

АМИНОКИСЛОТНЫЕ И ПЕПТИДНЫЕ АНАЛОГИ АЦЕТИЛХОЛИНА.
СИНТЕЗ И АНТИХОЛИНЭСТЕРАЗНЫЕ СВОЙСТВА

В. О. ТОПУЗЯН¹, Л. Х. ГАЛСТЯН² и В. М. КАЗОЯН¹

¹Научно-технологической центр органической и фармацевтической химии
НАН Республики Армения

Институт тонкой органической химии им. А.Л.Мнджояна

Армения, 0014, Ереван, пр. Азатутян, 26

²Ереванский государственный университет

Армения, 0025, Ереван, ул. А.Манукяна, 1

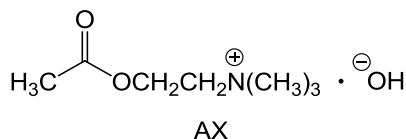
E-mail: vtop@web.am

Поступило 25 I 2017

Обсуждаются методы синтеза и антихолинэстеразные свойства диалкиламиноалкиловых эфиров, тиоэфиров и амидов как α -, так и α,β -дегидроаминокислот и пептидов. Особое внимание уделено специфичности синтезированных веществ по отношению к бутирилхолинэстеразе. Приводятся данные об индексах структурных изменений кватернизации (ИСИкв.) и заместителей (ИСИзам.), которые облегчают процесс выявления связи структура-активность. Из рядов как α -аминокислот, так и α,β -дегидроаминокислот выделены наиболее активные и специфичные по отношению к бутирилхолинэстеразе соединения. Приведены также результаты докинг-исследований некоторых ингибиторов с холинэстеразами.

Рис. 7, табл. 26, библиографических ссылок 45.

Одним из подходов химии физиологически активных веществ является синтез аналогов биоактивных соединений, играющих существенную роль в живом организме. Одной из таких молекул является ацетилхолин (АХ) — медиатор холинергической системы млекопитающих. Основными мишенями АХ в организме являются два холинорецептора (Н- и М-холинорецепторы), а также две холинэстеразы (ацетил- и бутирилхолинэстеразы).

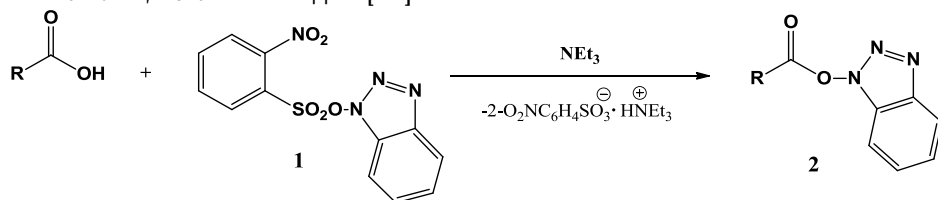


Многие заболевания характеризуются нарушением функций холинореактивных структур организма. В частности, разновидность старческого слабоумия, так называемая сенильная деменция Альцгеймерского типа, сопровождается снижением уровня ключевого фермента для синтеза ацетилхолина и характерными морфологическими изменениями — появлением скоплений белков — β -амилоида и таубелка [1]. Установлено, что бутирилхолинэстераза (БухЭ) играет важную роль при образовании и агрегации β -амилоида [2-3]. В связи с этим были сконструированы производные АХ на основе аминокислот и пептидов. Впервые о возможности применения холиновых эфиров N-замещенных аминокислот в качестве ингибиторов БухЭ было установлено в работе [4]. В данном обзоре обсуждаются методы синтеза и антихолинэстеразные свойства диалкиламиноалкиловых эфиров, тиоэфиров и амидов как α -, так и α,β -дегидроаминокислот и пептидов. Особое внимание уделено специфичности синтезированных веществ по отношению к БухЭ.

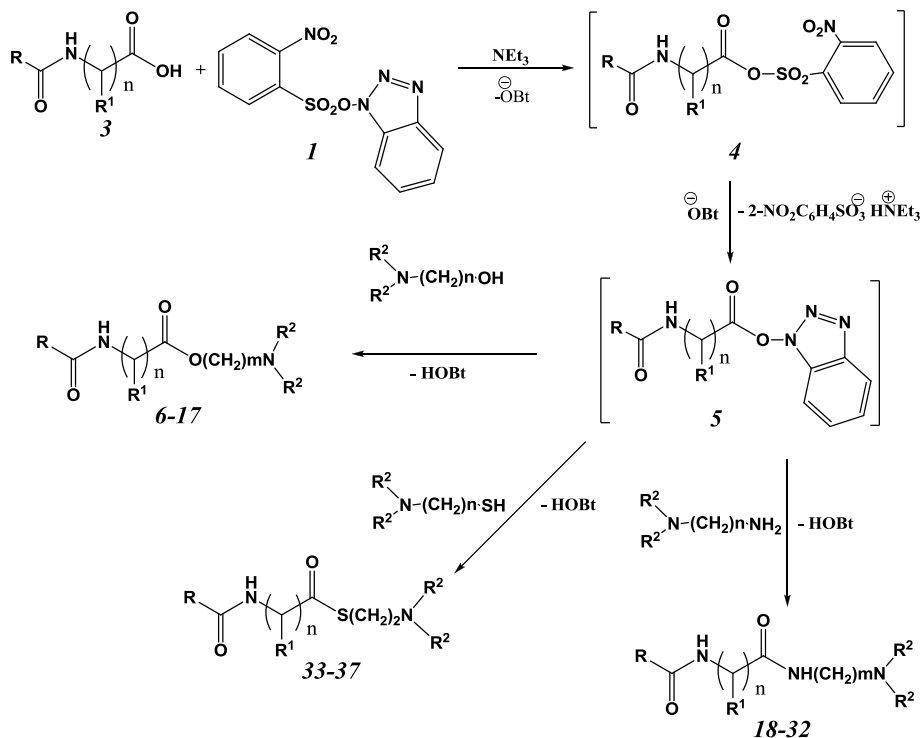
Отметим, что последняя обзорная статья, посвященная синтезу и свойствам 2-(диметиламино)этиловых эфиров аминокислот и пептидов, была опубликована в 1981 г. [5].

Синтез диалкиламиноалкиловых эфиров, тиоэфиров и амидов N-замещенных α -аминокислот

Еще в 1983 г. было показано превосходство метода активированных эфиров для синтеза диалкиламиноэтиловых эфиров N-замещенных α -аминокислот [6]. Для синтеза целевых продуктов были применены *n*-нитрофениловые [6-8], пентафторфениловые [7,8] и 1-оксибензотриазоловые эфиры N-замещенных α -аминокислот [9-11]. Последние были получены с применением 1-(*o*-нитрофенилсульфонилокси)бензотриазола (**1**), который ранее был использован при синтезе как амидов карбоновых кислот, так и пептидов [12].



При синтезе диалкиламиноалкиловых эфиров (**6-17**), амидов (**18-32**) и тиоэфиров (**33-37**) N-замещенных аминокислот активированный эфир **5** был получен *in situ* [8-10,13-18].

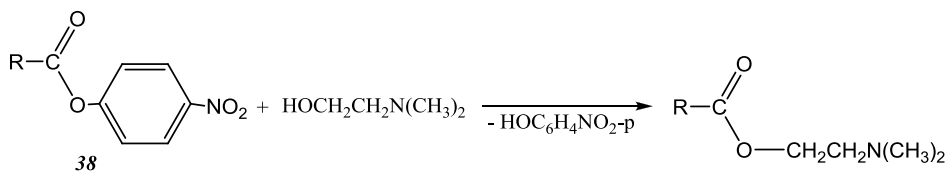


$\text{R} = \text{C}_6\text{H}_5$, $4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_5$, $2\text{-OCC}_6\text{H}_4\text{CO}$, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OCO}$

$\text{R}^1 = \text{H}$, CH_3 , $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, C_4H_9 , $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$,

$\text{X} = \text{O}$, NH , S , $n = 2, 3$; $n = 1, 2, 3, 5$; $\text{R}^2 = \text{CH}_3$; C_2H_5 ; $(\text{CH}_2)_4$; $(\text{CH}_2)_5$; $(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2$.

Авторами работы [19] досконально изучена реакция О-ацилирования 2-(диметиламино)-1-этанола *n*-нитрофениловыми эфирами различных карбоновых кислот, в том числе N-замещенных аминокислот (38).

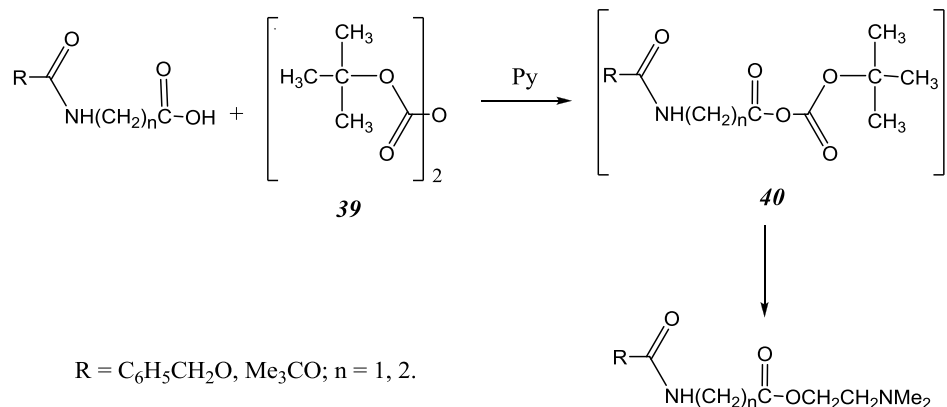


$\text{R} = \text{Bz-NHCH}_2$, Cbz-NHCH_2 , Cbz-NHCHCH_3 , $\text{Cbz-NHCHCH}_2\text{CH}_2$, $\text{Cbz-NHCHCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$, ClCH_2 , CH_3 .

Определены константы скорости реакции псевдопервого порядка, установлено влияние диэлектрической проницаемости реакционной среды на скорость процесса и показано наличие линейной корреляции между величинами $\lg k$ изученных эфиров и pK_a соответствующих кислот. На основании результатов кинетических измерений и данных некоторых модельных систем высказано предположение, что при О-ацили-

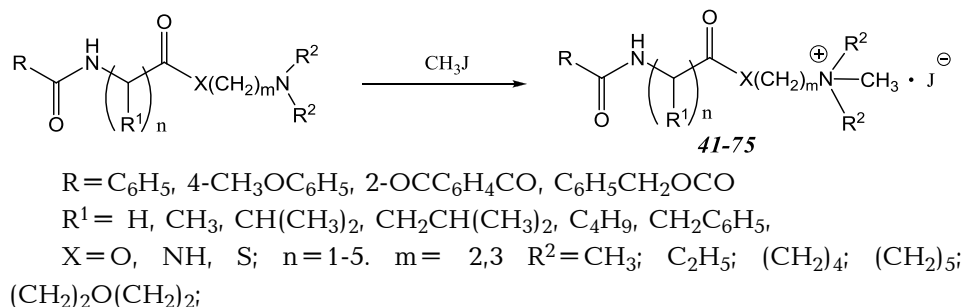
ровании 2-(диметиламино)-1-этанола эфирами **38** реализуется общий основной катализ.

В работе [8] для синтеза диметиламиноэтиловых эфиров N-замещенных α -аминокислот была использована система Wos_2O -пиридин (**39**). Отмечено, что реакция протекала через образование смешанного ангидрида (**40**), взаимодействие которого с 2-(диметиламино)-1-этанолом приводит к целевым аминокэфирам с удовлетворительными (59-60%) выходами.



По мнению авторов [8], примененный реагент (Wos_2O -пиридин) не только не уступает остальным реагентам, применяемым в синтезах методом смешанных ангидридов, но и выгодно отличается тем, что конденсация с его помощью протекает в сравнительно мягких условиях.

Полученные диалкиламиноалкиловые эфиры, тиоэфиры и амиды превращены в четвертичные аммониевые соли (**41-75**).



Рентгеноструктурные исследования йодметилата 2-(диметиламино)этиламида N-бензоил-DL-валина (**56**) (рис. 1) показали [17], что в молекуле имеется водородная связь между атомами N16...H16...J1 с длиной донорно-акцепторной связи 3.560(4) Å. Установлено также, что в пространстве кристалла молекулы образуют межмолекулярную водородную связь между атомами N2-H2...O15 с длиной донорно-акцепторной связи 2.904(5) Å.

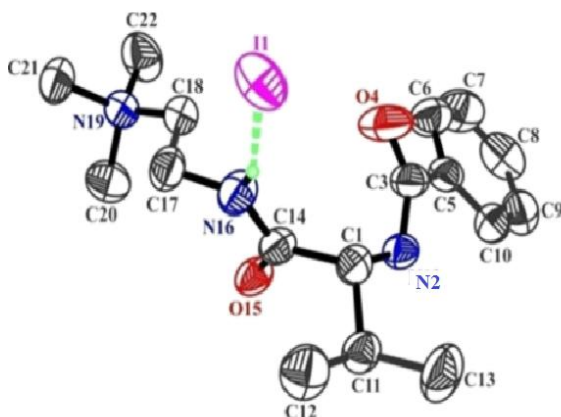


Рис. 1. Атомарная структура соединения **56**.

Антихолинэстеразные свойства аминоалкиловых эфиров, тиоэфиров и амидов N-замещенных α -аминокислот

Для синтезированных диалкиламиноалкиловых эфиров и амидов N-замещенных α -аминокислот, а также их четвертичных аммониевых солей по методу Элмана были определены значения $IC_{50\%}$ (концентрация, ингибирующая активность фермента на 50%) для эритроцитарной ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и для плазменной бутирилхолинэстеразы (БуХЭ) человека. Рассчитаны также данные индексов специфичности (ИС) по отношению к БуХЭ и индексов структурных изменений при кватернизации (ИСИ_{кв.}). Последний индекс введен нами впервые и рассчитан по формуле:

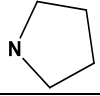
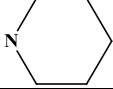
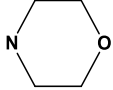
$$ИСИ_{кват.} = IC_{50\%} (-N=) / IC_{50\%} (=N^+=)$$

Полученные данные приведены в табл. 1 и 2, из которых видно, что все испытанные вещества являются ингибиторами как АХЭ, так и БуХЭ. Одновременно все они, кроме эфиров и амидов N-фталоиламинокислот (соед. **48,53,54,68-70**), проявляют специфичность по отношению к БуХЭ. В табл. 1 и 2 эта специфичность обозначена ИС (А/Б), где А и Б являются значениями IC_{50} данного вещества для АХЭ и БуХЭ, соответственно.

