

На правах рукописи



Решетников Данила Владимирович

**СИНТЕЗ И ХИМИЧЕСКИЕ МОДИФИКАЦИИ ГАЛОГЕН-,
АМИНО- И АЛКИНИЛЗАМЕЩЕННЫХ ПРИРОДНЫХ
МЕТИЛКСАНТИНОВ**

1.4.3. Органическая химия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Новосибирск – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Новосибирском институте органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН).

Научный руководитель: **Шульц Эльвира Эдуардовна**
доктор химических наук, профессор
заведующая лабораторией медицинской химии,
НИОХ СО РАН, г. Новосибирск

Официальные оппоненты: **Глушков Владимир Александрович**
доктор химических наук, доцент
старший научный сотрудник лаборатории синтеза
активных реагентов, «Институт технической
химии УрО РАН» – филиал ФГБУН Пермского
федерального исследовательского центра УрО
РАН (ИТХ УрО РАН), г. Пермь

Степанов Александр Александрович
кандидат химических наук
научный сотрудник лаборатории магнитных
явлений, ФГБУН Институт химической кинетики
и горения им. В.В. Воеводского Сибирского
отделения Российской академии наук (ИХКГ СО
РАН), г. Новосибирск

Ведущая организация: Уфимский институт химии – обособленное
структурное подразделение ФГБНУ Уфимского
федерального исследовательского центра РАН
(УФИХ УФИЦ РАН), г. Уфа.

Защита состоится «12» мая 2023 г. в 09:30 на заседании диссертационного совета 24.1.192.01, созданного на базе НИОХ СО РАН по адресу: Российская Федерация, 630090, г. Новосибирск, проспект акад. Лаврентьева, д. 9.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НИОХ СО РАН и на сайте по адресу: <http://web3.nioch.nsc.ru/>. Текст автореферата размещен на сайте Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации по адресу: <https://vak.minobrnauki.gov.ru/main>.

Отзывы на автореферат в 2-х экземплярах, заверенных печатью, просим отправлять по адресу: Российская Федерация, 630090, г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, д. 9, НИОХ СО РАН, ученому секретарю диссертационного совета 24.1.192.01; e-mail: dissovet@nioch.nsc.ru. Автореферат разослан «29» марта 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор химических наук



Лузина Ольга
Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Структурный фрагмент ксантина, или имидазо[4,5-*d*]пиримидиндиона, лежит в основе молекул важной группы пуриновых алкалоидов – кофеина, теобромина и теофиллина. Механизм физиологической активности этих соединений связан с угнетением фосфодиэстеразы, блокадой аденозиновых рецепторов и накоплением внутриклеточного медиатора сАМР. Выявлено существенное влияние структурных изменений на биологическую активность метилксантинов. Синтезированы полусинтетические производные пуриновых алкалоидов, представляющие практически ценные бронхолитики, антиоксиданты, нейропротекторы и противовоспалительные агенты. Большое значение приобретает изучение путей целенаправленной химической модификации метилксантинов с использованием достижений современного органического синтеза. В этой связи вполне перспективным представляется применение металлокомплексного катализа или мультикомпонентных подходов. В рамках данной диссертационной работы проведены исследования, направленные на разработку каталитических методов модификации метилксантинов, обеспечивающих селективное введение аминокислотных, алкильных, 1,2,3-триазольных и аминопропаргильных заместителей в положение С-8 кофеина и аминобутильных заместителей в положения N-1 и N-7 теобромина и теофиллина.

Степень разработанности темы. В литературе описан синтез большого ряда N-1, N-7 и С-8-замещенных ксантинов с использованием в качестве исходных соединений высокофункционализированных 1,3-дизамещенных 5,6-диаминопиримидинов, галоген- или амино(диамино)замещенных урацилов. Такие методы имеют определенные ограничения, связанные с несовершенством методов циклизации и возможностью варьирования структуры вводимых заместителей. В последние годы активно развиваются исследования, направленные на прямую модификацию метилксантинов с введением в структуры заместителей по атому С-8 кофеина и N-1, N-7 диметилксантинов. Основные современные подходы направленной модификации метилксантинов основаны на реакциях окислительного кросс-сочетания (арилирование, гетероарилирование и алкенилирование различными алкенами) и реакциях С-Н-функционализации в условиях окислительно-восстановительного катализа. Большое разнообразие азот- и серозамещенных по атому С-8 производных кофеина синтезировано на основе превращений 8-бромкофеина, 8-бром-7-замещенных теофиллинов и 8-меркапто-7-замещенных теофиллинов. Синтез некоторых 8-алкил- и 8-пропинилзамещенных производных кофеина выполнен по реакции Соногаширы 8-галогензамещенных ксантинов.

Выполнены единичные примеры модификации диметилксантинов по атомам азота N-1 и N-7, позволившие синтезировать алкильные, алкеновые, ацетиленовые и 1,2,3-триазольные производные. Превращения кофеина и бутилзамещенных ксантинов с введением в структуру аминокислотных заместителей не изучались. Взаимодействие 8-этинилкофеина, 1-(проп-2-инил)теобромина и 7-(проп-2-инил)теофиллина с формальдегидом и вторичными аминами ранее не изучалось.

Цель работы – разработка эффективных методов синтеза и превращений галоген- и алкинилзамещенных производных кофеина, теобромина и теофиллина.

В соответствии с поставленной целью данная работа сводилась к решению следующих задач:

1. Синтез гибридных структур, содержащих лактонный фрагмент в положении C-8 кофеина.
2. Исследование реакции Бухвальда-Хартвига 8-бромкофеина с производными аминокислот.
3. Разработка метода получения 8-этинилкофеина и его реакция A³-сочетания с формальдегидом и вторичными аминами.
4. Исследование Cu-катализируемой трехкомпонентной реакции 1-(проп-2-инил)теобромина и 7-(проп-2-инил)теофиллина с формальдегидом и вторичными аминами.
5. Разработка селективного метода получения 8-[алкил(арил)-1,2,3-триазол-4-ил]-1,3,7-триметил-1*H*-пурин-2,6-дионов на основе CuAAC-реакции 8-этинилкофеина с азидами различного строения.
6. Получение данных по взаимосвязи структура – антихолинэстеразная активность в ряду замещенных по атому азота 8-аминопропаргильных производных кофеина и метилксантинов, содержащих 4-(амино)бут-2-инильный заместитель в положениях N-1 и N-7.

Научная новизна. Изучены условия реакции 8-(аминоалкиламино)кофеинов и 8-(пиперазинил)кофеина с сесквитерпеновыми лактонами, содержащими активную метиленовую группу. Установлено, что выход продуктов реакции аза-Михаэля не зависит от строения метиленлактона. Изучены условия реакции кросс-сочетания 8-бромкофеина, 8-бром-1-бутилтеобромина и 8-бром-7-бутилтеофиллина с гидрохлоридами метиловых или *трет*-бутиловых эфиров α -, β -, или ω -аминокислот. Показано, что проведение реакции в толуоле в присутствии каталитической системы Pd(OAc)₂ – XantPhos и Cs₂CO₃ в качестве основания в условиях микроволновой активации позволяет с высокими выходами синтезировать соответствующие производные ксантиновых алкалоидов – кофеина, 1-бутилтеобромина и 7-бутилтеофиллина, содержащих в структуре фрагменты эфиров аминокислот. Исследовано взаимодействие 8-бромкофеина с триметилсилилацетиленом. Определены оптимальные условия реакции

Соногаширы и десилилирования для синтеза 8-этинилпроизводных кофеина. Предложен метод получения 8-(иодэтинил)кофеина. Изучена трехкомпонентная реакция 8-этинилкофеина, 1-(проп-2-инил)теобромина и 7-(проп-2-инил)теофиллина со вторичными аминами и формальдегидом в присутствии соединений меди. Синтезирован обширный ряд ранее неизвестных замещенных по атому азота 8-(аминопропинил)-1,3,7-триметил-1*H*-пурин-2,6-дионов. Предложены условия прямого введения 4-(амино)бут-2-инильного заместителя по атому азота N-1 теобромина или N-7 теофиллина. На основе CuAAC-реакции 8-этинилкофеина или 8-(иодэтинил)кофеина с различными азидами предложен региоселективный метод синтеза 8-[алкил(арил)-1,2,3-триазол-4-ил]- или 8-[1-алкил-5-иод-1,2,3-триазол-4-ил]-1,3,7-триметил-1*H*-пурин-2,6-дионов. В ряду синтезированных производных ксантинов найдены соединения, проявляющие свойства обратимых ингибиторов ацетилхолинэстеразы. Выявлены структурные особенности производных ксантинов, обеспечивающие ингибирование фермента в микромолярных и наномолярных концентрациях.

