

СИНТЕЗ НА ХИДРОБРОМИДА НА 2-(ГЛИЦИЛЦИСТИНИЛАМИНО)-2-(4-МЕТОКСИФЕНИЛ)-1,3-ИНДАНДИОН И ИЗУЧАВАНЕ НА ВЛИЯНИЕТО МУ ВЪРХУ НЯКОИ ФУНКЦИИ НА ИЗОЛИРАНИ ЧЕРНОДРОБНИ МИТОХОНДРИИ

Недялко Софрониев

Минно-геоложки университет
"Св. Иван Рилски"
Катедра по химия
София 1700, България

РЕЗЮМЕ

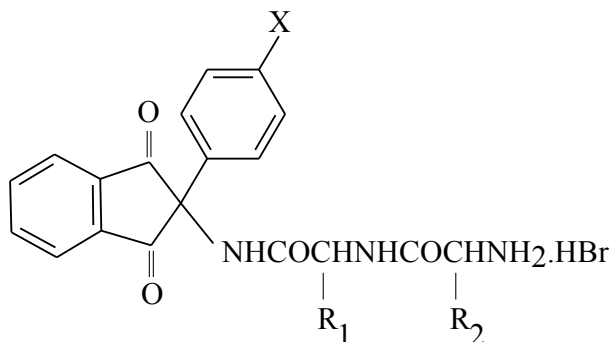
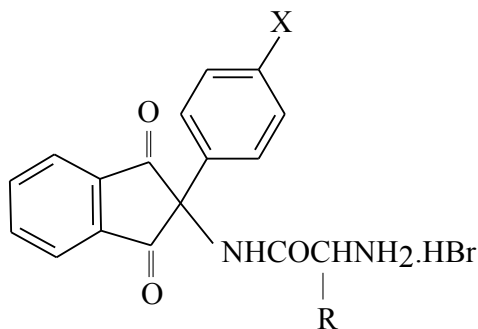
При аминолизата на активирания естер 3-0-(N-бензилоксикарбонилцистинил)-хидрокси-2-фенилинденон ($Z\text{-}\dot{C}\text{ys-OA}$)₂ с 2-амино-2-(4-метоксифенил)-1,3-индандион ($H_2N\text{-AID}$) се получава 2-(N-бензилоксикарбонилцистиниламино)-2-(4-метоксифенил)-1,3-индандион ($Z\text{-}\dot{C}\text{ys-NH-AID}$)₂ (съединение **1**). По аналогичен път при взаимодействието на активирания естер 3-0-(N-бензилоксикарбонилглицил)-хидрокси-2-фенилинденон ($Z\text{-Gly-OA}$) с ($H\text{-}\dot{C}\text{ys-NH-AID}$)₂ се стига до синтезата на амида на дипептида 2-(N-бензилоксикарбонил-глицилцистиниламино)-2-(4-метоксифенил)-1,3-индандиона ($Z\text{-Gly-}\dot{C}\text{ys-NH-AID}$)₂ (съединение **3**). Установено е, че хидробромидът на 2-глицилцистиниламино-2-(4-метоксифенил)-1,3-индандиона ($HBr\text{-H-Gly-}\dot{C}\text{ys-NH-AID}$)₂ (съединение **4**) оказва стимулиращ ефект върху функциите на респираторната верига на чернодробни митохондрии, изолирани от плъх.

Ключови думи: 2-фенил-1,3-индандион и неговата изомерна форма 3-хидрокси-2-фенилинденон, активирани естери, аминολиза, 2-амино-2-(4-метоксифенил)-1,3-индандион, аденозинтрифосфатазна активност.

