотою [11].

Як продовження вищеподаних досліджень нами показана можливість синтезу карбоксиметилового S-естеру 2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрохіноксалін-6-тіосульфокислоти (4) з використанням хлорацетонітрилу за схемою:



2 а,б — *5* — *6* — **4**

M=Na(а),K(б)

Алкілування тіосульфонатів (2а,б) хлорацетонітрилом проводили при кімнатній температурі в ацетоні. Одержано ацетонітрильний тіосульфоестер (5), характеристики якого подано в табл. 1, 2.

Гідроліз нітрильної групи S-ацетонітрильного естеру 2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрохіноксалін-6-тіосульфокислоти (5) проводили розчином як сульфатної, так і хлоридної кислот, контролюючи хід реакції методом ІЧ спектроскопії. При дії концентрованої хлоридної кислоти гідроліз нітрильної групи при кімнатній температурі відбувається повільно, зокрема через 2 год в ІЧ спектрі спостерігається лише незначне зменшення смуги поглинання 2258 $см^{-1}$ нітрильної групи і поява смуги 1695 $см^{-1}$, характерної для утворення карбамідної групи.

Зручнішим є гідроліз ацетонітрильного S-естеру 2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрохіноксалін-6-тіосульфокислоти (5) до карбамідометилового тіосульфоестеру (6) з використанням сульфатної кислоти. Встановлено, що при гідролізі ацетонітрильного тіосульфоестеру (5) в середовищі оцтової килоти в присутності навіть 20–25% розчину сульфатної кислоти гідроліз нітрильної групи переважно відбувається з утворенням карбамідометилового тіосульфоестеру (6) з виходом 65%. При проведенні цієї взаємодії у водному розчині сульфатної кислоти аналогічної концентрації основним продуктом реакції (вихід 70%) є карбоксиметиловий S-естер 2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрохіноксалін-6-тіосульфокислоти (4).

Індивідуальність отриманих нами вперше сполук (5,6) підтверджена даними ТШХ, будова – елементним аналізом (табл. 1) та методами ІЧ, ^{1}Н ЯМР спектроскопії (табл. 2).

Таблиця 1

Характеристики сполук (4, 5, 6)

№ спол	Вихід, %	Т.топл., ^{0}С Розч. для крист.	**Знайдено, % Обчислено,%**				Брутто-формула
			C	H	N	S	
1	2	3	4	5	6	7	8
4	80	255-256 вода:етанол	37,72 / 37,97	2,62 / 2,53	8,47 / 8,86	19,90 / 20,25	$C_{10}H_8N_2O_6S_2$
5	60	235-236 етанол	40,61 / 40,40	2,48 / 2,37	13,93 / 14,13	21,26 / 21,57	$C_{10}H_7N_3O_4S_2$
6	65	268-269 Вода:етанол	37,83 / 38,09	3,02 / 2,88	13,18 / 13,33	20,16 / 20,34	$C_{10}H_9N_3O_5S_2$

Таблиця 2

Дані ІЧ та ^{1}Н ЯМР спектроскопії сполук (4, 5, 6)

№ спол	ІЧ спектр, частота поглинання ν, см$^{-1}$	^{1}Н ЯМР спектр, хімічний зсув δ, м.д.
1	2	3
4	$1128_{\gamma s}$, $1292_{\gamma as}$ (SO_2); 1542, 1598, 1612 (Ar); 1700,1712,1716 (CO); 1636, 3192 (NH);	3,67 к (2H, S-CH_2), 7,4-8,12 м (3H, Ar), 10,12 м (1H, OH), 11,84 с (1H, NHCO), 11,98 с (1H, NHCO)
5	1145_{as}, 1312_s (SO_2), 1590,1600,1612 (C=C_{ap}), 1702 (C=O), 2258 (C ? N), 1616,3196 (NH)	3,78 д (2H, SCH_2), 7,72-8,52 м (3H, Ar), 11,94 с (1H, NHCO), 12,18 с (1H, NHCO)
6	1136_{as}, 1318_s (SO_2), 1596,1600 (C=C_{ap}), 1690, 1702 (C=O), 1616, 3198, 3376, 3340 (NH)	3,76 д (2H, SCH_2), 7,68-8,54 м (3H, Ar), 10,58 д (2H, NH_2CO), 11,96 с (1H, NHCO), 12,16 с (1H, NHCO)

Для синтезованих під час досліджень естерів 2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрохіноксалін-6-тіосульфокислоти нами проведено прогнозований скринінг фізіологічної активності з використанням програми PASS.

Комп'ютерна система PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) прогнозує за структурною формулою хімічної речовини 565 видів біологічної активності, які містять основні і побічні фармакологічні ефекти, механізми дії, мутагенність, канцерогенність, тератогенність і ембріотоксичність [9]. Робота системи PASS ґрунтується на аналізі залежності «структура–активність» для речовин з навчальної вибірки, яка містить понад 35000 різноманітних біологічно активних речовин (субстанції відомих лікарських препаратів і фізіологічно активні сполуки).

