

ПОЛУЧАВАНЕ НА ЕСТЕРИ НА ФТАЛИЛАМИНОКИСЕЛИНИ С 2- β -ХИДРОКСИЕТИЛ-2-АРИЛ-1Н-ИНДЕН-1,3(2Н)-ДИОНИ

Недялко Софрониев

Минно-геоложки университет "Св. Иван Рилски", 1700 София

РЕЗЮМЕ. Синтезирани са естери на N- защитени аминокиселини (фталиламинокиселини) с 2- β -хидроксиетил-2-арил-1Н-инден-1,3 (2Н)-диони. При деблокирането на фталилната група са получени водоразтворими естери, които притежават антикоагулантно действие върху кръвта.

Ключови думи: 2- β -хидроксиетил-2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-дион, 2- β -хидроксиетил-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3 (2Н)-дион, фталиламинокиселини, киселинни хлориди на фталиламинокиселини, естери на фталиламинокиселини с 2- β -хидроксиетил-2-арил-1Н-инден-1,3 (2Н)-диони, хидрохлориди на естери на аминокиселини с 2- β -хидроксиетил-2-арил-1Н-инден-1,3 (2Н)-диони.

SYNTHESIS OF ESTERS OF PHTHALYL DERIVATIVES OF α -AMINO ACIDS WITH 2- β -HYDROXYETHYL-2-ARYL-1H-INDENE-1,3 (2H)-DIONES

Nedyalko Sofroniev

University of Mining and Geology "St. Ivan Rilski", 1700 Sofia

ABSTRACT. Esters of N-protected amino acids (phthalyl derivatives of amino acids) with 2- β -hydroxyethyl-2-aryl-1H-indene-1,3 (2H)-diones are obtained. By deblocking of phthalyl group watersoluble esters are obtained. They possess an anticoagulating activity on the blood.

Key words: 2- β -hydroxyethyl-2-phenyl-1H-indene-1,3 (2H)-dione, 2- β -hydroxyethyl-2-(4-methoxyphenyl)-1H-indene-1,3 (2H)-dione, phthalylamino acids, acid chlorides of phthalylamino acids, esters of phthalylamino acids with 2- β -hydroxyethyl-2-aryl-1H-indene-1,3 (2H)-diones, hydrochlorides of esters of amino acids with 2- β -hydroxyethyl-2-aryl-1H-indene-1,3 (2H)-diones.

Въведение

2- β -хидроксиетил-2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионът ("омефин") намира приложение в клиничната практика като антикоагулант на кръвта (Ванаг, 1960; Машковский, 1984). 2- β -Хидроксиетил-2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионите са изходни съединения за получаването на халогенопроизводни, при взаимодействието на които с вторични амини се получават аминокиселини на "омефина" (Дрегерис и Ванаг, 1962; б. Дрегерис и др., 1965). Опитите да се замени халогенният атом с първична аминогрупа са неуспешни (Ванаг и Дрегерис, 1964; б. Дрегерис и др., 1965). От 2- β -хидроксиетил-2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионите са синтезирани и естери – хлорацетати на 2- β -хидроксиетил-2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионите, от които при взаимодействие с вторични амини са получени разнообразни аминокиселини (а. Дрегерис и др., 1965; б. Дрегерис и др., 1965; Дрегерис и др., 1966). Аминокиселините на 2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионите наред с антикоагулантното действие върху кръвта (Sofroniev and Minchev, 2002) имат и подчертано действие върху централната нервна система. В зависимост от строежа си те проявяват аналгезиращо действие (Беленкий и др., 1960; Германе, 1960; Германе, 1961), антиконвулсивно (Беленкий и др., 1960) или наркотично действие (Беленкий и др., 1960; Арен и др., 1968; Германе,

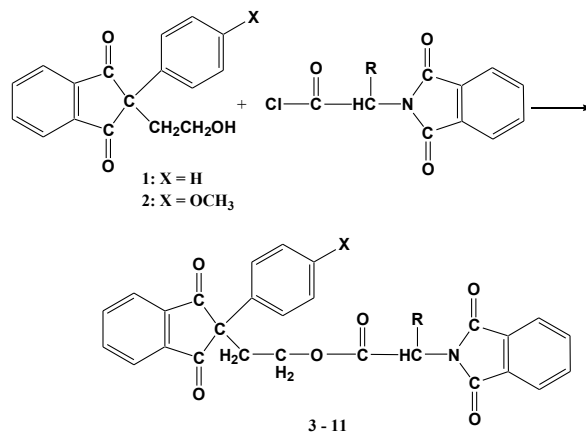
1971). Отдалечаването на аминогрупата на второ място в молекулата на 1Н-инден-1,3(2Н)-дионите посредством въглеродородна верига води до поява на транквилизираща активност (Арен и др., 1968; Германе, 1971). Голям брой от тези аминокиселини са синтезирани на базата на 2- β -хидроксиалкил-2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-диони. Описани са различни производни на 2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионите с аминокиселини. Във всички случаи аминокиселините са свързани с амидна връзка – от С-края с 2-амино-2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-диони (Aleksiev et al, 1979; Minchev et al, 1981; Minchev and Sofroniev, 1982; Minchev and Sofroniev, 1986) и от N-края с 2-арил-2,3-дихидро-1,3-диоксо-1Н-инден-2-оцетни киселини (Minchev et al, 1982; Minchev and Sofroniev, 1983; Sofroniev and Minchev, 1988; Софрониев и Минчев, 2005).

