

УДК 615.28; 615.07; 661.77; 547.858

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СТРУКТУРЫ ПРОИЗВОДНЫХ 6-ГИДРОКСИПИРИМИДИН-4(3H)-ОНОВ НА РАСПРЕДЕЛЕНИЕ В СИСТЕМЕ 1-ОКТАНОЛ – ВОДА

А.Э. Потапова<sup>1\*</sup>, А.А. Теслев<sup>1</sup>

**Резюме.** В статье представлены результаты экспериментального изучения влияния структуры заместителей и pH среды на величину коэффициентов распределения в системе 1-октанол – вода для ряда 2,5-замещенных 6-гидроксипиримидин-4(3H)-онов.

**Ключевые слова:** фармацевтическая субстанция, 6-гидроксипиримидин-4(3H)-он, коэффициент распределения, всасываемость, биофармация, гетероциклические соединения, водородный показатель, липофильность.

### STUDY OF THE EFFECT OF STRUCTURE ON OCTANOL-WATER DISTRIBUTION OF 6-HYDROXYPYRIMIDINE-4-(3H)-ONES DERIVATIVES

A.E. Potapova<sup>1\*</sup>, A.A. Teslev<sup>1</sup>

**Abstract.** The results of an experimental study of the effect of structure of substituting groups and pH value on the partition coefficients in biphasic systems of n-octanol and water for a number of 2,5-substituted 6-hydroxypyrimidine-4-(3H)-ones are presented.

**Keywords:** pharmaceutical substance, 6-hydroxypyrimidine-4(3H)-on, partition coefficient, absorption, biopharmacy, heterocyclic compounds, pH, lipophilicity.

1 – ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14

1 – Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Saint Petersburg Chemical-Pharmaceutical Academy» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 14, Prof. Popova st., Saint Petersburg, 197376, Russia

\* адресат для переписки:

E-mail: anastasia.potapova@pharminnotech.com

Тел.: (812) 499 39 00 (доб. 4501)

## ВВЕДЕНИЕ

Возможность использования органических соединений в качестве фармацевтических субстанций существенным образом зависит от их фармакодинамических (пути взаимодействия молекулы с биологической мишенью) и фармакокинетических (адсорбции, распределения и элиминирования молекулы из организма человека) свойств [1]. При этом распределение вещества в организме может оказывать существенное влияние на его фармакологические свойства [2].

Известно, что вещества с большими значениями коэффициента распределения преимущественно переходят в липофильные ткани и жидкости (билипидные слои клеток), тогда как вещества с малыми значениями коэффициентов распределения преимущественно локализуются в гидрофильных (сыворотка крови и т.п.) [3].

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния pH на величину коэффициента распределения ( $\log P$ ), одного из фармакокинетических параметров *in vitro*, характеризующего перенос вещества через границу раздела фаз различной полярности [4]. Настоящий пока-

затель используется для описания распределения вещества через липидные бислои клеточных мембран, неспецифической связываемости растворенных веществ с биомакромолекулами, для оценки биологической доступности *in vitro* и *in silico*, активности и неспецифической токсичности, а также для исследования соотношения «структура – активность» [5, 6]. Кроме того, с помощью параметров липофильности возможно прогнозирование поведения веществ в условиях химического анализа [3].

Известно наличие корреляции между биологической активностью и величиной константы распределения вещества в системе 1-октанол – вода ( $P_{o/w}$ ) [7], а само значение  $\log P$  можно использовать в качестве параметра липофильности. Выбор 1-октанола в качестве органической фазы основан на том, что баланс полярных и неполярных фрагментов в молекуле имитирует дифильные свойства липидов и белков в клетках живых организмов [8].

В настоящее время наибольшее распространение находят три основных метода определения параметра  $P_{o/w}$  [5]: прямое определение экстракционным методом, косвенное

определение хроматографическим методом и расчетные методы, к которым также относят прогнозирование *in silico* [6, 9].

К достоинствам прямого определения можно отнести простоту и экспрессность метода, его дешевизну, отсутствие необходимости в дорогостоящем оборудовании и приборах, в использовании стандартов [6].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Реагенты и оборудование

Компоненты, входящие в состав буферных систем: динатрия гидрофосфата додекагидрат (ч.д.а.), калия дигидрофосфат (ч.д.а.), ортофосфорная кислота концентрированная (ч.д.а.), калия гидроксид (х.ч.), натрия гидроксид (х.ч.), лимонная кислота (х.ч.).

