

УДК 547.833.3

А.А. Дуденков, О.К. Фарат, Е.В. Зализная, С.А. Варениченко, В.И. Марков

СИНТЕЗ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ PARP-1

ГВУЗ «Украинский государственный химико-технологический университет», г. Днепропетровск

В статье рассматриваются методы синтеза производных бензоксазинов и пиримидинов, которые являются потенциальными ингибиторами фермента PARP-1, на основе легкодоступного циклогексанон-2-карбоксамид.

Нуклеарный и цитоплазматический фермент поли(АДФ-рибоза)полимераза-1 (PARP-1) – наиболее известный член семейства восемнадцати протеинов, содержащих PARP-каталитический домен. При повреждении ДНК, воспалении, ишемии, противоопухолевой терапии происходит резкое увеличение активности PARP-1 вплоть до 500 раз. Активированный PARP-1 реагирует с NAD^+ (никотинамидадениндинуклеотидом), который расщепляется на ни-

котинамид и АДФ(аденозиндифосфат)-рибозу, с последующей полимеризацией последней на нуклеарных протеинах. Этот процесс весьма важен для поддержания стабильности генома. Однако при чрезмерной активации PARP-1 имеет место интенсивная полимеризация АДФ-рибозы, что ведет к снижению уровня АТФ в клетках. Чрезмерное расходование АТФ может завершиться дисфункцией клетки или даже ее гибелью. Было замечено, что в опытах на жи-

вотных ингибиторы PARP показывают благотворный эффект при ишемии сердца и раке [1]. Таким образом, PARP-1 может рассматриваться как перспективная мишень в создании лекарственных средств, направленных на лечение различных форм воспаления, повреждений вызванных ишемией, для реперфузии, а также в комплексной терапии рака [2].

Подавляющее большинство известных ингибиторов PARP являются производными никотинамида, действуя как конкурентные ингибиторы NAD^+ . Как указано на рис. 1, карбоксамидный фрагмент никотинамида образует три водородные связи с каталитическими доменами PARP-1; одну с гидроксильной группой Ser 904 и две – с амидным фрагментом Gly 863 [3]. Этот способ связывания требует, чтобы карбонил карбоксамидной группы находился в антиконформации (1a), а не равновесной син-конформации (1b) (схема 1). Первые ингибиторы PARP, такие как 3-амино-бензамид (2) структурно весьма близки к никотинамидному фрагменту NAD^+ [4]. Однако эти соединения малоактивны, что может быть объяснено конформационной подвижностью карбоксамидной группы. Поэтому фиксирование последней в антиконформации, путем включения ее в цикл, привело к новому поколению соединений (3–5), которые были на несколько порядков более активны [4–5] (схема 2).

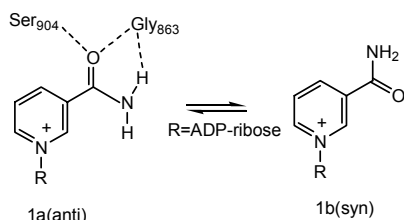


Схема 1

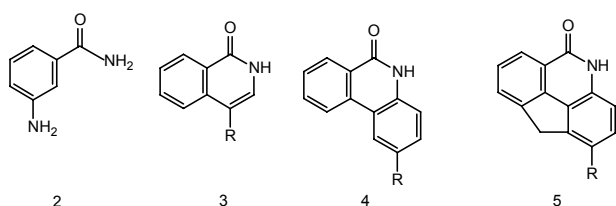


Схема 2

Рис. 1. Структурные требования для ингибирования PARP и классы PARP-1 ингибиторов: 2 – $LD_{50}=33\mu M$; 3 – $R=H$; $LD_{50}=7\mu M$; 4 – $R=H$; $LD_{50}=0,3\mu M$; 5 – $R=H$; $LD_{50}=0,1\mu M$

Несмотря на увеличение активности, клиническое использование их все еще слишком мало из-за недостаточной безопасности данных соединений [6]. Как показано ранее (рис. 1), большинство ингибиторов PARP имеют планарную структуру, обеспечивающую им свойства ДНК-интеркаляторов. Следовательно, более

желательны ингибиторы с менее планарной структурой, что, вероятно, даст возможность избежать нежелательных свойств [7].