Естерно свързване на аминокиселини с производни на 2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-диони не е описано в литературата. Ето защо ние си поставихме за цел да изучим условията на естерифициране на 2- β -хидроксиетил-2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-дион и 2- β -хидроксиетил-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион с N-защитени аминокиселини, които би трябвало да имат разнообразно физиологично действие – антикоагулантно действие върху кръвта и действие върху централната нервна система.

Обсъждане

От многобройните защитни групи за N-края на аминокиселините, избрахме N-фталилната група, която при въвеждането в молекулата на съответната аминокиселина води до получаването на лесно кристализиращи вещества – N-фталиламинокиселини. Освен това деблокирането на фталилната група протича гладко и без затруднения. Изходните фталилни производни на аминокиселините глицин, L- и D, L-фенилаланин и D, L-левцин синтезирахме по Sheehan et al (1952). Получаването на естерите на N-фталиламинокиселините с 2-β-хидроксиетил-2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионон (1) и 2-β-хидроксиетил-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дионон (2) осъществихме по метода на киселинните хлориди (Гринштейн и Виниц, 1965). Избрахме този метод на пептиден синтез, защото в литературата има описани естери (хлорацетати на 2-β-хидроксиетил-2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-дион) получени при кондензацията на 2-β-хидроксиетил-2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионите с киселинния хлорид на монохлорацетната киселина (а. Дрегерис, 1965; б. Дрегерис, 1965; Дрегерис, 1966). Карбоксилните групи на фталиламинокиселините превърнахме в киселинни хлориди по Sheehan and Frank (1949). Кондензацията на киселинните хлориди със съединенията 1 или 2 осъществихме при кипене в среда от диоксан. Естерите на фталиламинокиселините с 2-β-хидроксиетил-2-фенил- и с 2-β-хидроксиетил-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дионон (3 – 11) са безцветни лесно кристализиращи съединения, с изключение на съединението 5, което е маслообразен продукт. След осъществяване на тотална киселинна хидролиза при третиране на хроматограмата с нинхидрин, доказахме наличието на съответната аминокиселина. В инфрачервените спектри на съединенията 3 – 11 има четири ивици на поглъщане в областта 1780 – 1680 cm^{-1} . Ивиците при 1770 cm^{-1} и 1695 cm^{-1} се дължат на двете фталилни карбонилни групи, а тези при 1740 и 1710 cm^{-1} на β-дикарбонилната система от 1Н-инден-1,3(2Н)-дионовия пръстен. Интензивността на високочестотната ивица на β-дикарбонилната групировка при 1740 cm^{-1} (около 80%) спрямо по-нискочестотната при 1710 cm^{-1} (около 85%), може да се обясни с факта, че в тази област (1740 cm^{-1}) става наслагане и на естерната

карбонилна група. Съотношението между по-нискочестотната и по-високочестотната ивица на поглъщане за карбонилните групи на 2,2-дизаместените 1Н-инден-1,3(2Н)-дионон е 85% към 70% (както е при 2-β-хидроксиетил-2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионон (1) и 2-β-хидроксиетил-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дионон (2)). В инфрачервените спектри на съединенията 3 – 11 липсва ивица на поглъщане за свободна хидроксилна група при 3500 – 3300 cm^{-1} , а в областта 900 – 700 cm^{-1} са налице характерните ивици на поглъщане за о-дизаместено и монозаместено ароматно ядро.