В качестве объектов исследования были выбраны 2,5-замещенные 6-гидроксипиримидин-4(3*H*)-оны (таблица 1), которые использовали в виде фармацевтических субстанций с массовой долей основного вещества не менее 99,0%.

1-октанол квалификации (х.ч.) дополнительно очищали кипячением над металлическим натрием в течение двух часов на установке с обратным холодильником, после чего охлаждали. Образовавшийся натрия гидроксид отфильтровывали, а 1-октанол перегоняли методом простой перегонки [5]. Собирали фракцию чистого вещества при 194–195 °С. В качестве растворителя для приготовления буферных растворов использовали воду бидистиллированную.

Изучение распределения проводили с использованием камеры климатической НРР 110 (Mettler, Германия). Системы помещали в стеклянные флаконы (марка стекла – МТО). Температуру поддерживали с точностью ±0,2 °С. Количественное определение проводили на спектрофотометре СФ-2000 («ОКБ Спектр», Россия) в закрывающихся кварцевых кюветах с толщиной слоя 10 мм.

Значения рН определяли потенциометрически с помощью рН-метра РВ11 (Sartorius, Россия). Стандартное отклонение измерений рН не превышало 0,03 единиц [5].

### Условия эксперимента

Ранее было установлено, что полученные на кафедре органической химии ФГБОУ ВО СПХФА 2,5-замещенные 6-гидроксипиримидин-4(3*H*)-оны обладают анальгетической и антимикробной активностью [10, 11].

Целью настоящего исследования являлось определение влияния заместителей и рН среды на величины коэффициентов распределения для ряда полигидроксипиримидинов.

Вещества вводили в двухфазные системы в виде растворов в соответствующих буферах с концентрацией около 0,0025 моль/л (таблица 1) [3].

Распределение изучали при равных объемах водной и органической фаз (50,0 мл), проводя не менее 3 повторений каждого эксперимента. Термостатирование и перемешивание фаз проводили в течение 24 ч. Пробы водной и органической фазы отбирали через 2 и 24 часа. Пипетку погружали в двухфазную систему, через неё осторожно продували воздух, чтобы предотвратить попадание в пипетку верхней органической фазы [3]. Пробу органического слоя таким же образом напрямую отбирали пипеткой.

Содержание вещества в каждой из фаз после распределения определяли по его собственной абсорбции при длине волны максимума поглощения (таблица 1).

В качестве растворов сравнения использовали фосфатные буферные растворы с соответствующим значением рН и 1-октанол соответственно.

Значение коэффициента распределения *P* (partition coefficient) рассчитывали по формуле (1),

$$P = \frac{[HA]_{oct}}{[HA]_{aq}}, \quad (1)$$

где  $[HA]_{oct}$  и  $[HA]_{aq}$  – равновесные концентрации веществ в октанольной и водной фазе соответственно.

Определение удельного коэффициента поглощения ( $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ ) для исследуемых соединений проводили по стандартной фармакопейной методике [12, 13].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты экспериментального определения показателя  $\log P$  в зависимости от рН буферной системы приведены в таблице 2.

Было установлено, что в условиях эксперимента термодинамические равновесия в системах устанавливаются в течение 24 ч.

В структуру первого соединения входят три вида групп, способных к ионизации: кислотные (NH), основные (пиридиновый атом азота) и амфотерные (ОН). Данный аспект обуславливает относительно высокую растворимость таких соединений во всем диапазоне рН и наличие узкого интервала рН, соответствующего его изоэлектрической точке (ИЭТ). Растворимость такого соединения в гидрофильных средах намного выше, чем в липофильных, что коррелирует с полученными экспериментальными результатами. Значения  $\log P$  на первом графике лежат ниже оси абсцисс и приближаются к ней лишь в узком интервале рН при значениях, близких к ИЭТ (рисунок 1).

Таблица 1.

Значения внесенных концентраций и удельных коэффициентов поглощения исследуемых веществ

