

Síntesis y Propiedades Fisicoquímicas de 1-N-Aminometil Derivados del Alopurinol

SUSANA M. SICARDI, HORACIO N. PAPPÀ y JUAN E. KOCH

Cátedra de Farmacoquímica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA,
Junín 956, Buenos Aires 1113, Argentina

RESUMEN. Fueron sintetizados y estudiados en sus respectivas solubilidad y lipofili-
cidad 1-N-aminometilderivados del Alopurinol(1), utilizando aminas alifáticas, alicíc-
licas y aromáticas, en búsqueda de derivados con mayor absorción por vía oral. To-
dos resultaron ser más solubles que (1) destacándose el 1-N-[4(β-hidroxi-etil)-piperazi-
nol] alopurinol, con una solubilidad molar de $21,6 \times 10^{-2}$. La lipofili-
cidad de (1) en el sistema octanol/agua es de $-0,62$. Si bien todos los derivados resultaron ser más
lipofílicos que (1), no se observa una clara relación entre punto de fusión, solubilidad
y lipofili-
cidad, indicando que pueden estar involucrados factores estéricos de los sus-
tituyentes.

SUMMARY. "Synthesis and Physico Chemical Properties of 1-N-aminomethylated
Allopurinol Derivatives". 1-N-aminomethylated Allopurinol derivatives were prepa-
red using aliphatic, alicyclic and aromatic amines, in an attempt to improve aqueous
solubility and oral absorption. Their physico chemical properties such as solubility
and lipophilicity were determined. All of them have shown a greater solubility and li-
pophilicity in comparison with the parent drug [$S_M = 0.5 \times 10^{-2}$, $\text{Log P (oct/w)} =$
 -0.62] but they were highly unstable to heat. The 1-N-[4-(β-hydroxyethyl) 1-pipe-
razino methyl] allopurinol was the most soluble compound, $S_M = 21.6 \times 10^{-2}$. There
was not a clear relationship between melting point, solubility and lipophilicity indi-
cating that steric factors might be involved.

INTRODUCCION

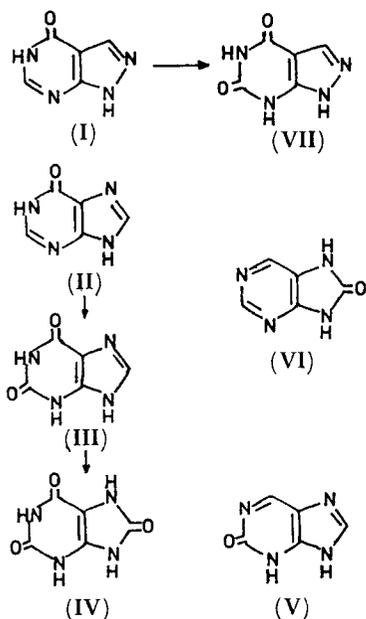
El Alopurinol*, 1,5-dihidro-4H-pirazo-
lo [3,4-d]pirimidino-4-ona (I) es uno de
los más potentes inhibidores de la xanti-

no oxidasa¹. Esta enzima está involucra-
da en el catabolismo celular de purinas,
oxidando normalmente la hipoxantina
(II) a xantina (III) y a ésta a ácido úrico

* DCI (denominación común internacional)

PALABRAS CLAVE: 1-N-aminometil derivados del Alopurinol; Síntesis; Solubilidad; Coe-
ficiente de Partición; 1-N-pirrolidinometil-; 1-N-dietilaminometil-; 1-N-piperidinometil-;
1-N-morfolinometil-; o- y p-1-N-nitrofenilaminometil-; 1-N-[4(β-hidroxi-etil) 1-piperazi-
nometil]-

KEY WORDS: 1-N-aminomethylated Allopurinol derivatives; Synthesis; Solubility; Parti-
tion Coefficient 1-N-Pirrolidino methyl-; 1-N-diethylaminomethyl-; 1-N-piperidinome-
thyl-; 1-N-morpholinomethyl-; o- and p-1-N-nitrophenylaminomethyl-; 1-N-[4-(β-hy-
droxyethyl) 1-piperazino methyl]-



(IV), el cual según las especies puede ser excretado como tal o continuar su biodegradación. La enzima también oxida la 2-oxopurina (V) o la 8-oxopurina (VI) a ácido úrico. El alopurinol como sustrato de la xantina oxidasa también es oxidado lentamente al 4,6-dioxoderivado (VII), el cual conserva la actividad inhibitoria de su predecesora. De hecho, (I) es comercializado desde hace más de 20 años para el tratamiento de la gota e hiperuricemias².

