

СИНТЕЗ С(6)-КОНЬЮГАТОВ ПУРИНА И 2-АМИНОПУРИНА С *N*-(4-АМИНОБЕНЗОИЛ)-(S)-ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТОЙ

© 2019 г. В. П. Краснов^{a, *}, А. Ю. Вигоров^a, Е. Н. Чулаков^a, И. А. Низова^a, Г. Л. Левит^a, М. А. Кравченко^b, В. Н. Чарушин^{a, c}

^a ФГБУН «Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения РАН», 620990, Россия, г. Екатеринбург, ул. С. Ковалевской/Академическая 22/20
*e-mail: ca@ios.uran.ru

^b ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии», филиал ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава России, 620039, Россия, г. Екатеринбург, ул. 22 Партсъезда 50

^c ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина», Химико-технологический институт, 620002, Россия, г. Екатеринбург, ул. Мира 19

Поступила в редакцию 15 апреля 2019 г.

После доработки 24 апреля 2019 г.

Принята к публикации 25 апреля 2019 г.

Путем нуклеофильного замещения хлора в 6-хлорпуринах и 2-амино-6-хлорпуринах синтезированы конъюгаты пурина и 2-аминопурина с *N*-(4-аминобензоил)-(S)-глутаминовой кислотой, присоединенной в положение 6 пуриновой системы различным образом: напрямую или через аминоэтильный линкер. Синтезирован конъюгат 2-аминопурина с 4-аминобензойной кислотой, присоединенной в положение 6 пуриновой системы через остаток глицина. Туберкулостатическая активность синтезированных соединений исследована *in vitro*, одно соединение обладает умеренной туберкулостатической активностью.

Ключевые слова: пурины, конъюгаты, 4-аминобензойная кислота, глутаминовая кислота, туберкулостатическая активность.

DOI: 10.1134/S051474921906003X

Производные пурина проявляют разнообразную биологическую активность и входят в состав ряда лекарственных препаратов [1–3]. Недавно нами было показано, что некоторые *N*-(пурин-6-ил)-глицил- и *N*-(2-аминопурин-6-ил)глицил-аминокислоты обладают выраженной противотуберкулезной активностью *in vitro* [4], что может быть связано с ингибированием микобактериальной глутаминсинтетазы [5, 6] или дигидрофолатредуктазы [7].

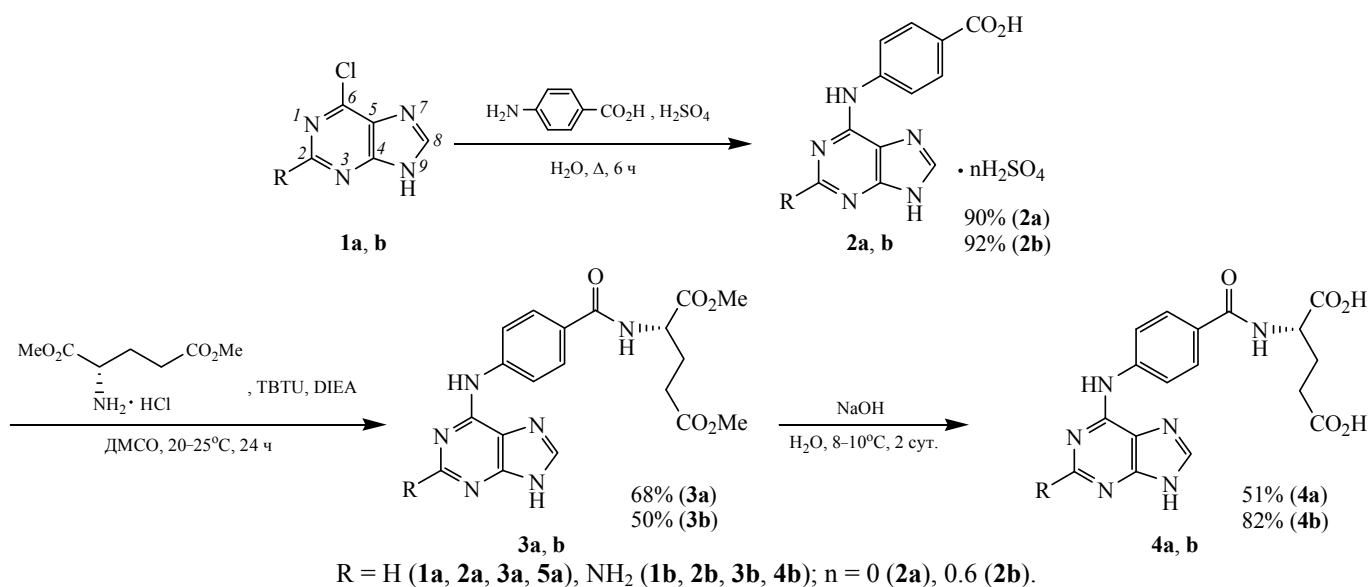
Интерес к соединениям, сочетающим в своей структуре гетероциклический фрагмент с фрагментом *N*-(4-аминобензоил)глутаминовой кислотой обусловлен тем, что этот фрагмент входит в состав фолиевой кислоты. Модификация гетероциклического фрагмента фолиевой кислоты открывает путь к созданию новых биологически активных соединений [8]. Среди конъюгатов *N*-(4-

аминобензоил)глутаминовой кислоты с гетероциклами обнаружены соединения с противотуберкулезной активностью [9], ингибиторы агреканазы – фермента, стимулирующего процессы разрушения хондроцитов при патологиях суставов [10], и ингибиторы дигидрофолатредуктазы [11].

Целью настоящей работы были синтез и исследование туберкулостатической активности *in vitro* конъюгатов пурина и 2-аминопурина с *N*-(4-аминобензоил)-(S)-глутаминовой кислотой, присоединенной в положение 6 пуриновой системы различным образом: напрямую и через аминоэтильный линкер, а также синтез конъюгата 2-аминопурина с 4-аминобензойной кислотой, присоединенной в положение 6 пуриновой системы через остаток глицина.

Для синтеза конъюгатов пурина с *N*-(4-аминобензоил)-(S)-глутаминовой кислотой нами

Схема 1.



