

**СИНТЕЗ И АНТИХОЛИНЭСТЕРАЗНЫЕ СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ
ХОЛИНОВЫХ ЭФИРОВ ФТАЛОИЛАМИНОКИСЛОТ
И ИХ АМИДНЫХ АНАЛОГОВ**

В. О. ТОПУЗЯН, З. Г. АЛЕБЯН и И. Р. КАРАПЕТЯН

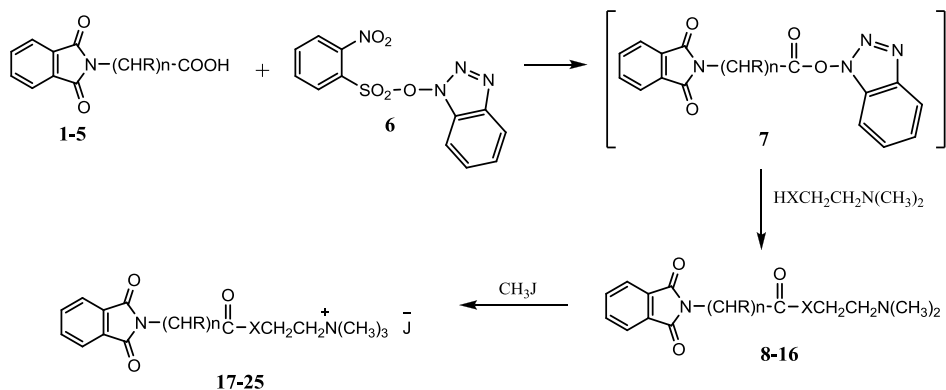
Научно-технологический центр органической и фармацевтической химии
НАН Республики Армения
Институт тонкой органической химии им. А. Л. Мнджояна
Армения, 0014, Ереван, пр. Азатутян, 26
E-mail: vtop@web.am

Поступило 22 II 2016

Осуществлен синтез холиновых эфиров ряда фталоил- ω -аминокислот и их амидных производных методом активированных эфиров с применением в качестве переэтерифицирующего реагента *o*-нитрофенилсульфонилоксибензотриазола. Приводятся результаты изучения их взаимодействия с эритроцитарной АХЭ и плазменной БУХЭ человека. Определены значения IK_{50} (концентрация исследуемого соединения, при которой наблюдается 50% торможение скорости холинэстеразного гидролиза 0.1 мМ ацетилтиохолина) всех синтезированных соединений. Все синтезированные вещества проявляют антихолинэстеразные свойства и большей частью специфичны по отношению к АХЭ.

Табл. 1, библиографических ссылок 10.

Ранее нами было установлено, что холиновые эфиры N-замещенных α -аминокислот [1], их ненасыщенных аналогов [2,3] и α,β -дегидропептидов [4] являются обратимыми ингибиторами как ацетилхолинэстеразы (АХЭ КФ 3.1.1.7), так и бутирилхолинэстеразы (БУХЭ КФ 3.1.1.8). Настоящее сообщение посвящено синтезу диметиламиноэтиловых эфиров и амидов некоторых фталоил- ω -аминокислот, их четвертичных аммониевых производных и изучению антихолинэстеразных свойств синтезированных соединений.



$n = 1, R=H, X = O$ (**1,8,17**); $n = 2, R=H, X = O$ (**2,9,18**); $n = 3, R=H, X = O$ (**3,10,19**); $n = 5, R=H, X = O$ (**4,11,20**); $n=1, R=CH(CH_3)_2, X = O$ (**5,12,21**); $n = 2, R=H, X = NH$ (**13,22**); $n = 3, R=H, X = NH$ (**14,23**); $n = 5, R=H, X = NH$ (**15,24**); $n=1, R=CH(CH_3)_2, X = NH$ (**16,25**).

