

СИНТЕЗ НА ФОСФОНИ АНАЛОЗИ НА НЕПРИРОДНИ АМИНОКИСЕЛИНИ: I. 2-АМИНО-3-[2-АРИЛ-1Н-ИНДЕН-1,3(2Н)-ДИОНИЛ]-ЕТИЛФОСФОНИ КИСЕЛИНИ

Недялко Софрониев

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

РЕЗЮМЕ. Синтезирани са естерамиди на 2-амино-2-диетоксифосфонил-2-[2-заместени бензил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионил]-оцетни киселини. При киселинната хидролиза на тези съединения са получени 2-амино-3-[2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионил]-етилфосфонови киселини (фосфонови аналози на неприродни аминокиселини съдържащи остатъци от 2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-диони), които притежават антикоагулантно действие върху кръвта.

Ключови думи: Етилов естер на 2-(4'-формилбензил)-2-ацетиламино-2-диетоксифосфонилоцетна киселина, етилов естер на 2-(2'-метокси-5'-формилбензил)-2-ацетиламино-2-диетоксифосфонилоцетна киселина, естерамиди на 2-амино-2-диетоксифосфонил-2-[2-заместени бензил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионил]-оцетни киселини, 2-амино-3-[2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионил]-етилфосфонови киселини.

SYNTHESIS OF PHOSPHONIC ANALOGUES OF UNNATURAL AMINO ACIDS:

I. 2-AMINO-3-[2-ARYL-1H-INDENE-1,3 (2H)-DIONYL]-ETHYLPHOSPHONIC ACIDS

Nedyalko Sofroniev

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

ABSTRACT. Esteramides of 2-amino-2-diethoxyphosphonyl-2-[2-substituted benzyl-1H-indene-1,3(2H)-dionyl]-acetic acids are obtained. By their acid hydrolysis 2-amino-3-[2-aryl-1H-indene-1,3(2H)-dionyl]-ethylphosphonic acids (phosphonic analogues of unnatural amino acids, containing residues of 2-aryl-1H-indene-1,3(2H)-diones) are obtained. They exhibit an anticoagulating activity on the blood.

Key words: Ethyl ester of 2-(4'-formylbenzyl)-2-acetyl amino-2-diethoxyphosphonylacetic acid, ethyl ester of 2-(2'-methoxy-5'-formylbenzyl)-2-acetyl amino-2-diethoxyphosphonylacetic acid, esteramides of 2-amino-2-diethoxyphosphonyl-2-[2-substituted benzyl-1H-indene-1,3(2H)-dionyl]-acetic acids, 2-amino-3-[2-aryl-1H-indene-1,3(2H)-dionyl]-ethylphosphonic acids.

Въведение

Известно е, че редица циклични β -дикетони притежават антикоагулантно действие върху кръвта (Lombardino and Wiseman, 1968; Озол и др., 1969; Чазов и Лакин, 1977). Някои от тях намират приложение като лекарствени препарати с антикоагулантно действие – „фенилин“ (2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-дион), „омефин“ (2- β -хидрокси-етил-2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-дион) (Машковский, 1984). В литературата са описани неприродни α -аминокиселини, които носят остатъци от 2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-диони (Minchev et al, 1986; Минчев и др., 1987; Minchev et al, 1988; Minchev et al, 1990; а. Софрониев, 2007), неприродни α -аминокиселини, съдържащи остатъци от 2-арилметил-1Н-инден-1,3(2Н)-диони (б. Софрониев, 2007) и от 2-арилметил-1Н-инден-1,3(2Н)-диони (Софрониев, 2008), а също така и фосфонови аналози на неприродни аминокиселини, имащи остатъци от 2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-диони (Minchev et al, 1988; а. Софрониев и др., 1989; Minchev et al., 1990; Софрониев, 2009). Някои от тези неприродни α -аминокиселини притежават антикоагулантно действие върху кръвта (Минчев и др., 1987; б. Софрониев, 2007), съизмеримо с това на прилаганите в медицинската практика антикоагуланти „фенилин“ и „омефин“. Предимство на тези неприродни аминокиселини е, че имат добра разтворимост във водна среда, което е предпоставка за по-дългото им задържане в живите

организми, в сравнение с използваните клинични препарати „фенилин“ и „омефин“.