использован подход, заключающийся в последовательном наращивании молекулы, начиная с фрагмента пурина. В качестве исходных соединений выбраны коммерчески доступные 6-хлорпурин (**1a**) и 2-амино-6-хлорпурин (**1b**).

Нуклеофильное замещение хлора в хлорпуринах **1a, b** под действием 4-аминобензойной кислоты гладко протекало при кипячении в воде в присутствии 0.9 экв. H_2SO_4 (схема 1) и приводило к образованию *N*-(пурин-6-ил)- и *N*-(2-аминопурин-6-ил)-4-аминобензойных кислот (**2a** и **2b**) соответственно; кислота **2b** выделена в виде соли с H_2SO_4 . Ранее аналогичные условия (кипячение в воде в присутствии H_2SO_4) были использованы для синтеза конъюгатов пурина и 2-аминопурина, содержащих в положении 6 фрагменты гетероциклических аминов [12].

Конденсация кислот **2a, b** с диметилowym эфиром (*S*)-глутаминовой кислоты под действием тетрафторбората *O*-(бензотриазол-1-ил)-*N,N,N',N'*-тетраметилмочевины (TBUTU) в присутствии диизопропилэтиламина (DIEA) в среде ДМСО приводила к диэфирам **3a, b** (схема 1). Щелочной гидролиз сложноэфирных групп соединений **3a, b** позволил получить целевые конъюгаты **4a, b**, в которых *N*-(4-аминобензоил)-(*S*)-глутаминовая кислота присоединена напрямую в положение 6 пуриновой системы.

Конъюгаты пурина и 2-аминопурина с *N*-(4-аминобензоил)-(*S*)-глутаминовой кислотой, при-

соединенной в положение 6 пуриновой системы через аминокэтильный линкер (схема 2), получены в результате нагревания хлорпуринов **1a, b** и *трет*-бутилового эфира *N*-(2-аминоэтил)-4-аминобензойной кислоты в EtOH или BuOH в присутствии TEA, последующего удаления *трет*-бутильной группы эфиров **5a, b** действием трифторуксусной кислоты, конденсации кислот **6a, b** с диметилowym эфиром (*S*)-глутаминовой кислоты и щелочного гидролиза сложноэфирных групп в диметилowych эфирах **7a, b**, в результате чего получены целевые конъюгаты **8a, b**.

Нами предприняты попытки синтеза конъюгата 2-аминопурина с *N*-(4-аминобензоил)-(*S*)-глутаминовой кислотой, присоединенной в положение 6 через остаток глицина, поскольку ранее было показано, что соединения, содержащие [(2-аминопурин-6-ил)амино]глициновый фрагмент проявляют выраженную противотуберкулезную активность *in vitro* [4].

Взаимодействие 2-амино-6-хлорпурина (**1b**) с трифторацетатом метилового эфира *N*-глицил-4-аминобензойной кислоты (**9**) приводило к метилому эфиру *N*-[*N*-(2-аминопурин-6-ил)глицил]-4-аминобензойной кислоты (**10**) с умеренным выходом (схема 3). Однако попытки омыления сложноэфирной группы соединения **10** приводили к преимущественному расщеплению амидной связи между фрагментами глицина и 4-аминобензойной кислоты и образованию *N*-(2-аминопурин-6-ил)глицина. Следует отметить, что в аналогичной реакции щелочного гидролиза

Схема 2.

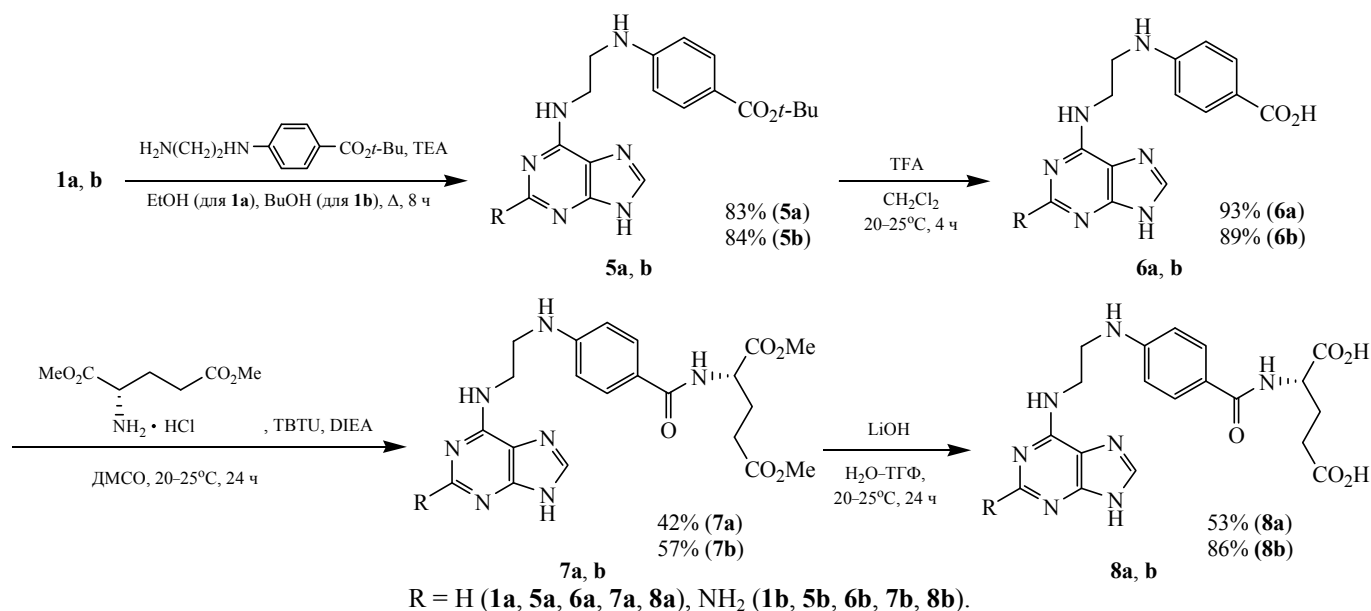
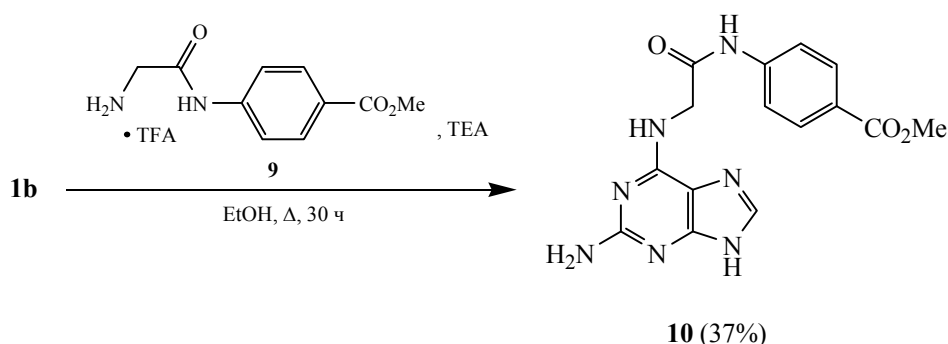


Схема 3.