Согласно данным, приведенным в табл. 2, в случае АХЭ сравнительно активные ингибирующие свойства проявляет холиновый эфир N-фталоил- γ -аминомасляной кислоты (**54**, $IC_{50\%} = 0.0023$). В случае же БуХЭ такая активность проявляется у холинового эфира N-бензоил-DL-валина (**43** $IC_{50\%} = 0.00003 \text{ mM}$) и его соответствующего амида (**56** $IC_{50\%} = 0.000036 \text{ mM}$).

Таблица 1

**Антихолинэстеразная активность диалкиламиноалкиловых эфиров и амидов
N-замещенных α -аминокислот RCO-Aa-NH(CH₂)_nNR¹₂**

Соединение	R	Aa	n	NR ¹ ₂	IC _{50%} mM		ИС (А/Б)
					АХЭ (А)	БухЭ (Б)	
18	C ₆ H ₅	Val	2	N(CH ₃) ₂	0.24	0.00029	828
19	C ₆ H ₅	Val	2	N(C ₂ H ₅) ₂	0.51	0.00076	671
20	C ₆ H ₅	Val	2		0.86	0.000063	13651
21	C ₆ H ₅	Val	2		0.20	0.0004	500
22	C ₆ H ₅	Val	2		0.96	0.021	46
23	C ₆ H ₄ (CO) ₂	Val	2	N(CH ₃) ₂	—	—	—
24	C ₆ H ₅ CH ₂ O	Val	2	N(CH ₃) ₂	—	—	—
25	C ₆ H ₅	Leu	2	N(CH ₃) ₂	0.56	0.00028	2000
26	C ₆ H ₅	Phe	2	N(CH ₃) ₂	0.50	0.0019	263
27	2-MeOC ₆ H ₄	Phe	2	N(CH ₃) ₂	0.30	0.013	23
28	2-MeOC ₆ H ₄	Phe	2	N(C ₂ H ₅) ₂	—	—	—
29	C ₆ H ₅	Val	3	N(CH ₃) ₂	0.64	0.0009	711
30	C ₆ H ₄ (CO) ₂	β -Ala	2	N(CH ₃) ₂	0.028	0.017	1.65
31	C ₆ H ₄ (CO) ₂	γ -Abu	2	N(CH ₃) ₂	0.0081	0.032	0.25
32	C ₆ H ₄ (CO) ₂	ϵ -Aka	2	N(CH ₃) ₂	0.0050	0.033	0.15

Следует отметить, что последние соединения проявляют очень высокую специфичность по отношению к БухЭ — соед. **43**, ИС = 32000; соед. **56**, ИС = 39000. При рассмотрении влияния аминокислотного остатка на антихолинэстеразные свойства йодметилатов 2-диметиламиноэтиловых эфиров N-бензоил- α -аминокислот (табл. 2) легко убедиться, что в случае АХЭ ингибирующие свойства соединений уменьшаются в ряду 1, а в случае амидов последовательность в ряду меняется (ряд 2).

$$\text{Ala} > \text{Phe} > \text{Gly} > \text{Nle} > \text{Val} > \text{Leu} \quad (1)$$

$$\text{Phe} > \dots \text{Leu} > \text{Val} \quad (2)$$

Иными словами, в случае как холиновых эфиров, так и их амидных аналогов сравнительно высокие антиацетилхолинэстеразные свойства проявляют аминокислотные остатки с ароматическим кольцом в боковом заместителе. Противоположные данные получаются при сравнении

значений активности тех же соединений по отношению к БУХЭ. В этом случае активность падает по ряду 3 для холиновых эфиров и по ряду 4 для соответствующих амидов.



Из данных, приведенных в табл. 2, видно, что удлинение алкильной цепочки аминокислотного остатка от 2 до 3 в случае АХЭ, в основном, мало действует на антиацетилхолинэстеразную активность, в то время как в случае БУХЭ для фенилаланинсодержащих производных существенных изменений не наблюдается, то для эфиров N-бензоил-DL-валина (соед. 43 и 51) с увеличением длины метиленовой цепи уменьшаются антибутирилхолинэстеразные свойства в 4 раза. Такая же картина наблюдается по значениям специфичности веществ по отношению к БУХЭ. Однако в этом случае специфичность уменьшается в 50 раз.

На примере диалкиламиноалкиламидов N-бензоилвалина и их йодметилатов (табл. 1 и 2) можно исследовать влияние структуры аминной части аминокислотного остатка на антихолинэстеразные свойства. Как видно из данных табл. 2, в случае АХЭ во всех случаях кватернизация атома азота приводит к уменьшению антиацетилхолинэстеразных свойств (ИСИкв. <1). Что касается данных по ингибированию БУХЭ, то в этом случае связь структура-активность с трудом прослеживается, однако ингибирующее свойство при кватернизации значительно возрастает в случае морфолинового остатка (соед. 60 ИСИкв. = 191).

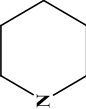
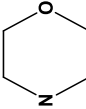
В третичных аминоксидах (18-22) наблюдается уменьшение антиацетилхолинэстеразной активности в ряду $\text{N}(-\text{CH}_3)_2 > \text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2 > \text{NC}_4\text{H}_9$. Однако замена пирролидинового остатка (NC_4H_9) на пиперидиновый (NC_5H_{10}) приводит к возрастанию активности до значения 2-(диметиламино)этиламидного аналога. Введение в пиперидиновое кольцо кислородного атома ($\text{NC}_4\text{H}_8\text{O}$ — морфолиновый остаток) отрицательно влияет на искомую активность. Из сравнения антибутирилхолинэстеразных свойств третичных аминоксидов (18-22) видно, что сравнительно большей активностью обладает 2-(пирролидин-1-ил)этиламид N-бензоил-DL-валина (20). Отметим, что соединение (20) по антибутилхолинэстеразным свойствам мало уступает йодметилату 2-(диметиламино)этиламида N-бензоил-DL-валина (56), который является одним из самых активных соединений среди синтезированных нами веществ. Соединение (56), наряду с йодметилатом 2-(диметиламино)этилового эфира N-бензоил-DL-валина (43), является высокоспецифическим ингибитором по отношению к БУХЭ.

Таблица 2

Антихолинэстеразная активность йодметилатов диалкиламиноалкиловых эфиров, тиозфиров и амидов
N-замещенных α-аминокислот RCO-Aa-X(CH₂)_nN⁺R'₂Me⁺Г

Соединение	R	Aa	X	n	NR' ₂	IC ₅₀ %, mM		ИС А/Б	ИСИ _{кв.}	
						АХЭ (А)	БуХЭ (Б)		АХЭ	БуХЭ
41	C ₆ H ₅	Gly	O	2	N(CH ₃) ₂	0.78	0.005	156.0	–	–
42	C ₆ H ₅	Ala	O	2	N(CH ₃) ₂	0.432	0.0017	254.1	–	–
43	C ₆ H ₅	Val	O	2	N(CH ₃) ₂	0.96	0.00003	32000	–	–
44	C ₆ H ₅	Leu	O	2	N(CH ₃) ₂	1.3	0.000064	20312	–	–
45	C ₆ H ₅	NLe	O	2	N(CH ₃) ₂	0.9	0.00024	3750	–	–
46	C ₆ H ₅	Phe	O	2	N(CH ₃) ₂	0.77	0.00086	895	–	–
47	4-MeOCC ₆ H ₄	Phe	O	2	N(CH ₃) ₂	0.49	0.009	54.4	–	–
48	C ₆ H ₄ (CO) ₂	Gly	O	2	N(CH ₃) ₂	0.059	0.125	0.47	–	–
49	C ₆ H ₄ (CO) ₂	Val	O	2	N(CH ₃) ₂	0.25	0.0061	40.98	–	–
50	C ₆ H ₅ CH ₂ O	Val	O	2	N(CH ₃) ₂	0.648	0.006	108	–	–
51	C ₆ H ₅	Val	O	3	N(CH ₃) ₂	0.76	0.00012	6333	–	–
52	4-MeOCC ₆ H ₄	Phe	O	3	N(CH ₃) ₂	0.56	0.004	140	–	–
53	C ₆ H ₄ CO-2	β-Ala	O	2	N(CH ₃) ₂	0.026	0.13	0.20	–	–
54	C ₆ H ₄ CO-2	γ-Abu	O	2	N(CH ₃) ₂	0.0023	0.008	0.29	–	–
55	C ₆ H ₄ CO-2	ε-Aka	O	2	N(CH ₃) ₂	0.025	0.002	12.5	–	–
56	C ₆ H ₅	Val	NH	2	N(CH ₃) ₂	1.42	0.000036	39444	0.17	8.06
57	C ₆ H ₅	Val	NH	2	N(C ₂ H ₅) ₂	1.04	0.0011	945	0.49	0.69
58	C ₆ H ₅	Val	NH	2		0.89	0.00016	5563	0.97	0.39

Продолжение таблицы 2

59	C ₆ H ₅	Val	NH	2		0.84	0.00036	2333	0.24	1.11
60	C ₆ H ₅	Val	NH	2		1.28	0.00011	11636	0.75	191
61	C ₆ H ₄ (CO) ₂	Val	NH	2	N(CH ₃) ₂	0.33	0.00031	1065	–	–
62	C ₆ H ₅ CH ₂ O	Val	NH	2	N(CH ₃) ₂	3.33	0.021	159	–	–
63	C ₆ H ₅	Leu	NH	2	N(CH ₃) ₂	1.17	0.000072	16250	0.48	3.89
64	C ₆ H ₅	Phe	NH	2	N(CH ₃) ₂	0.12	0.0001	1200	4.17	19
65	4-MeOC ₆ H ₄	Phe	NH	2	N(CH ₃) ₂	0.86	0.029	30	0.35	0.45
66	4-MeOC ₆ H ₄	Phe	NH	2	C ₂ H ₅	0.33	0.0058	57	–	–
67	C ₆ H ₅	Val	NH	3	CH ₃	1.40	0.00019	7368	0.46	4.74
68	C ₆ H ₄ (CO) ₂	β-Ala	NH	2	N(CH ₃) ₂	0.011	0.1	0.11	0.28	0.15
69	C ₆ H ₄ (CO) ₂	γ-Abu	NH	2	N(CH ₃) ₂	0.011	0.05	0.22	0.16	0.14
70	C ₆ H ₄ (CO) ₂	ε-Aka	NH	2	N(CH ₃) ₂	0.0058	0.055	0.1	0.86	0.60
71	C ₆ H ₅	Gly	S	2	N(CH ₃) ₂	–	–	–	–	–
72	C ₆ H ₄ (CO) ₂	Gly	S	2	N(CH ₃) ₂	–	–	–	–	–
73	C ₆ H ₅	Val	S	2	N(CH ₃) ₂	–	–	–	–	–
74	C ₆ H ₄ (CO) ₂	Val	S	2	N(CH ₃) ₂	0.53	0.011	48	–	–
75	4-MeOC ₆ H ₄	Phe	S	2	N(CH ₃) ₂	–	–	–	–	–

Значения индексов специфичности для соединений (43) и (56) составляют 32000 и 39444, соответственно.

Изучен спонтанный (рН 7.6) и ферментативный гидролиз йодметилатов 2-(диметиламино)тиоэтиловых эфиров **71-75** [17]. Из данных этих исследований (табл. 3) следует, что все тиоэфиры подвергаются спонтанному гидролизу в фосфатном буфере и по скорости гидролиза в основном превосходят ацетилтиохолин (АТХ).

Таблица 3

**Данные спонтанного и ферментативного гидролиза йодметилатов
тиохолиновых эфиров 71-75 при 25°C**

Соединение	Скорость гидролиза при рН 7,6 10^{-7} моль/с	Скорость ферментативного гидролиза при рН 7.6 10^{-7} моль/с	
		АХЭ	БуХЭ
71	0.034	0.087	0.017
72	0.034	0.087	0.034
73	0.27	0.087	0.017
74	0.017	0	0.8
75	0.261	0	0
АТХ*	0.015	0.847	1.17

*Ацетилтиохолин

Однако скорость гидролиза тиоэфиров под действием АХЭ и БуХЭ уступает скорости гидролиза АТХ. Отметим, что в случае тиохолинового эфира N-фталоил-DL-валина (**74**) спонтанный гидролиз по скорости равен скорости гидролиза АТХ, а АХЭ совсем не влияет на скорость гидролиза.

Исходя из вышесказанного стало возможным исследование антихолинэстеразных свойств тиоэфира **74**. При этом установлено, что значения IC_{50} соединения **74** в случае АХЭ — 0.526 мМ и 0.011 мМ в случае БуХЭ (со специфичностью А/Б = 47.8). Полученные данные позволяют оценить влияние гетероатома на ингибирующие свойства производных N-фталоил-DL-валина (табл. 4).

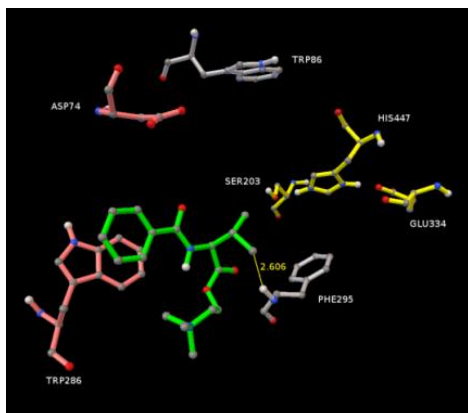


Рис. 2. Молекулярное моделирование ингибитора **43** (в зеленом), стыкованного в "кармане" активного центра АХЭ. Каталитическая триада (Ser203, His447, Glu334 в желтом), периферическая анионная часть (Asp74, Trp 286) в розовом.

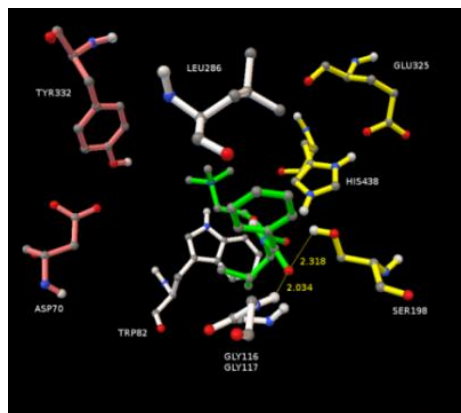


Рис. 3. Молекулярное моделирование ингибитора **43** (в зеленом), стыкованного в "кармане" активного центра БУХЭ. Каталитическая триада (Ser198, His438, Glu325) в желтом, периферическая анионная часть (Asp70, Tyr332) в розовом.

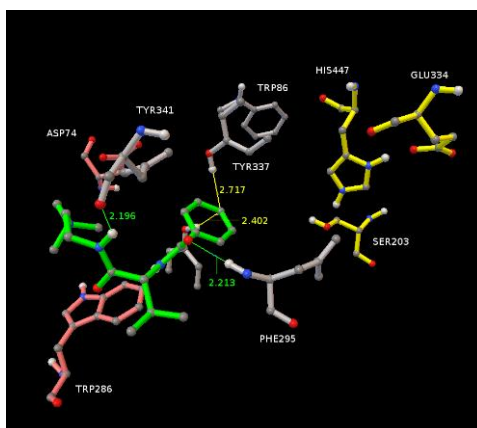


Рис. 4. Молекулярное моделирование ингибитора **56** (в зеленом), стыкованного в "кармане" активного центра АХЭ. Каталитическая триада (Ser203, His447, Glu334) в желтом, периферическая анионная часть (Asp74, Trp 286) в розовом.