ВЪВЕДЕНИЕ

Съединенията от индановия ред проявяват разнообразно физиологично действие. По-подробно са изучени производните на 1,3-индандионите (Ванаг, 1960). Много от тях намират приложение в практиката като антикоагуланти на кръвта (Озол, Германе и др., 1969) или като съединения с подчертано действие върху централната нервна система (Беленкий, Германе и др., 1960; Германе, Каменов и др., 1978; Kabat, Stohlman et al., 1944). По своите отнасяния спрямо кръвта 2-арил-1,3-индандионите се явяват антагонисти на витамините от група К (Quick, Gollentine, 1951; Miloshev, Aleksiev, et al., 1972). Други от производните на

индандионите понижават аденозинтрифосфатазната (АТФ-азната) активност на миозина (Богданов, 1970), нарушават биоенергетичните функции на митохондриите (Martins, 1966; Perlick, 1964). Широкият спектър от физиологични отнасяния на 1,3-индандионите, както и свойството на вътрешната митохондриална мембрана да не пропуска много от метаболитите, включително и повечето аминокиселини, определиха и целта на настоящата работа – да се провери дали amidите на природни аминокиселини и пептиди с 2-амино-2-(4-метоксифенил)-1,3-индандиона ще проявят въздействие върху митохондриалните функции.

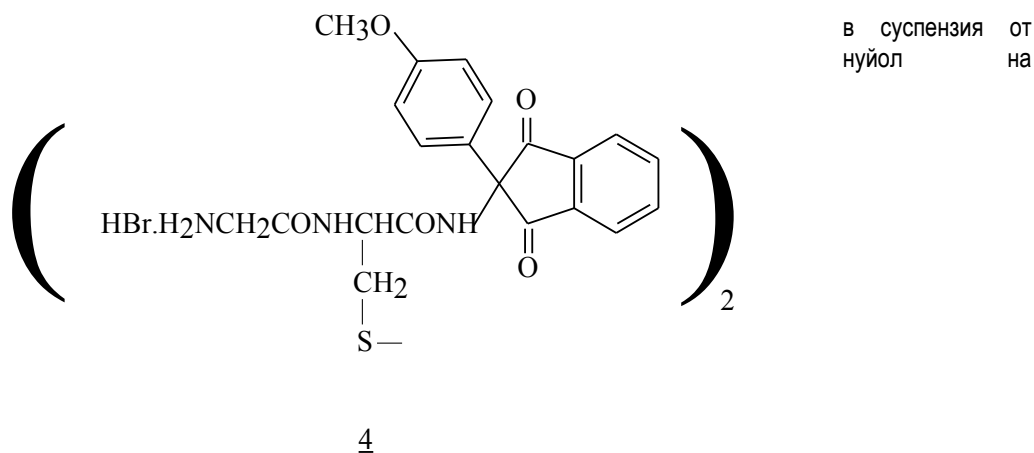


X = H, OCH₃

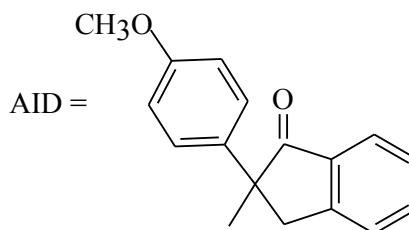
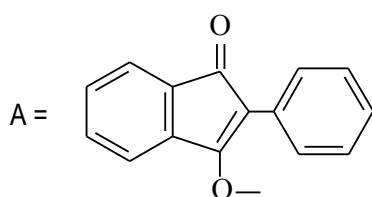
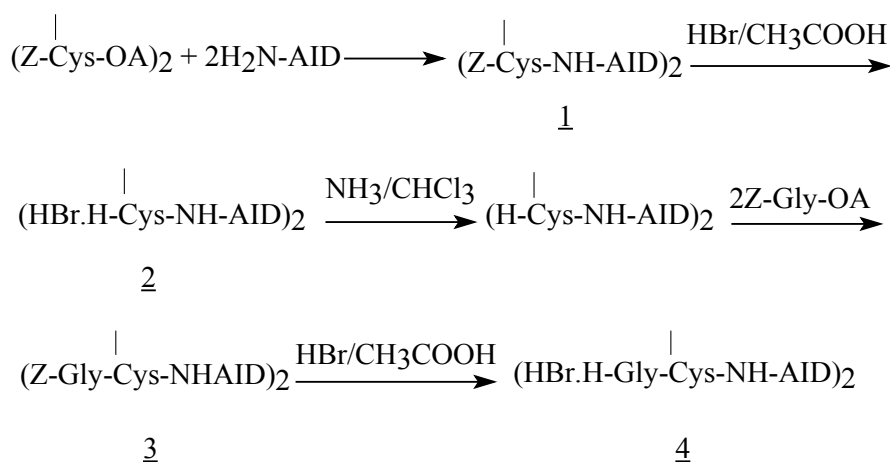
От изследваните хидробромиди на амидите на природни аминокиселини и дипептиди с 2-амино-2-арил-1,3-индандиони с общи формули I и II, подчертано действие върху митохондриалните функции показва хидробромидът на 2-(глицилцистиниламино)-2-(4-метоксифенил)-1,3-индандион **4**.