Синтез диметиламиноэтиловых эфиров **8-12** и амидов **13-16** фталоил-аминокислот был осуществлен методом активированных эфиров с применением в качестве переэтерифицирующего реагента *o*-нитрофенилсульfonyлоксибензотриазола (**6**). Активацию карбоксильных групп фталоиламинокислот **1-5** проводили в ацетонитриле в течение 1 ч. Полученные активированные эфиры **7** вовлекались без выделения во взаимодействие с диметиламиноэтанолом или диметиламиноэтиламином в течение 24 ч. Выходы полученных эфиров **8-12** и амидов фталоиламинокислот **13-16** колеблются в пределах 21-66%. Взаимодействием последних с йодистым метилом в среде ацетона получены йодметилаты **17-25**. Строение полученных соединений **8-25** подтверждено данными ИК- и ЯМР 1H -спектров. В ИК-спектрах соединений **8-16** имеются максимумы поглощения при $1605-1770\text{ см}^{-1}$, характерные для амидного карбонила. Частоты валентных колебаний NH-амидных групп соединений находятся в области $3300-3480\text{ см}^{-1}$. Данные ЯМР 1H -спектров диалкиламиноэтиловых амидов **13-16** и их йодметилатов **22-25** приведены в экспериментальной части за исключением соединений **12** и **21**, данные которых приведены в [5].

Определены значения $ИК_{50}$ (концентрация исследуемого соединения, при которой наблюдается 50% торможение скорости холинэстеразного гидролиза $0,1\text{ мМ}$ ацетилтиохолина) всех синтезированных соединений для эритроцитарной АХЭ и плазменной БуХЭ человека (табл.).

**Антихолинэстеразная активность диалкиламиноалкиловых эфиров
и амидов фталоиламинокислот (12-25)**

Соединение	ИК ₅₀ , μ М		А/Б	Соединение	ИК ₅₀ , μ М		А/Б
	БуХЭ (А)	АХЭ (Б)			БуХЭ (А)	АХЭ (Б)	
12	—	—	—	19	0.008	0.0023	3.5
13	0.0167	0.0278	0.6; 1,6*	20	0.002	0.025	0.08; 12.5*
14	0.0322	0.0081	3.9	21	0.0061	0.25	0.024; 40.9*
15	0.0333	0.0050	6.6	22	0.1	0.011	9.1
16	—	—	—	23	0.05	0.011	4.5
17	0.125	0.020	6.25	24	0.055	0.0058	9.48
18	0.125	0.026	4.8	25	0.00031	0.33	0.0009; 1064*

*Б/А

Из приведенных в таблице данных видно, что в случае АХЭ наиболее активным ингибитором является йодметилат 2-(диметиламино)этилового амида фталоил- γ -аминомасляной кислоты (**19**), а наиболее высокую антибутирилхолинэстеразную активность проявляет йодметилат диметиламиноэтилового амида фталоилвалина (**25**). С другой стороны, очевидно, что кватернизация третичных аминогрупп исследованных амидов не всегда способствует увеличению ингибиторных свойств по отношению к БуХЭ, а в случае АХЭ мало влияет на ингибирующую активность соединений.

Как видно из таблицы, исследованные вещества в основном проявляют специфичность по отношению к АХЭ (см. отношения А/Б, где А и Б являются значениями ИК₅₀ данного вещества для БуХЭ и АХЭ, соответственно). Исключение составляют диметиламиноэтиламид фталоил- β -аланина (**13**), йодметилат диметиламиноэтилового эфира фталоил- ϵ -аминокапроновой кислоты (**20**), а также йодметилаты диметиламиноэтилового амида (**21**) и эфира фталоилвалина (**25**) [5]. Следует отметить, что в исследуемом ряду сравнительно высокую селективность по отношению к АХЭ проявляет йодметилат диметиламиноэтиламида фталоил- ϵ -аминокапроновой кислоты (**24**, А\Б = 9.48). Из таблицы видно также, что в ряду диметиламиноэтиламидов и их йодметилатов специфичность по отношению к БуХЭ проявляет йодметилат диметиламиноэтилового амида N-фталоилвалина (**25**).