Publicaciones recientes de laboratorios ocupados en el desarrollo de drogas antichagásicas^{3,4} y en el tratamiento de la isquemia cardíaca^{5,6} han renovado el interés por esta droga y sus derivados.

La tendencia en el diseño y síntesis de derivados del alopurinol siguen dos grandes aproximaciones:

- 1) la obtención de análogos para incrementar su potencia^{7,8}.
- 2) la obtención de pro-drogas para mejorar su solubilidad, absorción y distribución tisular^{9,10}.

Este trabajo estudia la viabilidad de la 1-N-aminometilación del alopurinol como vía de obtención de derivados más solubles y en consecuencia con mayor capacidad de absorción, utilizando aminas alifáticas, alicíclicas y aromáticas.

PARTE EXPERIMENTAL

Los compuestos inéditos fueron identificados por análisis elemental cuantitativo y espectroscópico (RMN- H^1 e IR). Se utilizó un aparato Büchi para determinaciones de punto de fusión, espectrofotómetros Perkin-Elmer A-700 para espectros infrarrojos y Shimadzu UV-Visible 240 para determinaciones al ultravioleta y un Varian A-60 para espectros de resonancia nuclear protónica.

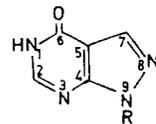
Síntesis

Todos los compuestos descritos en la Tabla 1 pueden ser obtenidos según el procedimiento descrito¹⁰ (Método A) o aislando el 1-N-hidroximetil alopurinol^{11,12} y posterior tratamiento del mismo con la amina correspondiente (Método B).

Método A: 1-N-(Pirrolidinometil) alopurinol (2). A una suspensión de 1 g (0,007 moles) de alopurinol en 15 ml de etanol, se agrega agitando 1,35 ml (0,015 moles) de pirrolidina; al cabo de 20 min se agrega 1,25 ml de una solución acuosa de formaldehído al 37%. Se deja agitando a temperatura ambiente durante 12 hs y se filtra lavando el sólido con EtOH. Se seca al vacío y recristaliza de metanol o de etanol. Peso = 0,9 g (Rto. = 55,9%), P.F. 192-4 °C. Análisis para $C_{10}H_{13}N_5O$: calc. %: C 54,78; H 5,98; N 31,94; hall. %: C 55,01; H 6,13; N 32,14. IR (KBr): NH 3.180-3.000 cm^{-1} , CO 1710 cm^{-1} . RMN- H^1 (DMSO- d_6) 1,9:m:8H (CH_2 pirr.), 4,9: t: 2H (CH_2 puente), 8,0:m: 2H (CH=).

Método B: 1-N-(o-nitrofenilamino) alopurinol (6). Se disuelven 0,83 g (0,006 moles de o-nitroanilina en 65 ml de etanol; se agrega 1 g (0,006 moles) de 1-N-hidroximetil alopurinol¹¹ y se calienta en baño a 60 °C durante 2 hs. Se enfría, filtra y recristaliza de EtOH, agregando el sólido al solvente caliente y sin

que éste haya alcanzado su P.Eb. P.F. 282-3 °C. Peso = 0,38 g (Rto. = 22,0 %). Análisis para C₁₂H₁₀N₆O₃: calc. %: C 50,35; H 3,52; N 29,36; hall. %: C 50,20; H 3,80; N 29,46. IR (KBr) NH 3.200-3.050 cm⁻¹, CO 1.690 cm⁻¹. RMN-H¹ (DMSO-d₆) 5,2: t: 2H (CH₂ puente), 8,3:m:6H (CH = ar.).