Съединение **4** се получава с добър добив и висока степен на чистота по схемата, описана по-долу.

Използваните съкращения, които не са описани в статията са по IUPAC – IUB (IUPAC – IUB Commission on Biochemical Nomenclature, 1967).



спектрофотометър ИКС-22. Специфичните ъгли на



Съединения **1**, **3** и **4** са кристални вещества, а хидробромидът **2** е аморфно вещество. Всички данни за новополучените съединения са отразени в раздела “Резултати и обсъждане”.

въртене $[\alpha]_D$ са определяни на CarlZeiss Polarimeter. Чистотата на получените съединения е контролирана тънкослойно хроматографски на плочи Silufol в системи: В, етилацетат – петролев етер (1:1); С, пиридин – н-бутанол – оцетна киселина – вода (10:15:3:12); D, бензол – метанол – оцетна киселина (15:2:3); Е, н-бутанол – метанол – вода (4:1:1).

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Температурите на топене са определяни в открита капилара без корекция. Инфрчервените спектри са снети

Изходните съединения синтезирахме по познати методи: 2-амино-2(4-метоксифенил)-1,3-индандион (H₂N-AID) по

Арен и Ванг (1963), 3-0-(N-бензил-оксикарбонилглицил)-хидрокси-2-фенилинденон (Z-Gly-OA) и 3-0-(N-бензилоксикарбонилцистинил)-хидрокси-2-фенилинденон (Z-Ĉys-OA)₂ по Minchev, Derdowska et al. (1980). Интактни чернодробни митохондрии бяха отделени по метода на Johnson, Lardi (1967) с незначителни модификации. Дишането на митохондриите беше регистрирано с помощта на Universal polarograph OH-105, снабден със закрит платинов електрод в комбинация с хлор-сребърен електрод за сравнение (Шольц, Островский, 1975). За степента на АТФ-азната активност се съди по нарастването на количеството неорганичен фосфат (Lowry, Lopes, 1946).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

1. Получаване на 2-(N-бензилоксикарбонил-цистиниламино)-2-(4-метоксифенил)-1,3-индандион (Z-Ĉys-NH-AID)₂ 1.

Към 0,006 M (1,6 г) H₂N-AID разтворен в 25 мл сух етилацетат се прибавя 0,003 M (2,75 г) активиран естер (Z-Ĉys-OA)₂ разтворен в 30 мл сух етилацетат. Така полученият разтвор се оставя 24 часа при стайна температура. Отделеният в хода на аминолизата 2-фенил-1,3-индандион се отстранява чрез неколкратно промиване на етилацетатния слой с 10 % разтвор на натриев бикарбонат, 2н солна киселина, вода и органичната фаза се суши над безводен натриев сулфат. Етилацетатът се изпарява до сухо при понижено налягане. Маслообразният остатък, след прекристализиране из хлороформ – петролев етер, се получава като бледозелено оцветена кристална маса с т. т. 141-142 °C. Добив 2.31 г (76.5 %); $[\alpha]_D^{21} = +88.9^\circ$ (с=1, етилацетат); C₅₄H₄₆N₄O₁₂S₂ (1007.1); изчислен N 5.56; намерен N 5.56; изчислена S 6.37; намерена S 6.11; R_{FB} = 0,43; R_{FE} = 0.90; IR: ν_(C=O) от индандиона 1750, 1720; ν_(C=O) амид I 1650; δ_(N-H) + ν_(C-N) 1510; ν_(N-H) 3300-3100; ν_(C-O-C) 1250, 1060/cm.