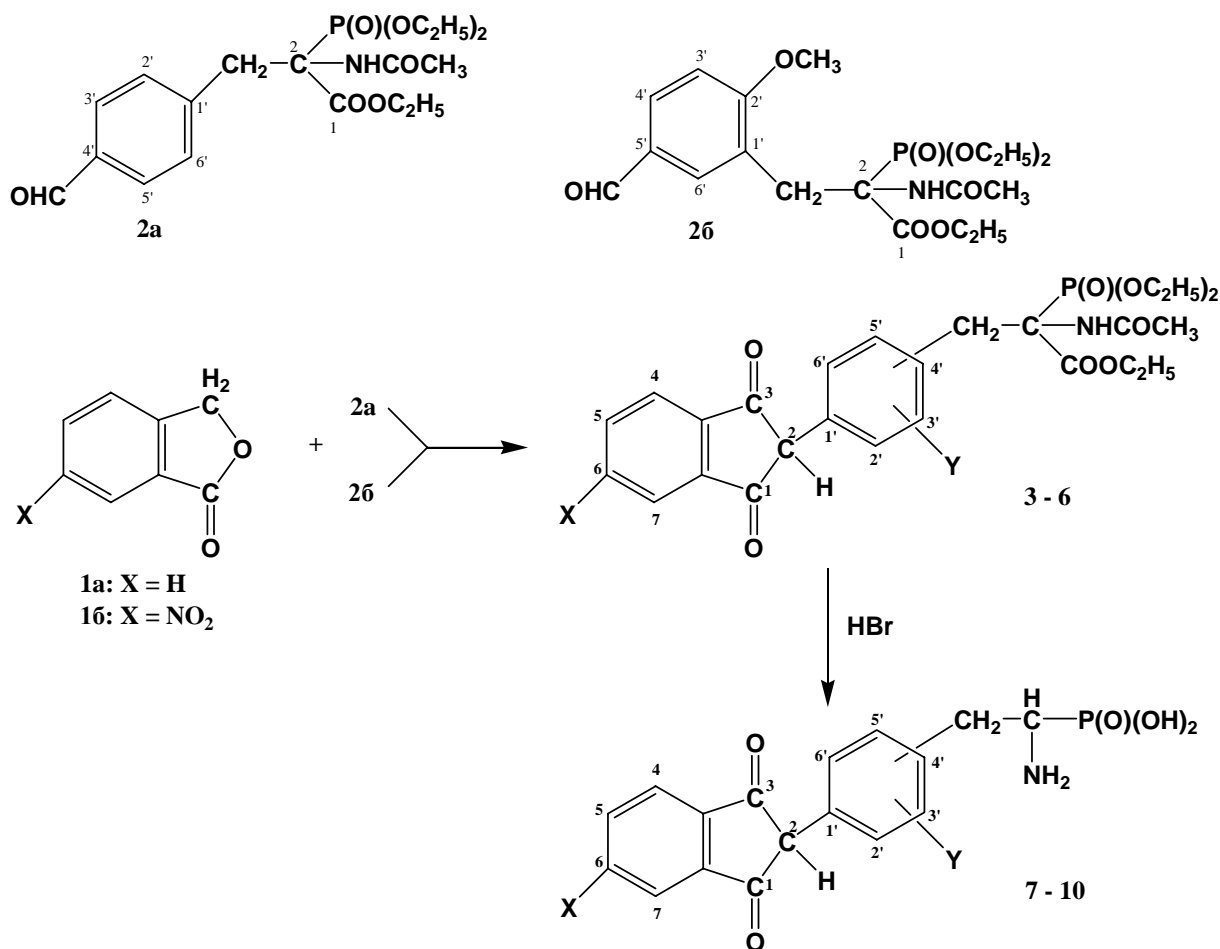
С оглед търсенето на нови производни на неприродни α -аминокиселини притежаващи антикоагулантно действие върху кръвта, си поставихме задачата да синтезираме 2-амино-3-[2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионил]-етилфосфонови киселини (фосфонови аналози на неприродни аминокиселини съдържащи остатъци от 2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-диони).