этилового эфира *N*-(6-бром-1*H*-индазол-4-ил)глицил-4-аминобензойной кислоты авторам [13] удалось получить целевую карбоновую кислоту с умеренным выходом (42%).

Туберкулостатическую активность синтезированных соединений исследовали в УНИИФ – филиале ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава России, г. Екатеринбург. Изучение туберкулостатической активности *in vitro* проводили методом вертикальной диффузии с использованием лабораторного штамма *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv на плотной питательной среде «Новая» в соответствии с методикой [14]. Установлено, что минимальная ингибирующая концентрация (МИК) соединений **2a**, **2b**, **3a**, **4a**, **4b**, **7a**, **7b**, **8a**, **8b** и **11** составила более 12.5 мкг/мл (соединения не активны); для соединения **10** МИК составила 1.5 мкг/мл, что свидетельствует об умеренной туберкулостатической активности.

Таким образом, нами синтезированы конъюгаты пурина и 2-аминопурина с *N*-(4-аминобензоил)-(*S*)-глутаминовой кислотой, присоединенной в положение *b* пуриновой системы как напрямую, так и через аминоэтильный линкер, а также конъюгат 2-аминопурина с метиловым эфиром 4-аминобензойной кислоты, присоединенным через остаток глицина, который проявил умеренную туберкулостатическую активность в опытах *in vitro*.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

6-Хлорпурин (**1a**), 2-амино-6-хлорпурин (**1b**) коммерчески доступны. *трет*-Бутиловый эфир 4-(2-аминоэтил)аминобензойной кислоты получали из 4-фторбензойной кислоты по литературным методикам [15, 16]. *N*-(2-Аминопурин-6-ил)глицин, необходимый для идентификации продуктов щелочного гидролиза соединения **10**, получали по методу [17]. Спектры ЯМР ¹H зарегистрированы на

приборах Bruker DRX-400 (400 МГц) или Bruker Avance 500 (500 МГц) относительно SiMe₄ (внутренний стандарт) при 25°C. Спектры ЯМР ¹³C и ¹⁹F зарегистрированы на приборе Bruker Avance 500 (126 и 470 МГц соответственно) при 25°C. Химические сдвиги (δ) приведены в миллионных долях, КССВ (J) – в герцах. Температуры плавления соединений определены на приборе Stuart SMP3 (Barloworld Scientific, UK). Углы вращения плоскости поляризации измерены на поляриметре Perkin-Elmer M341 (Perkin-Elmer Instruments, США). Удельное вращение выражено в град·мл/г·дм, концентрация раствора в г/100 мл. Элементный анализ выполнен на автоматическом CHNS-O анализаторе Perkin-Elmer 2400 II. Масс-спектры высокого разрешения (HRMS) зарегистрированы на приборе Bruker maXis Impact HD, химическая ионизация при атмосферном давлении (APCI) или ионизация электрораспылением (ESI), скорость газа носителя (азот) 4 л/мин, давление в небулайзере 0.4 бар, напряжение на игле 4.5 кВ. Для ТСХ использованы пластинки Sorbfil (ООО «Имид», Россия). Проявление в УФ свете (254 нм).

N-(Пурин-6-ил)-4-аминобензойная кислота (2a). К суспензии 0.309 г (2.0 ммоль) 6-хлорпурина (1a) и 0.329 г (2.4 ммоль) 4-аминобензойной кислоты в 26 мл воды добавляли 0.102 мл (1.8 ммоль) конц. H₂SO₄ и кипятили в течение 6 ч. Осадок отфильтровывали и промывали водой. Выход 0.457 г (90%), светло-желтые кристаллы, т.пл. >360°C. Спектр ЯМР ¹H (500 МГц, ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 7.90 д (2H_{аром}, J 8.6 Гц), 8.15 д (2H_{аром}, J 8.6 Гц), 8.34 с (1H, H⁸), 8.46 с (1H, H²), 10.17 с (1H, C⁶NH), 12.58 уш.с (1H, CO₂H), 13.28 уш.с (1H, H⁹). Найдено, %: С 56.16; Н 3.82; N 27.16. C₁₂H₉N₅O₂. Вычислено, %: С 56.47; Н 3.55; N 27.44. HRMS (ESI): найдено *m/z* 254.0682 [M – H][–]. C₁₂H₉N₅O₂. Вычислено 254.0683. В работе [18] приведены масс-спектр и спектр ЯМР ¹H гидрохлорида N-(пурин-6-ил)-4-аминобензойной кислоты.

N-(2-Аминопурин-6-ил)-4-аминобензойная кислота, соль с H₂SO₄ (2b). Получали аналогично соединению 2a из 2-амино-6-хлорпурина (1b). Выход 92%, белые кристаллы, т.пл. 350–360°C (разл.). Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 6.91 уш.с (2H, NH₂), 7.91 д (2H_{аром}, J 8.8 Гц), 8.10 с (1H, H⁸), 8.11 д (2H_{аром}, J 8.8 Гц), 10.14 с (1H, C⁶NH), 12.35 уш.с (2H, H⁹ и CO₂H). Найдено, %: С 43.78; Н 3.59; N 25.12. C₁₂H₁₀N₆O₂·0.6H₂SO₄. Вычислено, %: С 43.80; Н 3.43; N 25.54.