Compuesto Nº	R	P.F. (°C)	Rto. (%)	S _M x 10 ⁻²	Log S _M obs.	calc. ^a	Log P (oct/ agua)
1	HOCH ₂ CH ₂ N  N-CH ₂ -	196-8	61,4	21,6	-0,67	-0,72	-0,21
2	 N-CH ₂ -	192-4	55,9	12,9	-0,89	-0,34	-0,55
3	(CH ₃ CH ₂) ₂ N-CH ₂ -	192-4	55,2	7,5	-1,13	-0,33	-0,56
4	 N-CH ₂ -	237-8 ^a	81,0	4,3	-1,36	-1,37	+0,04
5	O ₂ N  NH-CH ₂ -	216-7	37,9	2,55	-1,59	-1,86	+0,74
6	 NH-CH ₂ -	282-3	22,0	2,41	-1,62	-1,61	-0,09
7	 N-CH ₂ -	232-4 ^b	57,5	2,13	-1,67	-1,03	-0,26
8	H (alopurinol)	365 ^c	-	0,37	-2,43	-1,99	-0,62

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de 1-N-aminometil derivados del alopurinol. Los compuestos han sido ordenados en orden decreciente de su solubilidad molar (S_M).

^a: Log S_M = - log P - 0,01 P.F. + 1,05, usando los valores experimentales de P.F. y P (oct/agua).

^b: Compuesto 4: P.F. 231-2 °C y Compuesto 7: P.F. 229-30 °C en Referencia 10.

^c: En Referencia 9.

Solubilidad

La solubilidad en agua del alopurinol y sus derivados 1-N-aminometilsustituídos(1-8) se determinó usando la técnica espectrofotométrica de equilibrio¹². Un exceso de compuesto en 25 ml de H₂O destilada se agita a temperatura ambiente durante 24 hs. La mezcla se filtra y una alícuota del filtrado se diluye convenientemente para leer la absorbancia (A) a 247 nm. La concentración de cada compuesto en su solución saturada se obtiene por extrapolación de las absorbancias medidas en las respectivas curvas estándar. Las determinaciones se efectúan por duplicado y se tabula el promedio.

Coefficiente de Partición (P)

El coeficiente de partición para cada compuesto fue determinado experimentalmente siguiendo la metodología empleada en trabajos anteriores¹³. El sistema de solventes utilizado fue agua destilada saturada de n-octanol y éste saturado con agua destilada. El volumen relativo de las 2 fases y la cantidad de muestra fueron elegidas de forma tal que la absorbancia de la muestra en la capa acuosa, luego de la partición, tuvo un valor entre 0,2 y 0,9, usando una celda de 1 cm. Para particionar cada compuesto se agita durante 5-30 min a temperatura ambiente con partes iguales de cada fase y se centrifuga a 2.000 rpm durante 15-20 min. La concentración de la muestra en la capa acuosa se determina por lectura de la absorbancia a 247 nm. Cada determinación se efectuó por triplicado y se tabuló el promedio, expresado en logaritmos.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

La Tabla 1 describe los compuestos obtenidos en orden decreciente a su solu-

bilidad molar (S_M). El valor expresado en logaritmos es comparado en la columna 6 con el $\text{Log } S_M$ teórico que resulta de aplicar la ecuación semi-empírica de Yalkowsky y Valvani¹⁴, utilizando para cada compuesto los valores experimentales de punto de fusión y coeficiente de partición. El acercamiento entre la solubilidad observada y la calculada confirman el valor de esta ecuación para predecir la solubilidad acuosa de sólidos.

Si bien la inserción de un grupo aminometilo en la posición 1 del alopurinol incrementa la solubilidad acuosa del mismo, los derivados obtenidos se caracterizan por una alta sensibilidad a descomponerse por el calor, debiéndose recristalizar en la mayoría de los casos a una temperatura inferior a la del punto de ebullición del solvente. Los derivados más estables resultaron aquellos cuyo componente amino posee un pK superior a 8 (aminas alifáticas y alicíclicas). De las aminas aromáticas utilizadas, sólo pudieron aislarse en forma pura los nitrofenilaminoderivados 5 y 6.