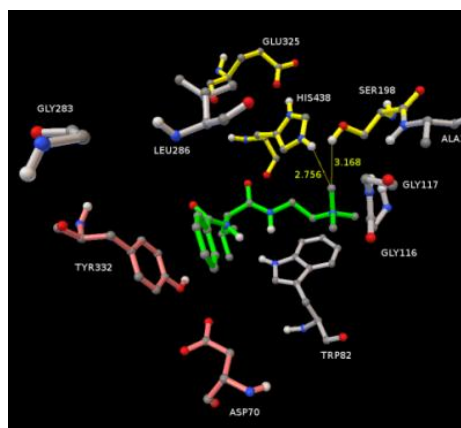


Рис. 5. Молекулярное моделирование ингибитора **56** (в зеленом), стыкованного в "кармане" активного центра БУХЭ. Каталитическая триада (Ser198, His438, Glu325) в желтом, периферическая анионная часть (Asp70, Tyr332) в розовом.

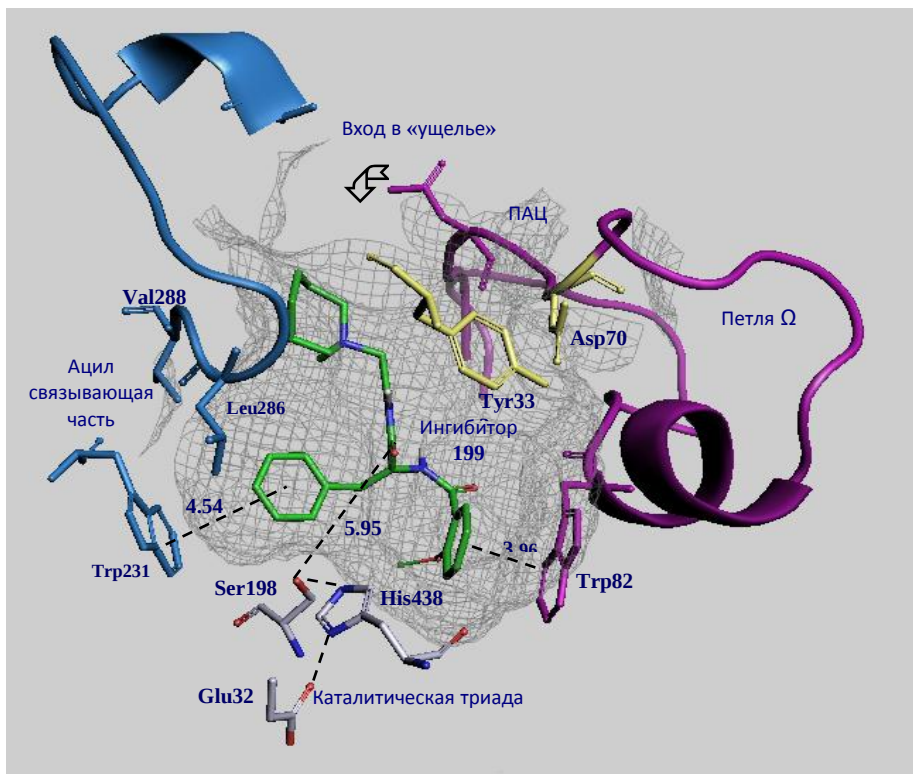
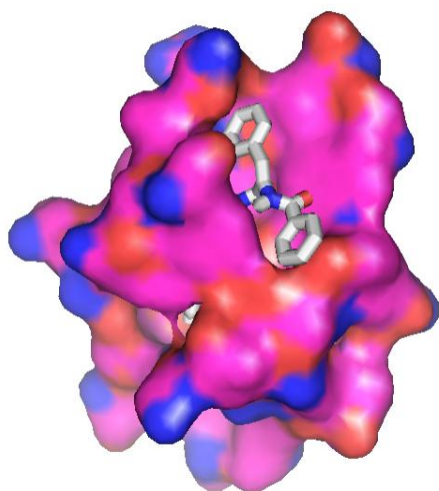
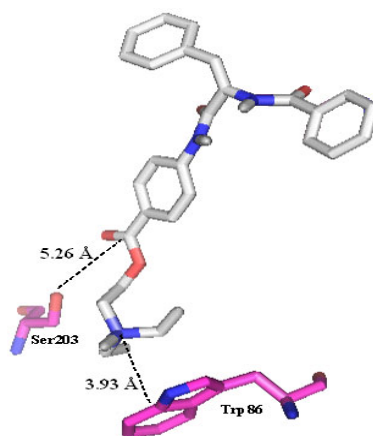


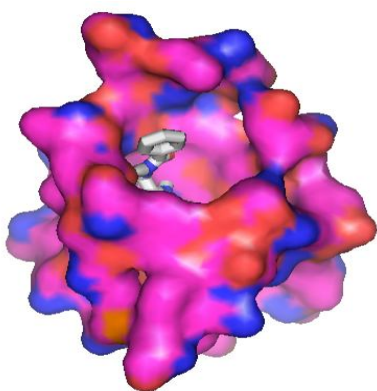
Рис. 6. Пространственное изображение БухЭ – ингибитор **193** комплекса в «ущелье» активного центра БухЭч, соответствующее минимальной энергии комплексообразования.



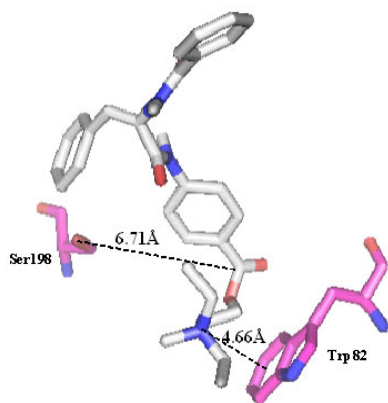
а



б



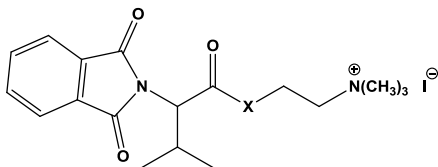
в



г

Рис. 7. Пространственное строение фермент-лигандных комплексов АХЭ (а, б) и БуХЭ (в, г) с аминоэфиром N-замещенного α,β -дегидропептида **216**. Показаны пространственное расположение лиганда внутри «ущелья» активного центра фермента (а, в) и то же самое расположение после «удаления» полипептидной оболочки фермента, за исключением аминокислотных остатков Ser, входящего в состав каталитической триады и Trp – аминокислоты, ответственной за связывание аммонийной катионной головки лиганда (б, г).

**Влияние гетероатома на антихолинэстеразные свойства йодметилатов
2-диметиламиноэтилового эфира, тиозфира и амида N-фталил-DL-валина**



Фермент	Значения IC_{50} , мМ		
	X = O	X = S	X = NH
АХЭ (А)	0.25	0.526	0.33
БуХЭ (Б)	0.0061	0.011	0.00031
А/Б	40.98	47.8	1051.6

По данным табл. 4, ингибирующая активность соединений **47**, **56** и **74** по отношению к АХЭ падает в ряду $O \approx NH > S$. В случае БуХЭ ряд приобретает другую картину — $N > O > S$. С точки зрения специфичности по отношению к БуХЭ наблюдается ряд $N > S > O$. Исходя из этого можно заключить, что характер гетероатома оказывает существенное влияние как на ингибирующие свойства, так и на специфичность соединения.

**Молекулярное моделирование комплексообразования аминокэфира
и амида N-бензоилвалина с АХЭ и БуХЭ**

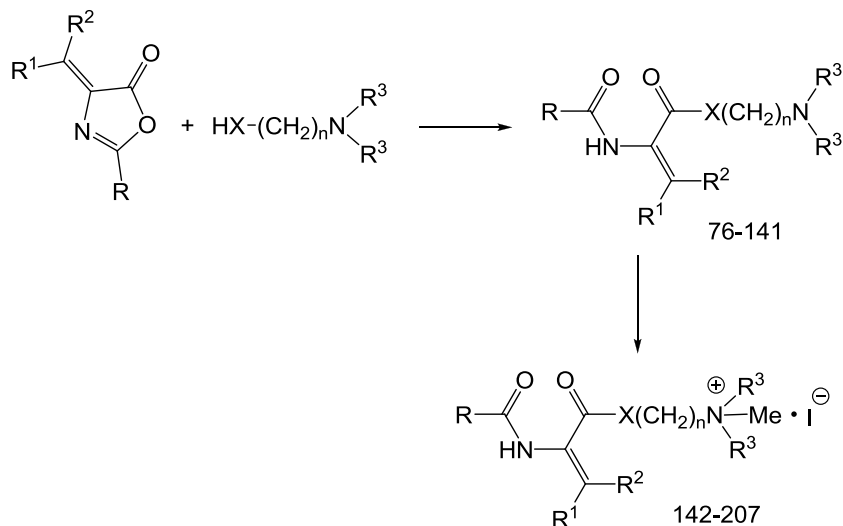
С целью выяснения наблюдаемой большой разницы (до 39000 раз) антагонистических свойств по отношению к АХЭ и БуХЭ йодметилата 2-(диметиламино)этиламида N-бензоил-DL-валина (**56**) был осуществлен докинг с АХЭ и БуХЭ [17]. При докинговых исследованиях были учтены расположения лиганда по отношению к трем важнейшим — холинсвязывающей, ацилсвязывающей и эстеразной, частям активных центров АХЭ и БуХЭ. Результаты молекулярного моделирования комплексов четвертичных аммониевых солей **43** и **56** с АХЭ и БуХЭ приведены на рис. 1-4.

Как видно из рис. 1, холиновый эфир **43** в активном центре АХЭ располагается далеко от каталитической триады, и комплекс лиганд-фермент стабилизирован за счет взаимодействия ацильной части (Val) лиганда с ацилсвязывающей частью (Phe295) активного центра фермента. В случае же стыковки лиганда **43** с активным центром БуХЭ (рис. 2) наблюдается образование водородных связей между кислородным атомом бензоильного остатка лиганда **43** и водородными атомами ОН-группы Ser198, а также NH-группы Gly116. Исходя из сказанного следует предположить, что сравнительно большую ингибирующую активность

лиганда **43** по отношению к БуХЭ можно объяснить близким расположением лиганда к каталитической триаде фермента. Высказанное предположение подтверждается при сопоставлении результатов молекулярного моделирования комплексообразования с АХЭ и БуХЭ амидного аналога **56** (рис. 3 и 4). Как видно из рис. 4, лиганд **56** в комплексе с АХЭ С=О-группой бензоильного остатка довольно близко (2.213 Å) расположен к Phe295 (ацилсвязывающей части "кармана") и С-концевой NH-группой к Tyr341 активного центра. Однако в этом случае тоже лиганд **56** в "кармане" АХЭ располагается в удалении от каталитической триады активного центра фермента. В случае же моделирования комплексообразования лиганда **56** и БуХЭ (рис. 5) лиганд располагается в "кармане" фермента таким образом, что его четвертичная аммониевая группа находится вблизи двух аминокислотных остатков (Ser198 и His438) каталитической триады. По всей вероятности, этим обусловлена сравнительно высокая эффективность лиганда **56** по сравнению с лигандом **43**.

Синтез диалкиламиноалкиловых эфиров и амидов N-замещенных α,β -дегидроаминокислот

Холиновые эфиры N-замещенных α,β -дегидроаминокислот, в отличие от их насыщенных аналогов — α -аминокислот, до 1983 г. не были описаны в литературе [5]. Диалкиламиноалкиловые эфиры N-замещенных α,β -дегидроаминокислот (**76-106**) и их амидные (**107-141**) аналоги были синтезированы азлактонным методом — взаимодействием диалкиламиноалкиловых спиртов или диалкиламиноалкиламинов с ненасыщенными 5(4Н)-оксазолонами в органических растворителях [20-28].

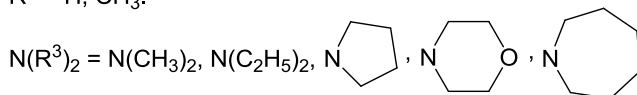


X = O, NH

R = C₆H₅, 2-ClC₆H₄, 2-BrC₆H₄, 3-BrC₆H₄, 4-BrC₆H₄, 2-MeC₆H₄, 2-MeOC₆H₄, 4-MeOC₆H₄, C₆H₅CH=CH, C₄H₃O.

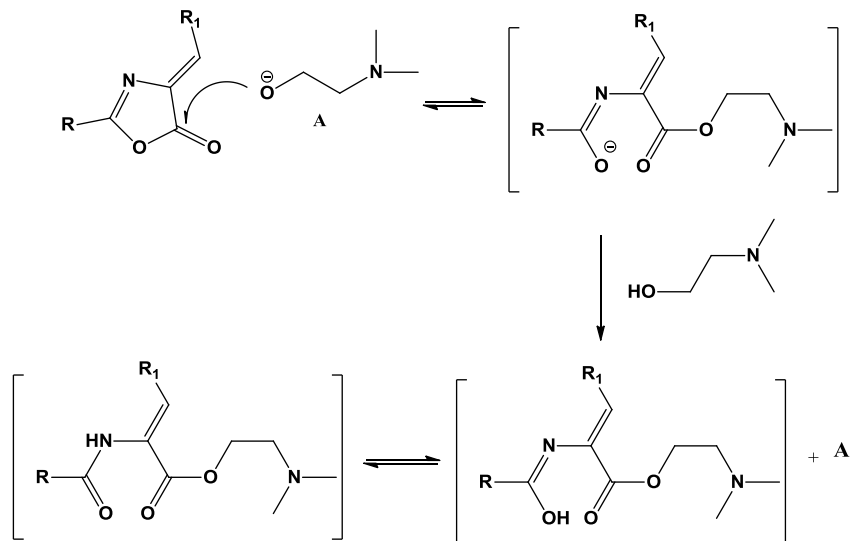
R¹ = CH₃, C₆H₅, 2-ClC₆H₄, 4-ClC₆H₄, 4-BrC₆H₄, 4-MeOC₆H₄, 4-i-C₃H₇OC₆H₄, 3,4-CH₂O₂C₆H₄, C₄H₃O.

R² = H, CH₃.