Диметиловый эфир N-[N-(пурин-6-ил)-4-аминобензоил]-(S)-глутаминовой кислоты (3a). К суспензии 0.564 г (2.2 ммоль) кислоты 2a в 10 мл сухого ДМСО приливали 3.7 мл (26.5 ммоль) ТЕА и перемешивали в течение 30 мин, добавляли 0.935 г (4.4 ммоль) гидрохлорида диметилового эфира (S)-глутаминовой кислоты и 1.42 г (4.42 ммоль) ТВТУ, перемешивали в течение 1 сут, выливали в 200 мл воды, выдерживали в холодильнике, выпавший осадок отфильтровывали и промывали водой. Выход 0.622 г (68%), белые кристаллы, т.пл. 160–162°C. [α]_D²² +3.0 (с 0.6, АсОН). Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 2.02 д.д.д.д (1H, H^{3B}_{Glu}, J 13.8, 9.2, 7.1, 7.1 Гц), 2.13 д.д.д.д (1H, H^{3A}_{Glu}, J 13.8, 7.7, 7.7, 5.4 Гц), 2.47 м (2H, H⁴_{Glu}), 3.59 с (3H, OMe), 3.65 с (3H, OMe), 4.46 д.д.д (1H, H²_{Glu}, J 9.3, 7.3, 5.5 Гц), 7.86 д (2H_{аром}, J 8.8 Гц), 8.12 д (2H_{аром}, J 8.8 Гц), 8.33 с (1H, H⁸_{Pur}), 8.45 с (1H, H²_{Pur}), 8.60 д (1H, CONH, J 7.4 Гц), 10.09 с (1H, C⁶NH_{Pur}), 13.26 уш.с (1H, H⁹_{Pur}). Найдено, %: С 55.28; Н 4.80; N 20.48. C₁₉H₂₀N₆O₅. Вычислено, %: С 55.33; Н 4.89; N 20.38. HRMS (APCI): найдено *m/z* 413.1565 [M + H]⁺. C₁₉H₂₀N₆O₅. Вычислено 413.1568.

Диметиловый эфир N-[N-(2-аминопурин-6-ил)-4-аминобензоил]-(S)-глутаминовой кислоты (3b). Получали аналогично соединению 3a. Выход 50%, белые кристаллы, т.пл. 128–132°C (разл.). Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 2.03 м (1H, H^{3B}_{Glu}), 2.12 м (1H, H^{3A}_{Glu}), 2.47 м (2H, H⁴_{Glu}), 3.59 с (3H, OMe), 3.65 с (3H, OMe), 4.46 д.д.д (1H, H²_{Glu}, J 9.4, 7.4, 5.4 Гц), 6.67 уш.с (2H, NH₂), 7.86 д (2H_{аром}, J 8.6 Гц), 8.04 уш.с (1H, H⁸_{Pur}), 8.10 д (2H_{аром}, J 8.6 Гц), 8.65 д (1H, CONH, J 7.4 Гц), 10.03 уш.с (1H, C⁶NH_{Pur}), 12.4 уш.с (1H, H⁹_{Pur}). Найдено, %: С 53.28; Н 4.82; N 22.59. C₁₉H₂₁N₇O₅. Вычислено, %: С 53.39; Н 4.95; N 22.94. HRMS (ESI): найдено *m/z* 428.1672 [M + H]⁺. C₁₉H₂₁N₇O₅. Вычислено 428.1677.

N-[N-(Пурин-6-ил)-4-аминобензоил]-(S)-глутаминовая кислота (4a). Раствор 0.937 г (2.27 ммоль) диметилового эфира 3a в 13.6 мл (13.6 ммоль) 1M NaOH выдерживали при 10°C в течение 4 сут. Реакционную смесь фильтровали, фильтрат подкисляли 1 M HCl до pH 5, выпавший желеобразный осадок центрифугировали, промывали водой (×2). Выход 0.443 г (51%), белые кристаллы, т.пл. 260–270°C (разл.). [α]_D²⁵ +19.7 (с 0.3, 1 M NaOH). Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 1.97 м (1H, H^{3B}_{Glu}), 2.11 м (1H, H^{3A}_{Glu}), 2.37 т (2H, H⁴_{Glu}, J 7.4 Гц), 4.40 м (1H, H²_{Glu}), 7.87 д (2H_{аром}, J 8.5 Гц), 8.12 д (2H_{аром}, J 8.5 Гц), 8.34 с (1H, H⁸_{Pur}), 8.41 д (1H,

CONH, J 7.9 Гц), 8.46 с (1H, N_{Pur}^2), 10.11 уш.с (1H, $C_{\text{NH}_{\text{Pur}}}^6$), 12.53 уш.с (2H, $2\text{CO}_2\text{H}$), 13.26 уш.с (1H, N_{Pur}^9). Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, ДМСО- d_6), δ , м.д.: 26.36 (C_{Glu}^3), 30.56 (C_{Glu}^4), 52.14 (C_{Glu}^2), 119.13 ($C_{\text{аром}}^3$ и $C_{\text{аром}}^5$), 123.93 (C_{Pur}^5), 127.29 ($C_{\text{аром}}^1$), 127.92 ($C_{\text{аром}}^2$ и $C_{\text{аром}}^6$), 130.06 (C_{Pur}), 141.04 (C_{Pur}), 142.95 ($C_{\text{аром}}^4$), 150.71 (C_{Pur}), 151.61 (C_{Pur}), 165.94 (CONH), 173.93 (CO_2H), 174.03 (CO_2H). Найдено, %: С 53.29; Н 4.18; N 21.83. $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_5$. Вычислено, %: С 53.13; Н 4.20; N 21.86.