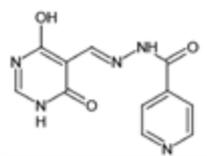
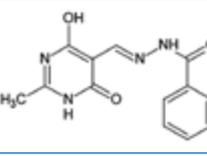
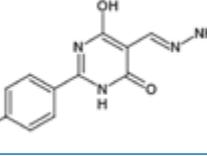
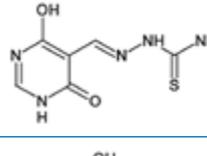
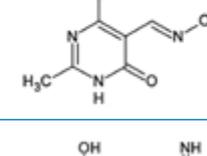
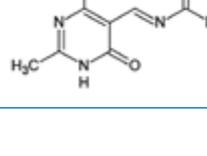
Фармацевтическая субстанция			Внесенная концентрация, $C_{исх}$ , г/л	Удельный коэффициент поглощения, $E_{уд}$	Длина волны максимума поглощения, $\lambda_{max}$ , нм
Шифр	Формула	Название по IUPAC			
1		N-[(4-гидрокси-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-5-ил)метилен]пиридин-4-карбгидрозид	0,0020±0,0003	1722	375±1
2		N-[(4-гидрокси-2-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-5-ил)метилен]бензгидразид	0,0043±0,0001	1001	355±1
3		2-[[4-гидрокси-2-(4-метилфенил)-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-5-ил)метилен]гидразинкарботиоамид	0,0028±0,0001	736	345±1
4		2-[(4-гидрокси-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-5-ил)метилен]гидразинкарботиоамид	0,0037±0,0003	1088	337±2
5		6-гидрокси-5-[(гидроксиимино)метил]пиримидин-4(3H)-он	0,0020±0,0001	1142	340±1
6		1-[(4-гидрокси-2-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-5-ил)метилен]гуанидин	0,0028±0,0002	719	298±2

Таблица 2.

Значения коэффициентов распределения ( $\log P$ ) веществ в системе 1-октанол – вода

Шифр	Время, ч	pH							
		2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,8
1	2	-0,71	-0,58	-0,24	-0,21	-0,20	-0,37	-0,58	-0,78
	24	-0,89	-0,72	-0,40	-0,26	-0,25	-0,45	-0,73	-0,97
2	2	1,39	1,38	1,42	1,48	-0,26	-0,28	-0,23	-1,18
	24	1,30	1,31	1,33	1,35	-0,23	-0,25	-0,21	-1,05
3	2	1,25	1,24	1,21	1,09	-0,44	-0,81	-0,80	-0,74
	24	1,18	1,21	1,19	1,05	-0,60	-0,96	-1,02	-0,95
4	2	0,78	0,47	0,11	-0,13	-0,41	-0,62	-0,76	-0,80
	24	0,61	0,32	0,08	-0,26	-0,58	-0,96	-1,16	-1,25
5	2	1,41	0,89	0,53	-0,09	-0,53	-1,01	-0,94	-0,97
	24	1,45	1,03	0,73	0,39	0,03	-0,25	-0,27	-0,28
6	2	0,37	0,24	0,12	0,02	-0,47	-1,29	-1,43	-1,48
	24	0,41	0,31	0,23	0,10	-0,15	-0,51	-0,75	-0,97

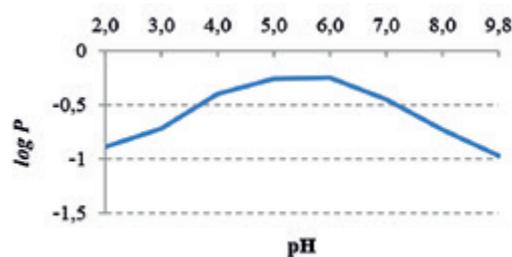
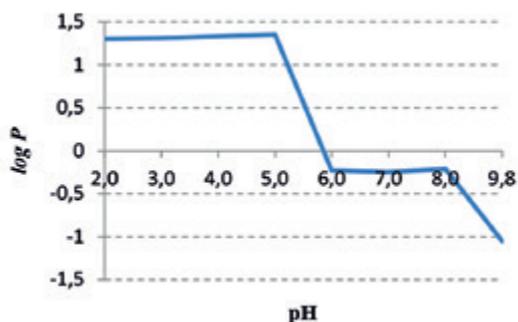
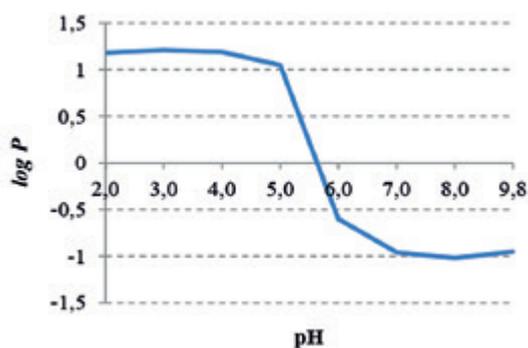


Рисунок 1. Зависимость  $\log P$  от pH для N-[(4-гидрокси-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-5-ил)метилен]пиридин-4-карбгидрозида (соединение 1)