2. Получаване на хидробромида на 2-цистинил-амино-2-(4-метоксифенил)-1,3-индандион (HBr.H-Ĉys-NH-AID)₂ 2.

Към 0,002 M (2,01 г) (Z-Ĉys-NH-AID)₂ се прибавят 2 г бромоводород наситен в ледена оцетна киселина и реакционната колба се защитава от влагата на въздуха с хлоркалциева тръбичка. След престояване за 30-40 мин, се отстранява под вакуум при 40°C излишъкът от бромоводород и ледена оцетна киселина. Към получения маслообразен остатък се прибавя 50 мл сух етилов етер, оставя се няколко часа при 0°C и отделеният аморфен хидробромид се филтрува. Така полученият хидробромид се пречиства чрез преутаяване из абсолютен метанол – етилов етер. Добив 1,1 г (61,1%); R_{FC} = 0.67; R_{FE} = 0.51.

Дехидробромирането на съединение **2** осъществихме като прибавихме към 0,001 M (0,9 г) от (HBr.H-Ĉys-NH-AID)₂ хлороформ, наситен с газообразен амоняк в продължение на 1 час при 5 °C. След отстраняване на амониевия бромид, филтратът се изпарява под вакуум, като полученият маслообразен продукт (H-Ĉys-NH-AID)₂ се използва веднага за синтеза на дипептида **3**.

3. Получаване на 2-(N-бензилоксикарбонил-глицилцистиниламино)-2-(4-метоксифенил)-1,3-индандион (Z-Gly-Ĉys-NH-AID)₂ 3.

Към разтвора на 0,001 M (H-Ĉys-NH-AID)₂, (получен от дехидробромирането на 0,0001 M (0,9 г) (HBr.H-Ĉys-NH-AID)₂ с хлороформ наситен с амоняк) в 15 мл сух етилацетат, се прибавя 0,002 M (0,83 г) активиран естер Z-Gly-OA, също разтворен в 15 мл сух етилацетат. Разтворът престоява 24 часа при стайна температура. Етилацетатният слой се промива неколкратно с 10 % разтвор на натриев бикарбонат, 2н солна киселина и вода, обработва се с активен въглен, суши се над безводен натриев сулфат и се изпарява до сухо под вакуум. Полученият маслообразен остатък, след прекристализация из етилацетат – петролев етер, се получава под формата на бледозелени фини иглици. Добив 0.7 г (62.4 %); т. т. 150-151 °C; $[\alpha]_D^{18} = -57.9^\circ$ (с=1, диметилформамид); C₅₈H₅₂N₆O₁₄S₂ (1121.2); изчислен N 7.49; намерен N 7.44; изчислена S 5.72; намерена S 5.83, R_{FC} = 0.80; R_{FD} = 0.30; IR: ν_(C=O) от индандиона 1720, 1710; ν_(C=O) амид I 1650; δ_(N-H) + ν_(C-H) 1510; ν_(N-H) 3300-3000; ν_(C-O-C) 1250, 1040 / см.

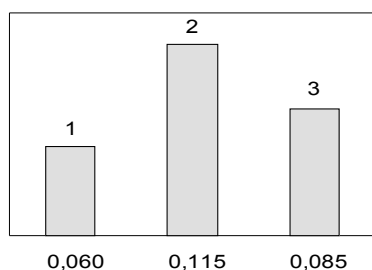
4. Получаване на хидробромида на 2-глицилцистиниламино-2-(4-метоксифенил)-1,3-индандион (HBr.H-Gly-Ĉys-NH-AID)₂ 4