***N*-[*N*-(2-Аминопурин-6-ил)-4-аминобензил]-(*S*)-глутаминовая кислота (4b).** Раствор 0.23 г (0.54 ммоль) диметилового эфира **3b** в 3.22 мл (3.22 ммоль) 1 М NaOH выдерживали при 10°C в течение 4 сут. Реакционную смесь фильтровали, фильтрат подкисляли конц. HCl до pH 5, выпавший осадок отфильтровывали, промывали водой, сушили в вакууме, обрабатывали метанолом (2.1 мл) при кипячении. После охлаждения до комнатной температуры нерастворимый остаток отфильтровывали. Выход 0.176 г (82%), белые кристаллы, т.пл. 263–265°C (разл.). $[\alpha]_D^{25} +21.6$ (с 0.5, 1 М NaOH). Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, ДМСО- d_6), δ , м.д.: 1.97 м (1H, H_{Glu}^{3B}), 2.10 м (1H, H_{Glu}^{3A}), 2.37 т (2H, H_{Glu}^4 , J 7.4 Гц), 4.40 д.д.д (1H, H_{Glu}^2 , J 9.3, 7.6, 5.0 Гц), 6.12 уш.с (2H, NH_2), 7.83 д (2H_{аром}, J 8.6 Гц), 7.86 уш.с (1H, N_{Pur}^8), 8.15 д (2H_{аром}, J 8.6 Гц), 8.44 д (1H, CONH, J 7.6 Гц), 9.60 с (1H, $C_{\text{NH}_{\text{Pur}}}^6$), 12.37 уш.с (3H, N_{Pur}^9 , $2\text{CO}_2\text{H}$). Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, ДМСО- d_6), δ , м.д.: 25.98 (C_{Glu}^3), 30.42 (C_{Glu}^4), 51.86 (C_{Glu}^2), 113.58 ($C_{\text{аром}}^5$), 118.72 ($C_{\text{аром}}^3$ и $C_{\text{аром}}^5$), 126.42 ($C_{\text{аром}}^1$), 127.90 ($C_{\text{аром}}^2$ и $C_{\text{аром}}^6$), 136.65 (C_{Pur}^8), 143.51 ($C_{\text{аром}}^4$), 151.59 (C_{Pur}), 153.03 (C_{Pur}), 159.73 (C_{Pur}), 166.19 (CONH), 173.58 (CO_2H), 173.89 (CO_2H). Найдено, %: С 50.78; Н 4.38; N 24.32. $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}_5$. Вычислено, %: С 51.13; Н 4.29; N 24.55. HRMS (ESI): найдено m/z 400.1360 [$M + \text{H}$]⁺. $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}_5$. Вычислено 400.1364.

***трет*-Бутиловый эфир 4-[2-(пурин-6-ил)аминоэтил]аминобензойной кислоты (5a).** Смесь 0.785 г (5.08 ммоль) хлорпурина **1a**, 1.20 г (5.08 ммоль) *трет*-бутилового эфира 4-(2-аминоэтил)аминобензойной кислоты и 0.71 мл (5.08 ммоль) ТЕА в 20 мл EtOH кипятили 8 ч. К охлажденной реакционной смеси добавляли 60 мл воды, выпавший осадок отфильтровывали. Выход 1.50 г (83%), белые кристаллы, т.пл. 231–233°C. Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, ДМСО- d_6), δ , м.д.: 1.50 с (9H, *t*-Bu), 3.33 м (2H, $\text{CH}_2\text{—CH}_2$, перекрывание с H_2O), 3.66 м (2H, $\text{CH}_2\text{—CH}_2$), 6.58–6.68 м (3H, 2H_{аром} и NH), 7.63 м (2H_{аром}), 7.74 с (1H, NH), 8.11 с (1H, N^8), 8.23 с (1H, N^2),

12.94 с (1H, N^9). Найдено, %: С 60.86; Н 6.33; N 23.75. $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_2$. Вычислено, %: С 61.00; Н 6.26; N 23.71. HRMS (ESI): найдено m/z 377.1700 [$M + \text{Na}$]⁺. $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_2$. Вычислено 377.1696.

***трет*-Бутиловый эфир 4-[2-(2-аминопурин-6-ил)аминоэтил]аминобензойной кислоты (5b).** Смесь 0.764 г (4.5 ммоль) хлорпурина **2b**, 1.07 г (4.5 ммоль) *трет*-бутилового эфира 4-(2-аминоэтил)аминобензойной кислоты и 0.63 мл (4.5 ммоль) ТЕА в 60 мл BuOH кипятили 8 ч. Реакционную смесь упаривали досуха, остаток перекристаллизовывали из 150 мл смеси EtOH– H_2O , 1:2. Выход 1.40 г (84%), слегка окрашенные кристаллы, т.пл. 162–165°C. Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, ДМСО- d_6), δ , м.д.: 1.49 с (9H, *t*-Bu), 3.22–3.30 м (2H, $\text{CH}_2\text{—CH}_2$), 3.60 м (2H, $\text{CH}_2\text{—CH}_2$), 5.73 уш.с (2H, NH_2), 6.58–6.68 м (3H, 2H_{аром} и NH), 7.26 с (1H, NH), 7.58–7.70 м (3H, 2H_{аром} и N^8), 12.09 с (1H, N^9). HRMS (ESI): найдено m/z 370.1989 [$M + \text{H}$]⁺. $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_7\text{O}_2$. Вычислено 370.1986.

4-[2-(Пурин-6-ил)аминоэтил]аминобензойная кислота (6a). Раствор 1.50 г (4.23 ммоль) эфира **5a** в 35 мл TFA и 35 мл CH_2Cl_2 перемешивали 4 ч при комнатной температуре. Смесь упаривали досуха, добавляли диэтиловый эфир, перемешивали, осадок отфильтровывали и сушили в вакууме. К суспензии продукта в 50 мл воды добавляли при перемешивании 0.8 мл (5 ммоль) *N,N*-диэтиланилина. Осадок отфильтровывали. Выход 1.17 г (93%), белые кристаллы, т.пл. 233–235°C. Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, ДМСО- d_6), δ , м.д.: 3.34 м (2H, $\text{CH}_2\text{—CH}_2$, перекрывание с H_2O), 3.67 м (2H, $\text{CH}_2\text{—CH}_2$), 6.58–6.68 м (3H, 2H_{аром} и NH), 7.68 м (2H_{аром}), 7.75 с (1H, NH), 8.11 с (1H, N^8), 8.24 с (1H, N^2), 12.01 с (1H, CO_2H), 12.94 с (1H, N^9). HRMS (ESI): найдено m/z 299.1266 [$M + \text{H}$]⁺. $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_6\text{O}_2$. Вычислено 299.1251.