Деблокирането на фталилната група се извършва гладко чрез хидразинолиза с хидразин хидрат (Гринштейн и Виниц, 1965), при което не се засяга естерната група на съединенията 3 – 7, а свободната аминогрупа на аминокиселинния остатък веднага се превръща в съответния хидрохлорид 12 – 16. Хидрохлоридите на естерите на аминокиселините 12 – 16 се получават като безцветни кристални вещества, които бяха охарактеризирани чрез елементарен анализ и тотална киселинна хидролиза. В инфрачервените спектри на тези съединения се наблюдават три ивици на поглъщане за карбонилните групи в областта 1740 – 1700 cm^{-1} , като две от тях се дължат на наличието на β-дикарбонилната групировка при 1740 и 1700 cm^{-1} , а третата при 1760 cm^{-1} е за естерната карбонилна група. Налице е и широка ивица на поглъщане около 3030 cm^{-1} , дължаща се на наличието на амониева група.

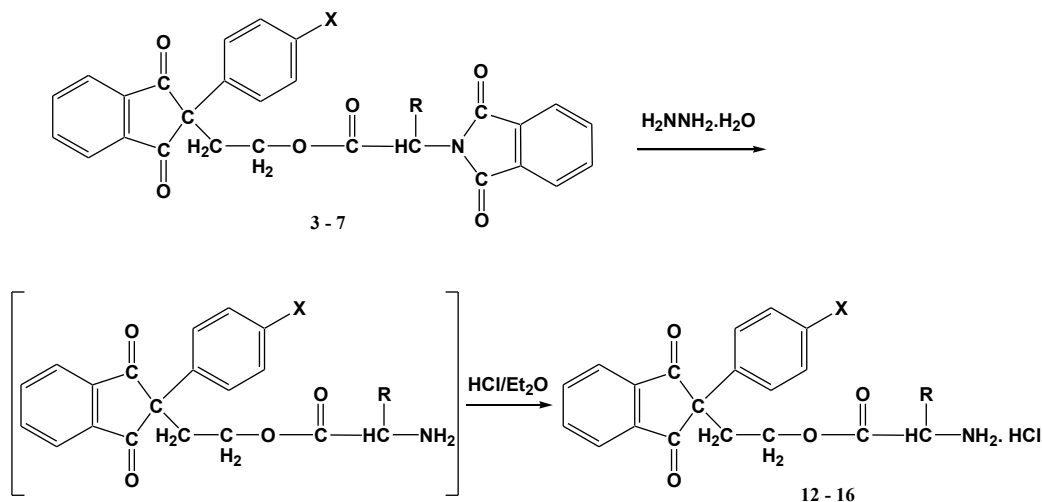


Таблица 1

№	X	R	Т.т., °C	Добив %	Анализ N,%		R _f		[α] _D ^b
					изч.	нам.			
3	H	H	141 - 143	55	3,08	3,30	0,23 ^A	0,71 ^B	-
4	H	L-CH ₃	115 - 116	29	2,99	3,20	0,31 ^A	0,73 ^B	[α] _D ¹⁸ = -16,3 (c=1, EtOAc)
5	H	L-C ₆ H ₅ CH ₂	масло	43	2,57	2,80	0,27 ^A	0,83 ^B	[α] _D ¹⁹ = -19,0 (c=1, EtOAc)
6	OCH ₃	H	103 - 105	62	2,88	3,10	0,19 ^A	0,77 ^B	-
7	OCH ₃	L-C ₆ H ₅ CH ₂	130 - 133	22	2,44	2,53	0,24 ^A	0,83 ^B	[α] _D ¹⁹ = -14,6 (c=1, EtOAc)
8	H	D,L-CH ₃	172 – 174	25	2,99	3,21	0,26 ^A	0,77 ^B	-
9	H	D,L-C ₆ H ₅ CH ₂	130 - 134	46	2,57	2,69	0,22 ^A	0,83 ^B	-
10	H	D,L- (CH ₃) ₂ CHCH ₂	150 - 152	17	2,74	2,60	0,21 ^A	0,74 ^B	-
11	OCH ₃	D,L-CH ₃	123 - 125	50	2,81	2,91	0,19 ^A	0,83 ^B	-

Таблица 2

№	X	R	Т.т., °C	Добив %	Анализ N,%		R _f		[α] _D ^b
					изч.	нам.			
12	H	H	223 - 224	71	3,89	3,97	0,34 ^B	0,77 ^B	-
13	H	L-CH ₃	236 - 237	66	3,75	3,61	0,37 ^B	0,83 ^B	[α] _D ²⁰ = -16,6 (c=1, EtOAc)
14	H	L-C ₆ H ₅ CH ₂	208 - 209	54	3,11	3,30	0,29 ^B	0,74 ^B	[α] _D ¹⁹ = -11,6 (c=1, EtOAc)
15	OCH ₃	H	251 - 252	77	3,59	3,73	0,24 ^B	0,71 ^B	-
16	OCH ₃	L-C ₆ H ₅ CH ₂	230 - 231	81	2,92	3,19	0,27 ^B	0,80 ^B	[α] _D ¹⁹ = -17,3 (c=1, EtOAc)