Целью данной работы был синтез потенциальных ингибиторов PARP-1, имеющих непланарную структуру. Для достижения поставленной задачи в качестве ключевого субстрата был использован карбоксамид (6) [8], получаемый кислотным гидролизом продукта конденсации циклогексанона с мочевиной [9]. При взаимодействии соединения 6 с кетонами и альдегидами в среде уксусной кислоты и в присутствии уксусного ангидрида с серной кислотой были получены производные оксазинов (7a–h), дальнейшее нагревание которых в уксусной кислоте при $60^{\circ}C$ приводит к образованию продуктов (8a–f) (схема 3). Строение соединений 7a–h и 8a–f согласуется с данными ЯМР 1H и масс-спектрометрий. Оксазины 7a–h также были получены и немного измененным методом – заменой уксусного ангидрида на хлористый тионил, при этом выход практически не менялся.

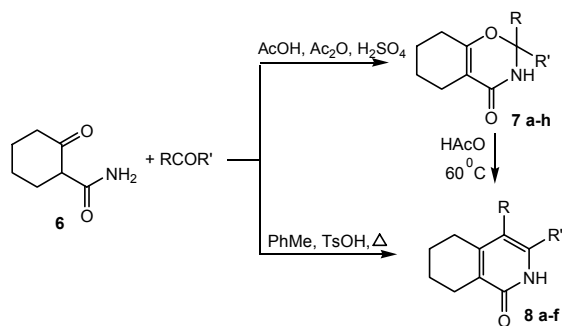


Схема 3

где 7a – $R+R'=- (CH_2)_5-$; 7b – $R+R'=- (CH_2)_4-$;
7c – $R=R'=Me$; 7d – $R=Me, R'=Et$; 7e – $R=R'=Et$;
7f – $R=Me, R'=Bu$; 7g – $R=H, R'=Me$; 7h – $R=H, R'=Ph$;
8a – $R+R'=- (CH_2)_4-$; 8b – $R+R'=- (CH_2)_3-$; 8c – $R=Me, R'=H$,
8d – $R=R'=Me$; 8e – $R=Me, R'=Et$, 8f – $R=Me, R'=Pr$

Соединения 8a,b,f также были получены при нагревании карбоксамиды 6 с соответствующим кетоном и *p*-толуолсульфонокислотой в толуоле с азеотропной отгонкой воды.

Еще одним примером синтеза подобных соединений является взаимодействие соединения 6 с ацетатом аммония в толуоле, приводящее к получению продукта (9) (схема 4). Спектральные характеристики соединения 9 согласуются с литературными данными [10].

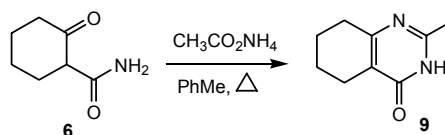


Схема 4

Таким образом, в данной работе была показана возможность синтеза потенциальных ингибиторов PARP-1, в качестве которых планируется использовать оксазины 7а–h, пиримидины 8а–f и 9, на основе легкодоступного циклогексанон-2-карбоксамиды 6.

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР ^1H записаны на приборе Bruker Avance II 400 (400,13 МГц) в растворе ДМСО- d_6 , внутренний стандарт ТМС. Масс-спектры получены на приборе MX1321 с использованием системы прямого ввода образца при температуре камеры ионизации 200°C и энергии ионизирующих электронов 70 эВ. За ходом реакции и чистотой образцов следили методом ТСХ на пластинках Silica gel 60 F_{254} (Merck) в системе элюентов хлороформ–изопропиловый спирт, 10:1.