4-[2-(2-Аминопурин-6-ил)аминоэтил]аминобензойная кислота (6b). Раствор 0.94 г (2.53 ммоль) эфира **5b** в 23 мл $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ и 23 мл CH_2Cl_2 перемешивали 4 ч при комнатной температуре. Смесь упаривали досуха, добавляли диэтиловый эфир, перемешивали, осадок отфильтровывали, сушили в вакууме. К раствору осадка в 50 мл смеси MeOH– H_2O , 1:1, добавляли 0.48 мл (3 ммоль) *N,N*-диэтиланилина. Осадок отфильтровывали. Выход 0.70 г (89%), белые кристаллы, т.пл. 283–285°C. Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, ДМСО- d_6), δ , м.д.: 3.34 м (2H, $\text{CH}_2\text{—CH}_2$, перекрывание с H_2O), 3.65 м (2H, $\text{CH}_2\text{—CH}_2$), 5.90–7.00 уш.с (2H, NH_2), 6.58–6.68 м (3H, 2H_{аром} и NH), 7.69 м (2H_{аром}), 7.75–8.30 м (2H,

NH и H^δ), 11.80–12.80 м (2H, H^ρ и CO₂H). HRMS (ESI): найдено *m/z* 314.1354 [*M* + H]⁺. C₁₄H₁₅N₇O₂. Вычислено 314.1360.

Диметиловый эфир *N*-{4-[2-(пурин-6-ил)аминоэтил]-аминобензоил}-(*S*)-глутаминовой кислоты (7a). К раствору 1.17 г (3.92 ммоль) кислоты **6a** в 15 мл ДМСО добавляли 1.52 г (11.75 ммоль) DIEA, 1.26 г (3.92 ммоль) TBTU и 0.83 г (3.92 ммоль) гидрохлорида диметилового эфира (*S*)-глутаминовой кислоты. Реакционную смесь перемешивали 24 ч при комнатной температуре. Смесь выливали в 250 мл воды, подкисляли 6 М HCl до pH 7, экстрагировали *n*-бутанолом (3×50 мл), органический экстракт сушили MgSO₄, упаривали досуха. Продукт выделяли флеш-хроматографией (элюент – CHCl₃–MeOH–NH₄OH). Выход 0.75 г (42%), светло-жёлтые кристаллы, т.пл. 96–98°C. [α]_D²⁵ –2.65 (*c* 1.0, ДМФА). Спектр ЯМР ¹H (500 МГц, ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 1.92–2.03 м (1H, H_{Glu}^{3B}), 2.05–2.13 м (1H, H_{Glu}^{3A}), 2.43 т (2H, H_{Glu}⁴, *J* 7.5 Гц), 3.34 м (2H, CH₂–CH₂, перекрывание с H₂O), 3.58 с (3H, CO₂Me), 3.62 с (3H, CO₂Me), 3.66 м (2H, CH₂–CH₂), 4.40 д.д.д (1H, H_{Glu}², *J* 9.6, 7.4, 5.3 Гц), 6.43 т (1H, NH–CH₂, *J* 5.7 Гц), 6.65 м (2H_{аром}), 7.67 м (2H_{аром}), 7.74 с (1H, NH), 8.10 с (1H, H_{Pur}⁸), 8.22 с (1H, H_{Pur}⁹), 8.27 д (1H, NH_{Glu}, *J* 7.4 Гц), 12.93 с (1H, H_{Pur}⁹). HRMS (ESI): найдено *m/z* 462.2070 [*M* + Li]⁺. C₂₁H₂₅N₇O₅. Вычислено 462.2072.

Диметиловый эфир *N*-{4-[2-(2-аминопурин-6-ил)аминоэтил]-аминобензоил}-(*S*)-глутаминовой кислоты (7b) получали аналогично соединению **7a**. Выход 57%, слегка окрашенные кристаллы, т.пл. 148–150°C. [α]_D²⁵ –2.25 (*c* 1.0, ДМФА). Спектр ЯМР ¹H (500 МГц, ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 1.92–2.03 м (1H, H_{Glu}^{3B}), 2.05–2.13 м (1H, H_{Glu}^{3A}), 2.43 т (2H, H_{Glu}⁴, *J* 7.5 Гц), 3.27 м (2H, CH₂–CH₂), 3.34 с (3H, CO₂Me), 3.50–3.70 м (2H, CH₂–CH₂, перекрывание с CO₂Me), 3.58 с (3H, CO₂Me), 4.40 д.д.д (1H, H_{Glu}², *J* 9.6, 7.4, 5.4 Гц), 5.73 с (2H, NH_{2Pur}), 6.44 т (1H, NH–CH₂, *J* 5.2 Гц), 6.63 м (2H_{аром}), 7.27 с (1H, NH), 7.58–7.74 м (3H, 2H_{аром} и H_{Pur}⁸), 8.27 д (1H, NH_{Glu}, *J* 7.4 Гц), 12.09 с (1H, H_{Pur}⁹). HRMS (ESI): найдено *m/z* 477.2174 [*M* + Li]⁺. C₂₁H₂₆N₈O₅. Вычислено 477.2181.

***N*-{4-[2-(Пурин-6-ил)аминоэтил]-аминобензоил}-(*S*)-глутаминовая кислота (8a).** К раствору 0.33 г (0.72 ммоль) диметилового эфира **7a** в 18 мл ТГФ при –5°C добавляли 18 мл 0.2 М раствора LiOH (3.6 ммоль). Реакционную смесь перемешивали 24 ч при комнатной температуре, фильтровали, фильтрат промывали 10 мл CHCl₃, водный слой подкисляли 6 М HCl до pH 2, выпав-

ший осадок отфильтровывали, перекристаллизовывали из EtOH. Выход 0.165 г (53%), белые кристаллы, т.пл. 228–230°C (разл.). [α]_D²⁵ +4.67 (*c* 1.0, ДМФА). Спектр ЯМР ¹H (500 МГц, ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 1.84–2.00 м (1H, H_{Glu}^{3B}), 2.01–2.11 м (1H, H_{Glu}^{3A}), 2.33 т (2H, H_{Glu}⁴, *J* 7.5 Гц), 3.36 м (2H, CH₂–CH₂, перекрывание с H₂O), 3.67 м (2H, CH₂–CH₂), 4.35 д.д.д (1H, H_{Glu}², *J* 9.7, 7.9, 5.1 Гц), 6.41 м (1H, NH–CH₂), 6.66 м (2H_{аром}), 7.68 м (2H_{аром}), 7.74 с (1H, NH), 8.00–8.17 м (2H, H_{Pur}⁸ и NH_{Glu}), 8.24 с (1H, H_{Pur}⁹), 12.32 уш.с (2H, 2CO₂H), 12.93 с (1H, H_{Pur}⁹). HRMS (ESI): найдено *m/z* 434.1765 [*M* + Li]⁺. C₁₉H₂₁N₇O₅. Вычислено 434.1759.