Теоретическая и практическая значимость. Полученный комплекс новых экспериментальных данных по превращениям 8-бромкофеина, 8-этинилкофеина, 1-(проп-2-инил)теобромина и 7-(проп-2-инил)теофиллина открывает новые возможности модификаций остова с селективным введением заместителей в положения C-8, N-1 или N-7 метилксантинов и дополняет теоретические представления о трехкомпонентных реакциях с участием функционализированных ксантинов.

Широкое варьирование заместителей в субстратах и реагентах привело к созданию химических библиотек ранее неизвестных соединений, перспективных в плане изучения биологической активности.

По результатам проведенного изучения биологической активности сотрудниками Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины выявлены соединения, обладающие антихолинэстеразной активностью, и получены данные о влиянии структурных особенностей заместителя при атоме азота пропаргилзамещенных ксантинов на активность, и выявлены перспективные для дальнейшего исследования агенты.

Методология и методы исследования. В ходе выполнения работы использовались современные методы органического синтеза, основанные на реакциях 1,3-диполярного циклоприсоединения, A³-сочетания и кросс-сочетания, катализируемых соединениями переходных металлов. Выделение и очистка соединений осуществлялись методами экстракции, осаждения, хроматографии и кристаллизации. В работе использовались физико-химические методы установления структуры и чистоты химических соединений: ЯМР-, ИК-, УФ-спектроскопия и масс-спектрометрия высокого разрешения.

Положения, выносимые на защиту:

1. Взаимодействие 8-(аминоалкиламино)кофеинов и 8-(аминопиперазин-1-ил)кофеина с изоалантолактоном, эпоксиизоалантолактоном или изотелекином.

2. Реакция каталитического аминирования 8-бромкофеина гидрохлоридами эфиров аминокислот.

3. Катализируемые соединениями меди одnoreакторные трехкомпонентные реакции 8-этинилкофеина, 1-(проп-2-инил)теобромина или 7-(проп-2-инил)теофиллина со вторичными аминами и формальдегидом.

4. Методы синтеза 8-этинилкофеина и 8-(иодэтинил)кофеина и оценка их активности в CuAAC-реакции с различными азидами. Синтез 8-[1-алкил-5-иод-1,2,3-триазол-4-ил]-1,3,7-триметил-1*H*-пурин-2,6-дионов по реакции 8-этинилкофеина с азидами в присутствии окислителей.

5. Строение полученных веществ на основе данных ИК-, УФ-, ¹H и ¹³C ЯМР-спектроскопии с привлечением 2D экспериментов, масс-спектрометрии и РСА.

6. Анализ взаимосвязи структура – антихолинэстеразная активность новых ксантинов, содержащих замещенные по атому азота аминопропаргильные фрагменты.

Степень достоверности обеспечена тщательностью проведения эксперимента и применением современных физико-химических методов исследования структур. Строение всех впервые полученных веществ доказано методами ¹H и ¹³C ЯМР-, ИК-, УФ-спектроскопии (в том числе с привлечением двумерных гомо- и гетероядерных экспериментов ¹H-¹H COSY, ¹H-¹³C HSQC, ¹H-¹³C HMBC, ¹H-¹H NOESY), масс-спектрометрии высокого разрешения и элементного анализа.

Апробация работы. Работа выполнялась в соответствии с планами научно-исследовательских работ Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук по приоритетному направлению 5.6 «Химические проблемы создания фармакологически активных веществ нового поколения» (программа фундаментальных научных исследований СО РАН № V.41.1, проект V.41.1.6 и V.48.1.5) и при поддержке гранта РНФ (№ 18-13-00361) и гранта РФФИ (№ 18-03-01012).

По теме диссертации опубликовано 3 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, и 3 сообщения в виде тезисов докладов.

Личный вклад соискателя состоит в поиске, анализе и обобщении научной литературы по теме диссертации. Автор принимал непосредственное участие в планировании и проведении всех химических экспериментов, обработке экспериментальных данных, анализе и интерпретации полученных результатов,

подготовке научных статей и тезисов к публикации материала, представленного в диссертационной работе.

Структура диссертации. Работа изложена на 177 страницах машинописного текста, содержит 121 схему, 9 рисунков и 12 таблиц. Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и заключения, списка цитируемой литературы (222 литературных источника) и 2 приложений.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

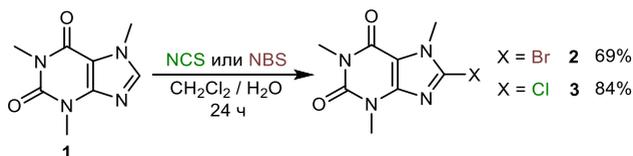
Во «**Введении**» обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, сформулированы положения, выносимые на защиту. Глава 1 «**Обзор литературы**» состоит из двух основных частей и включает рассмотрение фотокаталитических превращений метилксантинов с применением комплексов переходных металлов и реакций кросс-сочетания, катализируемых соединениями палладия и меди. Глава 2 «**Обсуждение результатов**» содержит результаты выполненных исследований и установления строения некоторых новых производных кофеина, теобромина и теофиллина, а также данные по анализу взаимосвязи структура – биологическая активность полученных производных. В главе 3 «**Экспериментальная часть**» представлены методики синтеза и физико-химические характеристики новых соединений.

1. Синтез гибридных структур, содержащих лактонный фрагмент в положении С-8 кофеина

Наиболее распространенным подходом к синтезу С-8-замещенных производных кофеина является реакция нуклеофильного замещения в соответствующих 8-галогенксантинах.

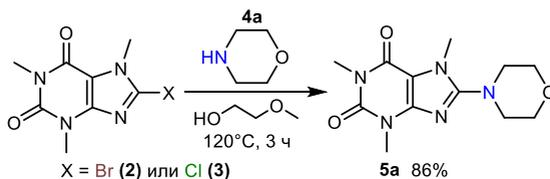
Синтез 8-бромкофеина **2** был осуществлен взаимодействием кофеина **1** с N-бромсукцинимидом в среде H_2O / CH_2Cl_2 . Показано, что использование порционного добавления NBS позволяет сократить количество реагента (с 2 экв. до 1.5 экв.) и время проведения реакции (с 120 ч до 24 ч). Выход конечного продукта реакции **2** после перекристаллизации из EtOH составил 69%. Галогенирование кофеина N-хлорсукцинимидом в аналогичных условиях позволяет получить 8-хлоркофеин **3** с выходом 84% (Схема 1).

