

ОРГАНИЧЕСКАЯ И БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

УДК УДК 547-314

**СИНТЕЗ НЕКОТОРЫХ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ АММОНИЕВЫХ СОЛЕЙ
НА БАЗЕ 4а,8-ДИМЕТИЛ-3Н,5Н-БИС-СПИРО[ЦИКЛОГЕКСАН-4а,5-
ДИГИДРОИЗОБЕНЗОФУРО[5,6-с]ФУРАН]-1,7-(3Н,4Н)-ДИОНА
И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ**

Л. Х. ГАЛСТЯН^а, К. С. АВЕТИСЯН^а, З. Г. АЛЕБЯН^б и В. О. ТОПУЗЯН^б

^аЕреванский государственный университет
Армения, 0025, Ереван, ул. А.Манукяна,1
E-mail: galstyan_l@ysu.am

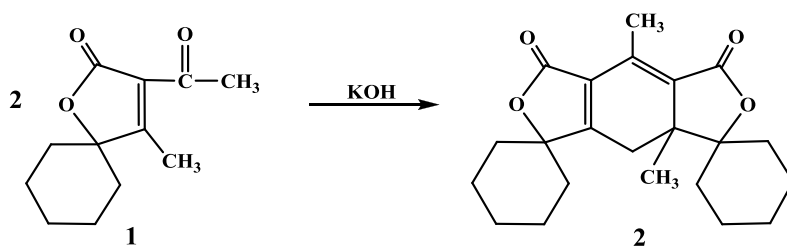
^бНаучно-технологический центр органической и фармацевтической химии
НАН Республики Армения
Институт тонкой органической химии им. А.Л.Мнджояна
Армения, 0014, Ереван, пр. Азатутян, 26

Поступило 29 VI 2015

Разработаны оптимальные условия для синтеза 4а,8-диметил-3Н,5Н-бис-спиро[циклогексан-4а,5-дигидроизобензофуоро[5,6-с]фуран]-1,7-(3Н,4Н)-диона, на базе которого по реакции Кинга синтезирован ряд четвертичных аммониевых солей и изучена их антихолинэстеразная и антибактериальная активность. Установлено, что все испытуемые соединения проявляют ингибирующие свойства как по отношению к ацетилхолинэстеразе, так и бутирилхолинэстеразе, а также обладают антибактериальной активностью.

Табл. 2, библи. ссылок 8.

Ранее нами было показано, что 3-ацетил-4-метил-5,5-пентаметилеффуран-2(5Н)-он (1) в водном растворе КОН при комнатной температуре в течение 48 ч, вопреки литературным данным [1], образует новую трициклическую конденсированную гетероциклическую систему — 4а,8-диметил-3Н,5Н-бис-спиро[циклогексан-4а,5-дигидроизобензофуоро[5,6-с]фуран]-1,7-(3Н,4Н)-дион (2) [2].



В представленной работе изучено влияние природы основания и температуры проведения реакции на выход образующегося соединения 2. В качестве оснований использованы гидроксид натрия, поташ, ацетат натрия, а температура проведения реакции варьировалась в пределах от 40 до 100°C (табл.1).

Таблица 1

Влияние природы основания и температуры проведения реакции на выход 4а,8-диметил-3Н,5Н-бис-спиро[циклогексан-4а,5-дигидроизобензофуоро[5,6-с]фуран]-1,7-(3Н,4Н)-диона

Основание	T, °C	Выход, %	Основание	T, °C	Выход, %
KOH	20	45	KOH	40	45.8
NaOH	20	61	KOH	60	58.4
K ₂ CO ₃	20	5.6	KOH	80	46.1
CH ₃ COONa	20	0	KOH	100	42.7
—	—	—	NaOH	60	67.7

Данные табл. 1 показывают, что наилучшие результаты наблюдаются при использовании в качестве основания гидроксида натрия при температуре проведения реакции 60°C.

Нами изучено также влияние длительности проведения реакции на выход соединения 2. Время проведения реакции варьировалось в пределах от 1 до 10 ч. За ходом реакции следили методом ТСХ. Исследования показали, что образование соединения 2 начинается после 3-часового нагревания, а его выход достигает своего максимального значения — 67.7%, после 9-часового нагревания. Следует отметить, что при нагревании реакционной смеси в течение 10 ч выход соединения 2 понижается.