Обсъждане

Синтезата на естерамидите на 2-амино-2-диетоксифосфонил-2-[2-заместени бензил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионил]-оцетни киселини (3 – 6) осъществихме при взаимодействието на 1(3Н)-изобензофуранон (**1a**) или на 6-нитро-1(3Н)-изобензофуранон (**1b**) с етиловия естер на 2-(4'-формилбензил)-2-ацетиламино-2-диетоксифосфонил-оцетна киселина (**2a**), или с етиловия естер на 2-(2'-метокси-5'-формилбензил)-2-ацетиламино-2-диетоксифосфонилоцетна киселина (**2b**) в среда от натриев етилат. Получените естерамиди 3 и 4 са жълтооцветени, а 5 и 6 са виолетовооцветени кристални вещества. В

инфрачервените спектри на съединенията 3 – 6 се наблюдават две абсорбционни ивици в областта 1740 и 1710 cm^{-1} , които се дължат на симетрични и асиметрични валентни трептения от циклични карбонилни групи. За същите съединения е налице и ивица на абсорбция в областта 1740 – 1720 cm^{-1} , дължаща се на валентните трептения от естерна карбонилна група. Тази ивица се прекрива с ивицата на абсорбция на симетричните валентни трептения от цикличните карбонилни групи, поради което се наблюдава една обща широка абсорбционна ивица в областта 1740 – 1720 cm^{-1} . В областта 1270 и 1030 cm^{-1} се наблюдават две абсорбционни ивици, дължащи се на асиметрични и симетрични валентни трептения от C-O-C връзка на естерна група. Налице е и ивица на абсорбция при 1670 cm^{-1} на валентни трептения от C=O връзка на amidна

карбонилна група. Наблюдават се и абсорбционни ивици, дължащи се на валентни трептения в областта 3340 – 3270 cm^{-1} и на деформационни трептения в областта 1570 – 1510 cm^{-1} от N-H amidна връзка. В областта 1160 cm^{-1} е налице ивица на абсорбция на валентни трептения от P=O връзка и две абсорбционни ивици в областта 1100 – 990 cm^{-1} и 830 – 760 cm^{-1} , дължащи се на валентни трептения от P-O-C връзка. В спектрите на съединения 5 и 6 се наблюдават две абсорбционни ивици, дължащи се на асиметрични и симетрични валентни трептения от N=O връзка на нитрогрупа в областта 1530 и 1320 cm^{-1} . От получените естерамиди 3 – 6, съединения 4 и 6 са описани в литературата, като данните от елементния анализ и температурите на топене съвпадат с тези на описаните в литературата съединения (а. Софрониев и др., 1989).



При третиране на съединения 3 – 6 с концентрирана бромоводородна киселина, осъществихме хидролиза на amidната и естерните групи и декарбоксиране на карбоксилната група (по аналогия с метода на Преображенская и Макарова (1971) за получаване на α -аминокиселини). Получават се със сравнително добри добиви съответните 2-амино-3-[2-арил-1H-инден-1,3(2H)-дионил]-етилфосфонови киселини (фосфонови аналози на неприродни аминокиселини) (7 – 10). Съединенията 7 и 8 са светложълти кристални вещества, а 9 и 10 са светлокафяви кристални вещества. В инфрачервените спектри на фосфоновите аналози на неприродните аминокиселини 7 – 10 се наблюдават абсорбционни ивици