Схема 1



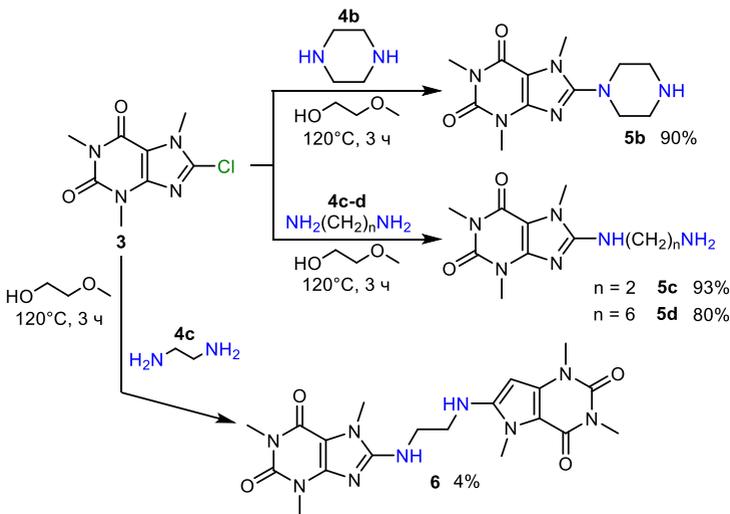
На примере взаимодействия 8-бромкофеина **2** с морфолином **4a** в EtOH при 95°C (MAOS) было установлено, что в течение 3 ч превращение проходит с конверсией 50%. Увеличение времени реакции до 18 ч позволило достичь полной конверсии с выходом желаемого 8-(морфолино)кофеина **5a** 80%. Примечателен факт отсутствия влияния природы атома галогена в 8-замещенном кофеине на выход производного в указанных условиях превращения. Увеличение температуры реакции до 120°C с использованием более высококипящего 2-метоксиэтанола (Схема 2) позволило значительно сократить время протекания реакции и добиться полной конверсии за 3 ч с выходом производного **5a** 86%.

Схема 2



Синтез соответствующих 8-аминозамещенных производных кофеина **5b-d** проводили действием избытка первичных или вторичных аминов (4 экв.) **4b-d** на 8-хлоркофеин **3** в оптимизированных условиях (Схема 3). Выходы конечных продуктов после колоночной хроматографии составили 80-93%. Следует отметить, что при использовании этилендиамина **4c** наблюдалось образование нерастворимого продукта дизамещения **6** с выходом 4%.

Схема 3

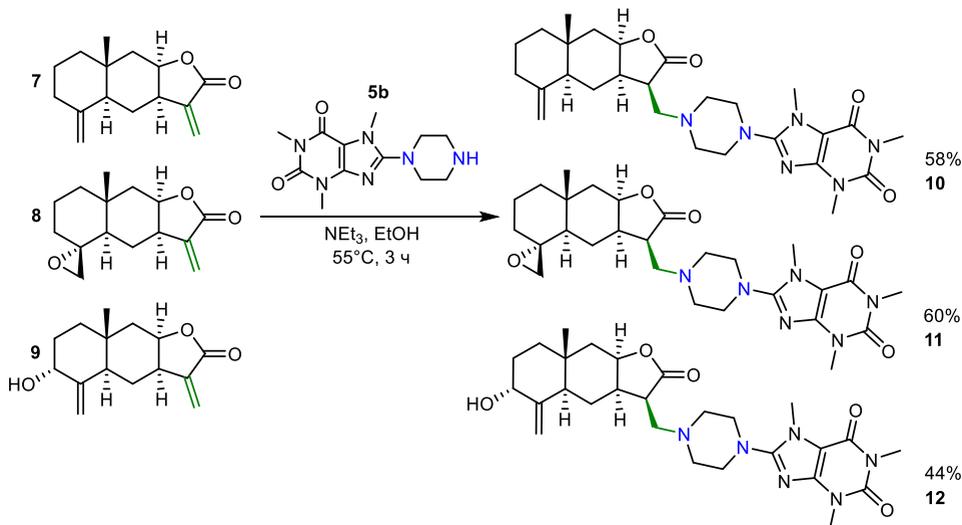


Превращения изоалантолактона **7** с алифатическими первичными и вторичными аминами по реакции аза-Михаэля протекает в этаноле при пониженной температуре без катализатора.

Показано, что при использовании амина **5a** в данной реакции для достижения полной конверсии требуется повышение температуры и использование избытка NEt_3 в качестве основания.

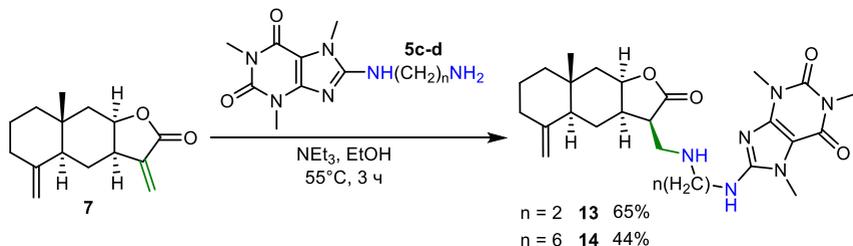
Синтез производных кофеина **1**, содержащих по положению C-8 соединенный пиперазиновым линкером фрагмент эудесманоида осуществлен взаимодействием амина **5a** с изоалантолактоном **7** и его производными эпоксиизоалантолактоном **8** и гидроксизоалантолактоном **9** в этаноле с (2 экв.) Et_3N при нагревании до 55°C (MAOS) в течение 3 ч с образованием продуктов реакции аза-Михаэля **10-12** с выходами 44-60% после колоночной хроматографии (Схема 4). Важно отметить устойчивость оксиранового цикла соединения **8** к нуклеофильной атаке и раскрытию в данном превращении, что является следствием стерического фактора *цис*-расположения C-C-связи эпоксида и метильной группы декалинового остова.

Схема 4



Аналогичные указанным выше трансформации изоалантолактона **7** с 8-(2-аминоэтиламино)кофеином **5c** и 8-(6-аминогексиламино)кофеином **5d** приводят к соответствующим производным **13** и **14** с выходами 65% и 44% (Схема 5).

Схема 5



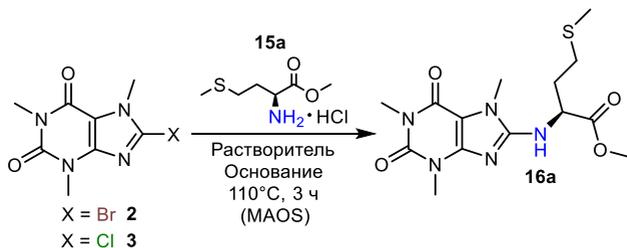
Таким образом, синтезирован ряд гибридных соединений, сочетающих в структуре два биологически активных фрагмента – сесквитерпеновый лактон и кофеин, соединенные по положению С-8 ксантина и С-13 эудесманонида диаминным линкером, на основе реакции аза-Михаэля α,β -непредельных лактонов и 8-(амино)триметилксантинов.

2. Исследование реакции каталитического аминирования 8-бромксантинов

Природные α -аминокислоты представляют собой важнейшие строительные блоки большого спектра органических систем. В свою очередь, исследовательская актуальность и доступность указанных соединений открывает возможность изучения синтетических модификаций с использованием современных подходов на основе металлкатализируемых превращений для получения новых препаратов медицинского назначения.

В данной работе нами изучено превращение 8-галогенкофеинов **2** и **3** с эфирами α -, β - и ω -аминокислот на примере взаимодействия с гидрохлоридом метилового эфира метионина **15a** (Схема 6) при 110°C в условиях микроволнового нагрева (MAOS) в течение 3 ч с использованием различных оснований и растворителей.

Схема 6



Проведение ароматического нуклеофильного замещения с использованием Cs_2CO_3 и NaOH в полярных растворителях не привело к желаемому результату. Обнаружено, что для протекания реакции требуется наличие каталитической системы. Так, использование $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (10 моль%) и

лиганда BINAP (15 моль%) в присутствии Cs₂CO₃ в ДМФА позволило достигнуть конверсии 35% (Табл. 1).

