

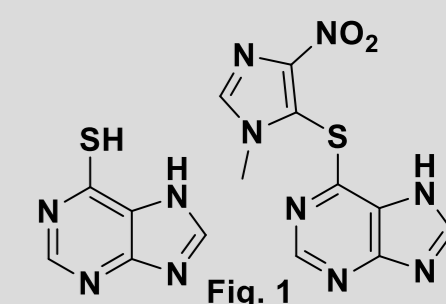
Piotr Szyk^{1,2}, Jakub Kubiak¹, Maciej Kulawik¹, Dariusz Młynarczyk¹, Tomasz Gośliński¹

¹Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Rokietnicka 3, 60-806 Poznań, Polska

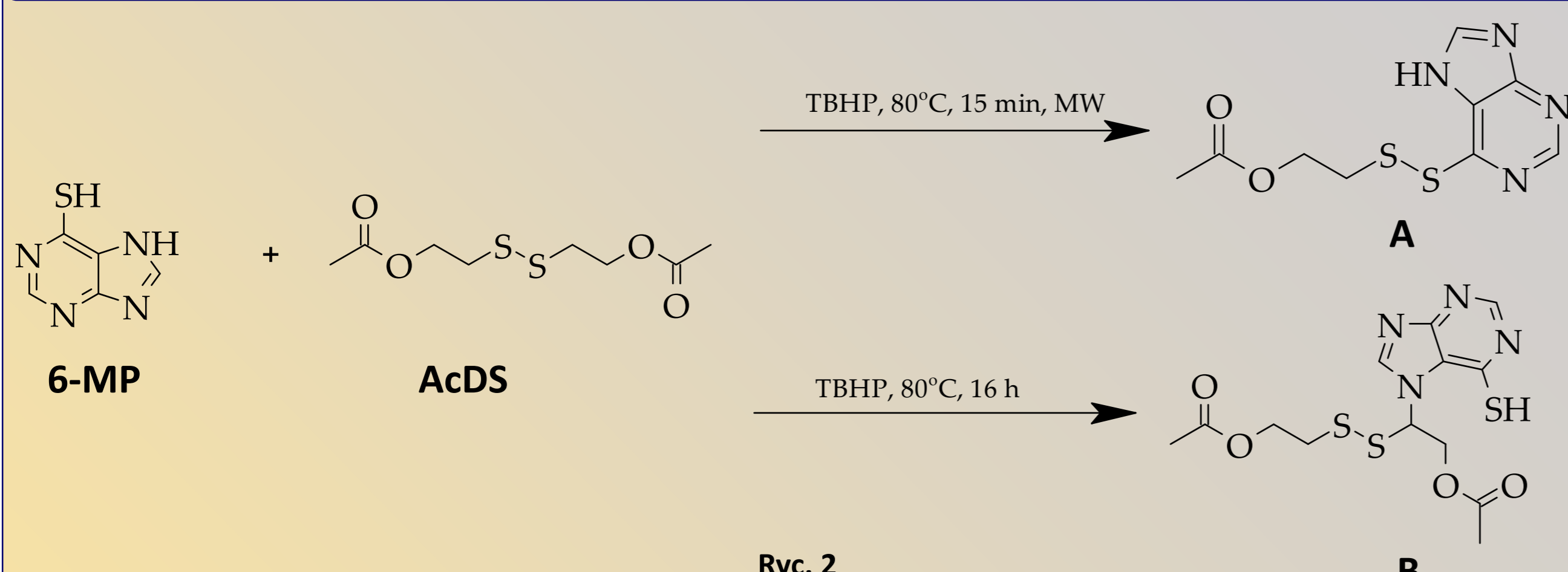
²Szkoła Doktorska Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Bukowska 70, 60-812 Poznań, Polska