La escasa solubilidad del alopurinol (0,5 mg/ml) ha sido atribuida a fuerzas intermoleculares en el estado cristalino, causadas por puentes de hidrógeno entre el grupo 1-NH (pK = 10,5) y el 7-N de otra molécula, mientras que el grupo 2-N es unido al hidrógeno de un 5-NH (pK = 13)¹⁶. Así, sustituyentes en el 1-NH, al evitar la formación de puente de hidrógeno, disminuyen el punto de fusión y aumentan la solubilidad a pesar del observado incremento en la lipofiliidad (Tabla 1, columna 7).

Sin embargo, no se observa una clara relación entre punto de fusión, solubilidad y lipofiliidad, sobresaliendo en este enfoque los isómeros 2 y 3, que a igual punto de fusión y similar lipofiliidad, muestran diferencias marcadas en su so-

lubilidad, lo que hace presuponer que factores estéricos de los sustituyentes deben estar involucrados.

Es interesante destacar que poca atención ha sido puesta en la lipofilidad del alopurinol. Lien¹⁶, trabajando sobre distintas familias químicas de fármacos, demostró que compuestos que presenten un Log P inferior a cero mostrarán una baja absorción oral, a menos que ésta se

lleve a cabo por transporte activo. La baja lipofilidad del alopurinol observada (-0,62) sugiere continuar la búsqueda de derivados estables más lipofílicos.

AGRADECIMIENTOS. Este trabajo ha sido financiado mediante un subsidio de la Universidad de Buenos Aires. Agradecemos la asistencia técnica de la Bioq. M.T. Iglesias.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Elion, G.B., A. Kovensky, G.H. Hitchings, E. Metz y R.W. Rundles (1966) *Biochem. Pharmacol.* 15: 863-80
2. Boss, G.R. y J.E. Seegmiller (1979) *New Engl. J. Med.* 300: 1459-68
3. Marr, J.J., R.L. Berens y D.J. Nelson (1978) *Science* 201: 1018-20
4. Avila, J.L. y A. Avila (1981) *Exp. Parasitol.* 51: 204-8
5. Gadner, T.J., J.R. Steward, A.S. Casale, J.M. Downey y D.E. Chambers (1983) *Surgery* 94: 423-45
6. Clark, I.A., W.B. Cowden y N.H. Hunt (1985) *Med. Res. Rev.* 5: 297-332
7. Kobayashi, S. (1973) *Chem. Pharm. Bull.* 21: 941-51
8. Senga, K. y R.K. Robins (1982) *J. Heterocycl. Chem.* 19: 1565-7
9. Hussain, A. y J. Howard Rytting (1974) *J. Pharm. Sci.* 63: 798-9
10. Bundgaard, H. y M. Johansen (1981) *Acta Pharm. Suec.* 18: 129-34
11. Bansal, P.C., I.H. Pitman y T. Higuchi (1981) *J. Pharm. Sci.* 70: 855-7
12. Wolkoff, H.N. (1970) en "The Theory and Practice of Industrial Pharmacy" (L. Lachman, H. A. Lieberman y J.L. Kanig, eds.) Lea y Febiger Philadelphia, pág. 445
13. Sicardi, S.M. (1982) *Acta Farm. Bonaerense* 1: 69-74
14. Valvani, S.C. y S.H. Yalkowsky (1980) en "Physical Chemical Properties of Drugs" (S.H. Yalkowsky, A.A. Sinkula y S.C. Valvani, eds.) Marcel Dekker, Inc., New York, pág. 214
15. Prusiner, P. y M. Sundaralingam (1972) *Acta Cryst. B* 25: 2148-51
16. Lien, E.J. (1975) en "Drug Design" (E.J. Ariens, ed.) Academic Press, New York, vol. 5, pág. 81