Экспериментальная часть

ИК-спектры всех синтезированных соединений сняты на спектрометре "Nicolet Avatar 330 FT-IR" в вазелиновом масле, спектры ЯМР ^1H – на "Varian Mercury-300" в растворе DMCO-d_6 . Чистоту соединений определяли по методу ТСХ на пластинках "TLC Silica gel 60 F_{254} ", элюент – пропанол – вода, 7:3; проявитель – пары йода и УФ-лучи. Данные элементного анализа соответствуют вычисленным значениям.

Синтез исходных фталоаминокислот проводился по [6], переэтерифицирующего реагента – по [7], диалкиламиноалкиловых эфиров *N*-фталоаминокислот – по [5].

Диметиламиноэтиламиды *N*-фталоаминокислот 13-15. К 5 ммольм *N*-фталоаминокислот (1-5) в 15 мл абсолютного ацетонитрила при перемешивании добавляют 10 ммоль триэтиламина, после получения прозрачного раствора добавляют 5 ммоль *o*-нитрофенилсульфонилоксибензотриазола 6, который растворяется, оставляют при комнатной температуре. Через час прибавляют 5.5 ммоль диметиламиноэтиламина и смесь оставляют при комнатной температуре. Через день растворитель удаляют, оставшуюся маслообразную массу растворяют в 50 мл этилацетата и экстрагируют по два раза 3% раствором поташа (10 мл) и водой (10 мл). Этилацетат сушат над сульфатом натрия и удаляют на следующий день.

Диметиламиноэтиловый амид *N*-фталоил- β -аланина (13). Выход 41.3%, т.пл. 172-176°C, R_f 0.16. ИК-спектр, ν , см^{-1} : 1700, 1770 (СО-имидн. и амидн.); 3300 (NH-амидн.). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д., Гц: 2.16 (6H, с, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 2.27 (2H, т, $J=6.6$; COCH_2); 2.41-2.47 (2H, м, NCH_2); 3.09-3.16 (2H, м, NHCH_2); 3.79-3.85 (2H, м, NCH_2); 7.55 (1H, ш, NH); 7.75-7.85 (4H, м, C_6H_4). Найдено, %: C 62.39; H 6.25; N 14.17. $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_3$. Вычислено, %: C 62.27; H 6.62; N 14.52.

Диметиламиноэтиловый амид *N*-фталоил- γ -аминомасляной кислоты (14). Выход 21.7%, т.пл. 81-85°C, R_f 0.18. ИК-спектр, ν , см^{-1} : 1640, 1700 (СО-имидн. и амидн.); 3300 (NH-амидн.). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д., Гц: 1.82-1.93 (2H, м, CH_2); 2.12 (2H, т, $J=7.4$, COCH_2); 2.17 (6H, с, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 2.27 (2H, т, $J=6.6$, NCH_2); 3.06-3.13 (2H, м, NHCH_2); 3.63 (2H, т, $J=6.9$, NCH_2); 7.28 (1H, уш. т, $J=5.8$, NH); 7.74-7.86 (4H, м, C_6H_4). Найдено, %: C 63.53; H 6.79; N 13.96. $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_3$. Вычислено, %: C 63.35; H 6.98; N 13.85.

Диметиламиноэтиловый амид *N*-фталоил- ϵ -аминокапроновой кислоты (15). Выход 45.3%, т.пл. 106-110°C, R_f 0.17. ИК-спектр, ν , см^{-1} : 1700, 1780 (СО-имидн. и амидн.); 3300 (NH-амидн.). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д., Гц: 1.27-1.39 (2H, м, CH_2); 1.53-1.70 (4H, м, CH_2); 2.05 (2H, т, $J=7.3$, COCH_2); 2.70 (6H, с, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 2.28-2.35 (2H, м, NCH_2); 3.09-3.17 (2H, м, NHCH_2); 3.60 (2H, т, $J=7.2$, NCH_2); 7.27 (1H, ш, NH); 7.74-7.85 (4H, м, C_6H_5). Най-

дено, %: С 65.58; Н 7.79; N 12.33. $C_{18}H_{25}N_3O_3$. Вычислено, %: С 65.23; Н 7.60; N 12.68.