Wstęp

Puryny stanowią grupę związków heterocyklicznych o dużym znaczeniu w farmacji i medycynie. Przeprowadzone na przestrzeni lat modyfikacje układu purynowego z użyciem podstawników alkilowych doprowadziły do uzyskania nowych pochodnych o interesujących aktywnościach biologicznych i zastosowaniach medycznych. Produkty reakcji alkilowania puryn charakteryzują się często unikalnym działaniem przeciwwirusowym, przeciwnowotworowym oraz immunosupresyjnym. Stwierdzono także, że wprowadzenie do struktury puryny grupy alkiłodwusiarczkowej skutkuje wzrostem aktywności biologicznej [1],[2], a dotychczas zsyntezowane związki wykazały się działaniem przeciwnowotworowym, przeciwdrobnoustrojowym [3] oraz przeciwwirusowym [4] (Ryc. 1).



Synteza pochodnych puryn

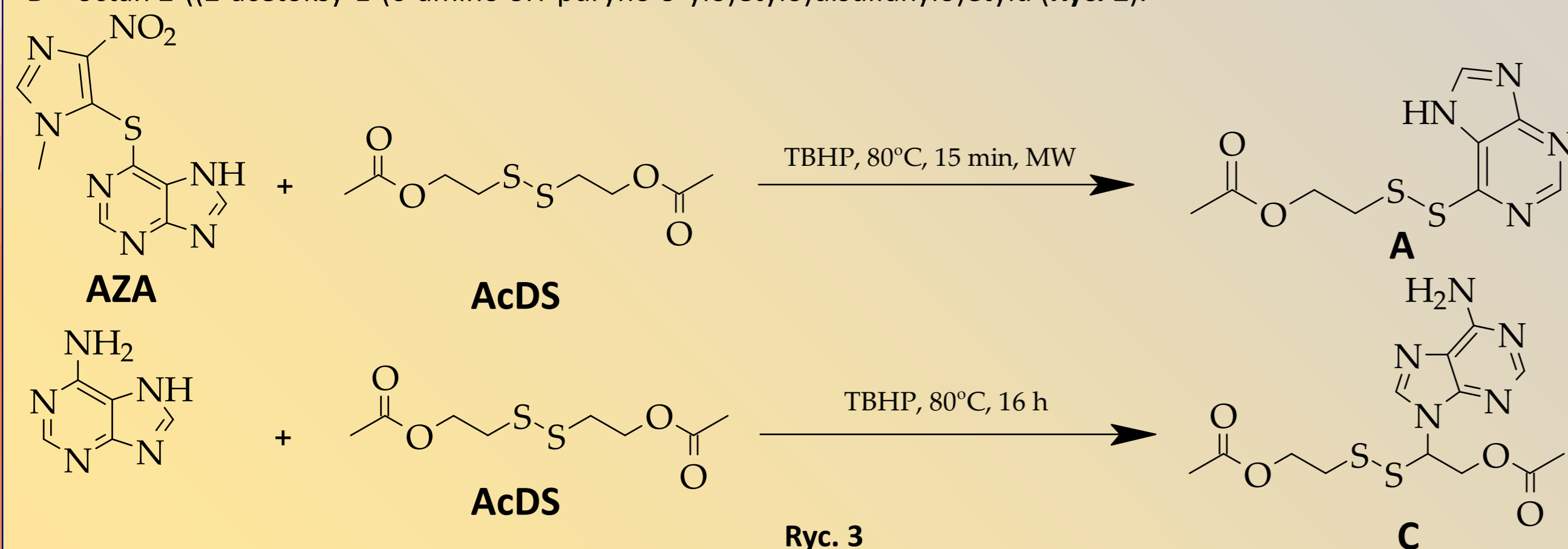


Ryc. 2

Podjęto się modyfikacji 6-merkaptopuryny (**6-MP**) na drodze reakcji z diocetatem disulfanodiylo-2,2'-dietylu (**AcDS**). Reakcje prowadzono w różnych warunkach: aparacie do syntezy mikrofalowej (**A**) i metodą literaturową (**B**). Uzyskano 2 różne produkty:

A – octan 2-[(7H-puryno-6-ylodisulfanylo)et-1-ylu,

B – octan 2-[(2-acetoksy-1-(6-amino-9H-puryno-9-yl)etylo)disulfanylo]etylu (Ryc. 2).