в областта 1740 и 1710 cm^{-1} , дължащи се на симетрични и асиметрични валентни трептения от циклични карбонилни групи. При тези съединения изчезва общата широка абсорбционна ивица в областта 1740 – 1720 cm^{-1} , дължаща се на прекриване на ивицата на абсорбция на валентните трептения от естерна карбонилна група с ивицата на абсорбция на симетричните валентни трептения от цикличните карбонилни групи. Изчезват ивицата на абсорбция на валентни трептения от amidна карбонилна група, ивиците на абсорбция, дължащи се на валентни и деформационни трептения от N-H amidна връзка и абсорбционните ивици на асиметрични и симетрични валентни трептения от C-O-C връзка на

естерна група, а се появява характерната за аминокиселините широка ивица на абсорбция от амониева група в областта 3020 см⁻¹. При всички съединения 7 – 10 е налице ивица на абсорбция в областта 1160 см⁻¹ на валентни трептения от P=O връзка, като изчезват

абсорбционните ивици, дължащи се на валентни трептения от P-O-C връзка. При съединения 9 и 10 са налице абсорбционни ивици дължащи се на асиметрични и симетрични валентни трептения от N=O връзка на нитрогрупа в областта 1530 и 1320 см⁻¹.

Таблица 1

№	X	Y	R*	Т.т., °C	Добив %	Анализ N,%		Анализ P,%		R _f	
						изч.	нам.	изч.	нам.		
3	H	H	4'-	103-104	77	2,72	2,90	6,01	6,19	0,70 ^A	0,42 ^B
4	H	4'-OCH ₃	3'-	84-85	73	2,57	2,69	5,68	5,74	0,57 ^A	0,33 ^B
5	NO ₂	H	4'-	107-108	70	5,00	5,15	5,53	5,67	0,63 ^A	0,29 ^B
6	NO ₂	4'-OCH ₃	3'-	97-99	64	4,74	4,90	5,24	5,40	0,69 ^A	0,38 ^B

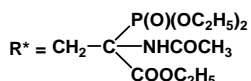
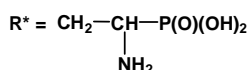
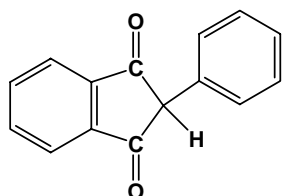


Таблица 2

№	X	Y	R*	Т.т., °C	Добив %	Анализ N,%		Анализ P,%		R _f	
						изч.	нам.	изч.	нам.		
7	H	H	4'-	214-216	63	4,06	4,13	8,97	8,78	0,74 ^B	0,43 ^A
8	H	4'-OCH ₃	3'-	237-238	69	3,73	3,69	8,25	8,36	0,68 ^B	0,31 ^A
9	NO ₂	H	4'-	261-263	71	7,18	7,30	7,94	8,05	0,60 ^B	0,39 ^B
10	NO ₂	4'-OCH ₃	3'-	247-248	64	6,66	6,77	7,37	7,43	0,81 ^B	0,37 ^B



Синтезираните естерамиди 3 – 6 и фосфонови аналози на неприродни аминокиселини 7 – 10, в действителност са производни на клиничния препарат с антикоагулантно действие „фенилин“ (2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-дион):



Клиничният препарат „фенилин“ е неразтворим във вода и се прилага перорално. Освен това той много лесно се изхвърля от организма чрез отделителната система. За да може да се поддържа необходимата концентрация на фенилин в кръвта, се налага неколкостепенната употреба на препарата като дневна доза (Машковский, 1984).