Таблица 1. Подбор условий нуклеофильного замещения в ряду галогенкофеинов

Галогенид	Основание	Растворитель	Каталитическая система	Конверсия, %
Br	NaOH	Диоксан / H ₂ O	-	-
Cl	Cs ₂ CO ₃	ДМФА	-	-
Br	Cs ₂ CO ₃	ДМФА	-	-
Br	Cs ₂ CO ₃	ДМФА	Pd(OAc) ₂ /BINAP	35

Для увеличения выхода продукта каталитического аминирования был апробирован ряд растворителей. Проведение реакции в толуоле позволяет увеличить конверсию до 60%, с выходом конечного продукта кросс-сочетания **16a** 17%. В случае замены карбоната цезия на триэтиламин или NaOtBu конверсии не наблюдалось (Табл. 2).

Таблица 2. Подбор оптимального растворителя и основания для реакции Бухвальда-Хартвига 8-бромкофеина **2** с **15a**

Растворитель	Основание	Конверсия, %	Выход, %
Толуол	Cs ₂ CO ₃	60	17
ДМФА	Cs ₂ CO ₃	35	-
Диоксан	Cs ₂ CO ₃	-	-
Толуол	NaOtBu	-	-
Толуол	NEt ₃	-	-

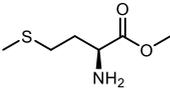
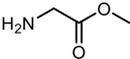
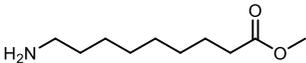
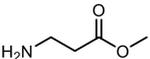
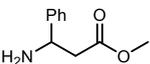
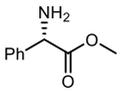
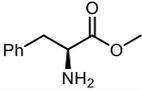
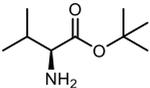
Исучено влияние каталитической системы на протекание реакции. Ацетат палладия в присутствии (*o*-Tol)₃P, бисхинолиновый комплекс Pd^{II} и Pd(PPh₃)₄ оказались неэффективными для данного превращения. В свою очередь, системы на основе бидентатных фосфиновых лигандов Dppf, BINAP и XantPhos позволили добиться значительной конверсии. Наилучший результат с конверсией 90% и выходом продукта **16a** 85% наблюдался при использовании Pd(OAc)₂ (10 моль%) / XantPhos (15 моль%) (Табл. 3).

Таблица 3. Влияние каталитической системы на проведение реакции Бухвальда-Хартвига 8-бромкофеина **2** с **15a**

Каталитическая система	Конверсия, %	Выход, %
Pd(OAc) ₂ / (<i>o</i> -Tol) ₃ P	-	-
Pd(PPh ₃) ₄	-	-
Pd(quinoline) ₂ Cl ₂	-	-
Pd(dppf)Cl ₂	2	-
Pd(OAc) ₂ /BINAP	60	17
Pd(OAc) ₂ /XantPhos	90	85

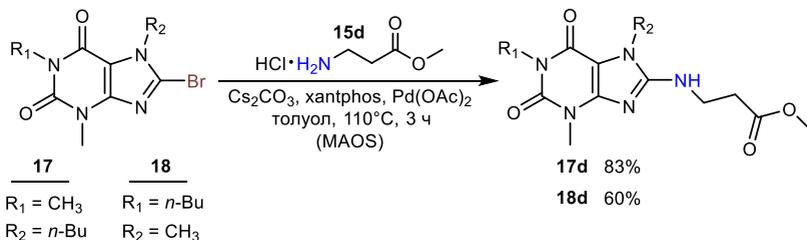
Таким образом, нами были подобраны оптимальные условия каталитического аминирования по реакции Бухвальда-Хартвига. Разработанный подход показал хорошие результаты в синтезе ряда производных кофеина **16a-h**, содержащих аминокислотные фрагменты в положении С-8 (Табл. 4).

Таблица 4. Взаимодействие 8-бромкофеина **2** с гидрохлоридами эфиров аминокислот **15a-h** в оптимальных условиях реакции Бухвальда-Хартвига

	Гидрохлорид эфира аминокислоты	Конверсия, %	Выход, %
15a		90	85 (16a)
15b		70	68 (16b)
15c		43	20 (16c)
15d		100	90 (16d)
15e		95	65 (16e)
15f		60	50 (16f)
15g		95	90 (16g)
15h		90	80 (16h)

На примере взаимодействия алкилированных ксантинов – 8-бром-7-Ви-теофиллина **17** и 8-бром-1-Ви-теобромина **18** – с гидрохлоридом метилового эфира аланина **15d** (Схема 7) также показана применимость рассмотренного выше превращения в синтезе С-8-аминозамещенных производных **17d** и **18d** с выходами 83% и 60%, соответственно.

Схема 7



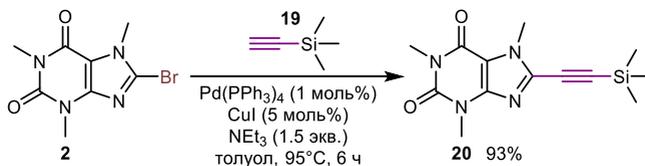
Таким образом, нами разработан каталитический вариант получения С-8-замещенных производных ксантиновых алкалоидов – кофеина **1**, 1-*n*-Бу-теофиллина **17** и 7-*n*-Бу-теобромина **18**, содержащих в структуре фрагменты эфира аминокислот.

3. Исследование трехкомпонентной реакции конденсации ацетиленовых производных метилксантинов с формальдегидом и вторичными аминами

Известно, что синтетические модификации биологически активных соединений путем введения в структуру фрагментов как интернальных, так и терминальных алкинов оказывает существенное влияние не только на выраженность фармакологического эффекта, но и позволяет получить производные с принципиально новыми свойствами.

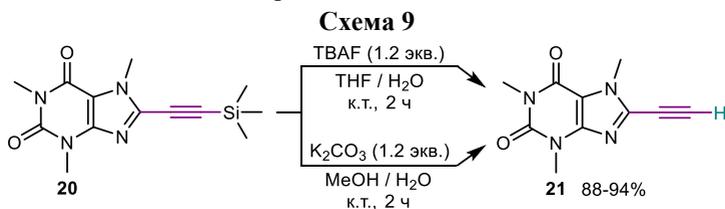
Нами разработан подход к синтезу производных кофеина, содержащих замещенный по атому азота пропаргиламинный фрагмент, с использованием реакции аминотетрамеризации. Для этой цели был осуществлен синтез производного кофеина **21**, содержащего ацетиленовый фрагмент по положению С-8, реакцией 8-бромкофеина **2** с триметилсилилацетиленом **19** в условиях реакции Соногаширы с использованием системы Pd(PPh₃)₂Cl₂ (5 моль%) / CuI (5 моль%) / PPh₃ (10 моль%). Проведением реакции в толуоле с добавлением NEt₃ в качестве основания при 95°C в течение 18 ч удалось добиться конверсии 53%. Замена катализатора на Pd(PPh₃)₄ существенно повлияла на ход превращения, что позволило в конечном итоге получить 8-(триметилсилил)кофеин **20** с выходом 93% (Схема 8).