Известно, что ненасыщенные 5(4H)-оксазолонны инертны по отношению к спиртам [29]. Однако, по данным работы [20], кипячение в хлороформе смеси 2-фенил-4-бензилиден-5-оксазолонна и 2-диметиламино-1-этанола приводит к образованию аминокэфира N-бензоил-α,β-дегидрофенилаланина. Этим же способом были синтезированы 2-(диметиламино)этиловые эфиры различных N-замещенных α,β-дегидроаминокислот [21,22]. Реакционноспособность ненасыщенных 5(4H)-оксазолонов относительно аминоспиртов можно объяснить наличием третичной аминогруппы в последних. Для подтверждения вышесказанного предположения исследована реакция О-ацилирования 2-диметиламино-1-этанола с 2-фенил-4-бензилиден-5-оксазолоном. Выяснено влияние растворителя [30], а также некоторых нуклеофильных добавок [31] на реакцию. На основании полученных данных установлено, что исследуемая реакция протекает через общий основной катализ [30], а также был разработан препаративный метод синтеза аминокэфиров N-замещенных α,β-дегидроаминокислот с участием каталитических количеств (1-3%) алкоголята аминоспирта [32], позволяющий осуществлять синтез при комнатной температуре.

Катализ реакции О-ацилирования диалкиламиноалкиловых спиртов ненасыщенными оксазолонами в присутствии алкоголята соответствующего спирта объясняется нижеприведенной схемой [30]:



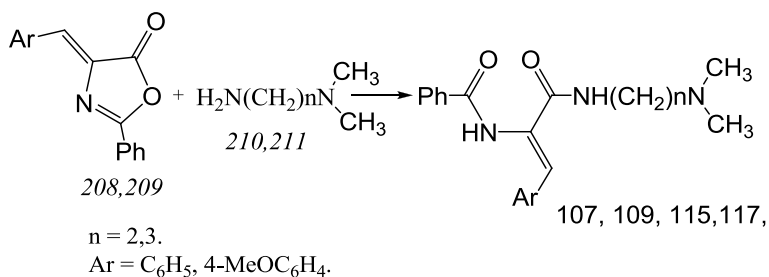
Рентгеноструктурные исследования показали [33], что синтезированный вышеуказанным методом 2-(диметиламино)этиловый эфир N-бензоил- α,β -дегидрофенилаланина имеет Z-конфигурацию.

Синтез диалкиламиноалкиамидов N-замещенных α,β -дегидроаминокислот был осуществлен взаимодействием соответствующих ненасыщенных 5(4H)-оксазолонов с диалкиламиноалкиламинами в среде диэтилового эфира, диметилформамида или этанола при комнатной температуре в течение 1, 0.5 и 2 ч, соответственно [34-36]. При применении эфира в качестве реакционной среды наблюдается образование осадка целевого продукта, что упрощает выделение и очистку конечного продукта [36]. Выходы полученных указанным способом аминоксидов колеблются в пределах 90-98%.

Согласно данным ЯМР ^1H спектров, синглетный сигнал протона в β -положении дегидроаминокислотного остатка диалкиламиноалкиамидов N-замещенных- α,β -дегидроаминокислот проявляется в пределах 7.16-7.25 м.д., что свидетельствует об Z-конфигурации этих соединений [34].

Изучались константы скоростей раскрытия ненасыщенных 4-бензилиден- и 4-(*n*-метоксибензилиден)-5(4H)-оксазолонов при одинаковых концентрациях диметиламиноэтил- и диметиламинопропиламинов [35]. Найденные константы псевдопервого порядка приведены в табл. 5. Из данных табл. 5 видно, что удлинение метиленовой цепочки между первичным и третичным аминогруппами в аминном компоненте приводит к возрастанию скорости реакции раскрытия оксазолонового цикла в случае обоих оксазолонов **208, 209**.

**Константы псевдопервого порядка реакций раскрытия цикла
2-фенил-4-арилиден-5(4Н)-оксазолонов (208 и 209)
диметиламиноалкиламинами (210 и 211) в этаноле при 25°С.**



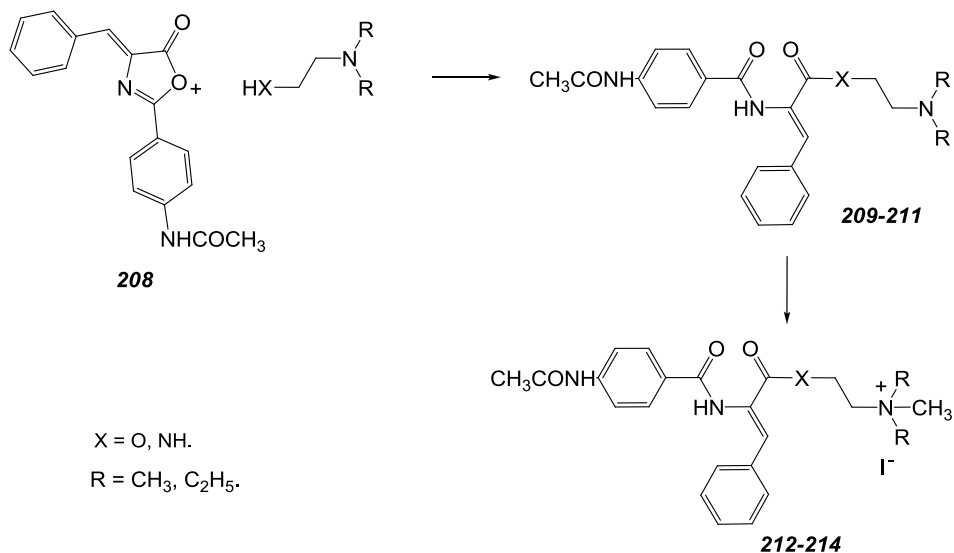
5(4H)-Оксазолон	Амин	К, с ⁻¹
208	210	1.44×10^{-3}
208	211	9.36×10^{-3}
209	210	3.22×10^{-4}
209	211	3.41×10^{-3}

Однако введение метоксигруппы в положение 4 бензольного кольца оксазолонa приводит к уменьшению скорости исследуемой реакции. Иными словами, электронодонорная группа увеличивает электронную плотность на реакционном центре (углерод С5 оксазолонового цикла), тем самым уменьшая скорость раскрытия оксазолонового цикла.

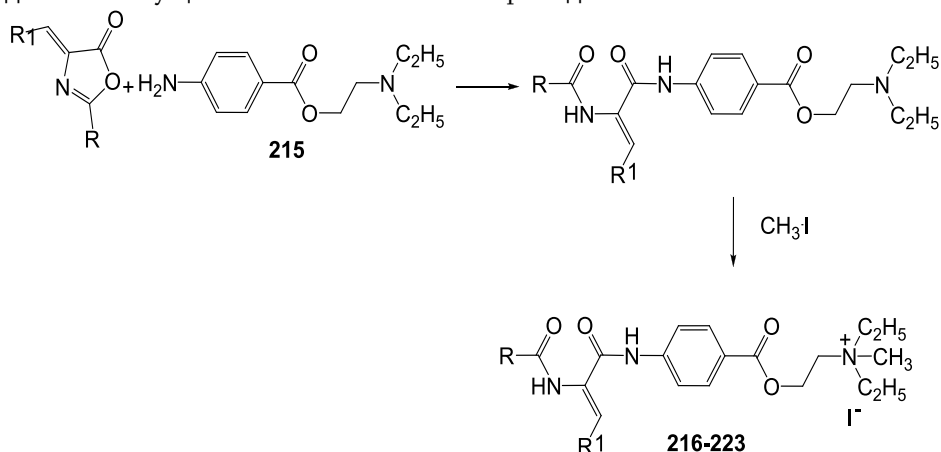
Все синтезированные аминокислоты и аминокислоты превращены в четвертичные аммониевые соли **142-207**.

Синтез диалкиламиноалловых эфиров и амидов N-замещенных α, β -дегидропептидов

В синтезе 2-диметиламиноэтилового эфира N-ацетил-L-аминобензоил- α, β -дегидрофенилаланина **209** и 2-диметиламиноэтил- и пропилами-дов N-ацетил-L-аминобензоил- α, β -дегидро-O-метилтирозина **210, 211** применялся 2-ацетамидофенил-4-бензилиден-5-оксазолон **208** [37-39]. Реакция азлактона **208** с 2-диметиламиноэтанолом была проведена в присутствии 3% алкоголята аминспирта в бензоле при комнатной температуре. Синтез четвертичных аммониевых солей **212-214** осуществлен в среде ацетона.

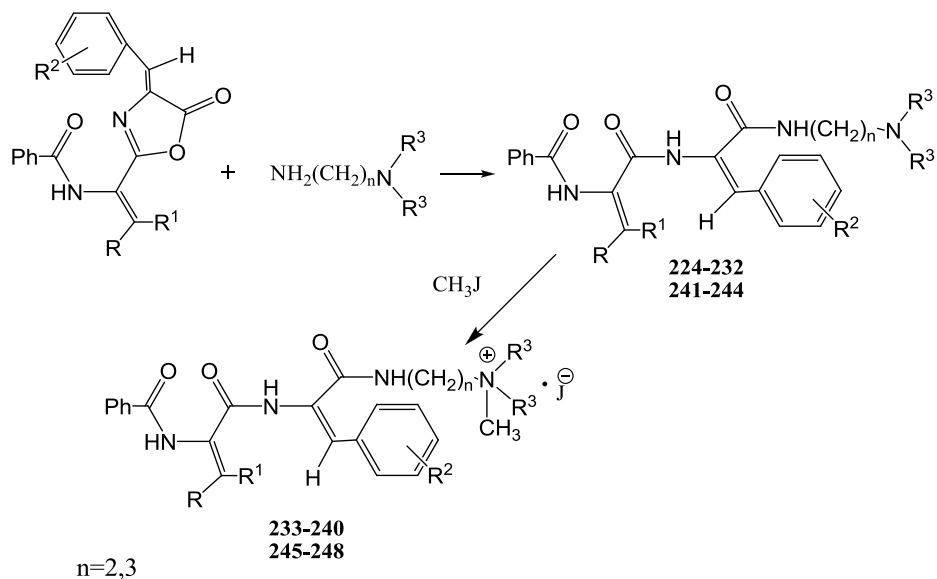


Другой ряд аминоэфиров дипептидов, содержащих остатки *n*-аминобензойной кислоты (**216-223**), описан в работах [37,39]. Синтез этих соединений осуществлен согласно нижеприведенной схеме:

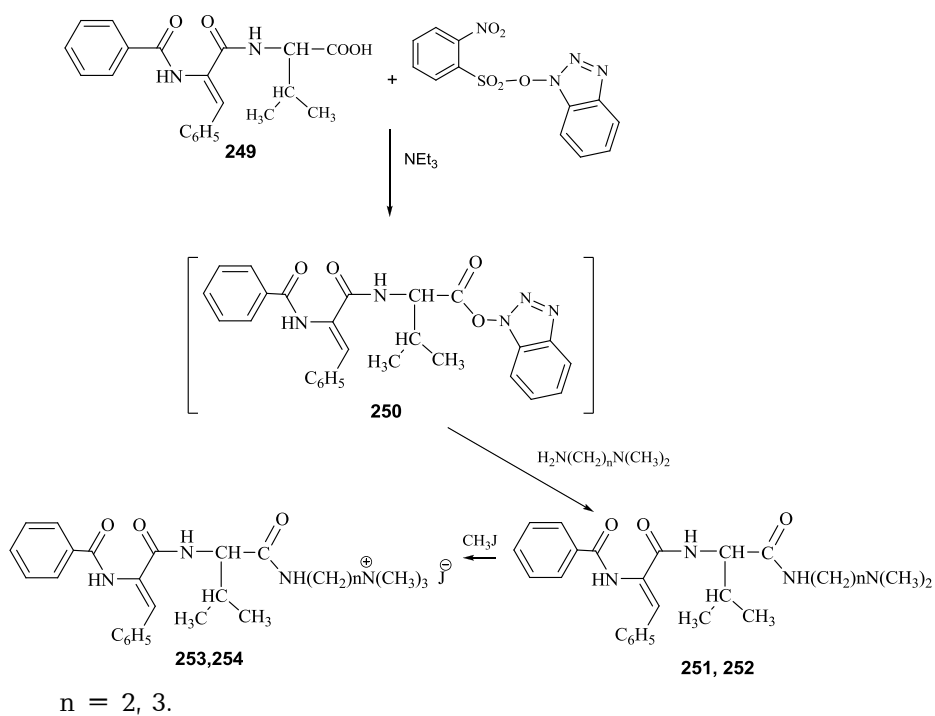


Реакция ненасыщенного оксазолона и новокаина основания **215**, полученного *in situ*, была проведена в смеси этилацетат-уксусная кислота (3:1) при кипячении в течение 6-10 ч. Далее все полученные аминоэфиры превращены в соответствующие четвертичные аммониевые соли **216-223**.

В работах [40,41] синтез аминоксидов N-бензоил- α,β -дегидродипептидов **224-232**, **241-244** и их йодметилатов **233-240**, **245-248** осуществлялся согласно схеме:



Синтез диалкиламиноалкиламидов N-бензоил- α,β -дегидропептидов, содержащих остатки DL-валина (**251**, **252**), проводился методом активированных эфиров. Активация карбоксильной группы пептида **249** была осуществлена с помощью 1-(*o*-нитрофенилсульфонилокси)бензотриазола в среде ацетонитрила при комнатной температуре в течение 24 ч [41].



Оксибензотриазоловый эфир пептида **250** без выделения из реакционной среды вводился в реакцию с диметиламиноалкиламидами, приводя к диалкиламиноалкиламидам с хорошими выходами (68-69%) **251** и **252**, которые далее превращены в йодметилаты **253** и **254**.

Антихолинэстеразные свойства N-замещенных α,β -дегидроаминокислот и пептидов

Для всех синтезированных диалкиламиноалкиловых эфиров и амидов N-замещенных α,β -дегидроаминокислот и пептидов, а также их четвертичных аммониевых солей по методу Элмана были определены значения $IC_{50\%}$ для эритроцитарной ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и для плазменной бутирилхолинэстеразы (БуХЭ) человека. Рассчитаны также данные индексов специфичности (ИС) по отношению к БуХЭ и индексов структурных изменений как кватернизации ($ИСИ_{кват.}$), так и заместителя ($ИСИ_{зам.}$). Последний рассчитан по формуле:

$$ИСИ_{зам.} = IC_{50\%} \text{ Н} / IC_{50\%} \text{ заместитель}$$

Полученные данные приведены в табл. 6-24. Согласно этим данным, все исследованные аминокислоты и аминокислотиды N-замещенных α,β -дегидроаминокислот являются ингибиторами как АХЭ, так и БуХЭ ($ИС > 1$).