Изследвана е острата токсичност на етиловия естер на 2-ацетиламино-2-диетоксифосфонил-2-[2-бензил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионил]-оцетна киселина (3) и 2-амино-3-[2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионил]-етилфосфонова киселина (7), които се въвеждат перорално на безпородни бели мишки чрез катетър в концентрации 150, 300, 600, 1200 и 2400 мг/кг. Веществата се разтварят във вода чрез добавяне на натриев карбонат до пълното им разтваряне. На контролните животни се въвежда перорално същото количество воден разтвор на натриев карбонат. Леталната

доза LD₅₀ за опитните животни се отчита след едно денонощие. LD₅₀ за съединение 3 е 1015 мг/кг, а за съединение 7 е 960 мг/кг. Леталната доза както за съединение 3, така и за съединение 7 е по-ниска от тази на клиничния препарат „фенилин“ (LD₅₀ = 845 мг/кг). Антикоагулантното действие на съединенията 3 и 7 върху бели безпородни мишки се определя чрез измерване на времето на кървене („Клинична лаборатория“, 1985). Веществата 3 и 7 се въвеждат перорално чрез катетър в дози 1/3 от LD₅₀. Кръв се взема след отрязване върха на опашката на всяка мишка на 30-та, 90-та и 180-та минута след въвеждането на веществата. Времето на кървене е отразено в таблица 3. От таблица 3 е видно, че съединение 7 значително по-силно влияе върху времето на кървене, в сравнение със съединение 3.

Таблица 3

Вещество	Доза мг/кг	Време за кървене, мин		
		30	90	180
Контрола	0	12,0	12,6	12,2
„фенилин“	281	15,4	17,6	19,0
съед. 3	338	14,0	15,1	16,4
съед. 7	320	15,6	21,5	25,4

Антикоагулантното действие на съединение 7 е съизмеримо с това на „фенилина“, що се отнася за времето на кървене на 30-та минута след пероралното въвеждане на веществото. Данните за времето на кървене на 90-та и 180-та минута показват по-добро действие за

съединение 7, в сравнение с клиничния препарат „фенилин“. Причината по всяка вероятност се дължи на по-добрата разтворимост на съединение 7 във вода, а също така и на факта, че съединение 7 се задържа по-дълго време в кръвта на опитните животни. Съединение 7 създава по-добър „депоефект“, т.е. поддържа се по-голяма концентрация на веществото в кръвта на опитните животни на 90-та и 180-та минута след въвеждането му, в сравнение с препарата „фенилин“.

Материали и методи

Температурите на топене са определяни в открита капиляра без корекция. Инфрочервените спектри са снети в нуйол на спектрофотометър Carl Zeiss Specord 75 IR. Органичните разтворители са изпарявани при остатъчно

Резултати

1. Получаване на естерамидите на 2-амино-2-диетоксифосфонил-2-[2-заместени бензил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионил]-оцетни киселини (3 – 6)

Към разтвора на 0.114г Na в 20 мл абсолютен етилов алкохол се прибавят 0.005 мол (2.00 г) от етиловия естер на 2-(4'-формилбензил)-2-ацетиламино-2-диетоксифосфонилоцетна киселина (**2a**) или 0.005 мол (2.15 г) от етиловия естер на 2-(2'-метокси-5'-формилбензил)-2-ацетиламино-2-диетоксифосфонилоцетна киселина (**2b**), 0.005 мол (0.67 г) 1(3Н)-изобензофуранон (фталид) (**1a**) или 0.005 мол (0.89 г) 6-нитро-1(3Н)-изобензофуранон (6-нитрофталид) (**1b**) и 10 мл сух етилацетат. Разтворът се нагрява на обратен хладник в продължение на 1 час, като още в началото разтворът почервява и след няколко минути става тъмночервен. След охлаждане сместта се излива в 200 мл вода, филтрува се и филтратът се подкислява с разредена солна киселина до рН 6, при което из водния разтвор кристализира крайният продукт. Съединенията 3 – 6 се прекристализират из етилацетат/петролев етер, като съединенията 3 и 4 са жълтооцветени, а 5 и 6 са виолетовооцветени кристални