Схема 8



Десилилирование **20** с использованием TBAF в тетрагидрофуране протекает при комнатной температуре в течение 2 ч с полной конверсией и выходом терминального ацетилена **21** 88%. Аналогичный результат получен при

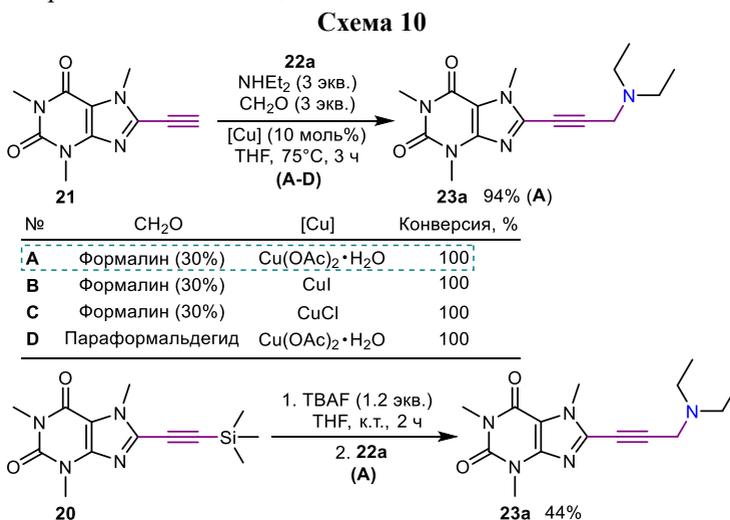
использовании K_2CO_3 в MeOH (Схема 9). Применение NH_4F в тех же условиях не позволяет достичь высокой конверсии.



Катализируемая Cu^I трехкомпонентная реакция (A^3 -coupling) между терминальным алкином, формальдегидом и амином (реакция Манниха) стала популярным подходом к синтезу пропаргиламинов.

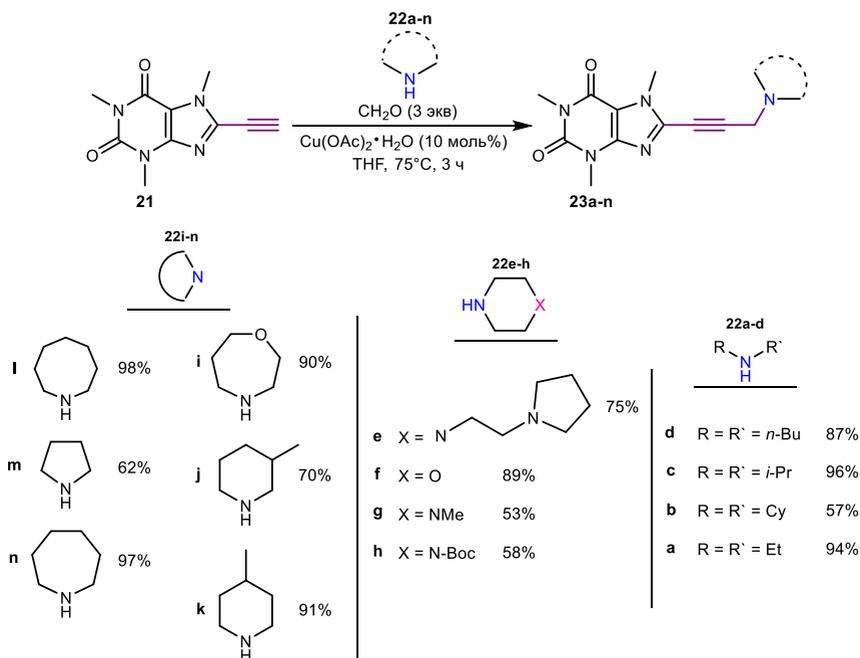
На примере взаимодействия 8-этинилкофеина **21** с диэтиламино (**22a** (3 экв.) и формальдегидом (3 экв.) в присутствии различных солей меди (10 моль%) при 75°C в тетрагидрофуране показано, что во всех случаях полная конверсия достигается за 3 ч (Схема 10). Основанный на использовании моногидрата $Cu(OAc)_2$ и формалина подход оказался наиболее практичным с точки зрения выделения индивидуального продукта **23a**, выход которого составил 94%.

Проведена one-pot процедура снятия защитной группы с последующим трехкомпонентным сочетанием для получения производного **23a** (Схема 10). Обнаружено, что обработка 8-(триметилсилил)кофеина **20** TBAF (1.2 экв.) в THF и дальнейшее добавление амина **22a** (3 экв.), формалина (3 экв.) и $Cu(OAc)_2 \cdot H_2O$ (10 моль%) в качестве катализатора позволяет выделить конечный продукт аминотилирования **23a** с выходом 44%.



В рамках изученного нами подхода расширен ряд С-8-производных кофеина, содержащих аминокпропаргильный фрагмент, с использованием различных циклических и ациклических аминов (Схема 11). Реакция 8-этинилкофеина **21** со вторичными аминами **22a-d** приводит к получению соответствующих продуктов **23a-d** с выходами 57-96%. Использование гомоморфолина, азокана, азепана, пирролидина **22i,l-n** и метилпиперидинов **22j-k**, наряду с N-замещенными пиперазинами **22e-h**, позволяет с высокими выходами 53-98% синтезировать N-замещенные 8-(1-(аминопропаргил))кофеины.

Схема 11

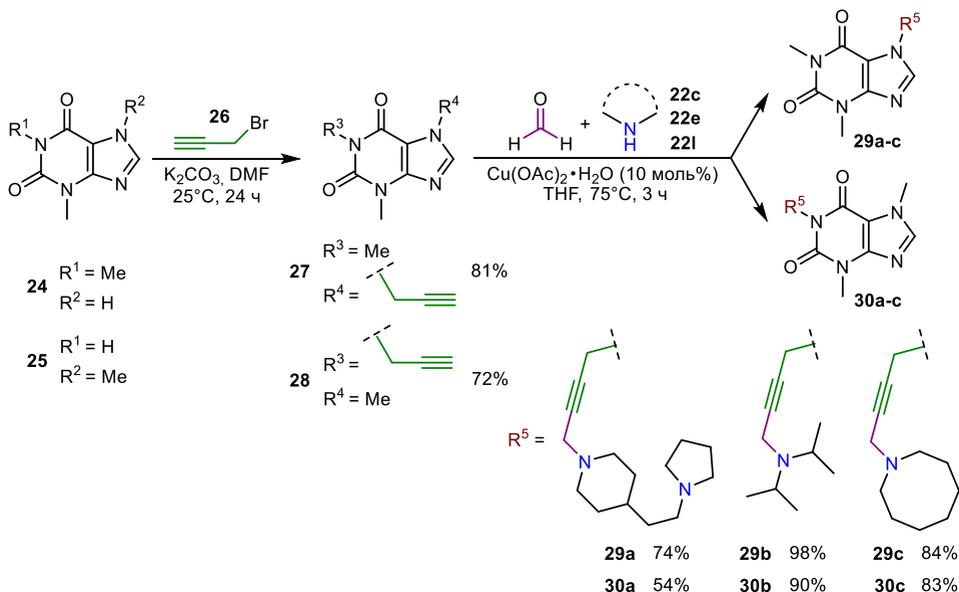


Представляет интерес синтез производных пурина, содержащих замещенный по атому азота аминокпропаргильный фрагмент в положении N-1 или N-7 метилксантинового остова. Синтез алкильных производных **27** и **28** осуществлен взаимодействием теofilлина **24** и теобромина **25** с пропаргилбромидом и карбонатом калия в ДМФА при 25°C в течение 24 ч (Схема 12).

Трехкомпонентная реакция конденсации **24** и **25** с формалином и вторичными аминами, включая диизопропиламин **22c**, азокан **22i** и 1-(2-(пирролидин-1-ил)этил)пиперазин **22e**, в присутствии моногидрата ацетата меди (II) в THF при 75°C оказалась эффективным способом синтеза 1-(4-(амино)бут-2-

инил)диметилксантинов **29a-c** и **30a-c** с соответствующими выходами 74-98% и 54-90% новых соединений (Схема 12).