Йодметилаты диметиламиноэтиламидов N-фталоиламинокислот (17-20, 22-24). К раствору 1.5 ммольа амида в 15 мл абсолютного ацетона или в 20 мл абсолютного спирта при перемешивании добавляют 2.2 ммольа йодистого метила и смесь оставляют при комнатной температуре на ночь. Образовавшийся осадок отфильтровывают, а при его отсутствии высаждают добавлением 50 мл диэтилового эфира.

Йодметилат диметиламиноэтилового эфира N-фталоилглицина (17). Выход 37.1%, т.пл. 244-247°C, R_f 0.75. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 1720, 1760, 1780 (СО-имидн. и эфирн.). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д.: 3.27(9H, с, $N^+(CH_3)_3$); 3.84-3.89 (2H, м, OCH_2); 4.50 (2H, с, NCH_2); 4.59-4.65 (2H, м, N^+CH_2); 7.84-7.93 (4H, м, C_6H_4). Найдено, %: С 43.53; Н 6.79; N 6.51, J 30.25. $C_{15}H_{19}N_2O_4J$. Вычислено, %: С 43.08; Н 4.58; N 6.70, J 30.34.

Йодметилат диметиламиноэтилового эфира N-фталоил- β -аланина (18). Выход 40.5%, т.пл. 158-161°C, R_f 0.76. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 1713, 1740, 1771 (СО-имидн. и эфирн.). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д., $\Gamma\zeta$: 2.76 (2H, т, $J=7.2$, $COCH_2$); 3.30 (9H, с, $N^+(CH_3)_3$); 3.82-3.87 (2H, м, OCH_2); 3.91 (2H, т, $J=7.2$, NCH_2); 4.48-4.54 (2H, м, NCH_2); 7.78-7.87 (4H, м, H_{Ar}). Найдено, %: С 44.65; Н 5.11; N 6.51, J 29.23. $C_{16}H_{21}N_2O_4J$. Вычислено, %: С 44.46; Н 4.90; N 6.48, J 29.35.

Йодметилат диметиламиноэтилового эфира N-фталоил- γ -аминомасляной кислоты (19). Выход 41.1%, т.пл. 179-183°C, R_f 0.81. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 1705, 1725, 1770 (СО-имидн. и эфирн.). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д., $\Gamma\zeta$: 1.89-2.00 (2H, м, CH_2); 2.45 (2H, т, $J=7.1$, $COCH_2$); 3.29 (9H, с, NCH_3); 3.68 (2H, т, $J=6.7$, NCH_2); 3.80-3.86 (2H, м, OCH_2); 4.45-4.52 (2H, м, N^+CH_2); 7.77-7.87 (4H, м, C_6H_4). Найдено, %: С 45.87; Н 5.36; N 6.51, J 28.31. $C_{17}H_{23}N_2O_4J$. Вычислено, %: С 45.75; Н 5.19; N 6.28, J 28.44.

Йодметилат диметиламиноэтилового эфира N-фталоил- ϵ -аминокапроновой кислоты (20). Выход 27.5%, т.пл. 127-130°C, R_f 0.81. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 1700, 1730, 1767 (СО-имидн. и эфирн.). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д., $\Gamma\zeta$: 1.32-1.43 (2H, м, CH_2); 1.1-1.72 (4H, м, CH_2); 2.36 (2H, т, $J=7.4$, $COCH_2$); 3.28 (3H, с, $N(CH_3)_3$); 3.61 (2H, т, $J=7.1$, NCH_2); 3.79-3.84 (2H, м, OCH_2); 4.45-4.52 (2H, м, N^+CH_2); 7.76-7.86 (4H, м, C_6H_4). Найдено, %: С 48.36; Н 5.46; N 6.13, J 26.56. $C_{19}H_{27}N_2O_4J$. Вычислено, %: С 48.11; Н 5.74; N 5.91, J 26.75.