Навчальна вибірка постійно поповнюється новими даними про біологічно активні сполуки, які відбираються як з публікацій в науково-технічній літературі, так і з численних баз даних, зокрема неопублікованої в наукових журналах «сірої» інформації [10, 11].

Для програми PASS середня точність прогнозу в умовах ковзного контролю становить близько 85%, що цілком достатньо для її застосування на практиці з метою прогнозу спектра біологічної активності нових речовин [9].

Результати здійсненого нами прогнозу фізіологічної активності синтезованих під час досліджень сполук з ймовірністю Pa ≥50% подані в табл. 3. Вони вказують на доцільність пошуку серед S-метилфункціоналізованих естерів 2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрохіноксалін-6-тіосульфокислоти (3,4,5,6) ефективних антиартритних засобів і дієвих засобів проти невралгічної болі, оскільки ймовірність прояву цими сполуками таких ефектів 72–77%.

Аналізуючи ймовірний спектр фізіологічної активності естерів 2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрохіноксалін-6-тіосульфокислоти (3,4,5,6), варто зазначити, що наявність карбамідної групи в алкіловому фрагменті тіосульфоестеру (6) значно розширює спектр фізіологічної дії порівняно з іншими тіосульфоестерами.

Переведення тіосульфоестеру (4) в натрієву сіль (3) веде до зниження ймовірності прояву фізіологічної активності сполукою, а також появляється висока ймовірність того, що сполука (3) проявлятиме такі небажані ефекти, як токсичність та терарогенність.

Висновки. 1. Синтезовано нові тіосульфонатні похідні. Запропоновано альтернативний шлях синтезу потенційно біологічно активного і практично цінного карбоксиметилового естеру 2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрохіноксалін-6-тіосульфокислоти.

2. Здійснено прогнозований скринінг біологічної активності синтезованих сполук з використанням програми PASS, показано перспективні напрямки експериментальних досліджень та шляхи можливого практичного застосування синтезованих метилфункціоналізованих S-естерів 2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрохіноксалін-6-тіосульфокислоти.

Таблиця 3

Пріоритетні напрямки експериментальних біологічних досліджень синтезованих тіосульфостерів визначені з використанням комп'ютерної програми PASS

№ з/п	Біологічний ефект	Розрахункова ймовірність прояву синтезованою сполукою біологічного ефекту (Pa)			
		R = -CN	R = -$CONH_2$	R = - COONa	R = -COOH
1	Антивірусний (Antiviral)	-	-	-	0,576
2	Гіполіпідеічний (Hypolipemic)	-	-	-	0,576
3	Протизапальний (Antiinflammatory)	0,506	0,568	0,547	0,677
4	Протипухлинний (Antineoplastic)	0,506	0,568	0,547	0,677
5	Нейропротекторний Neuroprotector	-	0,521	0,592	0,547
6	Протисудомний (Anticonvulsant)	-	0,521	-	0,547
7	Дерматологічний (Dermatologic)	-	-	-	0,694
8	Психотропний (Psychotropic)	-	0,636	-	0,650
9	Антиастматичний (Antiasthmatic)	0,506	0,568	0,547	0,677
10	Антиартритний (Antiarthritic)	0,765	0,754	0,722	0,724
11	Антигельмінтний (Antihelmintic)	0,505	0,503	0,506	0,638
12	Антиостеопорозний (Antiosteoporotic)	0,506	0,568	0,547	0,677
13	Антитромботичний (Antithrombotic)	0,506	0,568	0,547	0,677
14	Противиразковий (Antiulcerative)	-	-	-	0,531
15	Протигрибковий (Antifungal)	0,668	0,593	0,566	0,620
16	Кардіотонічний (Cardiotonic)	-	0,513	-	-
17	Спазмогенний (Spasmogenic)	-	0,513	-	-
18	Гіпертензивний (Hypertensive)	-	0,513	-	-
19	Як очні ліки (Ophthalmic drug)	-	0,513	-	-
20	Психостимулянт (Psychostimulant)	-	0,513	-	-
21	Антиалергічний (Antiallergic)	-	0,513	-	-
22	Аборт індукуючий (Abortion inducer)	-	0,513	-	-
23	Для лікування гіперплазії простати (Prostatic (bening) hyperplasia treatment)	-	0,513	-	-
24	Для лікування урологічних розладів (Urologic disorders treatment)	-	-	0,538	-
25	Токсичний (Toxic)	-	-	0,732	-
26	Тератогенний (Teratogen)	-	-	0,672	-
27	Для лікування залежностей (Dependence treatment)	-	0,521	-	0,547
28	Лікування гострих невралгічних розладів (Acute neurologic disorders treatment)	0,598	-	-	-
29	Проти невралгічної болі (Antineurogenic pain)	0,765	0,754	0,722	0,724
30	Для лікування атеросклерозу (Atherosclerosis treatment)	-	-	-	0,576