Новосинтезираните естери на фталиламинокиселините **3 - 11** и хидрохлоридите на деблокираните аминокиселини **12 - 16** са потенциални антикоагуланти на кръвта. За антикоагулантна активност бяха изследвани две от новополучените съединения – естерът на фталилглицина с 2-β-хидроксиетил-2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-диона (**3**) и неговият деблокиран продукт – естерът на хидрохлорида на глицина с 2-β-хидроксиетил-2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-диона (**12**). И двете съединения **3** и **12** притежават антикоагулантно действие върху кръвта. При ентерално прилагане на **3** и **12** върху бели мишки в продължение на 24 часа е установено, че острата токсичност за съединение **3** LD₅₀ е 810 мг/кг, а за съединение **12** LD₅₀ е 830 мг/кг. Беше определено времето на съсирване (Чиров, 1959) и протромбиновото време (Quick, 1945) след тридневно ентерално въвеждане на съединения **3** и **12** в дози трикратно по-ниски от леталната доза LD₅₀. Опитните животни показват утроено време на съсирване за съединение **12** и удвоено за съединение **3**, и намаляване на тромбиновия индекс три пъти за съединение **12** и два пъти за съединение **3** в сравнение с контролните животни. От направените изследвания се вижда, че съединението **12** има по-силно и по-ясно изразено антокоагулантно действие върху кръвта, в сравнение с **3**. Освен това беше изследвана и антикоагулантната активност на изходното съединение 2-β-хидроксиетил-2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-дион (“омефин”), като база за сравнение на антикоагулантното действие върху кръвта на изследваните за антикоагулантна активност съединения **3** и **12**. Оказа се, че антикоагулантната активност на **12** е съизмерима с тази на клиничния препарат “омефин”. Естерът на хидрохлорида на глицина с 2-β-хидроксиетил-2-фенил-1Н-

инден-1,3(2Н)-диона (**12**) е добре разтворим във водна среда (средата в живите организми), докато “омефина” има малка разтворимост във вода и се прилага ентерално под формата на водна суспензия. Разтворимостта на съединение **12** във вода е предимство, защото е предпоставка за по-дългото му задържане в организма (депоефект). Разтворимостта на съединение **12** позволява то да се прилага в значително по-малки количества и да се задържа в опитните животни по-дълго време в сравнение с клиничния препарат “омефин”, като предизвиква съизмеримо антикоагулантното действие върху кръвта с това на “омефина”. Попадайки в живия организъм двете съединения **3** и **12** под действието на естеразни ензими, е твърде възможно да се хидролизират до “омефин” и така да проявяват характерното за него антикоагулантно действие.

Материали и методи

Температурите на топене са определяни в открита капиляра без корекция. Инфрачервените спектри са снети в нуйол на спектрометър Carl Zeiss Specord 75 IR. Специфичните ъгли на въртене [α]_D са определяни с Carl Zeiss Polarimeter. Органичните разтворители са изпарявани при остатъчно налягане 14 mm Hg стълб. Новосинтезираните съединения охарактеризирахме чрез елементен анализ, а чистотата на получените вещества контролирахме тънкослойно хроматографски на DC – Alufolien Plates, Kieselgel 60 F₂₅₄, 0.2 mm в следните хроматографски системи: А, етилацетат – петролев етер

(1:1); Б, н-бутанол – метанол – вода (4:1:1); В, пиридин - н-бутанол – оцетна киселина – вода (10:15:3:12).

Изходните съединения получихме по методи описани в литературата.

2-β-Хидроксиетил-2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионът (1) синтезирахме по а. Дрегерис и др. (1965), а 2-β-хидроксиетил-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дионът (2) по Дрегерис и др. (1966), фталиламинокиселините получихме по Sheehan et al (1952), а киселините хлориди на фталиламинокиселините по Sheehan and Frank (1949).

Резултати

1. Получаване на естери на 2-β-хидроксиетил-2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-диони с N-фталиламинокиселини 3 – 11.

0.005 мола (1.33 g) 2-β-хидроксиетил-2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-дион (1) или 0.005 мола (1.48 g) 2-β-хидроксиетил-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион (2) се разтварят при загряване в 10 мл диоксан. Прибавят се 0.005 мола от киселинния хлорид на съответната фталиламинокиселина. Полученият хомогенен разтвор се нагрява на обратен хладник в продължение на 4 часа. Реакционната смес се охлажда до стайна температура и се прибавят 50 мл етилацетат. Полученият разтвор се обработва с 5% разтвор на натриев бикарбонат и с вода, суши се над безводен натриев сулфат и се обработва с активен въглен. След отдестилирването на етилацетата, остатъкът се кристализира из етилацетат – петролев етер, при което се получават безцветни кристални съединения, а естерът 5 е маслообразно вещество. Данните за новосинтезираните вещества 3 – 11 са отразени в таблица 1.