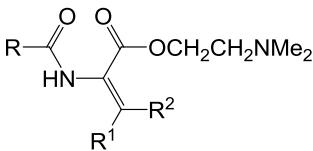
Из данных, приведенных в табл. 6, следует, что в случае АХЭ самым слабым ингибитором среди третичных аминокислот является соединение, содержащее остаток N-бензоил- α,β -дегидрофенилаланина **76** ($IC_{50} = 1.3 \text{ mM}$). Наиболее сильными представителями третичных аналогов представленного ряда являются соединения **79** ($IC_{50} = 0.11 \text{ mM}$) и **81** ($IC_{50} = 0.23 \text{ mM}$). Введение электронодонорных и электроноакцепторных групп в качестве заместителей бензольного кольца N-защитной группы в разной степени оказывает положительное влияние на ингибирующие свойства веществ ($ИСИ_{зам.} = 1.88-11$ для Cl и Br, 1.8-5 для MeO). Из 2-диметиламиноэтиловых эфиров (табл. 6) по своим ингибирующим свойствам по отношению к БуХЭ выделяется соединение **81** ($IC_{50} = 0.00062 \text{ mM}$). В этом случае положительное влияние заместителей в бензольном кольце N-защитной группы сравнительно меньше и колеблется в пределах $ИСИ_{зам.} = 0.07-2.55$. Следует отметить, что в этом ряду сравнительно высокую специфичность по отношению к БуХЭ проявляет аминокислота N-2-бромбензоил- α,β -дегидрофенилаланина (**78** $ИС = 591$).

В ряду гексаметиламиноэтиловых эфиров N-замещенных α,β -дегидроаминокислот (табл. 7) сравнительно высокое антиацетилхолинэстеразное свойство проявляет эфир N-2-метоксибензоил- α,β -дегидро-4-хлорфенилаланина **103** ($IC_{50\%} = 0.00081 \text{ mM}$). Последний по антибутирилхолинэстеразным свойствам почти не уступает соединению **99** ($IC_{50\%} = 0.00012 \text{ mM}$). В отличие от предыдущего ряда в случае 2-гексаметилами-

ноэтиловых эфиров электронодонорная MeO-группа имеет довольно значимый индекс структурных изменений (для АХЭ соед. **99** ИСИ зам = 20 и соед. **93** ИСИ зам = 120). Такой результат, очевидно, можно объяснить тем, что метоксигруппа в положении 2 бензольного кольца N-замещенной группы играет существенную роль при образовании комплекса лиганд-фермент.

Таблица 6

**Антихолинэстеразная активность 2-(диметиламино)этиловых эфиров
N-замещенных α,β -дегидроаминокислот**

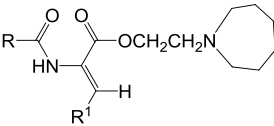


Соединение	R	R ¹	R ²	IC _{50%} , mM		ИС (А/Б)	ИСИзам.	
				АХЭ (А)	БуХЭ (Б)		АХЭ	БуХЭ
76	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	H	1.26	0.0028	450	—	—
77	2-ClC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	H	0.69	0.0041	168	1.88	0.68
78	2-BrC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	H	0.65	0.0011	591	2.0	2.55
79	3-BrC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	H	0.11	0.0025	44	11.82	1.12
80	4-BrC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	H	0.53	0.014	38	2.45	0.2
81	2-MeOC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	H	0.23	0.00062	371	5.65	4.52
82	4-MeOC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	H	0.71	0.040	18	1.83	0.07
83	C ₄ H ₃ O*	C ₄ H ₃ O*	H	2.29	0.013	176	—	—

*фурил

Таблица 7

**Антихолинэстеразная активность 2-(гексаметиленамино)этиловых эфиров
N-замещенных α,β -дегидроаминокислот**

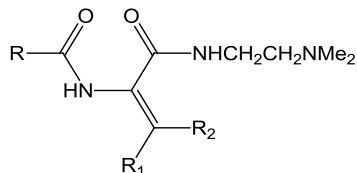


Соединение	R	R ¹	IC _{50%} , mM		ИС (А/Б)	ИСИзам.	
			АХЭ (А)	БуХЭ (Б)		АХЭ	БуХЭ
96	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	0.10	0.00047	213	—	—
97	2-BrC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	0.071	0.00033	215	1.41	1.42
98	4-BrC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	0.078	0.0014	56	1.28	0.34
99	2-MeOC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	0.005	0.00012	42	20.0	3.92
100	C ₆ H ₅	4-i-C ₃ H ₇ OC ₆ H ₄	0.047	0.00084	56	2.13	0.56
101	4-BrC ₆ H ₄	4-ClC ₆ H ₄	0.023	0.0019	12	4.35	0.25
102	2-MeC ₆ H ₄	4-MeOC ₆ H ₄	0.052	0.00075	69	1.92	0.63
103	2-MeOC ₆ H ₄	2-ClC ₆ H ₄	0.00081	0.00013	6	123.46	3.62
104	2-MeOC ₆ H ₄	4-BrC ₆ H ₄	0.0092	0.00015	61	10.87	3.13
105	C ₆ H ₅ CH=CH	4-MeOC ₆ H ₄	0.012	0.0047	2.6	8.33	0.10
106	C ₄ H ₃ O*	C ₄ H ₃ O*	0.13	0.00037	351	0.77	1.27

*фурил

Таблица 8

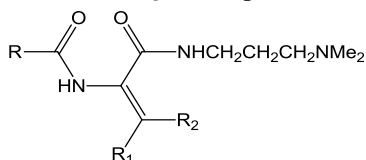
**Антихолинэстеразная активность 2-(диметиламино)этиламидов
N-замещенных α,β -дегидроаминокислот**



Соединение	R	R ₁	R ₂	IC _{50%} , mM		ИС (А/Б)	ИСИЗам.	
				АХЭ (А)	БухЭ (Б)		АХЭ	БухЭ
107	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	H	2.5	0.0045	556	–	–
108	C ₆ H ₅	4-Br-C ₆ H ₄	H	0.30	0.000086	3488	8.33	52.3
109	C ₆ H ₅	4-MeOC ₆ H ₄	H	0.63	0.00026	2423	3.97	17.31
110	C ₆ H ₅	CH ₃	CH ₃	1.22	0.0016	762	–	–
111	2-BrC ₆ H ₄	CH ₃	CH ₃	2.70	0.0035	771	0.45	0.46
112	3-BrC ₆ H ₄	CH ₃	CH ₃	0.64	0.0063	102	1.91	0.25
113	4-BrC ₆ H ₄	CH ₃	CH ₃	0.74	0.050	15	1.65	0.032
114	4-(CH ₃) ₃ CC ₆ H ₄	CH ₃	CH ₃	1.0	0.067	15	1.22	0.024

Таблица 9

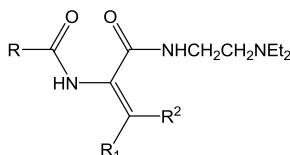
**Антихолинэстеразная активность 3-(диметиламино)пропиламидов
N-замещенных α,β -дегидроаминокислот**



Соединение	R	R ₁	R ₂	IC _{50%} , mM		ИС (А/Б)	ИСИЗам.	
				АХЭ (А)	БухЭ (Б)		АХЭ	БухЭ
115	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	H	2.0	0.0083	241	–	–
116	C ₆ H ₅	4-Br-C ₆ H ₄	H	0.43	0.00082	524	4.65	10.12
117	C ₆ H ₅	4-MeO-C ₆ H ₄	H	0.40	0.0042	95	5.0	1.98
118	C ₆ H ₅	CH ₃	CH ₃	2.04	0.0042	486	–	–
119	2-BrC ₆ H ₄	CH ₃	CH ₃	3.57	0.01	357	0.57	0.42
120	3-BrC ₆ H ₄	CH ₃	CH ₃	0.32	0.0029	110	6.38	1.45
121	4-BrC ₆ H ₄	CH ₃	CH ₃	0.74	0.033	22	2.76	0.13
122	4-(CH ₃) ₃ CC ₆ H ₄	CH ₃	CH ₃	0.75	0.0075	100	2.72	0.56

Таблица 10

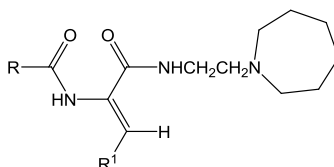
**Антихолинэстеразная активность 2-(диэтиламино)этиламидов
N-замещенных α,β -дегидроаминокислот**



Соединение	R	R ¹	R ²	IC _{50%} , mM		ИС (А/Б)	ИСИЗам	
				АХЭ (А)	БухЭ (Б)		АХЭ	БухЭ
123	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	H	0.48	0.00062	774	—	—
124	C ₆ H ₅	4-Br-C ₆ H ₄	H	0.2	0.00033	606	2.4	1.88
125	C ₆ H ₅	4-MeO-C ₆ H ₄	H	0.50	0.00099	505	0.96	0.63
126	C ₆ H ₅	CH ₃	CH ₃	2.48	0.0048	517	—	—
127	2-BrC ₆ H ₄	CH ₃	CH ₃	1.83	0.0027	678	1.36	1.78
128	3-BrC ₆ H ₄	CH ₃	CH ₃	0.46	0.0037	124	5.39	1.29
129	4-BrC ₆ H ₄	CH ₃	CH ₃	0.60	0.0063	95	4.13	0.76
130	4-(CH ₃) ₃ CC ₆ H ₄	CH ₃	CH ₃	0.46	0.0038	121	5.39	0.79

Таблица 11

**Антихолинэстеразная активность 2-(гексаметиленамино)этиламидов
N-замещенных α,β -дегидроаминокислот**



Соединение	R	R ¹	IC _{50%} , mM		ИС (А/Б)
			АХЭ (А)	БухЭ (Б)	
131	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	0.054	0.00017	318
132	2-BrC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	0.047	0.00006	783
133	2-MeOC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	0.0088	0.00005	176
134	C ₆ H ₅	4-i-C ₃ H ₇ OC ₆ H ₄	0.062	0.00037	167
135	4-BrC ₆ H ₄	4-ClC ₆ H ₄	0.0055	0.0012	5
136	2-MeOC ₆ H ₄	4-ClC ₆ H ₄	0.0013	0.00006	22
137	2-MeOC ₆ H ₄	4-BrC ₆ H ₄	0.0023	0.00009	26
138	2-MeC ₆ H ₄	4-ClC ₆ H ₄	0.024	0.0005	48
139	2-MeOC ₆ H ₄	3,4-CH ₃ OC ₆ H ₄	0.0079	0.00013	61

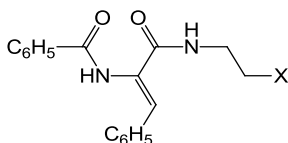
В случае диалкиламиноалкиламидов N-замещенных α,β -дегидроаминокислот (табл. 8-10) наблюдается сравнительно высокая антихолинэстеразная активность соединений, содержащих остаток α,β -дегидро-4-бромфенилаланина (соединения **108**, **116**, **124**).

Эти соединения также проявляют сравнительно высокую специфичность по отношению к БухЭ. Иная картина наблюдается в случае

гексаметиленаминоэтиламидов (табл. 11). В этом случае сравнительно высокую антиацетиlxолиновую активность проявляет N-2-метоксибензоил- α,β -дегидро-4-хлорфенилаланин (**136** $IC_{50\%} = 0.0013 \text{ mM}$), в то время как ингибированием по отношению к БуХЭ выделяется соединение **133** ($IC_{50\%} = 0.00005 \text{ mM}$), также содержащее MeO-группу в положении 2 бензольного кольца N-заместителя. Следует отметить, что в этом ряду высокую специфичность по отношению к БуХЭ проявляет соединение **132** (ИС = 783 раза).

Таблица 12

**Антихолинэстеразная активность 2-(диалкиламино)этиламидов
N-бензоил- α,β -дегидрофенилаланинов**

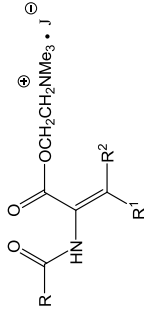


Соединение	X	$IC_{50\%}, \text{mM}$		ИС (А/В)
		АХЭ (А)	БуХЭ (В)	
140		0.769	0.00104	739
141		0.83	0.05	17

На примере 2-(гексаметиленамино)этиловых эфиров (табл. 7, соед. **96,97,100,101,104**) и 2-(гексаметиленамино)этиламидов (табл. 11, соед. **131-137**) легко убедиться, что замена эфирной группы на амидную приводит к возрастанию антибутирилхолинэстеразных свойств соединений. Такое же положение наблюдается при сопоставлении данных четвертичных аммониевых солей 2-диметиламиноэтиловых эфиров (**142, 161**) и их амидных аналогов (**173, 176**). Однако в остальных случаях (ср. данные табл. 6 и 8, 14 и 18) ингибирующие свойства соединений как по отношению к АХЭ, так и БуХЭ не подлежат такой закономерности.

Анализ четвертичных аммониевых солей аминокэфиров и амидов ненасыщенных аминокислот показывает, что при переходе от третичной к четвертичной форме в случае АХЭ ингибирующая сила вещества незначительно влияет на значения $IC_{50\%}$ (см. данные ИСИкв.). В этом ряду по этому параметру выделяется N-фурил- α,β -дегидро- β -фурил- α -аланин (**149** ИСИкв. = 13). В случае же БуХЭ сравнительно большой эффект на улучшение ингибирующих свойств при кватернизации наблюдается в случае 2-(морфолино)этиламида N-бензоил- α,β -дегидрофенилаланина (соед. **207**, ИСИкв. = 69).