В структуру всех остальных изучаемых соединений входят кислотные (NH) и амфотерные группы (OH), из-за сильного эффекта сопряжения основность пиридинового атома азота в структуре пиримидинового кольца заметно снижается. Растворимость таких соединений в гидрофильных средах проявляется при  $pH > 6$ , в кислой же области наблюдается сравнительно высокое сродство к липофильной фазе. Для соедине-



**Рисунок 2.** Зависимость  $\log P$  от pH для N-[[4-гидрокси-2-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-5-ил]метилен]бензгидразида (соединение 2)



**Рисунок 3.** Зависимость  $\log P$  от pH для 2-[[4-гидрокси-2-(4-метилфенил)-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-5-ил]метилен]гидразинкарботиоамида (соединение 3)

ний 2–6 внешний вид зависимостей  $\log P$  от величины pH определяется кислотными свойствами изучаемых структур.

Соединения 2 и 3 содержат в своей структуре два кислотных центра средней и слабой силы, что обуславливает их слабую гидрофильность в середине шкалы pH и высокую растворимость в сильнощелочных средах (рисунки 2, 3).

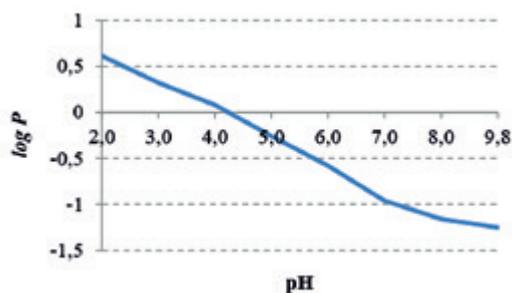
Соединения 4, 5 и 6 содержат в своей структуре три кислотных центра различной силы. Гидрофильность соединений 4, 5 и 6 плавно возрастает с увеличением pH (рисунки 4, 5, 6).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

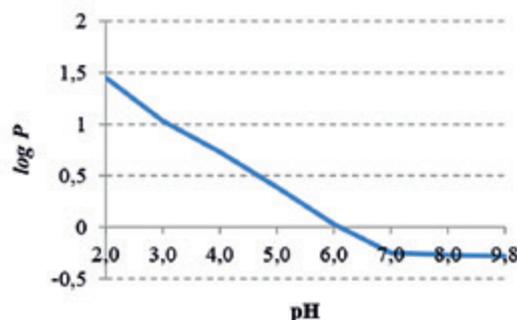
Зависимость  $\log P$  от pH среды в системе 1-октанол – буферный раствор может быть использована для оценки потенциальной биодоступности лекарственных веществ *in vitro*.

Были определены величины коэффициентов распределения для ряда полигидроксипиримидинов. Показано влияние заместителей и pH среды на значения показателя  $\log P$ .

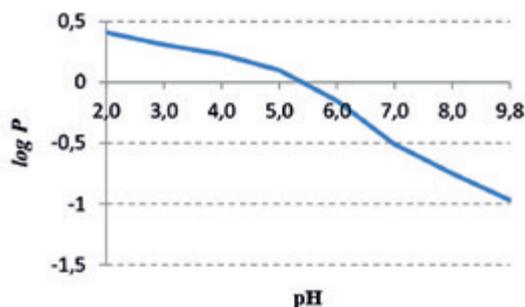
Установлено, что наличие во втором положении пиримидинового цикла электронодонорных замести-



**Рисунок 4.** Зависимость  $\log P$  от pH для 2-[[4-гидрокси-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-5-ил]метилен]гидразинкарботиоамида (соединение 4)



**Рисунок 5.** Зависимость  $\log P$  от pH для 6-гидрокси-5-[[гидроксиимино]метил]пиримидин-4(3H)-он (соединение 5)



**Рисунок 6.** Зависимость  $\log P$  от pH для 1-[[4-гидрокси-2-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-5-ил]метилен]гуанидина (соединение 6)

телей (метильной и п-толлилльной групп) значительно повышает растворимость данных производных в липофильной фазе, что соответственно приводит к увеличению значений  $\log P$  в области  $\text{pH} < 5$ .

Введение сильных электроотрицательных атомов (серы и азота) в структуру заместителей в пятом положении повышает NH-кислотность структур, вследствие чего значительно увеличивается их растворимость при  $\text{pH} > 8$  в водной фазе.