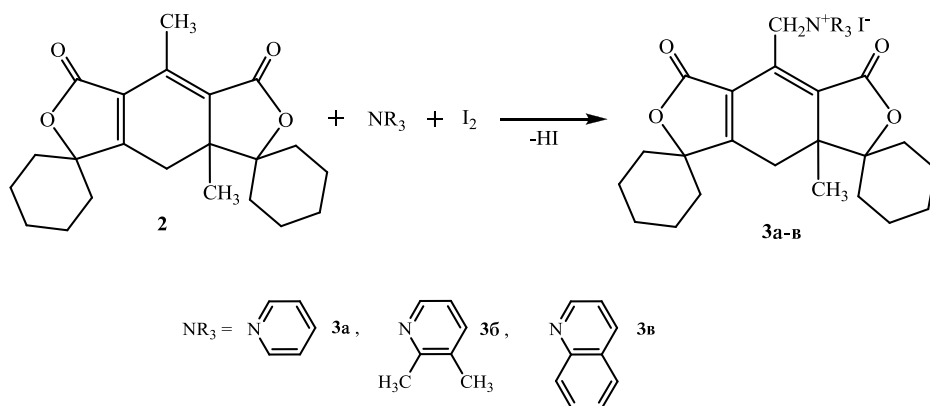
Таким образом, нами найдены оптимальные условия для синтеза соединения 2 — это применение в качестве основания гидроксида натрия и нагревание реакционной смеси при 60°C в течение 9 ч.

Известно, что наблюдаемый при болезни Альцгеймера дефицит ацетилхолина связан с высокой активностью холинэстераз [3]. Применяемые при этой болезни препараты в основном являются ингибиторами ацетилхолинэстеразы (АХЭ). Между тем, бутирилхолинэстераза (БухЭ),

помимо высокой активности, также способствует накоплению β -амилоидного белка в организме, что характерно для болезни Альцгеймера. Исходя из сказанного очевидно, что создание селективных БУХЭ ингибиторов является важной задачей.

Известно также, что лактонсодержащие соединения обладают антихолинэстеразной активностью [4]. С другой стороны, применяемые в медицине некоторые антихолинэстеразные препараты — это пиридинсодержащие четвертичные аммониевые соли, в частности, применяемый в медицине препарат пиридостигмин — йодметилат 1-метил-3-(диметилкарбамоилокси)пиридина [5].

Исходя из вышесказанного и с целью сочетания двух биологически активных структурных единиц (лактонное и пиридиновое кольца) нами за счет аллильных водородов в положении 8 соединения **2** осуществлена реакция Кинга [6] с некоторыми азотсодержащими гетероциклами (пиридин, 2,3-лутидин, хинолин). Реакция проводилась в условиях кипячения соединения **2** с десятикратным избытком соответствующего амина и йодом в абсолютном этаноле в течение 14 ч. По данным физико-химических исследований установлено, что в результате реакции образуются соответствующие четвертичные аммониевые соли **3а-в**.



Строение полученных солей **3а-в** подтверждено данными ИК- и ЯМР ^1H спектров, чистота проверена методом ТСХ, состав — элементным анализом.

Изучена антихолинэстеразная и антибактериальная активность соединений **3а-в**. Антихолинэстеразная активность изучена по отношению к АХЭ и БУХЭ, выделенных и очищенных из эритроцитов и плазмы крови человека. Активность холинэстераз измерена по методу Эльмана [7]. Количественная оценка активности проведена с помощью значений IC_{50} (концентрация исследуемого соединения, при которой происходит 50% торможение скорости холинэстеразного гидролиза).

Антибактериальная активность изучена по отношению к грамположительным стафилококкам и грамотрицательным палочкам. Исследования проводились по методике [8]. Учет результатов проведен по диаметру (*d*, мм) зоны отсутствия роста микробов на месте нанесения веществ. В качестве положительного контроля использован лекарственный препарат фуразолидон.

Результаты исследования биологической активности соединений **3а-в** приведены в табл. 2.