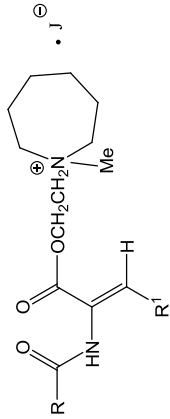
Антихолинэстеразная активность йодмстиллата 2-(диэтиламино)этиламидов N-замещенных α,β-дегидроаминокислот



№	R	R ¹	R ²	IC _{50%} , mM		ИС (А/В)	ИС _{кв}		ИС _{зам.}	
				АХЭ (А)	БуХЭ (В)		АХЭ	БуХЭ	АХЭ	БуХЭ
142	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	H	0.37	0.0031	119	3.51	0.90	—	—
143	2-ClC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	H	0.095	0.0013	73	7.26	3.15	3.89	2.38
144	2-BrC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	H	0.14	0.00087	161	4.64	1.26	2.64	3.56
145	3-BrC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	H	0.92	0.0017	541	0.12	1.47	0.40	1.82
146	4-BrC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	H	0.39	0.015	26	1.36	0.93	0.95	0.21
147	2-MeOC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	H	0.037	0.00015	247	6.22	4.13	10	20.67
148	4-MeOC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	H	0.39	0.032	12	1.82	1.25	0.95	0.10
149	C ₄ H ₃ O*	C ₄ H ₃ O*	H	0.17	0.0092	18	13.47	1.41	—	—
150	C ₆ H ₅	C ₆ H ₄ -O-i-C ₃ H ₇ -4	H	0.20	0.0023	87	—	—	1.85	1.35
151	4-BrC ₆ H ₄	Fur	H	0.41	0.0090	46	—	—	0.95	1.67
152	4-BrC ₆ H ₄	C ₆ H ₃ -3,4-O ₂ CH ₂	H	0.14	0.035	4	—	—	2.79	0.45
153	C ₆ H ₄	C ₆ H ₄ -OCH ₃ -4	H	0.16	0.0010	160	—	—	—	—
154	4-BrC ₆ H ₄	C ₆ H ₄ -O-i-C ₃ H ₇ -4	H	0.15	0.0041	37	—	—	2.60	3.66
155	4-BrC ₆ H ₄	4-Cl-C ₆ H ₄	H	0.094	0.0064	15	—	—	4.15	2.34
156	4-BrC ₆ H ₄	4-MeO-C ₆ H ₄	H	0.12	0.014	9	—	—	3.25	1.07
157	4-n-C ₄ H ₉ OC ₆ H ₄	Fur	H	0.19	0.0049	39	—	—	2.16	1.84
158	4-n-C ₄ H ₉ OC ₆ H ₄	C ₆ H ₄ -O-i-C ₃ H ₇ -4	H	0.044	0.0084	5	—	—	3.41	0.49
159	2-MeOC ₆ H ₄	4-MeOC ₆ H ₄	H	0.027	0.00022	123	—	—	4.44	63.64
160	2-MeOC ₆ H ₄	C ₆ H ₄ -O-i-C ₃ H ₇ -4	H	0.030	0.00021	143	—	—	5.0	19.52
161	C ₆ H ₅	CH ₃	CH ₃	1.90	0.00055	3454	—	—	—	—

*фурил

Антихолинэстеразная активность йодметилатов 2-(гексаметиленамино) этиловых эфиров N-замещенных α,β-дегидроаминокислот



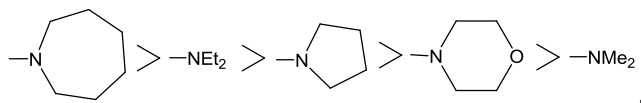
Соединение	R	R ₁	IC ₅₀ %, mM		ИС (А/Б)	ИСИ _{кв}		ИСИ _{зам.}	
			АХЭ (А)	БухЭ (Б)		АХЭ	БухЭ	АХЭ	БухЭ
162	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	0.15	0.00038	395	0.67	1.24	-	-
163	2-BrC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	0.16	0.00036	444	0.44	0.92	0.93	1.06
164	4-BrC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	0.080	0.0020	40	0.98	0.67	1.88	0.19
165	2-MeOC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	0.036	0.00040	90	0.14	0.30	4.17	0.95
166	C ₆ H ₅	4-i-C ₃ H ₇ OC ₆ H ₄	0.041	0.00099	41	1.15	0.85	3.66	0.38
167	4-BrC ₆ H ₄	4-ClC ₆ H ₄	0.011	0.00061	18	2.10	3.11	-	-
168	2-MeC ₆ H ₄	4-MeOC ₆ H ₄	0.12	0.0018	67	0.43	0.42	-	-
169	2-MeOC ₆ H ₄	2-ClC ₆ H ₄	0.0047	0.00002	235	0.17	6.5	7.65	20.0
170	2-MeOC ₆ H ₄	4-BrC ₆ H ₄	0.019	0.00021	94	0.48	0.71	1.89	1.90
171	C ₆ H ₅ CH=CH	4-MeOC ₆ H ₄	0.042	0.0030	14	0.29	1.57	-	-
172	C ₄ H ₃ O*	C ₄ H ₃ O*	0.35	0.00080	438	0.37	0.46	-	-

*фурил

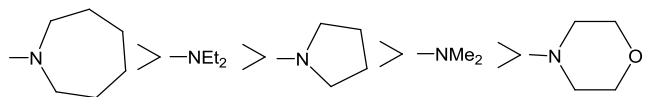
Согласно данным табл. 13, в ряду холиновых эфиров N-замещенных α,β -дегидроаминокислот сравнительно высокую антиацетилхолинэстеразную активность проявляет эфир (**159**) ($IC_{50\%} = 0.027 \text{ mM}$). В случае БуХЭ высокая ингибирующая активность выявлена у соединения **147** ($IC_{50\%} = 0.00015 \text{ mM}$), содержащего метоксигруппу в положении 2 бензольного кольца N-заместителя аминоэфира. Аминоамиды аналогичной структуры (соед. **165** и **199**) также проявляют сравнительно высокую антибутирилхолинэстеразную активность (табл. 14 и 18). Необходимо отметить, что специфичность соединений по отношению к БуХЭ (данные ИС) резко возрастает при переходе от эфиров или амидов N-бензоил- α,β -дегидрофенилаланинов **142**, **173**, **181** и **189** к N-бензоил- α,β -дегидровалинам **161**, **176**, **184** и **192**. Однако на примере аминок амидов и их четвертичных аммониевых солей среди различных аминокислотных остатков, как по данным $IC_{50\%}$, так и по специфичности, сравнительно высокую активность проявляют соединения с α,β -дегидро-4-бромфенилаланиновым остатком **108**, **116**, **124**, **174**, **182**, **190**.

Данные, приведенные в табл. 15-17, позволяют оценить влияние положения атома брома в бензольном кольце N-заместителя в аминок амидах α,β -дегидровалина. Согласно этим данным, при варьировании местоположения атома брома в N-бензоильном остатке от положения 2 до 4 при йодметилатах диалкиламиноалкиламидов N-замещенных α,β -дегидровалинов сравнительно высокие антихолинэстеразные свойства проявляются у 3-бромбензоильных аналогов. Аналогичный результат наблюдается при сравнении данных ИСИзам. четвертичных аммониевых солей N-замещенных α,β -дегидровалинов (табл. 15, соед. **177-179**, табл. 16, соед. **185-187** и табл. 17, соед. **193-195**).

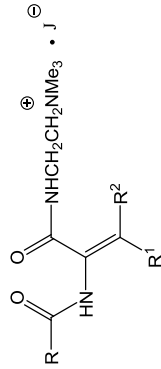
При рассмотрении влияния строения аминок группы в аминок амидах N-бензоил- α,β -дегидрофенилаланина можно построить ряды активности по отношению к АХЭ:



и к БуХЭ:

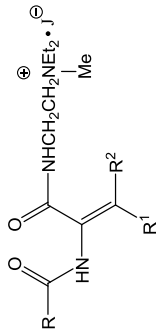


Антихолинэстеразная активность йодметилатов 2-(диметиламино) этиламидов N-замещенных α,β -дегидроаминокислот



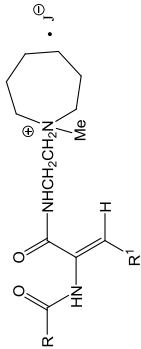
Соединение	R	R ¹	R ²	IC _{50%} , mM		Исп. (А/Б)	ИСИ кв.		ИСИ зам.	
				АХЭ (А)	БуХЭ (Б)		АХЭ	БуХЭ	АХЭ	БуХЭ
173	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	H	0.71	0.0018	394	3.52	2.50	-	-
174	C ₆ H ₅	4-BrC ₆ H ₄	H	0.18	0.000018	10000	1.67	4.78	3.94	100
175	C ₆ H ₅	4-MeOC ₆ H ₄	H	0.70	0.000076	9211	0.90	3.42	1.01	23.68
176	C ₆ H ₅	CH ₃	CH ₃	1.41	0.00024	5875	0.87	6.67	-	-
177	2-BrC ₆ H ₄	CH ₃	CH ₃	2.56	0.00046	5565	1.05	7.61	0.55	0.52
178	3-BrC ₆ H ₄	CH ₃	CH ₃	0.15	0.00017	882	4.27	37.06	9.4	1.41
179	4-BrC ₆ H ₄	CH ₃	CH ₃	1.64	0.040	41	0.45	1.25	0.85	0.006
180	4-(CH ₃) ₃ CC ₆ H ₄	CH ₃	CH ₃	1.11	0.02	56	0.90	3.35	1.27	0.012

Антихолинэстеразная активность йодметилатов 2-(диэтиламино)этиламидов N-замещенных α,β -дегидроаминокислот



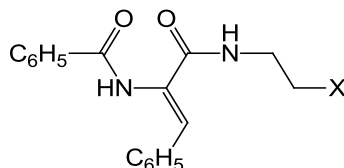
№	R	R ¹	R ²	IC _{50%}		ИС (А/Б)	ИС _{Икв.}		ИС _{Изам.}	
				АХЭ (А)	БухЭ (Б)		АХЭ	БухЭ	АХЭ	БухЭ
189	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	H	1.11	0.00078	1423	0.43	0.79	—	—
190	C ₆ H ₅	4-Br-C ₆ H ₄	H	0.47	0.00011	4273	0.43	3.0	2.36	7.10
191	C ₆ H ₅	4-MeO-C ₆ H ₄	H	0.59	0.00014	4214	0.85	7.07	1.88	5.57
192	C ₆ H ₅	CH ₃	CH ₃	3.45	0.00084	4107	0.72	5.71	—	—
193	2-BrC ₆ H ₄	CH ₃	CH ₃	1.72	0.0020	860	1.06	1.35	2.0	0.42
194	3-BrC ₆ H ₄	CH ₃	CH ₃	0.61	0.00078	782	0.75	4.74	5.66	1.08
195	4-BrC ₆ H ₄	CH ₃	CH ₃	1.85	0.0055	336	0.32	1.15	1.86	0.15
196	4-(CH ₃) ₃ CC ₆ H ₄	CH ₃	CH ₃	0.67	0.0025	268	0.68	1.52	5.15	0.34

Антихолинэстеразная активность йодметилатов 2-(гексаметилсенамино)этиламидов N-замещенных α,β-дегидроаминокислот



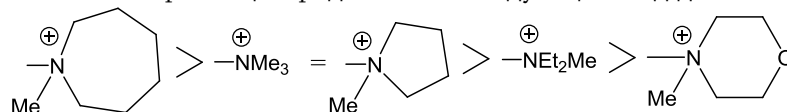
№	R	R ¹	IC _{50%}		ИС (А/Б)	ИСИкв.		ИСИзам.	
			АХЭ (А)	БухЭ (Б)		АХЭ	БухЭ	АХЭ	БухЭ
197	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	0.24	0.0055	44	0.23	0.03	—	—
198	2-BrC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	0.18	0.00075	240	0.26	0.08	1.33	7.33
199	2-MeOC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	0.0036	0.00026	14	2.44	0.19	66.67	21.15
200	C ₆ H ₅	4-i-PrOC ₆ H ₄	0.077	0.0019	41	0.81	0.19	3.12	2.89
201	4-BrC ₆ H ₄	4-ClC ₆ H ₄	0.037	0.0076	5	0.15	0.16	—	—
202	2-MeOC ₆ H ₄	4-ClC ₆ H ₄	0.0066	0.00045	15	0.19	0.13	5.61	16.89
203	2-MeOC ₆ H ₄	4-BrC ₆ H ₄	0.017	0.00026	65	0.14	0.35	0.21	1.00
204	2-MeC ₆ H ₄	4-ClC ₆ H ₄	0.15	0.0011	136	0.16	0.45	0.25	6.91
205	2-MeOC ₆ H ₄	3,4-(MeO) ₂ C ₆ H ₄	0.037	0.00064	58	0.21	0.20	1.0	11.88

Антихолинэстеразная активность йодметилатов 2-(диалкиламино)этиламидов N-бензоил- α,β -дегидрофенилаланина

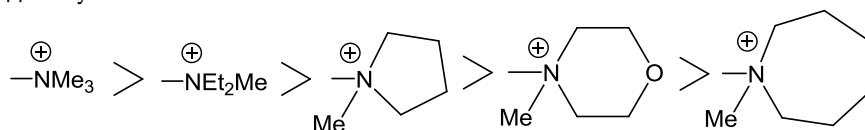


No	X	IC _{50%} , mM		Исп (А/В)	Икв	
		АХЭ (А)	БуХЭ (Б)		АХЭ	БуХЭ
206		0.71	0.00038	1868	1.08	2.74
207		1.43	0.00072	1986	0.58	69.44

После кватернизации ряды имеют следующий вид для АХЭ:



для БуХЭ:



Из приведенных в табл. 20-24 результатов видно, что структурные вариации на основе N-замещенных α,β -дегидропептидов также приводят к значительным изменениям ингибирующей силы соединений. Резюмируя полученные данные, можно заключить, что наиболее слабым ингибитором АХЭ среди аминоэфиров дегидропептидов является соединение **212** (IC_{50%} 390 mM), а самым эффективным ингибитором — соединение **244** (IC_{50%} 0.099 mM). По отношению к БуХЭ сравнительно низкий показатель отмечается у соединения **222** (IC_{50%} 8000 mM), в то время как высокая антибутирилхолинэстеразная активность наблюдается у соединений **243** (IC_{50%} 0.00055 mM) и **247** (IC_{50%} 0.0006 mM). Последние проявляют также сравнительно высокую специфичность (ИС = 400 и 317, соответственно) по отношению к БуХЭ.

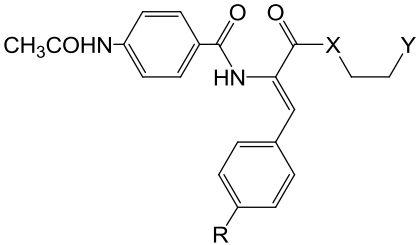
Из данных табл. 20 и 21 видно, что диэтиламиноэтиловые эфиры и амиды дипептидов, содержащие остаток *n*-аминобензойной кислоты (соед. **211, 214, 216-223**), проявляют специфичность по отношению к АХЭ, тогда как аминоалкиловые эфир **212** и амиды **210, 213, 224-254** дипептидов

специфичны по отношению к БуХЭ. С другой стороны, аминокамиды, содержащие остаток α,β -дегидровалина в N-конце дипептида **225-227,230,241,242**, и их четвертичные аммониевые соли **233-236,245,246** по антихолинэстеразным свойствам превосходят аминокамиды N-бензоил- α,β -дегидровалина **110,118,126** и их йодметилаты **176, 184,192**. При сопоставлении данных как аминокамидов, так и их солей N-бензоил-DL-валина **18,29** и **56,67** с аминокамидными производными дипептидов, содержащих в C-конце остаток валина **251,253** и **253,254**, наблюдается обратная картина.

Сопоставлением антихолинэстеразных свойств аминокамидов и их йодметилатов N-бензоил- α,β -дегидровалил- α,β -дегидро-4-бромфениланина **225,226,241** и **233,234,243** с теми же свойствами аналогичных производных N-бензоил- α,β -дегидрофениланил- α,β -дегидро-4-бромфенилаланина (**229, 230,243** и **237,238,247**) было установлено, что последний ряд соединений проявляет сравнительно более высокую ингибирующую активность как по отношению к АХЭ, так и БуХЭ. Следует отметить, что среди ненасыщенных дипептидов 3-(диметиламино)пропиламид N-бензоил- α,β -дегидрофениланил- α,β -дегидро-4-бромфениланина (**243**) и его йодметилат **247** обладают сравнительно высокой специфичностью к БуХЭ.