Липофильность изучаемых соединений, определяющая проницаемость веществ через липидные мембраны, возрастает с увеличением значения pH водной фазы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Н.Я. Головенко, И.Ю. Борисюк. Биофармацевтическая классификационная система – экспериментальная модель прогнозирования биодоступности лекарственных средств // Биомедицинская химия. 2008. Т. 54. С. 392–407.
2. J.Kujawski, M.K. Bernard, A. Janusz, W. Kuzma. Prediction of log P: ALOGPS application in medicinal chemistry education // Journal of Chemical Education. 2012. V. 89. P. 64–67.
3. А.А. Теслев. Разработка составов и технологий препаратов на основе 4-(3-оксо-3-этоксипропанамидо)бензойной кислоты, обладающих антиоксидантным и антиишемическим действием.: дис. ... канд. фарм. наук. СПб., 2016.
4. И.Е. Шохин, Ю.И. Кулинич, Г.В. Раменская, В.Г. Кулес. Важнейшие биофармацевтические свойства лекарственных веществ на стадии абсорбции в ЖКТ (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. 2011. №7 (45). С. 37–40.
5. О.С. Чернышова, А.С. Власенко, А.Ю. Куликов. Распределение фенола и его производных в системе вода – 1-октанол // Вісник Харківського Національного Університету. 2005. № 669. 13(36). С. 139–144.
6. И.Е. Шохин, Г.В. Раменская. Методики прогнозирования кишечной проницаемости лекарственных веществ с применением компьютерного моделирования // Biomedicines. 2011. № 2. С. 35–40.
7. K.T. Valsaraj, L.J. Thibodeaux. On the Estimations of Micelle-Water Partition Constants for Solutes from Their Octanol-Water Partition Constants, Normal Boiling Points, Aqueous Solubilities, and Group and Bond Contribution Schemes // Separation Science and Technology. 1990. V. 25. № 4. P. 369–395.
8. M.D. Trone, M.S. Leonard, M.G. Khaledi. Congeneric Behavior in Estimations of Octanol-Water Partition Coefficients by Micellar Electrokinetic Chromatography // Analytical Chemistry. 2000. V. 72. P. 1228–1235.
9. Н.Н. Пшенкина. Предиктивные технологии в исследовании новых лекарственных веществ URL: <http://www.medline.ru/public/art/tom12/art86.html> (дата обращения 01.02.2017).
10. А.Э. Потапова, И.П. Яковлев, Е.В. Куваева. Антимикробная активность 2,5-замещенных-6-гидроксипиримидин-4(3Н)-онов // Инновации в здоровье нации: сборник материалов IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. 2016. С. 504–507.
11. А.Э. Потапова, Е.В. Куваева, М.В. Сопова, Г.В. Ксенофонтова, И.П. Яковлев. Реакции 2-замещенных 6-гидрокси-4-оксо-1,6-дигидропиримидин-5-карбальдегидов с некоторыми N-нуклеофилами // Бутлеровские сообщения. 2016. № 10 (48). С. 87–92.
12. ОФС.1.2.1.1.0003.15. Спектрофотометрия в УФ- и видимой областях // Государственная фармакопея. XIII изд. Т. 1. – М. 2016.
13. D.A. Smith, C. Allerton, A.S. Kalgutkar, H. van de Waterbeemd, D.K. Walker. Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Design. Third Ed. – New Jersey: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2012. P. 257.

## IV ВСЕРОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС ПРАВОВОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ В РОССИИ И В ЕАЭС



### КЛЮЧЕВЫЕ ТЕМЫ КОНГРЕССА:

- Гармонизация законодательства в сфере оборота лекарств между странами ЕАЭС в 2017-2018гг.;
- Нормативная база мер по совершенствованию лекарственного обеспечения и взаимозаменяемости лекарственных средств: последние изменения;
- Государственное регулирование цен на лекарственные препараты (ЛП): проблемы ценообразования, действенность контроля и надзора за применением цен на ЛП, включенные в ЖНВЛП;
- Изменения в государственной регистрации лекарственных средств и фармацевтических субстанций в РФ и на территории ЕАЭС в 2017-2018 году;
- Ключевые изменения в государственных и корпоративных закупках лекарственных средств и медицинских изделий в 2017г., планируемые изменения в 2018г.

К участию в Конгрессе приглашены представители: Евразийской экономической комиссии; Минздрава России; Минпромторга России; Росздравнадзора; Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России; ФБУ «ГИЛС и НП»; Института госзакупок и др.

**07 июля 2017**

Отель «Арагат Парк Хаятт», Москва

[www.asergroup.ru](http://www.asergroup.ru)

[info@asergroup.ru](mailto:info@asergroup.ru)  
+7 (495) 988-61-15

НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