Синтез оксазинов 7а–h (общая методика)

К 3 мл ледяной АсОН при охлаждении льдом добавляют 1 мл концентрированной H_2SO_4 и оставляют на несколько минут. Отдельно готовят раствор 1,4 г (0,01 моль) соединения 6 0,01 моль соответствующего кетона и 1 мл As_2O_3 в 3 мл ледяной АсОН. К этой смеси медленно при перемешивании и охлаждении льдом прибавляют первый раствор (H_2SO_4 +АсОН), перемешивают в течение 40 мин, затем нейтрализуют до рН~7 раствором соды. Образовавшийся осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из водного MeOH.

5,6,7,8-Тетрагидроспиро[1,3-бензоксазин-2,1'-циклогексан]-4(3H)-он (7a)

Выход 2,0 г (90%), $T_{\text{пл.}}=145\text{--}148^\circ\text{C}$. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1,20–1,60 (6H, м, 3CH_2); 1,90–2,10 (12H, м, 6CH_2); 7,88 (1H, с, NH). Масс-спектр, m/z : 221 [M] $^+$.

5,6,7,8-Тетрагидроспиро[1,3-бензоксазин-2,1'-циклопентан]-4(3H)-он (7b)

Выход 0,73 г (35%), $T_{\text{пл.}}=143\text{--}145^\circ\text{C}$. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1,20–1,60 (6H, м, 3CH_2); 1,90–2,10 (10H, м, 5CH_2); 7,90 (1H, с, NH). Масс-спектр, m/z : 207 [M] $^+$.

2,2-Диметил-2,3,5,6,7,8-гексагидро-4H-1,3-бензоксазин-4-он (7c)

Выход 0,82 г (45%), $T_{\text{пл.}}=141\text{--}142^\circ\text{C}$. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1,45 (6H, с, 2CH_3); 1,63–1,85 (4H, м, 2CH_2); 1,95–2,05 (4H, м, 2CH_2); 7,90 (1H, с, NH). Масс-спектр, m/z : 181 [M] $^+$.

2-Этил-2-метил-2,3,5,6,7,8-гексагидро-4H-1,3-бензоксазин-4-он (7d)

Выход 1,07 г (40%), $T_{\text{пл.}}=145\text{--}147^\circ\text{C}$. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 0,97 (3H, т, CH_3 , J=6,8); 1,61–1,85 (4H, м, 2CH_2); 1,73 (3H, с, CH_3); 1,95–2,05 (6H, м, 3CH_2); 7,90 (1H, с, NH). Масс-спектр, m/z : 195 [M] $^+$.

2,2-Диэтил-2,3,5,6,7,8-гексагидро-4H-1,3-бензоксазин-4-он (7e)

Выход 0,98 г (47%), $T_{\text{пл.}}=139\text{--}141^\circ\text{C}$. Спектр

ЯМР ^1H , δ , м.д.: 0,97 (3H, т, CH_3 , J=6,8); 1,63–1,85 (4H, м, 2CH_2); 1,91–2,05 (8H, м, 4CH_2); 7,90 (1H, с, NH). Масс-спектр, m/z : 209 [M] $^+$.

2-Бутил-2-метил-2,3,5,6,7,8-гексагидро-4H-1,3-бензоксазин-4-он (7f)

Выход 0,98 г (47%), $T_{\text{пл.}}=135\text{--}137^\circ\text{C}$. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 0,90 (3H, т, CH_3 , J=6,82); 1,63–1,85 (4H, м, 2CH_2); 1,73 (3H, с, CH_3); 1,91–2,10 (10H, м, 5CH_2); 7,92 (1H, с, NH). Масс-спектр, m/z : 223 [M] $^+$.

2-Метил-2,3,5,6,7,8-гексагидро-4H-1,3-бензоксазин-4-он (7g)

Выход 1,17 г (70%), $T_{\text{пл.}}=145\text{--}147^\circ\text{C}$. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1,37 (3H, д, CH_3 , J=5,86); 1,43–1,85 (4H, м, 2CH_2); 1,89–2,07 (4H, м, 2CH_2); 5,09 (1H, м, CH); 7,91 (1H, с, NH). Масс-спектр, m/z : 167 [M] $^+$.