Ryc. 3

Przeprowadzono analogiczne reakcje dla azatiopryny (**AZA**) i adeniny. W ten sposób uzyskano związki **A** i 9-[2-acetoksy-1-(2-acetoksyetylo)disulfanylo]etylo-6-aminopurynę **C** (Ryc. 3).

Produkt reakcji oczyszczano na drodze ekstrakcji w układzie faz dichlorometan:woda i chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym z fazą ruchomą dichlorometan:metanol 35:1, polaryzując do 15:1.

Analiza warunków reakcji

W celu doboru odpowiednich warunków reakcji wykonano szereg reakcji syntezy związku **B** zgodnie z Tab. 1.

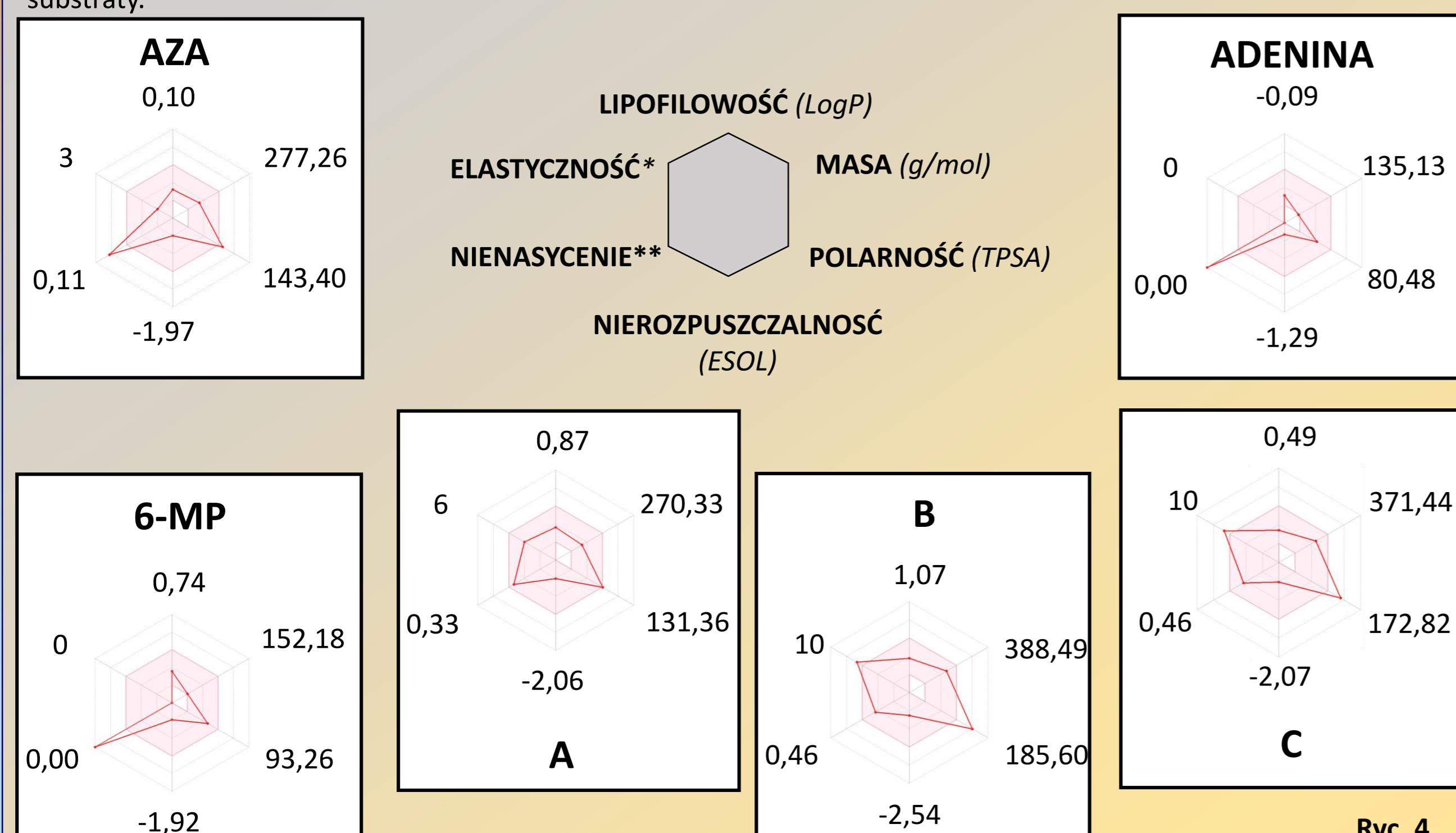
Tab. 1.