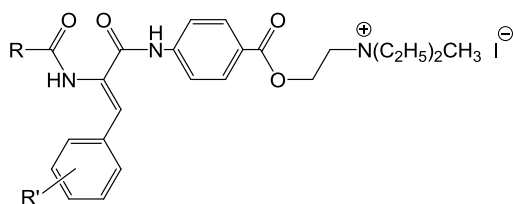
Таблица 20

Антихолинэстеразная активность йодметилатов 2-(диалкиламино)этиловых эфиров N-замещенных α,β -дегидродипептидов, содержащих остатки *n*-аминобензойной кислоты



Соединение	R	X	Y	IC ₅₀ , mM		ИС А/Б	ИСИ _{кв.}	
				АХЭ (А)	БуХЭ (Б)		АХЭ	БуХЭ
210	OCH ₃	N	NMe ₂	0.37	0.22	1.68	–	–
211	OCH ₃	N	NEt ₂	0.13	0.24	0.54	–	–
212	H	O	NMe ₃ I ⁻	390	30	13	–	–
213	OCH ₃	N	NMe ₃ I ⁻	0.65	0.24	2.71	0.57	0.92
214	OCH ₃	N	NEt ₂ Me ₃ I ⁻	0.37	0.55	0.67	0.35	0.44

**Антихолинэстеразная активность йодметилатов 2-(диэтиламино)этиловых
эфиров N-замещенных α,β -дегидродипептидов, содержащих остатки
p-аминобензойной кислоты**



№	R	R'	IC ₅₀ , mM		ИС А/Б
			АХЭ (А)	БуХЭ (Б)	
216	C ₆ H ₅	H	24.5	38	0.64
217	C ₆ H ₅	4-Cl	15.80	84	0.19
218	3-O ₂ NC ₆ H ₄	H	5.80	36	0.16
219	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	H	4.60	44	0.11
220	2-BrC ₆ H ₄	3-O ₂ N	2.60	21.5	0.12
221	3-BrC ₆ H ₄	4-Cl	1.96	85	0.023
222	4-BuOC ₆ H ₄	4-Cl	160	8000*	0.02
223	C ₄ H ₃ O**	4-Br	16.75	45	0.37

Антихолинэстеразная активность 2-(диалкиламино)этиламидов
N-замещенных α,β -дегидропептидов и их йодметилатов RCO-Aa¹-Aa²-NH(CH₂)₂Y

Соединение	R	Aa ¹	Aa ²	Y	IC ₅₀ %, mM		ИС (А/Б)	ИСИ _{кв.}	
					АХЭ (А)	БуХЭ (Б)		АХЭ	БуХЭ
224	C ₆ H ₅	Δ-Val	Δ-Phe	NMe ₂	1.61	0.0077	209	–	–
225	C ₆ H ₅	Δ-Val	4-Br-Δ-Phe	NMe ₂	0.29	0.0048	60	–	–
226	C ₆ H ₅	Δ-Val	4-Br-Δ-Phe	NEt ₂	0.33	0.01	33	–	–
227	C ₆ H ₅	Δ-Val	3-O ₂ N-Δ-Phe	NMe ₂	0.19	0.007	27	–	–
228	C ₆ H ₅	Δ-Val	3-O ₂ N-Δ-Phe	NEt ₂	0.43	0.0056	77	–	–
229	C ₆ H ₅	Δ-Phe	4-Br-Δ-Phe	NMe ₂	0.20	0.00079	253	–	–
230	C ₆ H ₅	Δ-Phe	4-Br-Δ-Phe	NEt ₂	0.13	0.00081	160	–	–
231	C ₆ H ₅	Δ-Phe	3-O ₂ N-Δ-Phe	NMe ₂	0.14	0.011	13	–	–
232	C ₆ H ₅	OMe-Δ-Tyr	3-O ₂ N-Δ-Phe	NMe ₂	0.14	0.017	8	–	–
233	C ₆ H ₅	Δ-Val	4-Br-Δ-Phe	N ⁺ Me ₃ I ⁻	0.34	0.0021	162	0.85	2.29
234	C ₆ H ₅	Δ-Val	4-Br-Δ-Phe	N ⁺ Et ₂ Me I ⁻	0.21	0.0095	22	1.57	1.05
235	C ₆ H ₅	Δ-Val	3-O ₂ N-Δ-Phe	N ⁺ Me ₃ I ⁻	0.37	0.0058	64	0.51	1.21
236	C ₆ H ₅	Δ-Val	3-O ₂ N-Δ-Phe	N ⁺ Et ₂ Me I ⁻	0.37	0.0073	51	1.16	0.77
237	C ₆ H ₅	Δ-Phe	4-Br-Δ-Phe	N ⁺ Me ₃ I ⁻	0.18	0.0019	162	0.59	0.38
238	C ₆ H ₅	Δ-Phe	4-Br-Δ-Phe	N ⁺ Et ₂ Me I ⁻	0.12	0.0011	109	1.08	0.74
239	C ₆ H ₅	Δ-Phe	3-O ₂ N-Δ-Phe	N ⁺ Me ₃ I ⁻	0.22	0.0046	48	0.64	2.39
240	C ₆ H ₅	OMe-Δ-Tyr	3-O ₂ N-Δ-Phe	N ⁺ Me ₃ I ⁻	0.13	0.0059	22	1.08	2.88

Антихолинэстеразная активность 2-(диметиламино)пропиламидов
N-замещенных α,β -дегидродипептидов и их йодметилатов
 $C_6H_5CO-Aa^1-Aa^2-NH(CH_2)_3Y$

Сое- дине- ние	Aa ¹	Aa ²	Y	IC _{50%} , mM		ИС (А/Б)	ИСИкв.	
				АХЭ	БуХЭ		АХЭ	БуХЭ
241	Δ-Val	4-Br-Δ-Phe	NMe ₂	0.42	0.01	42	–	–
242	Δ-Val	3-O ₂ N-Δ-Phe	NMe ₂	0.39	0.0052	75	–	–
243	Δ-Phe	4-Br-Δ-Phe	NMe ₂	0.22	0.00055	400	–	–
244	Δ-Phe	3-O ₂ N-Δ-Phe	NMe ₂	0.099	0.0016	62	–	–
245	Δ-Val	4-Br-Δ-Phe	N ⁺ Me ₃ I ⁻	0.78	0.0067	116	0.54	1.49
246	Δ-Val	3-O ₂ N-Δ-Phe	N ⁺ Me ₃ I ⁻	0.44	0.017	26	0.89	0.31
247	Δ-Phe	4-Br-Δ-Phe	N ⁺ Me ₃ I ⁻	0.19	0.00060	317	1.16	0.92
248	Δ-Phe	3-O ₂ N-Δ-Phe	N ⁺ Me ₃ I ⁻	0.14	0.0037	38	0.71	0.43

**Антихолинэстеразная активность 2-(диметиламино)алкиламидов
N-замещенных α,β -дегидродипептидов и их йодметилатов
 $C_6H_5CO-\Delta\text{-Phe-Val-NH(CH}_2)_nY$**

Соединение	n	Y	IC _{50%} , mM		А/Б	Икв.	
			АХЭ	БуХЭ		АХЭ	БуХЭ
251	2	NMe ₂	9.09	0.05	182	–	–
252	3	NMe ₂	1.39	0.02	70	–	–
253	2	N ⁺ Me ₃ I ⁻	2.0	0.014	143	4.55	3.57
254	3	N ⁺ Me ₃ I ⁻	3.3	0.017	194	0.42	1.18

**Молекулярное моделирование взаимодействия
некоторых производных α,β -дегидроаминокислот
и пептидов с ферментами АХЭ и БуХЭ**

Для более глубокого понимания процесса ингибирования холинэстераз разными авторами осуществлены докинг-исследования некоторых аминокислотных производных α,β -дегидроаминокислот и пептидов как с АХЭ, так и БуХЭ [42,43]. При этом в качестве моделей выбраны те комплексы, в которых конформация лиганда обеспечивает сравнительно низкое значение энергии комплексообразования с ферментом. При докинг-исследованиях, в основном, учитывалось расположение лиганда по отношению к трем важным участкам активного центра ферментов — холинсвязывающему, ацилсвязывающему и каталитической триаде как АХЭ, так и БуХЭ. Полученные результаты приведены в табл. 25 и 26. Согласно полученным данным, исследуемые соединения с третичной или четвертичной аммониевой группой, в основном, приближаются к аминокислотному остатку Trp82 (БуХЭ) или Trp86 (АХЭ) холинсвязывающих участков ферментов. Это расстояние при АХЭ колеблется в пределах 3-4.4 Å, а при БуХЭ — 3.6-4.4 Å. В случае же АХЭ исключение составляют соединения **176** и **233**, аммониевая или третичная аминогруппы которых приближены к аминокислотному остатку Phe295 ацилсвязывающей части фермента. Аналогичное явление наблюдается в случае соединений **110,176** и **178** в случае БуХЭ. В этом случае также третичная или четвертичная аминогруппа ориентирована в сторону ацилсвязывающей части активного центра (Leu 286 и Val 288).

Результаты докинг-исследования некоторых лигандов с АХЭ

Соединение	Катионная часть	Каталитическая часть		Ацильная часть	Другие взаимодействия
	Trp 86	His 447	Ser 203	Phe 295	
110	4.031 Å (NMe ₂)	7.74 Å (CO-1)	3.08 Å (CO-1)	8.23 Å (C ₆ H ₅)	—
112	4.429 Å (NMe ₂)	4.96 Å (CO-2)	6.11 Å (CO-2)	4.28 Å (C ₆ H ₄ Br)	—
176	9.021 Å (NMe ₃)	6.03 Å (CO-1)	6.45 Å (CO-1)	3.265 Å (NCH ₃)	Ser203 и NM ₃ 2.96 Å
178	4.03 Å (NMe ₃)	5.97 Å (CO-1)	4.79 Å (CO-1)	11.09 Å CH ₃ Δ-Val	—
225	3.31 Å (NMe ₂)	2.52 Å (CO-2)	2.75 Å (CO-2)	2.31 Å CH ₃ Δ-Val	Gly121 CO и NH-1 1.48 Å
227	3.07 Å (NMe ₂)	1.92 Å (CO-3)	3.82 Å (CO-3)	2.51 Å (PhCH=C)	—
233	10.94 Å (NMe ₃)	1.89 Å (CO-2)	2.74 Å (CO-2)	2.78 Å (NCH ₃)	Glu202 и NH-2 1.48 Å
235	4.43 Å (NMe ₃)	2.39 Å (CO-1)	4.34 Å (CO-1)	2.37 Å (C ₆ H ₄ NO ₂)	Gly121 и NH-1 1.42 Å

*(CO-1) — карбонильная группа С-конца; (CO-2) — пептидная карбонильная группа; CO-3 — карбонильная группа N-конца.

Результаты докинг-исследований показали, что испытанные соединения в активных центрах обоих ферментов находятся вблизи каталитических триад. В случае АХЭ расстояние между атомом кислорода амидной группы от остатков Ser203 или His447 каталитической триады составляет 1.9-7.7 Å, в то время как в случае БУХЭ удаленность того же атома кислорода от аминокислотных остатков каталитической триады Ser198 или His438 колеблется в пределах 1,8-6,8 Å. Очевидно, что проявление антагонистических свойств синтезированных соединений по отношению к холинэстеразам можно объяснить их близким расположением к каталитической триаде в активных центрах ферментов. Такое расположение антагониста в активном центре фермента может препятствовать приближению субстрата (ацетилхолина) к триаде и, тем самым, препятствовать его гидролизу. Нужно отметить, что блокировка каталитической триады аминокислотами α,β-дегидропептидов происходит как за счет диалкиламиноалкиламидной (CONH-1) или пептидной (CONH-2), так и N-концевой (CONH-3) амидных групп. В некоторых случаях, помимо трех указанных участков, наблюдаются также близкие расположения лиганда к Gly 121, Glu 202 при АХЭ и Gly197, Tyr128, Trp231 при БУХЭ.

Результаты докинг-исследования некоторых лигандов с БүХЭ

Соединение	Катионная часть	Каталитическая часть		Ацильная часть		Другие взаимодействия
		His 438	Ser 198	Leu286	Val288	
110	Trp 82 10.21 (NMe ₂)	3.51 Å (CO-1)	5.55 Å (CO-1)	4.91 Å (NMe ₂)	6.42 Å (NMe ₂)	Gly197 CO и NH2 2.12 Å (CH ₃) 2.74 Å (Ser198) NMe ₂
112	3.79 Å (NMe ₂)	4.67 Å (CO-2)	2.94 Å (CO-2)	5.17 Å (BrC ₆ H ₄)	5.04 Å (BrC ₆ H ₄)	—
176	10.08 (NMe ₃)	2.88 Å (CO-1)	5.01 Å (CO-1)	5.34 Å (NMe ₃)	5.81 Å (NMe ₃)	3.08 Å (Ser198) (NMe ₃)
178	8.80 Å (NMe ₃)	5.69 Å (CO-2)	4.06 Å (CO-2)	5.88 Å (NMe ₃)	7.25 Å (NMe ₃)	Gly197 CO и NH2 1.78 Å 3.08 Å (Ser198) NMe ₃
225	3.72 Å (NMe ₂)	4.76 Å (CO-2)	5.23 Å (CO-2)	4.41 Å (C ₆ H ₅)	2.38 Å (C ₆ H ₅)	—
227	4.38 Å (NMe ₂)	6.78 Å (CO-1)	6.67 Å (CO-1)	6.23 Å (C ₆ H ₅ CH=C)	6.13 Å (C ₆ H ₅ CH=)	3.26 Å His438 - NMe ₂
233	3.61 Å (NMe ₃)	2.67 Å (CO-1)	3.69 Å (CO-1)	3.87 Å (BrC ₆ H ₄)	3.48 Å (BrC ₆ H ₄)	(Tyr128) OH и CO-2 2.18 Å
235	4.12 Å (NMe ₃)	6.05 Å (CO-2)	5.54 Å (CO-2)	2.69 Å (O ₂ NC ₆ H ₄)	6.95 Å (O ₂ NC ₆ H ₄)	(Tyr128) OH и CO-2 1.84 Å
147	4.00 Å (C ₆ H ₅ CH=)	—	3.89 Å (CO-O)	—	—	4.54 Å Trp231 — N ⁺
165	4.20 Å (2-MeOPh)		4.55 Å (CO-O)	—	—	4.30 Å Trp231 — C ₆ H ₅ CH=
199	3.96 Å (2-MeOPh)		5.95 Å (CO-N)	—	—	4.54 Å Trp231 — C ₆ H ₅ CH=

*(CO-1) — карбонильная группа C-конца; (CO-2) — пептидная карбонильная группа.

Полученные данные свидетельствуют также о том, что ацилсвязывающие участки активных центров обоих ферментов не всегда блокированы исследуемыми ингибиторами.