2-Фенил-2,3,5,6,7,8-гексагидро-4H-1,3-бензоксазин-4-он (7h)

Выход 1,56 г (68%), $T_{\text{пл.}}=148\text{--}153^\circ\text{C}$. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1,41–1,75 (4H, м, 2CH_2); 1,92–2,05 (4H, м, 2CH_2); 5,50 (1H, с, CH); 7,86 (1H, с, NH); 7,28–7,49 (5H, м, Ph). Масс-спектр, m/z : 229 [M] $^+$.

Метод А. 1,3,4,5,7,8,9,10-Октагидрофенантридин-6(2H)-он (8a)

В 25 мл толуола при нагревании растворяют 1,41 г (0,01 моль) соединения 6 добавляют 1,03 мл (0,01 моль) циклогексанона и 1 г TsOH и кипятят с насадкой Дина-Старка 4 ч. После охлаждения выпавший осадок отфильтровывают и кристаллизуют из ДМФА. Выход 1,83 г (90%), $T_{\text{пл.}}=288\text{--}290^\circ\text{C}$ (в литературе [11] – 287–289°C). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1,50–1,70 (4H, уш. с, 2H-7, 2H-8); 1,85–2,00 (2H, м, H-2); 2,20–2,74 (10H, м, 5CH_2); 11,7 (1H, уш. с, NH). Масс-спектр, m/z : 203 [M] $^+$.

Аналогично получают соединения 8b,f.

1,2,3,4,6,7,8,9-Октагидро-5H-циклопентаизохинолин-5-он (8b)

Выход 1,80 г (95%), $T_{\text{пл.}}=292\text{--}294^\circ\text{C}$. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1,51–1,72 (4H, уш. с, 2H-7, 2H-8); 1,85–2,01 (2H, м, H-2); 2,20–2,69 (8H, м, 4CH_2); 11,3 (1H, уш. с, NH). Масс-спектр, m/z : 188 [M-1] $^+$.

3-Метил-4-пропил-5,6,7,8-тетрагидроизохинолин-1(2H)-он (8f)

Выход 1,74 г (85%), $T_{\text{пл.}}=262\text{--}263^\circ\text{C}$. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 0,90 (3H, т, CH_3 , J=6,75); 1,41–1,74 (4H, уш. с, 2CH_2); 1,89–2,00 (2H, м, 2H-2); 2,25 (3H, с, CH_3); 2,22–2,68 (6H, м, 3CH_2); 11,27 (1H, уш. с, NH). Масс-спектр, m/z : 205 [M] $^+$.

Метод Б

Соединение 8a

Раствор 0,01 моль соединения 7a в 5 мл АсОН нагревают при 60°C в течение 0,5 ч, охлаждают, нейтрализуют раствором щелочи до щелочной среды, выпавший осадок отфильтровывают. Выход 1,90 г (95%), $T_{\text{пл.}}=288\text{--}290^\circ\text{C}$

(ДМФА).

Аналогично получают соединения 8b–f.

Соединение 8b

Выход 1,66 г (88%).

3-Метил-5,6,7,8-тетрагидроизохиолин-1(2H)-он (8c)

Выход 0,98 г (60%), $T_{пл.}=215–217^{\circ}\text{C}$ (в литературе [12] – 217°C).

3,4-Диметил-5,6,7,8-тетрагидроизохиолин-1(2H)-он (8d)

Выход 0,44 г (25%), $T_{пл.}=282–283^{\circ}\text{C}$ (в литературе [12] – $282–283^{\circ}\text{C}$).

4-Этил-3-метил-5,6,7,8-тетрагидроизохиолин-1(2H)-он (8e)

Выход 0,67 г (35%), $T_{пл.}=275–278^{\circ}\text{C}$. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1,08 (3H, т, CH_3 , $J=6,8$); 1,39–1,72 (4H, уш. с, 2CH_2); 2,21–2,65 (6H, м, 3 CH_2); 2,23 (3H, с, CH_3); 11,31 (1H, уш. с, NH). Масс-спектр, m/z : 191 $[\text{M}]^+$.