Литература

- «Клинична лаборатория». 1985. София, стр. 135.
Машковский, М. 1984. «Лекарственные средства», Медицина, Москва, часть 1, стр. 494.
Минчев, С., Н. Софрониев, А. Ляпова, А. Дойчинов. 1987. *Авт. свид. ВГ*, 43438.
Озол, Я., С. Германе, К. Арен. 1969. *Изв. АН Латв. ССР*, с.х., 583.
Преображенская, К., Н. Макарова. 1971. *Ж. Всесоюзн. Хим.Общ. им. Менделеева*, 14, 592.
Родионов, В., Е. Чухина. 1949. *Ж. прикл. химии*, 22(8), 853.
а. Софрониев, Н., С. Минчев, М. Кирилов, А. Дойчинов. 1989. *Авт. свид. ВГ*, 45918.
б. Софрониев, Н., М. Кирилов, С. Минчев. 1989. *Авт. свид. ВГ*, 45919.
а. Софрониев, Н. 2007. *Год. МГУ*, 50, св. II, 197.

налягане 14 мм Hg стълб. Новополучените съединения охарактеризирахме чрез елементарен анализ, а чистотата им контролирахме чрез тънкослойна хроматография на DC-Alufolien Plates, Kieselgel 60 F₂₅₄, 0.2 mm в следните хроматографски системи: А, етилацетат – петролев етер (2:1); Б, н-бутанол – етанол - вода (5:1:4); В, хлороформ – ацетон (9:1).

Исходните съединения синтезирахме по познати методи: 1(3Н)-изобензофуранон (фталид) (**1a**) получихме по Родионов и Чухина (1949), 6-нитро-1(3Н)-изобензофуранон (6-нитрофталид) (**1b**) по Borsche et al (1934), етиловият естер на 2-(4'-формилбензил)-2-ацетиламино-2-диетоксифосфонилоцетна киселина (**2a**) по Софрониев (2009) и етиловият естер на 2-(2'-метокси-5'-формилбензил)-2-ацетиламино-2-диетоксифосфонилоцетна киселина (**2b**) по б. Софрониев и др. (1989).

вещества. От синтезираните естерамиди 3 – 6, съединения 4 и 6 са описани в литературата и по своите характеристики отговарят на описаните в литературата съединения (а. Софрониев и др., 1989). Данните за съединения 3 – 6 са отразени в таблица 1.

2. Получаване на 2-амино-3-[2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионил]-етилфосфонови киселини (7 – 10)

Към разтвора на 0.003 мол от съответните естерамиди 3 – 6 се прибавят 20 мл концентрирана бромоводородна киселина. Полученият червенооцветен разтвор се нагрява на обратен хладник в продължение на 3 часа. След охлаждане полученият тъмновиолетов разтвор се алкализира с воден разтвор на натриев бикарбонат до рН 5. Падналата утайка се филтрува, суши се и се прекристализира из етилацетат/петролев етер. Новополучените съединения 7 и 8 са светложълти кристални вещества, а съединенията 9 и 10 се получават под формата на светлокафявооцветени кристали. Данните за новосинтезираните вещества са отразени в таблица 2.

- б. Софрониев, Н. 2007. *Год. МГУ*, 50, св. II, 203.
Софрониев, Н. 2008. *Год. МГУ*, 51, св. II, 97.
Софрониев, Н. 2009. *Год. МГУ*, 52, св. II, стр.211.
Чазов, Е., К. Лакин. 1977. «Антикоагулянты и фибринолитические средства», Медицина, Москва, стр. 66.
Borsche, W., K. Diakont, H. Hanau. 1934. *Chem. Ber.*, 67B, 675.
Lombardino, J., E. Wiseman. 1968. *J. Med. Chem.*, 11, 342.
Minchev, S., N. Sofroniev, I. Timcheva, P. Nikolov. 1986. *Peptides*, 663.
Minchev, S., H. Nedev, N. Stoyanov, B. Aleksiev, N. Sofroniev, M. Kirilov. 1988. *Peptides*, 310.
Minchev, S., H. Nedev, N. Stoyanov, N. Sofroniev, D. Efreanova. 1990. *Peptides*, 630.

Препоръчана за публикуване от
катедра „Химия“, МТФ