Схема 12



Таким образом, нами показано, что изученный подход Cu-катализируемого трехкомпонентного сочетания (A^3 -coupling) позволяет напрямую устанавливать N-функционализированный аминопропаргильный заместитель по положениям C-8, N-1 и N-7, обеспечивая эффективный доступ к различным 8-(аминопропаргил)триметилксантинам, а также 1-(аминобут-2-инил)- и 7-(аминобут-2-инил)диметилксантинам.

4. Изучение реакции азид-алкинового циклоприсоединения 8-этинилкофеина

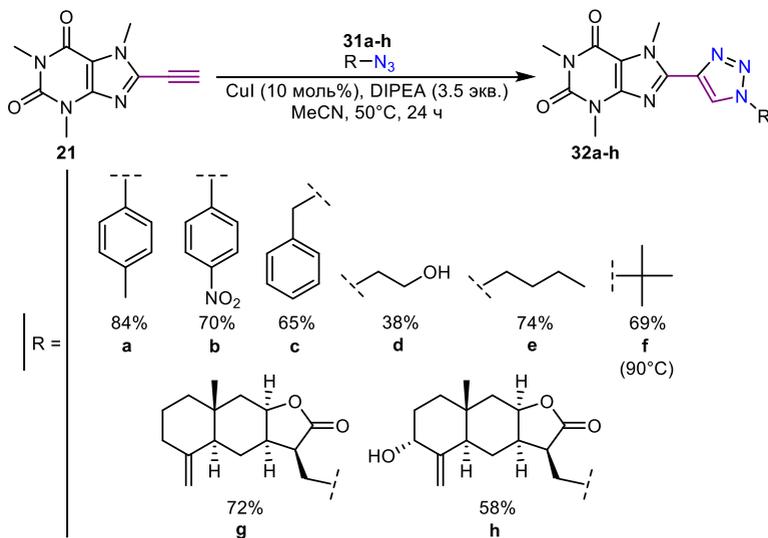
Наше внимание привлекла возможность прямой модификации 8-этинилкофеина **21** по тройной связи с образованием 1,2,3-триазольного фрагмента. Данный гетероцикл принадлежит к ряду биоизостеров пептидомиметиков, при этом 1,5-дизамещенные триазолы являются хорошими изостерами *цис*-амидов, тогда как 1,4-дизамещенные триазолы имитируют наиболее распространенные *транс*-амиды.

Нами изучена CuAAC-реакция в отношении 8-этинилкофеина **21** с азидами различного строения. Обнаружено, что при использовании $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (0.5 экв.) / Asc-Na (1.5 экв.) в качестве каталитической системы и *p*-толилазида **31a** при 50°C в среде $CHCl_3 / H_2O$ в течение 24 ч не удается достичь высокой конверсии. В то же время, нами обнаружено, что проведение реакции с использованием CuI (10 моль%) и DIPEA (3.5 экв.) в ацетонитриле при

аналогичных условиях характеризуется высокой степенью превращения исходного ацетилена **21** в соответствующий 1,4-дизамещенный 1,2,3-триазол **32a** с выходом 84%.

Использование оптимальных условий в реакции 8-этинилкофеина **21** с ароматическими **31a-b** и алифатическими **31c-f** азидами, в том числе функционализированными по положению С-13 производными изоалантолактона и изотелекина **31g-h**, позволяет синтезировать ряд С-8-гетероциклических продуктов **32a-h**, содержащих 1,4-дизамещенный 1,2,3-триазольный заместитель, с хорошими выходами 38-84% (Схема 13). Особенность превращения в случае **31f** заключается в необходимости повышения температуры реакции до 90°C для достижения полной конверсии, что сопряжено, по всей видимости, со стерическим фактором *трет*-бутильной группы азида.

Схема 13



Таким образом, использование Cu-катализируемой реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения открывает новые синтетические возможности селективной модификации 8-этинилкофеина **21** с введением 1,4-дизамещенного 1,2,3-триазольного фрагмента по положению С-8 триметилксантина.

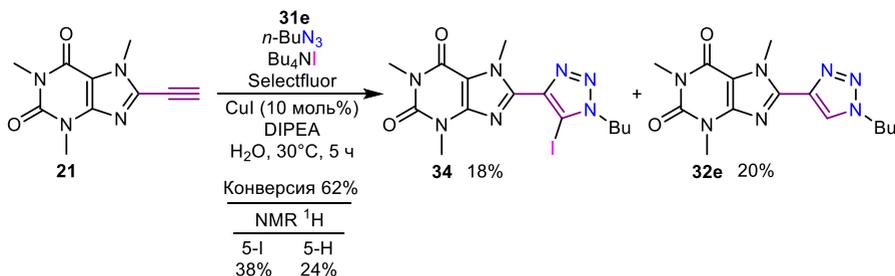
5. Синтез 8-(иодэтинил)кофеина. Изучение альтернативных подходов к получению 1,4-дизамещенных 5-иод-1,2,3-триазолов с фрагментом кофеина

В настоящее время особое внимание уделяется получению 5-галогензамещенных 1,2,3-триазолов с использованием CuAAC-реакции в присутствии источников иода и окислителей. Данный подход характеризуется образованием нескольких продуктов превращения – 5-*I*- и 5-*H*-замещенных 1,2,3-

триазолов, селективность образования которых достигается подбором условий и реагентов многокомпонентной системы.

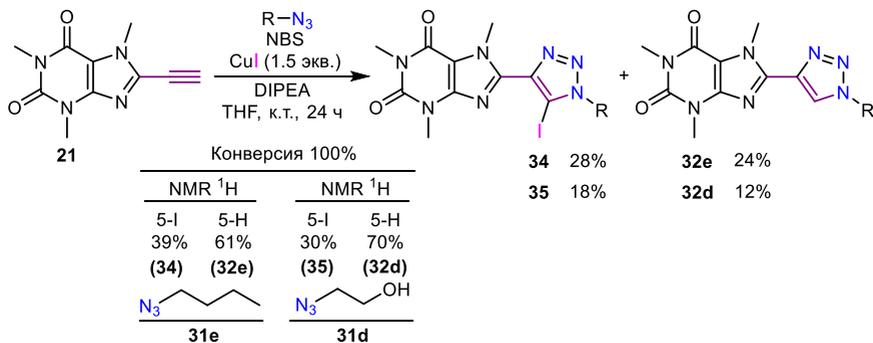
Проведение реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения 8-этинилкофеина **21** с *n*-BuN₃ **31e** при добавлении Bu₄Ni (1.1 экв.) и Selectfluor (1.2 экв.) в водной среде при 30°C в течение 5 ч отличается неполной конверсией 62% (Схема 14). Соотношение продуктов 5-И и 5-Н по данным ¹H NMR составило 38% и 24%, а выходы целевых соединений **34** и **32e** после колоночной хроматографии 18% и 20%, соответственно.

Схема 14



Далее нами изучен подход, включающий использование *N*-бромсукцинимид в качестве окислителя и избытка CuI, выполняющего функцию катализатора и источника иода. Взаимодействие 8-этинилкофеина **21** с азидами **31d** и **31e** в присутствии CuI (1.5 экв.) и NBS (1.5 экв.) в THF при комнатной температуре в течение 24 ч характеризуется полной конверсией (Схема 15). Соотношение продуктов 5-И и 5-Н по данным ¹H NMR составило 39% / 61% для *n*-BuN₃ **31e** и 30% / 70% для 2-азидоэтанола **31d**, соответственно. Выходы целевых продуктов 5-И и 5-Н составили **34** 28% / **32e** 24% и **35** 18% / **32d** 12%.