***N*-{4-[2-(2-Аминопурин-6-ил)аминоэтил]-аминобензоил}-(*S*)-глутаминовая кислота (8b)** была получена аналогично соединению **8a**. Выход 86%, белые кристаллы, т.пл. 213–216°C (разл.). [α]_D²⁵ +5.41 (*c* 0.6, ДМФА). Спектр ЯМР ¹H (500 МГц, ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 1.87–1.98 м (1H, H_{Glu}^{3B}), 1.98–2.08 м (1H, H_{Glu}^{3A}), 2.32 м (2H, H_{Glu}⁴), 3.37 м (2H, CH₂–CH₂), 3.60 м (2H, CH₂–CH₂), 4.34 м (1H, H_{Glu}²), 5.74 с (2H, NH_{2Pur}), 6.41 м (1H, NH–CH₂), 6.63 м (2H_{аром}), 7.29 с (1H, NH), 7.67 м (3H, 2H_{аром} и H_{Pur}⁸), 8.06 д (1H, NH_{Glu}, *J* 7.1 Гц), 11.20–13.15 уш.с (3H, 2CO₂H и H_{Pur}⁹). HRMS (ESI): найдено: *m/z* 449.1876 [*M* + Li]⁺. C₁₉H₂₂N₈O₅. Вычислено 449.1868.

Метилловый эфир 4-(глицил)аминобензойной кислоты, трифторацетат (9) получали из метилового эфира 4-(*N*-трет-бутоксикарбонилглицил)аминобензойной кислоты, полученного по методу [19]. К 0.50 г (1.62 ммоль) Вос-производного добавляли раствор 1 мл TFA в 4 мл дихлорметана, полученный раствор выдерживали при 20°C в течение 2 ч, упаривали досуха, остаток кристаллизовали из этилацетата. Выход 0.367 г (71%), белые кристаллы, т.пл. 194–195°C. Спектр ЯМР ¹H (500 МГц, ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 3.83 с (3H, CO₂Me), 3.84 с (2H, CH₂ Gly), 7.73 д (2H_{аром}, *J* 8.8 Гц), 7.97 д (2H_{аром}, *J* 8.8 Гц), 8.18 уш.с (3H, NH₃⁺), 10.82 с (1H, NH). Спектр ЯМР ¹⁹F (470 МГц, ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 89.03 с (CF₃). Спектр ЯМР ¹³C (126 МГц, ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 41.19 (CH₂ Gly), 51.95 (CO₂CH₃), 117.26 к (CF₃, ¹J_{CF} 300 Гц), 118.60 (C_{аром}³ и C_{аром}⁵), 124.60 (C_{аром}¹), 130.49 (C_{аром}² и C_{аром}⁶), 142.49 (C_{аром}⁴), 158.05 к (CO₂[–], ²J_{CF} 30.6 Гц), 165.45 (CO), 165.68 (CO). Найдено, %: C 44.54; H 4.00; F 17.42; N 8.51. C₁₀H₁₂N₂O₃·CF₃CO₂H. Вычислено, %: C 44.73; H 4.07; F 17.69; N 8.69.

Метилловый эфир *N*-[*N*-(2-аминопурин-6-ил)-глицил]-4-аминобензойной кислоты, полугидрат

(10). Суспензию 0.111 г (0.66 ммоль) хлорпурина **1b**, 0.315 г (0.98 ммоль) соединения **9** и 0.25 мл (1.79 ммоль) ТЕА в 5 мл этанола кипятили в течение 30 ч. После охлаждения до комнатной температуры выпавший осадок отфильтровывали и перекристаллизовывали из 40 мл MeOH. Выход 0.085 г (37%), белые кристаллы, т.пл. 243–245°C (разл.). Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, ДМСО- d_6), δ , м.д.: 3.82 с (3H, CO₂Me), 4.27 м (2H, CH₂Gly), 5.79 уш.с (2H, NH₂), 7.31 уш.с (1H, NH_{Gly}), 7.72 с (1H, H⁸_{Pur}), 7.75 д (2H_{аром}, J 8.6 Гц), 7.92 д (2H_{аром}, J 8.6 Гц), 10.41 с (1H, CONH), 12.18 уш.с (1H, H⁹_{Pur}). Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц, ДМСО- d_6), δ , м.д.: 43.99 (CH₂Gly), 51.78 (CO₂CH₃), 112.86 (C⁵_{Pur}); 118.43 (C³_{аром} и C⁵_{аром}), 123.82 (C¹_{аром}), 130.22 (C²_{аром} и C⁶_{аром}), 135.85 (C⁸_{Pur}), 143.33 (C⁷_{аром}), 152.35 (C_{Pur}), 154.43 (C_{Pur}), 159.80 (C_{Pur}), 165.75 (CONH), 169.18 (CO₂CH₃). Найдено, %: С 51.65; Н 4.48; N 28.04. C₁₅H₁₅N₇O₃·0.5H₂O. Вычислено, %: С 51.42; Н 4.57; N 28.00. HRMS (ESI): найдено m/z 340.1167 [$M - \text{H}$]⁻. C₁₅H₁₅N₇O₃. Вычислено 340.1164.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают признательность к.х.н. М.И. Кодессу и М.А. Ежиковой за регистрацию спектров ЯМР, к.х.н. И.Н. Ганебных за регистрацию масс-спектров высокого разрешения и группе элементного анализа ИОС УрО РАН (рук. к.х.н. Л.Н. Баженова).

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Спектроскопия и анализ органических соединений» (ЦКП «САОС»).