Йодметилат диметиламиноэтилового амида N-фталоил- β -аланина (22). Выход 79.3%, т.пл. 189-191°C, R_f 0.82. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 1697; 1770 (СО-имидн. и амидн.); 3375 (NH-амидн). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д., $\Gamma\zeta$: 2.50 (2H, т, $J=7.3$, $COCH_2$); 3.20 (9H, с, $N^+(CH_3)_3$); 3.44-3.56 (4H, м, $NHCH_2$ и N^+CH_3); 3.86 (2H, дд, $J_1=7.8$, $J_2=7.0$, NCH_2); 7.77-7.87 (4H, м, C_6H_4); 8.31 (1H, уш. т, $J=5.3$, NH). Найдено, %: С 44.72; Н 5.03; N 9.43, J 29.65. $C_{16}H_{22}N_3O_3J$. Вычислено, %: С 44.56; Н 5.14; N 9.74, J 29.42.

Йодметилат диметиламиноэтилового амида N-фталоил-γ-аминомасляной кислоты (23). Выход 45.0%, т.пл. 132-135°C, R_f 0.74. ИК-спектр, ν , см^{-1} : 1660, 1700, 1770 (СО-имидн. и амидн.); 3410 (NH-амидн). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д., Гц: 1.85-1.95 (2H, м, CH_2); 2.21 (2H, т, $J=7.3$, COCH_2); 3.22 (9H, с, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$); 3.45-3.54 (4H, м, NHCH_2 и N^+CH_2); 3.65 (2H, т, $J=6.9$, NCH_2); 7.77-7.86 (4H, м, C_6H_4); 8.08 (1H, уш. т, $J=5.6$, NH). Найдено, %: C 45.59; H 5.65; N 9.68, J 28.78. $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_3$. Вычислено, %: C 45.85; H 5.43; N 9.44, J 28.50.

Йодметилат диметиламиноэтилового амида N-фталоил-ε-аминокапроновой кислоты (24). Выход 66.7%, т.пл. 84-87°C, R_f 0.86. ИК-спектр, ν , см^{-1} : 1680, 1710, 1770 (СО-имидн. и амидн.); 3300 (NH-амидн). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д., Гц: 1.27-1.39 (2H, м, CH_2); 1.55-1.70 (4H, м, CH_2); 2.13 (2H, т, $J=7.3$, COCH_2); 3.23 (9H, с, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$); 3.50-3.54 (4H, м, NHCH_2 и N^+CH_2); 3.60 (2H, т, $J=7.2$, NCH_2); 7.75-7.84 (4H, м, C_6H_4); 8.02 (1H, уш. т, $J=5.6$, NH). Найдено, %: C 48.12; H 5.59; N 8.67, J 26.98. $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_3$. Вычислено, %: C 48.21; H 5.96; N 8.88, J 26.81.

Для определения значений ИК_{50} в работе применялись эритроцитарная АХЭ [8] и плазменная БуХЭ [9] человека.

Активность АХЭ измеряли по модифицированному методу [10]. Антихолинэстеразные свойства синтезированных веществ изучались по аналогии [1].

На основании проведенных исследований установлено, что диметиламиноэтиловые амиды N-фталоиламинокислот и их четвертичные соли являются ингибиторами обоих ферментов (АХЭ, БуХЭ).