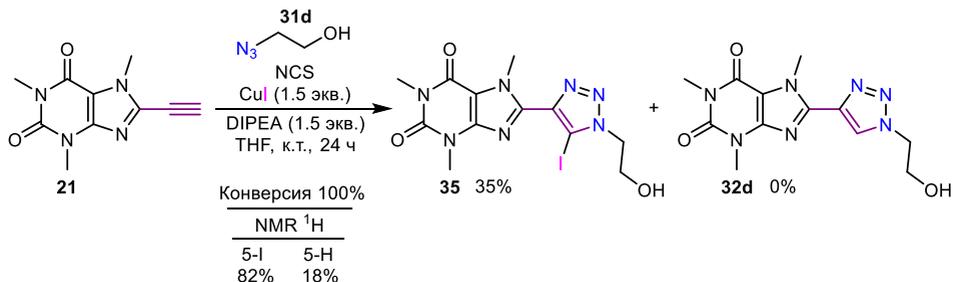
Схема 15



Найдено, что замена окислителя на *N*-хлорсукцинимид, в аналогичных вышеуказанным условиях, на примере реакции 8-этинилкофеина **21** с азидом **31d**, позволяет существенно увеличить селективность процесса в сторону образования

5-И-замещенного производного **35** (Схема 16). Соотношение продуктов 5-И и 5-Н по данным ^1H NMR составило 82% и 18%, соответственно. Соединение **32d** выделить с использованием колоночной хроматографии не удалось, при этом выход желаемого 5-И-1,2,3-триазола **35** составил 35%.

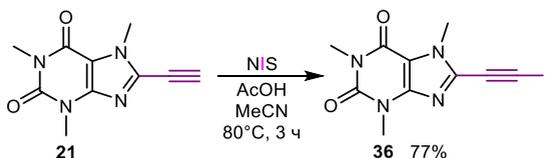
Схема 16



Важную роль в построении 5-галогензамещенного 1,2,3-триазольного фрагмента имеют последовательные превращения, основанные на галогенировании терминальных ацетиленов с последующим Cu-катализируемым азид-алкиновым 1,3-диполярным циклоприсоединением полученных галогеналкинов с различными азидами.

Применение N-иодсукцинимид (1.1 экв.) в среде AcOH / MeCN позволяет добиться полной конверсии 8-этинилкофеина **21** при 80°C в течение 3 ч (Схема 17). Выход 8-(иодэтинил)кофеина **36** в данном превращении составил 77% после колоночной хроматографии.

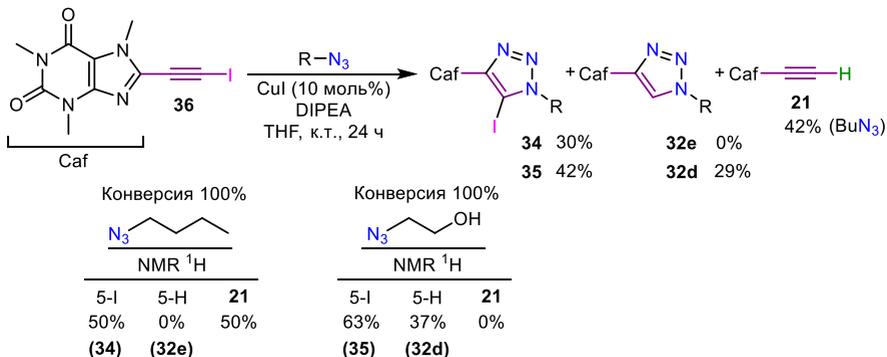
Схема 17



Проведение CuAAC-реакции 8-(иодэтинил)кофеина **36** с азидами **31d** и **31e** в присутствии CuI (10 моль%) и DIPEA (3.5 экв.) в THF при комнатной температуре в течение 24 ч показывает полную конверсию (Схема 18). Соотношение продуктов 5-И и 5-Н в случае 2-азидоэтанола **31d** составляет по данным ^1H NMR 63% и 37%, соответствующий выход соединений **35** и **32d** равен 42% и 29%. Особое внимание приобретает превращение с $n\text{-BuN}_3$ **31e**, результатом которого является полное отсутствие 5-Н-замещенного 1,2,3-триазола **32e**, при этом наблюдается образование 8-этинилкофеина **21** в результате побочного гидродегалогенирования исходного иодацетилена в условиях реакции. Соотношение продуктов 5-И и терминального ацетилена составило 50% / 50%, с

конечными выходами индивидуальных соединений **34** 30% и **21** 42%, соответственно.

Схема 18



Таким образом, предложен эффективный метод получения 8-иодэтил(ил)кофеина **36**. Использование различных подходов металлкализуемых превращений, в том числе и Cu-катализуемого азидалкинового циклоприсоединения, открывает новые возможности синтетических трансформаций пуриновых алкалоидов для получения C-8-функционализированных производных, содержащих в структуре 5-иодзамещенный 1,2,3-триазольный гетероциклический фрагмент.

6. Анализ данных биологической активности

Синтезированные нами производные метилксантинов, функционализированные по положениям C-8, N-1 и N-7, изучены на предмет их способности ингибировать фермент АСhЕ электрического угря с использованием метода Эллмана и препарата галантамина* в качестве сравнения¹ (Табл. 5).

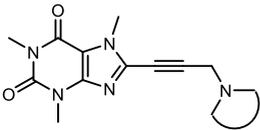
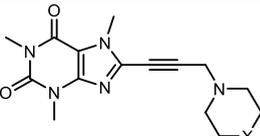
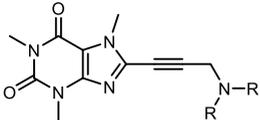
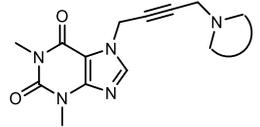
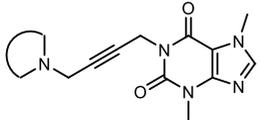
Для ингибирования АСhЕ существенно наличие циклического заместителя в пропаргиламинном фрагменте. Заметное усиление ингибирующего эффекта наблюдалось для соединения **23i** с объемным 3-(азокан-1-ил)пропаргильным фрагментом по положению C-8 триметилксантинового остова – наномолярный ингибитор АСhЕ с IC₅₀ = 0.25 ± 0.001 (мкМ). Наличие гомоморфолинового атома кислорода в соединении **23i** (IC₅₀ = 124.0 ± 9.0 мкМ) приводит к снижению активности по сравнению с карбоциклическим азепановым аналогом **23n** (IC₅₀ = 12.28 ± 0.31 мкМ). Производное 4-Ме-пиперидина **23k** (IC₅₀ = 2.5 ± 0.01 мкМ) значительно превосходит эффективность изомера **23j** (IC₅₀ = 26.3 ± 0.5 мкМ) и азотсодержащего аналога **23g** на примере N-Ме-пиперазина (IC₅₀ = 60.0 ± 1.0 мкМ). Функционализация положения C-8 кофеина 1-(2-(пирролидин-1-ил)этил)- и N-Вос-пиперазиновыми заместителями приводит к эффективным ингибиторам АСhЕ **23e** (IC₅₀ = 0.552 ± 0.004 мкМ) и **23h** (IC₅₀ = 1.20 ± 0.01 мкМ), превосходящим активность галантамина (IC₅₀ = 3.9 ± 0.2 мкМ).

Введение 4-(амино)бут-2-инильного заместителя в положения N-7 теофиллинового и N-1 теоброминового остова приводит к соответствующим производным **29a-c** и **30a-c**. Примечательно, что соединения **29c** и **30c** с 4-(азокан-1-ил)бут-2-инильным заместителем проявляют наибольшую ингибирующую активность с $IC_{50} = 0.121 \pm 0.001$ (мкМ) и $IC_{50} = 0.089 \pm 0.001$ (мкМ). Характерно, что производные **29a,c** и **30a-c** превосходят галантамин в ингибировании АСhЕ.