Таблица 2

Антихолинэстеразная и антибактериальная активность соединений **3а-в**

Данные исследования антихолинэстеразной активности				Данные исследования антибактериальной активности			
соединение	IC ₅₀ , мМ АХЭ (А)	IC ₅₀ , БуХЭ (Б)	А/Б	диаметр зоны угнетения роста микробов, мм (<i>d</i>)			
				Stafylococcus aureus		Sh. Flexneri 6858	E. Coli 0-55
				209 p	1		
3а	0.036	0.041	0.87	25	24	24	22
3б	0.031	0.047	0.66	16	13	15	16
3в	0.037	0.012	3.08	16	13	14	13
фуразолидон	—	—	—	25	24	24	23

Как видно из данных табл. 2, все испытуемые соединения проявляют ингибирующие свойства как по отношению к АХЭ, так и БуХЭ. При этом, если изменение в молекуле испытуемого соединения четвертичной аммониевой структурной единицы не влияет на активность по отношению к АХЭ, то переход от пиридиниевых солей **3а,б** к хинолиниевой соли **3в** сопровождается увеличением активности по отношению к БуХЭ. Кроме того, из величины соотношения А/Б, свидетельствующего о специфичности по отношению к холинэстеразам, следует, что если пиридиниевые соли **2а,б** специфичны по отношению к АХЭ, то хинолиниевая соль **3в** — к БуХЭ. Следует отметить, что активность соединения **3в** в 10 раз превосходит активность применяемого в медицине препарата пиридостигмина, IC₅₀ которого по отношению к БуХЭ равна 0.1 мМ [5].

Данные антибактериальных исследований соединений **3а-в**, приведенные в табл. 2, свидетельствуют о том, что все они обладают антибактериальными свойствами. При этом, в отличие от антихолинэстеразной активности, самую высокую антибактериальную активность, равную активности положительного контрольного препарата фуразолидона, проявляет пиридиниевая соль **3а**.

Экспериментальная часть

ИК-спектры зарегистрированы на спектрометре "Nicollet Avatar 330 – FI-IR" в вазелиновом масле. Спектры ЯМР ^1H получены на спектрометре "Varian Mercury-300" с рабочей частотой 300 МГц в DMSO- d_6 . Контроль за ходом реакции и чистотой полученных соединений проведен на пластинках "Silufol UV-254", элюент – этанол-бензол (1:2), этанол-гексан (2:1), ацетон-бензол (1:4), проявление – парами йода.

4а,8-Диметил-3Н,5Н-бис-спиро[циклогексан-4а,5-дигидроизобензофу-ро[5,6-с]фуран]-1,7-(3Н,4Н)-дион (2). К раствору 0.02 моля NaOH в 15 мл воды (1.45М) при перемешивании прибавляют 0.02 моля 3-ацетил-4-метил-5,5-пентаметилефурани-2(5Н)-она (1). Реакционную смесь кипятят 9 ч при 60°C. Осадок отфильтровывают, промывают водой, диэтиловым эфиром и перекристаллизовывают из смеси ацетон-вода (1:4). Выход 67.7%, т. пл. 207-208°C. R_f 0.75 (ацетон-бензол = 1:4).

Общий метод синтеза йодидов 4а-метил-8-аммонийметил-3Н,5Н-бис-спиро[циклогексан-4а,5-дигидроизобензофуоро[5,6-с]фуран]-1,7-(3Н,4Н)-диона (3а-в). Смесь 0.0014 моля йода, 0.0014 моля 4а,8-диметил-3Н,5Н-бис-спиро[циклогексан-4а,5-дигидроизобензофуоро[5,6-с]фуран]-1,7-(3Н,4Н)-диона (2) и 0.014 моля соответствующего амина в 20 мл абсолютного этанола кипятят на водяной бане 14 ч. После отгонки растворителя и избыточного амина остаток промывают бензолом, диэтиловым эфиром и перекристаллизовывают из этанола.