Nr	TBHP (ekw.)	AcDS (ekw.)	T [°C]	t [h]	Rozpuszczalnik	Wydajność [%]
1	7,45	15	80	8	-	-
2	7,45	15	80	16	-	5,97
3	7,45	15	80	24	-	6,03
4	3,725	15	80	16	-	8,55
5	11,175	15	80	16	-	1,20
6	14,9	15	80	16	-	-
7	7,45	20	80	16	-	7,17
8	7,45	10	80	16	-	<0,2
9	7,45	15	80	16	5 cm ³ DMF	-
10	7,45	15	80	16	5 cm ³ DCM	3,31
11	7,45	15	70	16	-	2,13
12	7,45	15	90	16	-	-

Synteza związku **B** przebiegała z najwyższą wydajnością w warunkach bez rozpuszczalnika, w czasie powyżej 16 h i temperaturze 80°C – zarówno obniżenie jak i podwyższenie temperatury reakcyjnej wiązało się ze spadkiem wydajności. Odczynnikiem mającym największy wpływ na wydajność syntezy był nadtlenek *tert*-butylu.

Analiza SwissADME

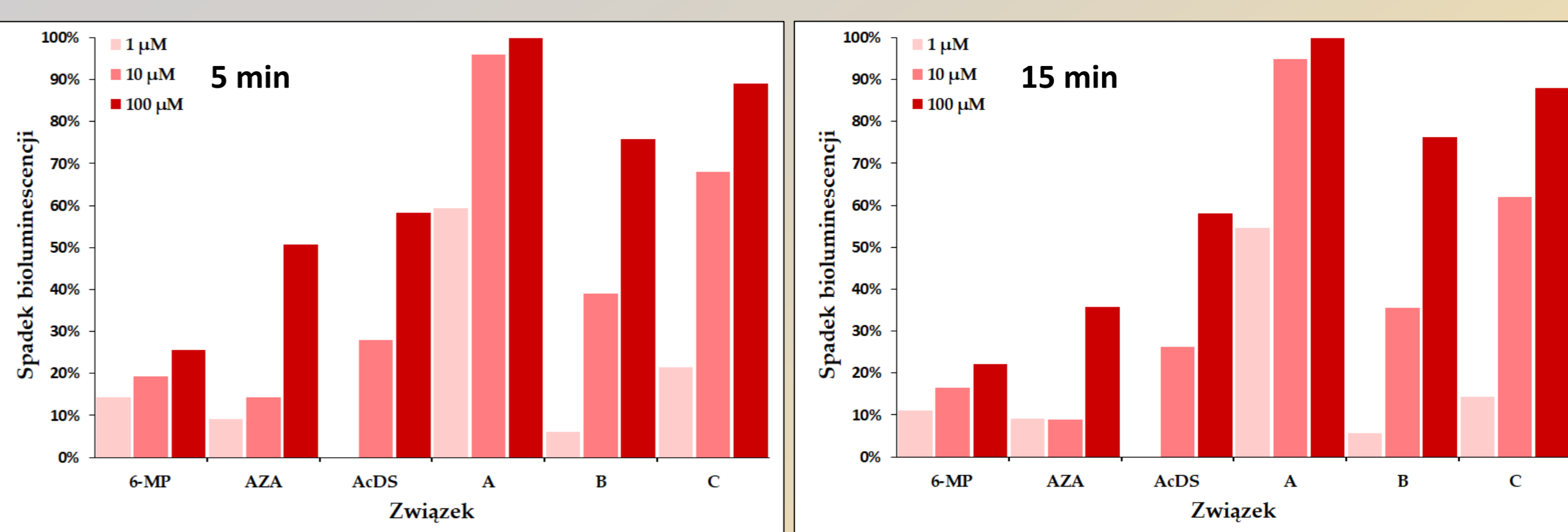
Eksperymenty obliczeniowe pozwoliły na oszacowanie kilku ważnych parametrów fizykochemicznych związków **A**, **B** oraz **C**, które zestawiono na Ryc. 4. Uzyskane związki charakteryzują się odmiennym profilem właściwości niż ich substraty.