Ингибирующий эффект производных кофеина, функционализированных фрагментами 1,2,3-триазолов **32a-h** (IC_{50} 21.3 – 531.0 мкМ) и содержащих аминокислотные фрагменты **16a-h** (IC_{50} 14.3 – 503.0 мкМ), находится на уровне или уступает таковому для триметилксантина **1**.

Для ряда соединений **23e**, **29c** и **30b** изучен молекулярный докинг в сайт связывания АСhЕ² и исследована молекулярная динамика стабильности комплексов белок-лиганд в сравнении с препаратом донепезилом³.

Таблица 5. Данные IC_{50} аминоксантиновых производных метилксантинов в отношении ингибирования фермента ацетилхолинэстеразы

Структура	Шифр	IC_{50} (мкМ)
	23l	0.25 ± 0.001
	23k	2.5 ± 0.01
	23n	12.28 ± 0.31
	23j	26.3 ± 0.5
	23m	43.7 ± 3.6
	23i	124.0 ± 9.0
	23e	0.552 ± 0.004
	23h	1.20 ± 0.01
	23g	60.0 ± 1.0
	23f	224.0 ± 5.0
	23c	11.7 ± 0.1
	23b	26.3 ± 0.5
	23d	50.1 ± 4.5
	23a	4.7 ± 0.1
	29c	0.121 ± 0.001
	29a	1.8 ± 0.1
	29b	14.9 ± 0.4
	30c	0.089 ± 0.002
	30a	0.746 ± 0.003
	30b	2.4 ± 0.1
Кофеин	1	30.0 ± 2.4
Галантамин*		3.9 ± 0.2

¹Исследование выполнено к.б.н. Ивановым И.Д., с.н.с. НИИМББ ФИЦ ФТМ

²Исследование выполнено к.б.н. Баевым Д.С., с.н.с. ЛФИ НИОХ СО РАН

³Исследование выполнено к.х.н. Можайцевым Е.С., н.с. ЛНТПС НИОХ СО РАН

Выводы и заключение

1. Реакцией аза-Михаэля 8-(аминоалкиламино)кофеинов и 8-(аминопиперазин-1-ил)кофеина с метиленлактонами эудесманового типа синтезированы гибридные соединения, содержащие фрагменты ксантинов и сесквитерпеновых лактонов, соединенных пиперазиновым, этилендиаминовым или гексаметилендиаминовым линкером.

2. Проведено систематическое исследование реакции каталитического аминирования 8-бромкофеина гидрохлоридами эфиров аминокислот. Показано, что реакция протекает с высоким выходом в присутствии каталитической системы Pd(OAc)₂ / XantPhos и Cs₂CO₃ в качестве основания в толуоле в условиях микроволновой активации.

3. Предложен эффективный синтетический метод получения 8-этинилкофеина, включающий реакцию кросс-сочетания 8-бромкофеина с триметилсилилацетиленом и последующее десилилирование. Показано селективное образование 8-(иодэтинил)кофеина при действии N-иодсукцинимиде в среде AcOH / MeCN.

4. Изучена реакция аминотетирования 8-этинилкофеина, 1-(проп-2-инил)теобромина и 7-(проп-2-инил)теофиллина с формальдегидом и вторичными аминами в присутствии солей меди. Показано, что превращение успешно протекает в условиях катализа водным ацетатом меди (II). Синтезирован широкий круг замещенных по атому азота производных 8-[3-(амино)проп-1-инил]-1,3,7-триметил-3,7-дигидро-1*H*-пурин-2,6-дионов, 1-[4-(амино)бут-2-инил]-3,7-диметил-3,7-дигидро-1*H*-пурин-2,6-дионов и 7-[4-(амино)бут-2-инил]-1,3-диметил-3,7-дигидро-1*H*-пурин-2,6-дионов.

5. Осуществлен региоселективный синтез 8-[алкил(арил)-1,2,3-триазол-4-ил]-1,3,7-триметил-1*H*-пурин-2,6-дионов на основе CuAAC-реакции 8-этинилкофеина с азидами. Предложены эффективные условия реакции, включающие использование иодида меди (I) и диизопропилэтиламина в ацетонитриле. Предложены методики получения 8-[1-алкил-5-иод-1,2,3-триазол-4-ил]-1,3,7-триметил-1*H*-пурин-2,6-дионов на основе мультикомпонентной реакции 8-этинилкофеина с азидами в присутствии окислителей (предпочтительно N-хлорсукцинимиде) или по реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения 8-(иодэтинил)кофеина с азидами. Показано, что выход целевых 8-[1-алкил-5-иод-1,2,3-триазол-4-ил]-1,3,7-триметил-1*H*-пурин-2,6-дионов существенно зависит от природы азиде.

6. Изучение антихолинэстеразной активности синтезированных С-8-замещенных 1,3,7-триметилксантинов и 4-(амино)бут-2-инилзамещенных диметилксантинов показало, что наибольшей активностью обладают аминопропаргильные производные ксантинов и эффект значительно зависит от природы заместителя при атоме азота боковой цепи. В ряду 8-(аминопропаргил)-1,3,7-триметилксантинов, 1-[4-(амино)бут-2-инил]диметилксантинов и 7-[4-(амино)бут-2-инил]диметилксантинов обнаружены соединения, ингибирующие ацетилхолинэстеразу в наномолярных концентрациях.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Reshetnikov D.V.**, Patrushev S.S., Shults E.E. Synthetic Transformations of Sesquiterpene Lactones. 11. Conjugates Based on Caffeine and Eudesmanolides with N-Containing Linkers // Chem. Nat. Compd. – 2020. – V. 56. – N. 5. – P. 855-860.

2. **Reshetnikov D.V.**, Burova L.G., Rybalova T.V., Bondareva E.A., Patrushev S.S., Evstropov A.N., Shults E.E. Synthesis and Antibacterial Activity of Caffeine Derivatives Containing Amino-Acid Fragments // Chem. Nat. Compd. – 2022. – V. 58. – N. 5. – P. 908-915.

3. **Reshetnikov D.V.**, Ivanov I.D., Baev D.S., Rybalova T.V., Mozhaitsev E.S., Patrushev S.S., Vavilin V.A., Tolstikova T.G., Shults E.E. Design, Synthesis and Assay of Novel Methylxanthine – Alkynylmethylamine Derivatives as Acetylcholinesterase Inhibitors // Molecules. – 2022. – V. 27. – N. 24. – P. 1-28.

4. **Решетников Д.В.**, Патрушев С.С., Шульц Э.Э. Взаимодействие 8-бромкофеина с производными аминокислот в условиях реакции каталитического аминирования. Сборник тезисов научной конференции «Марковниковские чтения. Органическая химия: от Марковникова до наших дней». Школа-конференция молодых ученых «Органическая химия: традиции и современность». С. 80. Пансионат МГУ, Красновидово, 17-20 января 2020 г. (устный доклад).

5. **Решетников Д.В.**, Патрушев С.С., Шульц Э.Э. Направленная модификация ксантинов на основе реакции аминотетирования их 8-алкинилпроизводных. Сборник тезисов Всероссийского конгресса по химии гетероциклических соединений «КОСТ-2021». С. 272. Доклад 268. г. Сочи, 12 октября 2021 г. (стендовый доклад).

6. Бондарева Е.А., **Решетников Д.В.** Изучение антибактериальной активности модифицированных производных кофеина. Сборник тезисов XIII Российской (итоговой) научно-практической конференции с международным участием студентов и молодых ученых «Авиценна-2022». С. 451-452 (т. II). НГМУ, г. Новосибирск, 14 апреля 2022 г. (устный доклад).