2. Получаване на хидрохлориди на естери на 2-β-хидроксиетил-2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-диони с аминокиселини 12 – 16.

0.002 мола от естерите 3 – 7 се суспендират в 20 мл хидразин хидрат при стайна температура. Постепенно изходното съединение се разтваря, а след няколко часа започват да се отделят бели кристали, които изпълват целия обем на колбата. Реакционната смес се оставя за едно денонощие при стайна температура, филтрува се утайката от фталилхидразид, филтратът се подкислява с оцетна киселина, а след това се неутрализира до неутрално рН с натриев бикарбонат. Към сместа се прибавят 20 мл етилацетат и етилацетатният слой се измива многократно с вода, суши се над безводен натриев сулфат и се изпарява до сухо. Получава се маслообразен продукт, който веднага се разтваря в 10 мл сух метанол и към разтвора се прибавят 10 мл наситен разтвор на хлороводород в диетилов етер. Реакционната смес се оставя

за 24 часа при 0 °С, след което разтворителят се отдестилира до сухо. Веднага се прибавя сух диетилов етер и след разбъркване пада под формата на безцветна утайка съответния хидрохлорид 12 – 16. При пре-кристализация из етилацетат – петролев етер се получават безцветните кристални вещества 12 – 16. Данните за новосинтезираните съединения са отразени в таблица 2.

Литература

- Арен, А., А. Зицманис, С. Германе, Я. Озолиньш. 1968(8). ХФЖ, 18.
- Беленкий, М., С. Германе, А. Арен, Г. Ванаг. 1960. ДАН СССР, 134, 217.
- Ванаг, Г. 1960. «Наука-производство», вып. 5, Рига, стр. 65.
- Ванаг, Г., Я. Дрегерис. 1964. Изв. АН Латв. ССР, 559.
- Германе, С. 1960(12). Изв. АН Латв. ССР, 153.
- Германе, С. 1961(1). Изв. АН Латв. ССР, 121.
- Германе, С. 1971. «Химия дикарб. соед.», Тез. докл., Рига, стр. 40.
- Гринштейн, Д., М. Виниц. 1965. «Химия аминокислот и пептидов», Мир, Москва.
- Дрегерис, Я., Г. Ванаг. 1962. ЖОХ, 32, 2863.
- а. Дрегерис, Я., С. Германе, Г. Ванаг. 1965. Изв. АН Латв. ССР, с.х., 209.
- б. Дрегерис, Я., С. Германе, Г. Ванаг. 1965. Изв. АН Латв. ССР, с.х., 742.
- Дрегерис, Я., С. Германе, Г. Ванаг. 1966. Изв. АН Латв. ССР, с.х., 90.
- Машковский, М. 1984. «Лекарственные средства», часть 1 и 2, Медицина, Москва.
- Софрониев, Н., С. Минчев. 2005. Год. МГУ, 48, св. II, 129.
- Чилов, К. 1959. «Клинична лаборатория», София, стр. 390.
- Aleksiev, B., S. Minchev, N. Sofroniev. 1979. Compt. rend. Acad. bulg. Sci., 32, 1499.
- Minchev, S., N. Sofroniev, B. Aleksiev. 1981. Compt. rend. Acad. bulg. Sci., 34, 1111.
- Minchev, S., N. Sofroniev, B. Aleksiev, A. Lyarova, H. Nedev. 1982. Compt. rend. Acad. bulg. Sci., 35, 347.
- Minchev, S., N. Sofroniev. 1982. Peptides, 195.
- Minchev, S., N. Sofroniev. 1983. Compt. rend. Acad. bulg. Sci., 36, 217.
- Minchev, S., N. Sofroniev. 1986. Liebigs Ann. Chem., 69.
- Sheehan, J., V. Frank. 1949. J. Am. Chem. Soc., 71, 1856.
- Sheehan, J., D. Chapman, R. Roth. 1952. J. Am. Chem. Soc., 74, 3822.
- Sofroniev, N., S. Minchev. 1988. Compt. rend. Acad. bulg. Sci., 41, 75.
- Sofroniev, N., S. Minchev. 2002. Bulg. Chem. Ind., 73(2), 45.
- Quick, A. 1945. J. Am. Clin. Path., 15, 560.