ԱՐՈՇ ՖՏԱԼՈՒԼԱՄԻՆՈԹՈՒՆԵՐԻ ԽՈՒՐՆԱՅԻՆ ԷՍԹԵՐՆԵՐԻ ԵՎ ՆՐԱՆՅ ԱՄԻԴԱՅԻՆ ԱՆԱԼՈԳՆԵՐԻ ՍԻՆԹԵԶ ՈՒ ՆԱԿԱՆՈՒՐՆԷՍԹԵՐԱԶԱՅԻՆ ՆԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Վ. Օ. ԹՈՓՈՒԶՅԱՆ, Զ. ՂԱՆԵՅԱՆ և Ի. Ռ. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ

Վերախմբացնող ունեզենտ՝ օ-նիտրոֆենիլսուլֆոնիլօքսիբենզատրիագոլի, կիրառմամբ իրականացվել է որոշ ֆտալիլ-Օ-ամինոթթյունների խոլինային էսթերների և համապատասխան ամիդային անալոգների սինթեզ: Բերված են միացությունների փոխազդեցության արդյունքները մարդու էրիթրոցիտային ացետիլխոլինէսթերազի (ԱՆԷ) և պլազմային բուտիրիլխոլինէսթերազի (ԲՈՒՆԷ) հետ, որոշված են IC_{50} արժեքները (միացությունների այն կոնցենտրացիաները, որոնց դեպքում դիտվում է 0.1 մՄ ացետիլթիոխոլինի ֆերմենտային հիդրոլիզի 50% արգելակում): Ստացված տվյալների համաձայն, բոլոր միացությունները օժտված են հակախոլինէսթերազային հատկություններով և հիմնականում ցուցաբերում են ընտրողականություն ԱՆԷ հանդեպ:

SYNTHESIS AND ANTICHOLINESTERASE ACTIVITY OF CHOLINE ESTERS AND AMIDES OF SOME PHTHALOYL AMINO ACIDS

V. O. TOPUZYAN, Z. G. HALEBYAN and I. R. KARAPETYAN

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
E-mail: vtop@web.am

o-Nitrophenylsulfonyloxybenztriazole was used for synthesis of cholinesters and amides of some phthaloyl- ω -amino acids. The interaction of synthesized compounds with human erythrocytic acetylcholinesterase (AChE) and plasmic butyrylcholinesterase (BuChE) has been studied. For all synthesized compounds IC₅₀ values (concentration of the test compound at which 50% inhibition of the rate of cholinesterase hydrolysis of 0.1 mM acetylthiocholine is observed) were determined. According to the data obtained, all synthesized compounds have anticholinesterase properties and are specific towards AChE.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Топузян В.О., Карапетян И.Р., Алебян Г.П. / Материалы II научной конференции Армянского химического общества 4-8 октября 2010 г., с. 144.
- [2] Григорян А.А., Амбарцумян А.А., Мкртчян М.В., Топузян В.О., Алебян Г.П., Асатрян Р.С. // Хим.-фарм.ж., 2006, т. 40, №3, с. 18.
- [3] Grigoryan H.A., Hambardzumyan A.A., Mkrtchyan M.V., Topuzyan V.O., Halebyan G.P., Asatryan R.S. // Chem.-Biol. Interaction, 2008, v. 171, issue 1, p. 108.
- [4] Григорян А.А., Амбарцумян А.А., Мкртчян М.В., Топузян В.О., Алебян Г.П., Оганесян А.А., Овсепян М.С. // Биотехнология, 2005, №4, с. 59.
- [5] Топузян В.О., Карапетян И.Р., Алебян Г.П. // Хим.-фарм. ж., 2014, т. 48, №3, с. 23.
- [6] Гринштейн Дж., Виниц М. Химия аминокислот и пептидов. М., Мир, 1965, с. 403.
- [7] Топузян В.О., Мартиросян М.С. // ЖОрХ, 1991, т.27, вып.11, с. 2418. Fairbanks G., Stec [8] Fairbanks G., Stec T.L., Wallach D.F. // Biochemistry, 1971, v. 10, issue 13, p. 2606.
- [9] La Du B.N., Bartels C.F., Noguera C.P., Hajra A., Lightstone H., Vanderspek A., Lockridge O. // Clin. Biochem., 1990, v. 23, p. 423.
- [10] Ellman G.L., Coutney K.D., Andres V. Jr., Feather-Stone R.M. // Biochem. Pharmacol., 1961, v. 7, p. 88.