0,0005 M (0,56 г) (Z-Gly-Ĉys-NH-AID)₂ **3** се обработва с 0,5 г бромоводород, разтворен в ледена оцетна киселина. След 30-40 минутно престояване при стайна температура се отдестилирва ледената оцетна киселина под вакуум при 40 °C. Към получения маслообразен остатък се прибавя 30 мл сух етилов етер. Държи се няколко часа при 0 °C и отделеният аморфен хидробромид се кристализира из метанол-диетилов етер и се получава продукт с т. т. 207-209 °C и добив 0,45 г (89,4 %). g); $[\alpha]_D^{20} = -13.4^\circ$ (с=1, метанол); C₄₂H₄₂N₆O₁₀S₂Br₂ (1014.8); изчислен N 8.28; намерен N 8.34; изчислена S 6.32; намерена S 6.36; изчислен Br 15.75; намерен Br 15.93; R_{FC} = 0.70; R_{FE} = 0.40.

5. Определяне на АТФ-азната активност на изолирани от плъх чернодробни митохондрии

Предположението, че изследваното съединение може да има динитрофенол /ДНФ/-подобно действие беше проверено чрез определяне на латентната митохондриална АТФ-аза. Съединение **4** приложено в двойно по-големи концентрации от 2,4-динитрофенола стимулира хидролизата на аденозинтрифосфата /АТФ/ - фиг.1.

Като се имат предвид аналогични опити с други индандионові модификанти, при които физиологичен ефект не бе регистриран, може да се предположи, че активността на съединение **4** са дължи на молекулата му като цяло. В този смисъл съединение **4**, както и други подобни на него, представляват определен интерес за по-детайлно изследване на митохондриалните процеси.



Фигура 1. АТФ-азна активност на изолирани от плъх чернодробни митохондрии: 1. Контрола; 2. В присъствие на ДНФ (80 мкг); 3. В присъствие на съединение 4 (160 мкг). Реакционна среда: 0,2 М захароза; 0,02 М трис-НСI (рН 7,5) 50 мМ КСI; 2 мМ АТФ; митохондрии – 3,72 мг белтък; краен обем 4 мл; температура стайна. Цифрите означават скоростите на АТФ-азната активност в мкМ неорганичен фосфат за 10 мин.

ЛИТЕРАТУРА

- Арен, А., Ванаг, Г. 1959, 1963. Уч. Зап. РПИ, 2, 23; по С. А. 58, 3365.
Беленкий, М., Германе, С., Арен, А., Ванаг, Г. 1960. ДАН СССР, 134, 217.

- Богданов, Н. Г. 1970. Автореф. дис. докт., Рязань, с. 52.
Ванаг, Г. 1960. Изв. АН Латв. ССР, с. х. (7), 583.
Германе, С., Каменов, И., Гилев, А. 1978. "Метиндион", "Зинатне", Рига.
Озол, Я., Германе, С., Арен, А., Ванаг, Г. 1969. Изв. АН Латв. ССР, с. х., (5), 583.
Шольц, К., Островский, Д. 1975. "Методы современной биохимии", М., Наука, р.52.
IUPAC-IUB Commission of Biochemical Nomenclature. 1967. Z. Physiol. Chem., 348, 245.
Johnson, D., Lardi, K. 1967. "Meth. Enzymol", N. Y., London, 94, 10.
Kabat, M., Stohman, L. F., Smith, M. I. 1944. J. Pharmacol. Exp. Ther., 80, 160.
Lowry, O. H., Lopes, G. A. 1946. J. Biol. Chem., 162, 421.
Martins, S., 1966. Nutr. of Dieta (Basel), 8, 64.
Miloshev, M., Aleksiev, B., Nikolova, M., Angelova, O. 1972. Pharmazie, 27, 520.
Minchev, S., Derdowska, I., Kupryszewski, G. 1980. Pol. J. Chem., 54, 443.
Perlick, E. 1964. "Anticoagulantien", Leipzig, Thieme.
Quick, A. J., Gollentine, G. E. 1951. Amer. J. Physiol., 164, 716.

Препоръчана за публикуване от
катедра "Химия" на МТФ