Соединение 8f

Выход 0,92 г (45%), $T_{пл.}=262–263^{\circ}\text{C}$.

2-Метил-5,6,7,8-тетрагидрохинолин-4(3H)-он (9)

При комнатной температуре в 25 мл толуола смешивают 1,41 г (0,01 моль) соединения 6 и 1,93 г (0,025 моль) ацетата аммония и нагревают при кипении 1 ч с насадкой Дина-Старка. Затем реакционную смесь охлаждают, добавляют 10 мл гексана и фильтруют выпавший осадок соединения 9. Выход 1,31 г (80%), $T_{пл.}=207–209^{\circ}\text{C}$ (в литературе [10] – $207–209^{\circ}\text{C}$). Очищают перекристаллизацией из метанола.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Smith S. The world according to PARP // Trends Biochem. Sci. – 2001. – Vol.26. – P.174-179.
2. Poly(ADP-ribose) polymerase gene disruption renders mice resistant to cerebral ischemia / Eliasson M.J.L., Sampei K., Mandir A.S., Hurn P.D., Traystman R.J., Bao J., Pieper A., Wang Z.O., Dawson T.M., Snyder S.H., Dawson V.L. // Nat. Med. – 1997. – № 3. – P.1089-1095.
3. Ruf A., Murcia G., Schulz G.E. Inhibitor and NAD^+ binding to poly(ADP-ribose) polymerase as derived from crystal structures and homology modeling // Biochemistry. – 1998. – № 37. – P.3893-3900.
4. Specific inhibitors of poly(ADP-ribose) synthetase and mono(ADP-ribosyl)transferase / M. Banasik, H. Komura, M. Shimoyama, K. Ueda // J. Biol. Chem. – 1992. – № 267. – P.1569-1575.
5. Пат. WO 99/11624 США, МКИ С 07 D 221/12. Охосубstituted compounds process of making and compositions and methods for inhibiting PARP activity / J.-H Li, K.L. Tays, L. Zhang (США); Guilford Pharmaceuticals. – № 98/18195; Заявл. 02.09.98; Опубли. 11.03.99. – 152 с.
6. Peukert S., Schwahn U., New inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) // Exp. Opin. Ther. Pat. – 2004. – № 14. – P.1531-1551.
7. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) inhibitors based on a tetrahydro-1(2H)-isoquinolinone scaffold: synthesis, biological evaluation and X-ray crystal structure / Peukert S., Schwahn U., Gьssregen S., Schreuder H., Hofmeister A. // Synthesis. – 2005. – № 9. – P.1550-1554.
8. Bischoff C., Herma H. Eine einfache synthese des cyclohexanon-2-carbonsдure-amids sowie dessen reaktionen // J. prakt. Chem. – 1976. – № 318. – P.773-778.
9. Zigeuner G., Adam W., Weichsel H. Ёber heterocyclen, 11. (kurze) Mitt.: Ёber 2-Oxo- bzw. 2-Thionooctahydrochinazolin-4-spirocyclohexane // Monatsh. Chem. – 1966. – № 97. – P.55-56.
10. Fьlup F., Bernath G. A novel preparation of 5,6,7,8-tetrahydroquinazolin-4(3H)-ones // Synthesis. – 1985. – № 12. – P.1148-1149.
11. Zigeuner G., Gьbitz G. Ёber das Tetrahydrospiro [cyclohexan-1,22 (12 H)-chinazolin]-42 (32 H)-on // Monatsh. Chem. – 1970. – № 101. – P.1547-1558.
12. Bischoff C., Herma H. Ёber die synthese von α -pyridonen aus ketonen und harnstoff, // J. prakt. Chem. – 1976. – № 318. – P.891-894.

Поступила в редакцию 11.02.2014