Результаты докинг-анализа на примере систем АХЭ — **216** и БуХЭ — **216** проиллюстрированы на рис. 6 (а, б, в, г). Из приведенных рисунков видно, что пространственное расположение лиганда внутри «ущельев» обоих ферментов в общих чертах похожее. В обоих случаях аминоспиртовый фрагмент лиганда направлен вниз ко дну «ущелья», в направлении каталитической триады. В отличие от комплекса с АХЭ, благодаря более крупным размерам внутреннего пространства «ущелья» БуХЭ — $500 \text{ \AA}^3$ (у АХЭ — $300 \text{ \AA}^3$) [44], молекула лиганда полностью «тонет» в «ущелье» БуХЭ.

Согласно мнению авторов [45], для протекания гидролиза лиганда необходимое расстояние между углеродным атомом сложноэфирной группы лиганда и кислородным атомом спиртовой группировки Ser203(198), принадлежащей каталитической триаде, составляет порядка $2.16 \text{ \AA}$. Однако в обоих фермент-лигандных комплексах это расстояние в 3–4 раза (5.26 и $6.71 \text{ \AA}$, соответственно для АХЭ и БуХЭ) больше, что резко снижает вероятность гидролиза соединения **216** под действием АХЭ и БуХЭ.

Тип обратимого ингибирования ХЭ производных N-замещенных α,β -дегидроаминокислот

Для определения ингибиторных свойств исследованных соединений использовались два типа субстратов — ацетилтиохолин (АТХ) и α -нафтилацетат (α -НА) [43].

В ходе определения типа ингибирования АХЭ и БуХЭ исследуемыми лигандами при использовании в качестве субстрата АТХ показано, что чисто конкурентные соотношения наблюдаются для систем АХЭ-лиганд-АТХ. Для систем же БуХЭ-лиганд-АТХ практически во всех случаях наблюдаются отклонения от конкурентных соотношений.

Изучено поведение системы α -НА — БуХЭ в их присутствии. При этом установлено, что при использовании α -НА, в отличие от АТХ, наблюдается только конкурентный тип ингибирования. Значения констант ингибирования по конкурентному типу, определенные в присутствии двух разных субстратов, в некоторых случаях очень близки (**150**, **159**), а в других случаях значительно отличаются (**133**, **161**, **169**).

Субстратные свойства производных холиновых эфиров и амидов N-замещенных аминокислот по отношению к АХЭ и БуХЭ

В связи с тем, что обсуждаемые соединения являются сложными эфирами и амидами аминокислот, содержащие холиновый остаток, то исходя из их химической структуры и каталитической особенности хо-

линэстераз можно предположить, что они могут быть субстратами АХЭ и БуХЭ. В работе [4] установлено, что холиновые эфиры N-замещенных α -аминокислот действительно подвергаются ферментативному гидролизу под воздействием БуХЭ. При этом установлено влияние гидрофобности и рКа кислотного остатка на реакционную способность при гидролизе под действием БуХЭ.

По данным диссертации [43], инкубация некоторых аминокэфиров и аминокамидов N-замещенных α, β -дегидроаминокислот (всего 34 соединения) с холинэстеразами в течение суток не отразилась на их ингибиторную силу ($IC_{50\%}$) в случае АХЭ, а под воздействием БуХЭ частичному гидролизу подвергаются лишь аминокэфиры **150, 158 и 159**. При этом скорость ферментативного гидролиза этих соединений составляет меньше 0.1% от скорости гидролиза АТХ. Исследованные амиды N-замещенных α, β -дегидроаминокислот под воздействием БуХЭ и тем более АХЭ не подвергались гидролизу. Оценка скоростей спонтанного гидролиза наиболее активных соединений в отсутствие фермента показала, что стабильность синтезированных сложных эфиров в буферных растворах не уступает АТХ. При этом амиды отличаются более высокой стабильностью.

Из вышесказанного очевидно, что диалкиламиноалкиловые эфиры и амиды аминокислот и пептидов, а также их четвертичные аммониевые соли можно отнести к перспективному ряду органических соединений, проявляющих антихолинэстеразные свойства. В связи с этим с целью создания лекарств для лечения деменции Альцгеймера синтез новых аналогов этого ряда и поиск на их основе высокоспецифических антибутирилхолинэстеразных соединений является актуальной задачей.

ԱՅԵՏԽԼԽՈՒԼՆԻ ԱՄԻՆԱԹ-ՎԱՅՆ ԵՎ ՊԵՊՏԻԴԱՅԻՆ ԱԾԱՆՅՅԱԼՆԵՐ: ՄԻՆԹԵԶ ԵՎ ՆԱԿԱԽՈՒԼՆԵՍԹԵՐԱԶԱՅԻՆ ՆԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

Վ. Օ. ԹՈՓՈՒԶՅԱՆ, Լ. Խ. ԳԱԼՍՏՅԱՆ և Վ. Մ. ՂԱԶՈՅԱՆ

Քննարկվում են α -ամինաթթուների և α, β -դեհիդրոամինաթթուների ու պեպտիդների դիալկիլամինոալկիլէսթերների, թիոէսթերների և ամիդների սինթեզի եղանակներն ու հակախոլինէսթերազային հատկությունները: Առանձնահատուկ ուշադրություն է դարձված բուտիրիլխոլինէսթերազի հանդեպ սինթեզված միացությունների ընտրողականությանը: Բերված են կառուցվածք-ակտիվություն կապի բացահայտմանը նպաստող տվյալներ չորրորդայնացման և տեղակալիչների կառուցվածքային փոփոխությունների ինդեքսների վերաբերյալ: Ինչպես α -ամինաթթուների, այդպես էլ α, β -դեհիդրոամինաթթուների չարքերից առանձնացվել են առավել ակտիվ և բուտիրիլխոլինէսթերազի նկատմամբ բարձր ընտրողականությամբ աչքի ընկնող միացությունները: Բերված են նաև մի քանի արգելակիչների ու խոլինէսթերազաների միջև դոկինգ հետազոտության արդյունքներ:

AMINO ACID AND PEPTIDE DERIVATIVES OF ACETILCHOLINE. SYNTHESIS AND ANTICHOLINESTERASE PROPERTIES

V. O. TOPUZYAN¹, L. Kh. GALSTYAN² and V. M. GHAZOYAN¹

¹ The Scientific Technological Centre of Organic and
Pharmaceutical Chemistry NAS RA

A.L.Mnjoyan Institute of Fine Organic Chemistry
26, Azatutyan Ave., Yerevan, 0014, Armenia

²Yerevan State University

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

E-mail: vtop@web.am

The methods of synthesis and anticholinesterase properties of dialkylaminoalkyl esters, thioesters and amides as well as α -amino acids as α,β -dehydroamino acids and peptides have been discussed.

Particular attention has been given to specificity of the synthesized compounds toward butyrylcholin- esterase. Has been given the data of structural change indexes of quaternization and substituents, which facilitated the process of structure-active relationship. Selected the most active and specific toward butyrylcholinesterase compounds from α -amino acid and α,β -dehydroamino acid derivatives was selected. Also here are docking investigation ligand-enzyme complexes for some inhibitors.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Hashimoto M., Rockenstein E., Crews L, Masliah E. // Neuromolecular Med., 2003, v. 4, №1 – 2, p. 21.
- [2] Diamant S., Prodoly E., Friedler A., Ligumsky H., Livnah O., Soreq H. // PNAS, 2006, v.103, №23, p.8628.
- [3] Turner A., Hartman L., Nakayama K., Acey R. // FASEB Journal, 2015, v.29, №1, p.434.
- [4] Топузян В.О. Алебян Г.П., Мнджоян О.Л. // Хим. фарм. ж., 1986, т.20, №7, с.798.
- [5] Мнджоян О.Л., Топузян В.О. // Успехи химии, 1981, т. 50, вып. 12, с. 2198.
- [6] Топузян В.О. Герасимян Д.А., Багдасарян А.Л., Мнджоян О.Л. // Хим.-фарм. ж., 1983, т.17, №2, с.14.
- [7] Топузян В.О. Герасимян Д.А., Эдилян А.Ц., Тер-Захарян Ю.З., Мнджоян О.Л. // Хим.-фарм. ж., 1984, т.18, №5, с.563.
- [8] Топузян В.О., Эдилян А.С., Мнджоян О.Л. // Хим.-фарм. ж., 1990, т.24, №4, с.17.
- [9] Топузян В.О., Хачванкян Г.Ю., Шахбазян Л.В., Герасимян Дж.А. // Хим.-фарм.ж., 1997, т.31, №1, с.25.
- [10] Карапетян И.Р., Топузян В.О., Алебян Г.П. / II Научная конференция Армянского химического общества. Ереван, 4-8 октября 2010г. Материалы конференции с.144.
- [11] Թոփուզյան Վ., Կալեփյան Լ., Կարապետյան Բ. / Բուփրիլիխոլինէսթերազի նկարմամբ բարձր ընտրողականություն ունեցող N-բենզոլիլամինաթթուների խոլինային էսթերներ: Արվոնազիր №2680A 2012թ.
- [12] Топузян В.О., Мартиросян М.С. // ЖОрХ, 1991, т.27, вып.11, с.2418.
- [13] Карапетян И.Р., Татевосян А.А., Топузян В.О. / III Научная конференция Армянского химического общества «Успехи в области органической и фармацевтической химии», 3-6 октября 2012 г., Ереван, с. 101.

- [14] *Թովուզյան Վ., Նախերյան Ղ., Կարապետյան Բ.* / Բուսիրիի խոլինէսթերազի նկարմամբ բարձր ընկրողականություն ունեցող N-բենզոլի DL-վալինի 2-երկմերիվամինատերիվամիդի յոդմերիվապ: Արպոնագիր №2696A 2012թ:
- [15] *Карпетян И.Р.* // Хим. ж. Армении, 2012, т.65, №3, с. 363.
- [16] *Топузян В.О., Алебян З.Г., Карпетян И.Р.* // Хим. ж. Армении, 2016, т.69, №3, с. 274.
- [17] *Карпетян И.Р.* Автореф. дисс. "Синтез и антихолинэстеразные свойства диалкиламиноалкиловых эфиров, тиоэфиров и амидов N-замещенных α-аминокислот" канд. хим. наук, Ереван, НТЦ ОФХ, 2013, с. 20.
- [18] *Топузян В.О., Карпетян И.Р., Алебян Г.П.* // Хим.-фарм.ж., 2014, т.48, №3, с. 23.
- [19] *Топузян В.О., Алебян Г.П., Мнджоян О.Л.* // ЖОрХ, 1983, т.19, вып.19, с. 827.
- [20] *Топузян В.О. Герасимян Д.А., Эдилян А.С., Мнджоян О.Л.* // Хим. – фарм. ж., 1986, т.20, №6, с.675.
- [21] *Топузян В.О., Несунц Н.С., Пароникян Р.Г., Дургарян Л.К., Акопян А.З., Шахбазян Л.В., Эдилян А.С., Герасимян Д.А.* // Хим.-фарм. ж., 1997, т.31(1), с.21.
- [22] *Несунц Н.С.* Автореф. дисс. "Исследования в области синтеза диалкиламино-алкиловых эфиров N-замещенных α,β-дегидроаминокислот" канд. хим. наук, Ереван, ИТОХ, 1993, с. 19.
- [23] *Топузян В.О., Тосунян С.Р., Карпетян И.Р., Амирбекян К.Ю., Маркарян Ш.А.* // Хим. ж. Армении, 2013, т. 66, №3, с. 487.
- [24] *Григорян А.А., Амбарцумян А.А. Мкртчян М.В., Топузян В.О., Алебян Г.П., Асатрян Р.П.* // Хим.-фарм.ж., 2006, т.40, №3, с. 18.
- [25] *Grigoryan H.A., Hambardzumyan A.A., Mkrtchyan M.V., Topuzyan V.O., Halebyan G.P., Asatryan R.S.* // NAS RA Electronic Journal of Natural Sciences, 2006, v.1, №6, p.14.
- [26] *Grigoryan H.A., Hambardzumyan A.A., Mkrtchyan M.V., Topuzyan V.O., Halebyan G.P.* // Chemico-Biological Interactions, 2008, v.171, №1. p.108.
- [27] *Григорян А.А., Амбарцумян А.А., Мкртчян М.В., Топузян В.О., Алебян Г.П.* // Биол. ж. Армении, 2005, т.57, №1-2, с. 3.
- [28] *Топузян В.О., Алебян З.Г., Пароникян Р.В.* // Хим.-фарм.ж., 2015, т.49, №5, с.19.
- [29] *Топузян В.О., Несунц Н.С.* // Успехи химии, 1993, т.62, (1), с.55.
- [30] *Несунц Н.С., Топузян В.О.* // Арм. хим. ж., 1991, т.44, №7-8, с. 454.
- [31] *Несунц Н.С., Топузян В.О.* // Арм. хим. ж., 1992, т.45, №3-4, с. 221.
- [32] *А.с. 1699996 СССР* // Б.И., 1991, №47.
- [33] *Алексян М.С., Карпетян А.А., Стручков Ю.Т., Топузян В.О., Несунц Н.С.* // Арм. хим. ж., 1993, т.46, №1-2, с. 70.
- [34] *Тосунян С.Р.* Автореф. дисс. "Синтез физиологически активных производных α,β-дегидроаминокислот иницированием микроволновым облучением" канд. хим. наук, Ереван, НТЦ ОФХ, 2013, с. 22.
- [35] *Топузян В.О., Тосунян С.Р., Карпетян И.Р., Амирбекян К.Ю., Маркарян Ш.А.* // Хим. ж. Армении, 2013, т.66, №3, с. 487.
- [36] *Топузян В.О., Тосунян С.Р.* // Хим.-фарм.ж., 2017, в печати.
- [37] *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.
- [38] *Оганесян А.А.* Автореф. дисс. "Исследование методов синтеза и свойств производных α,β-дегидропептидов, содержащих остатки аминокислотной кислоты" канд. хим. наук, Ереван, НТЦ ОФХ, 2008, с. 20.
- [39] *Топузян В.О., Казоян В.М.* Неопубликованные данные.
- [40] *Топузян В.О., Алебян З.Г.* // Хим. ж. Армении, 2015, т.68, №1, с.122.
- [41] *Топузян В.О., Алебян З.Г.* // Хим. ж. Армении, 2015, т. 68, №1, с.129.

- [42] *Алебян З.Г.* Автореф. дисс. "Синтез и исследование антихолинэстеразных свойств диалкиламиноалкиламидов α,β -дегидропептидов" канд. хим. наук, Ереван, НТЦ ОФХ, 2015, с. 20.
- [43] *Григорян А.А.* Автореф. дисс. "Исследование новых ингибиторов холинэстераз, сконструированных на основе α,β -дегидроаминокислот" канд. хим. наук, Ереван, НИИ Биотехнологии, 2006, с. 21.
- [44] *Massoulie J., Anselment A., Bon S.* // Chem. Biol. Interact., 1999, v.120, p.29.
- [45] *Masson P., Legrand P., Bartels C.F.* // Biochemistry, 1997, v.36, p.2266.