Йодид 4а-метил-8-пиридинийметил-3Н,5Н-бис-спиро[циклогексан-4а,5-дигидроизобензофуоро[5,6-с]фуран]-1,7-(3Н,4Н)-диона (3а). Выход 82%, т.пл. 218-221°C. R_f 0.77 (этанол-гексан = 2:1). ИК-спектр, ν , см^{-1} : 1400 ((CH_2) $_5$ -C-O-), 1612 (C=C лакт.), 1620 (C=C- CH_2), 1750 (C=O эф.), 2640-2720 (C-N $^+$). Спектр ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ , м.д.: 1.30 с (3 Н, CH_3), 1.43-1.80 м (20 Н, 2 $\times$ C $_6$ H $_{10}$), 1.94 д (1 Н, CH_2), 2.19 д (1 Н, CH_2), 2.0 с (2 Н, CH_2N), 8.22-9.06 м (5 Н $_{\text{пиридин}}$). Найдено, %: I 22.75. C $_{27}$ H $_{32}$ O $_4$ NI. Вычислено, %: I 22.60.

Йодид 4а-метил-8-(2,3-диметил)пиридинийметил-3Н,5Н-бис-спиро[циклогексан-4а,5-дигидроизобензофуоро[5,6-с]фуран]-1,7-(3Н,4Н)-диона (3б). Выход 89.7%, т.пл. 188-190°C. R_f 0.16 (этанол-бензол = 1:2). ИК-спектр, ν , см^{-1} : 1420 ((CH_2) $_5$ -C-O-), 1610 (C=C лакт.), 1620 (C=C- CH_2), 1755 (C=O эф.), 2600-2750 (C-N $^+$). Спектр ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ , м.д.: 1.31 с (3 Н, CH_3), 1.44-1.82 м (20 Н, 2 $\times$ C $_6$ H $_{10}$), 1.96 д (1 Н, CH_2), 2.12 с (2Н, $\text{CH}_2\text{-N}$) 2.20 д (1 Н, CH_2), 2.34 с (3 Н, $\beta\text{-CH}_3$ лутид.), 2.91 с (3 Н, $-\text{CH}_3$ лутид.), 7.97-8.95 м (3Н $_{\text{лутид.}}$). Найдено, % : I 21.65. C $_{29}$ H $_{36}$ O $_4$ NI. Вычислено, %: I 21.53.

Йодид 4а-метил-8-хинолинийметил-3Н,5Н-бис-спиро[циклогексан-4а,5-дигидроизобензофуоро[5,6-с]фуран]-1,7-(3Н,4Н)-диона (3в). Выход 86%, т.пл. 258-260°C. R_f 0.19 (этанол-бензол = 1:2). ИК-спектр, ν , см^{-1} : 1415 ((CH_2) $_5$ -C-

O-), 1615 (C=C лaкт.), 1625 (C=C-CH₂), 1750 (C=O эф.), 2620-2770 (C-N⁺). Спектр ЯМР ¹H (DMSO-d₆), δ, м.д.: 1.32 с (3 H, CH₃), 1.43-1.84 м (20 H, 2×C₆H₁₀), 1.92 д (1 H, CH₂), 2.18 д (1 H, CH₂), 2.20 с (2H, CH₂-N), 8.10-9.12 м (7H_{хинол}). Найдено, %: I 20.97. C₃₁H₃₄O₄NI. Вычислено, %: I 20.75.

4a,8-ԴԻՄԵԹԻԼ-3H,5H-ԲԻՍ-ՍՊԻՐՈ[ՅԻԿԼՈՆԵԶՍԱՆ-4a,5-ԴԻԿԻԴՐՈԻԶՈԲԵՆԶՈԲԵՆՈԲՐՈ[5,6-с]ՖՈՒՐԱՆ]-1,7-(3H,4H)-ԴԻՈՆԻ ԲԱԶԱՅԻ ՈՐՈՇ ՉՈՐՐՈՐԴԱՅԻՆ ԱՄՈՆԻՈԲՍԱՅԻՆ ԱՂԵՐԻ ՍԻՆԹԵԶԸ ԵՎ ՆՐԱՆՑ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ

L. Խ. ԳԱԼՍՏՅԱՆ, Կ. Ս. ԱՎԵՏԻՍՅԱՆ, Զ. Դ. ՆԱԼԵԲՅԱՆ և Վ. Օ. ԹՈՓՈՒԶՅԱՆ

Մշակվել են 4a,8-դիմեթիլ-3H,5H-բիս-սպիրո[ցիկլոհեքսան-4a,5-դիկիդրոիզոբենզոֆուրո[5,6-с]ֆուրան]-1,7-(3H,4H)-դիոնի սինթեզի օպտիմալ պայմաններ և նրա բազայի վրա Կինգի ռեակցիայով սինթեզվել են մի շարք չորրորդային ամոնիումային աղեր: Ուսումնասիրվել է վերջիններիս հակախոլինէսթերազային ակտիվությունը էրիտրոցիտային ԱՆԵ-ի և պլազմային ԲուՆԵ-ի հանդեպ: Համաձայն ստացված արդյունքների, սինթեզված բոլոր միացությունները ցուցաբերում են արգելակիչ հատկություններ ինչպես ԱՆԵ-ի, այնպես էլ ԲուՆԵ-ի հանդեպ: Ուսումնասիրվել է նաև սինթեզված աղերի հակաբակտերիալ ակտիվությունը և պարզվել է, որ նրանք բոլորն օժտված են հակաբակտերիալ ակտիվությամբ ինչպես զրամդոկալան ստաֆիլոկոկների, այնպես էլ գրամբացասական շտամների նկատմամբ:

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF SOME QUATERNARY AMMONIUM SALTS ON THE BASIS OF 4a,8-DIMETHYL-3H,5H-BIS-SPIRO[CYCLOHEXANE-4a,5-DIHYDROISOBENZOFURO[5,6-c]FURAN]-1,7-(3H,4H)-DIONE

L. Kh. GALSTYAN^a, K. S. AVETISYAN^a, Z. G. HALEBYAN^b and V. O. TOPUZYAN^b

^a Yerevan State University

1, A. Manoukian Str., Yerevan, 0025, Armenia

E-mail: galstyan_l@ysu.am

^b The Scientific Technological Centre of Organic and Pharmaceutical Chemistry NAS RA

A.L. Mnjoyan Institute of Fine Organic Chemistry

26, Azatutyan Str., Yerevan, 0014, Armenia

The optimal conditions were worked out for the synthesis of 4a,8-dimethyl-3H,5H-bis-spiro[cyclohexane-4a,5-dihydroisobenzofuro[5,6-c]furan]-1,7-(3H,4H)-dione, on the basis of which some quaternary ammonium salts were synthesized by King's reaction.

The anticholinesterase activity of the synthesized salts in relation to erythrocytic acetylcholinesterase (AChE) and plasmic butyrylcholinesterase (BuChE) was studied. According to the obtained data, all of the synthesized compounds show inhibitory properties in relation to both AChE and BuChE.

The antibacterial activity of the synthesized salts was also studied and it was found that all of them showed antibacterial activity in relation to both gram positive staphylococci and gram negative strains.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Аветисян А.А., Джанджапанян А.Н., Акопян З.А., Товмасын Н.Г.* // Арм. хим. ж., 1983, т. 36, №12, с. 767.
- [2] *Галстян Л.Х., Аветисян К.С., Тамазян Р.А., Айвазян А. Г.* // ЖОрХ, 2014, т.50, вып.3, с. 405. [Russian Journal of Organic Chemistry, 2014, v. 50, №3, p. 394].
- [3] *Gauthier S., Gelinas I., Gauthier L.* // Int. Psychogeriatr., 1997, v. 9, p. 163.
- [4] *Carolan C.G., Dillon G.P., Gaynor J.M., Reidy S., Ryber S.A., Khau D., Marguez J.F., Gilmer J.F.* // J.Med.Chem., 2008, v. 51, №20, p. 6400.
- [5] *Leader H., Wolfe A.D., Ching P.K., Gordon R.K.* // J. Med. Chem., 2002, v. 45, p. 902.
- [6] *Вацуро К.В., Миценко Г.Л.* Именные реакции в органической химии. М., Химия, 1976, 304 с.
- [7] *Elman G.L., Coutney K.D., Andres V. Jr., Feather-Stone R.M.* // Biochem. Pharmacol., 1961, v. 7, p. 88.
- [8] *Перишин Г.Н.* Методы экспериментальной химиотерапии. М., Мир, 1971, 507 с.