Робота виконана за підтримки фонду фундаментальних досліджень, проект № Ф25.3/061

1. Abraham C.J., Paull D.H., Scerba M.T. [et al.] // J. Am. Chem. Soc. – 2006. – V. 128, № 41. – P. 13370–13371. 2. Lodygin D., Menssen A., Hermeking H. // J. Clin. Invest. – 2002. – V. 110. – P. 1717–1727. 3. Sheardown M.J., Nielson E.O., Hanson A.J. [et al.] // Science. – 1990. – V. 247. – P. 571–574. 4. Watjen F., Bigge C.F., Jensen L.H. [et al.] // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 1994. – V. 4. – P. 371–376. 5. Ohmori J., Sakamoto S., Kubota H. [et al.] // J. Med. Chem. – 1994. – V. 37 (4). – P. 467–475. 6. Bigge C.F., Malone T.C., Boxer P.A. [et al.] //J. Med. Chem. – 1995. – V. 38 (19). – P. 3720–3740. 7. Kanwar J.R., Kanwar R.K., Krissansen G.W. // Brain. – 2004. – V. 127. – P. 1313–1331. 8. Fray M.J., Bull D.J., Carr C.L. [et al.] // J. Med. Chem. – 2001. – Vol. 44 (12) – P. 1951–1962. 9.

Глориозова Т.А., Филимонов Д.А., Лагунин А.А. , Поройков В.В. // Хим.-фарм. журнал. – 1998. – Т. 32. – №12. – С. 32–39. 10. Lagunin A., Stepanchikova A., Filimonov D., Poroikov V. // Bioinformatics. – 2000. – V. 16 (8). – P. 747–748. 11. Лубенець В.І., Василюк С.В., Гой О.В., Бут С.О., Чернега О.М., Новіков В.П. // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2007. – Т. 5., вип. 3(19). – С. 56–63. 12. Поройков В.В. // Компьютерные технологии в медицине. – 1998. – № 1. – С. 87–93.

УДК 615.322:616.37

Н.Є. Стадницька, Ж.Д. Паращин, Ю.В. Черненко
Національний університет "Львівська політехніка",
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології

СТВОРЕННЯ НОВОГО ФІТОЗАСОБУ З ВИКОРИСТАННЯМ ОЛІЇ ОБЛІПИХИ КРУШИНОПОДІБНОЇ

© Стадницька Н.Є., Паращин Ж.Д., Черненко Ю.В., 2009

Запропоновано та обґрунтовано склад нового фітозасобу для профілактики та лікування шкірних захварювань із вмістом олії Hippophao rhamnoides та інших рослинних компонентів. Підібрано оптимальну основу для створення м'якої лікарської форми.

Composition of new phytopreparation for a prophylaxis and treatment of skin diseases with content of oil of Hippophao rhamnoides and other plant components is offered and grounded. Optimum basis for creation of soft medical form has been selected.

Постановка проблеми. М'які лікарські форми займають значне місце у номенклатурі лікарських засобів, що використовуються у дерматології, гінекології, стоматології, очній та ЛОР-практиці. У зв'язку з тим, що олія обліпихи крушиноподібної використовується переважно у нативному вигляді, актуальним є поєднання її з іншими рослинними компонентами і створення крему або лікувальної мазі, які б мали ранозагоювальні, епітелізуючі, протиалергічні властивості, живильну та пом'якшувальну дію. Обліпихова олія – це природний концентрат біологічно активних речовин, переважно каротиноїдів, токоферолів, філохінону, вітамінів, фітонцидів та інших сполук. Вона має протизапальні, епітелізувальні, бактерицидні, знеболювальні і гранулювальні властивості і тому є цінним компонентом.

Мета роботи. Розробити і обґрунтувати склад нового фітопрепарату, в якому обліпихова олія була б поєднана з іншими природними компонентами, які мають комплекс біологічно активних речовин. Одержати в лабораторних умовах олію з насіння обліпихи крушиноподібної і використати її як один з компонентів нової м'якої лікарської форми легкої консистенції на відповідній основі.

Аналіз попередніх досліджень і публікацій. Обліпиха крушиноподібна (Hippophao rhamnoides) – кущ або невелике (4–15 м заввишки) дерево родини маслинкових. Гілки колючі, покриті спочатку сріблястими, а пізніше іржаво-бурими лусочками. Листки чергові, вузькі, лінійні або лінійно-ланцетні, майже сидячі, згори темно-зелені, знизу – сріблясті. Квітки дрібні, непомітні, розкриваються одночасно з появою листків, рослина дводомна. Плід – овальна або майже куляста соковита несправжня кістянка жовтого, оранжевого або оранжево-червоного кольору, 6–10 мм завдовжки і 4–6 мм в діаметрі. Квітне у квітні – травні. Плоди достигають у вересні – жовтні.