Ryc. 4.

*liczba wiązań obracających się; ** utatek węgla sp³; TPSA - topologiczne polarne pole powierzchni; ESOL – logarytm dziesiętny z rozpuszczalności w wodzie wyrażonej w mol/l.

Test Microtox



Ryc. 5

Spadek bioluminescencji po czasie 5 i 15 min dla substratów (**6-MP**, **AZA** i **AcDS**) i produktów (**A-C**) przedstawiono na Ryc. 5. Zmiana bioluminescencji w czasie, wahała się przeważnie w zakresie do 3 punktów procentowych, osiągając wyższe wartości po 15 min. Wyjątek stanowiła **AZA** w stężeniu 100 µM, gdzie zmiana wyniosła ok. 15 punktów procentowych i **C** w stężeniach 1 i 10 µM – odpowiednio 7 i 6 punktów procentowych. W każdym przypadku odnotowano spadek bioluminescencji w zależności od stężenia po 15 min i 5 min. Dla produktów **A-C** zaobserwowano większy spadek bioluminescencji aniżeli dla substratów **AZA**, **6-MP** i **AcDS**. Wyjątek stanowi produkt **B**, który w stężeniu 1 µM jest mniej toksyczny od **AZA** i **6-MP** w tym samym stężeniu. Za nietoksyczne uznaje się wyniki poniżej 20% spadku bioluminescencji. Regułę tę spełniają **6-MP** i **AZA** w stężeniach 1 i 10 µM, **AcDS** w stężeniu 1 µM (posiadający najmniejszy spadek bioluminescencji), produkt **B** w stężeniu 1 µM, a także granicznie produkt **C** w stężeniu 1 µM.

Wnioski

- Wykonano szereg reakcji chemicznych 6-merkaptopuryny, azatiopryny, 6-chloropuryny i adeniny z diocetatem disulfanodiylo-2,2'-dietylu, co pozwoliło na uzyskanie związków **A-C**, z wydajnościami nieprzekraczającymi 10%.
- Synteza produktu **B** została poddana optymalizacji, podczas której określono parametry krytyczne przebiegu procesu, stwierdzając znaczący wpływ proporcji użytego utleniacza względem wyjściowej puryny oraz temperatury na wydajność.
- W celu dalszej optymalizacji warunków sprzężenia alkiłodwusiarczków z purynami zalecane jest powtórzenie reakcji z wykorzystaniem utleniaczy, takich jak (diacetoksyjodo)benzen, TBHP jako roztwór w dekanie i 2-(*tert*-butyloperoksy)-2-metylopropan z jodem.
- Związki **A**, **B** i **C** wykazują większą toksyczność ostrą aniżeli substraty **6-MP**, **AZA** i **AcDS** w teście Microtox względem bakterii *Aliivibrio fischeri*. Są więc to związki o obiecujących właściwościach dla chemii medycznej i zachęcających parametrach do kontynuacji badań.

Bibliografia

[1] Gupta, Chem. Rev. 1994, 94, 1507

[2] Yang et al. Chem. Pap. 2020, 74, 1621

[3] Fleysher. J. Med. Chem. 1978, 15, 187

[4] Emery et al. ACS Chem. Neurosci. 2017, 8, 1500