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 19-13-00231).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Rosemeyer H. *Chem. Biodiversity* **2004**, *1*, 361. doi 10.1002/cbdv.200490033
- Legraverend M., Grierson D.S. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 3987. doi 10.1016/j.bmc.2005.12.060

- Pozharskii A.F., Soldatenkov A.T., Katritzky A.R. *Heterocycles in Life and Society: An Introduction to Heterocyclic Chemistry, Biochemistry and Applications*, 2nd Ed. Chichester, Wiley. **2011**.
- Krasnov V.P., Vigorov A.Yu., Musiyak V.V., Nizova I.A., Gruzdev D.A., Matveeva T.V., Levit G.L., Kravchenko M.A., Skornyakov S.N., Bekker O.B., Danilenko V.N., Charushin V.N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 2645. doi 10.1016/j.bmcl.2016.04.017
- Berlicki L. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2008**, *8*, 869. doi 10.2174/138955708785132800
- Mowbray S.L., Kathiravan M.K., Pandey A.A., Odell L.R. *Molecules*. **2014**, *19*, 13161. doi 10.3390/molecules190913161
- Shelke R.U., Degani M.S., Raju A., Ray M.K., Rajan M.G.R. *Arch. Pharm. (Weinheim, Ger.)*. **2016**, *349*, 602. doi 10.1002/ardp.201600066
- Visentin M., Zhao R., Goldman I.D. *Hemat./Oncol. Clin. North Am.* **2012**, *26*, 629. doi 10.1016/j.hoc.2012.02.002
- Corona P., Vitale G., Loriga M., Paglietti G., La Colla P., Collu G., Sanna G., Loddo R. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 1102. doi 10.1016/j.ejmech.2006.05.015
- Sum P.-E., How D.W., Sabatini J.J., Xiang J.S., Ipek M., Feyfant E. Международ. заявка WO 2007 008994. *C.A.* **2007**, *146*, 163390.
- Garro Martinez J.C., Andrada M.F., Vega-Hissi E.G., Garibotto F.M., Noguerras M., Rodriguez R., Cobo J., Enriz R.D., Estrada M.R. *Med. Chem. Res.* **2016**, *26*, 247. doi 10.1007/s00044-016-1742-4
- Груздев Д.А., Мусияк В.В., Чулаков Е.Н., Левит Г.Л., Краснов В.П. *XTC*. **2015**, *51*, 738. [Gruzdev D.A., Musiyak V.V., Chulakov E.N., Levit G.L., Krasnov V.P. *Chem. Heterocyclic Compd.* **2015**, *51*, 738.] doi 10.1007/s10593-015-1767-5
- Qian S., He T., Wang W., He Y., Zhang M., Yang L., Li G., Wang Z. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24*, 6194. doi 10.1016/j.bmc.2016.10.003
- Краснов В.П., Вигоров А.Ю., Груздев Д.А., Левит Г.Л., Кравченко М.А., Скорняков С.Н., Беккер О.Б., Маслов Д.А., Даниленко В.Н., Чарушин В.Н. *Хим.-фарм. ж.* **2017**, *51*, 20. [Krasnov V.P., Vigorov A.Yu., Gruzdev D.A., Levit G.L., Kravchenko M.A., Skornyakov S.N., Bekker O.B., Maslov D.A., Danilenko V.N., Charushin V.N. *Pharm. Chem. J.* **2017**, *51*, 769.] doi 10.1007/s11094-017-1690-4
- Davison H.R., Solano D.M., Phuan P.-W., Verkman A.S., Kurth M.J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 1602. doi 10.1016/j.bmcl.2011.12.128
- Kalindjian S.B., Smith R.A.G. *Biochem. J.* **1987**, *248*, 409. doi 10.1042/bj2480409
- Краснов В.П., Вигоров А.Ю., Груздев Д.А., Левит Г.Л., Демин А.М., Низова И.А., Тумашов А.А.,

Садретдинова Л.Ш., Горбунов Е.Б., Чарушин В.Н. *Изв. АН. Сер. хим.* **2015**, *64*, 2106. [Krasnov V.P., Vigorov A.Yu., Gruzdev D.A., Levit G.L., Demin A.M., Nizova I.A., Tumashov A.A., Sadretdinova L.Sh., Gorbunov E.B., Charushin V.N. *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.* **2015**, *64*, 2106.] doi 10.1007/s11172-015-1125-x

18. Pogorelcnik B., Brvar M., Zegura B., Filipic M., Solmajer T., Perdih A. *ChemMedChem.* **2015**, *10*, 345. doi 10.1002/cmdc.201402459
19. Bartkovitz D.J., Chu X.-J., Ding Q., Karnachi P.S., Liu J.-J., So S.-S., Zhang J., Zhang Z. *Международ. заявка WO 2012 022707. С.А.* **2012**, *156*, 311006.

Synthesis of Purine and 2-Aminopurine Conjugates with *N*-(4-Aminobenzoyl)-(*S*)-glutamic acid

V. P. Krasnov^a*, A. Yu. Vigorov^a, E. N. Chulakov^a, I. A. Nizova^a, G. L. Levit^a, M. A. Kravchenko^b, and V. N. Charushin^{a, c}

^a Postovsky Institute of Organic Synthesis, UB, RAS, 620990, Russia, Yekaterinburg, ul. S. Kovalevskoi/Akademicheskaya 22/20
*e-mail: ca@ios.uran.ru

^b Ural Research Institute for Phthisiomulmonology, National Medical Research Center, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 620039, Russia, Yekaterinburg, ul. 22 Parts'ezda 50

^c Institute of Chemical Engineering, Ural Federal University, 620002, Russia, Yekaterinburg, ul. Mira 19

Received April 15, 2019; revised April 24, 2019; accepted April 25, 2019

Using the nucleophilic substitution of chlorine in 6-chloropurine and 2-amino-6-chloropurine, purine and 2-aminopurine conjugates with *N*-(4-aminobenzoyl)-(*S*)-glutamic acid attached to the position 6 of purine core were synthesized in different ways: directly or through an aminoethyl linker. 2-Aminopurine conjugate with 4-aminobenzoic acid attached to the position 6 of purine system *via* the fragment of glycine was also obtained. The tuberculostatic activity of the synthesized compounds was studied *in vitro*; one compound was found to exhibit a moderate tuberculostatic activity.

Keywords: purine, conjugates, 4-aminobenzoic acid, glutamic acid, tuberculostatic activity