

СИНТЕЗ НА ФОСФОКОВИ АНАЛОЗИ НА НЕПРИРОДНИ АМИНОКИСЕЛИНИ: I. 2-АМИНО-3-[2-АРИЛ-1Н-ИНДЕН-1,3(2Н)-ДИОНИЛ]-ЕТИЛФОСФОКОВИ 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]-етилфосфонове киселини (фосфонове 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]-етилфосфонове 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-acetylamin-2-diethoxyphosphonylacetic acid, ethyl ester of 2-(2'-methoxy-5'-formylbenzyl)-2-acetylamin-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 -хидроксипропил-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 фосфонове 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“.

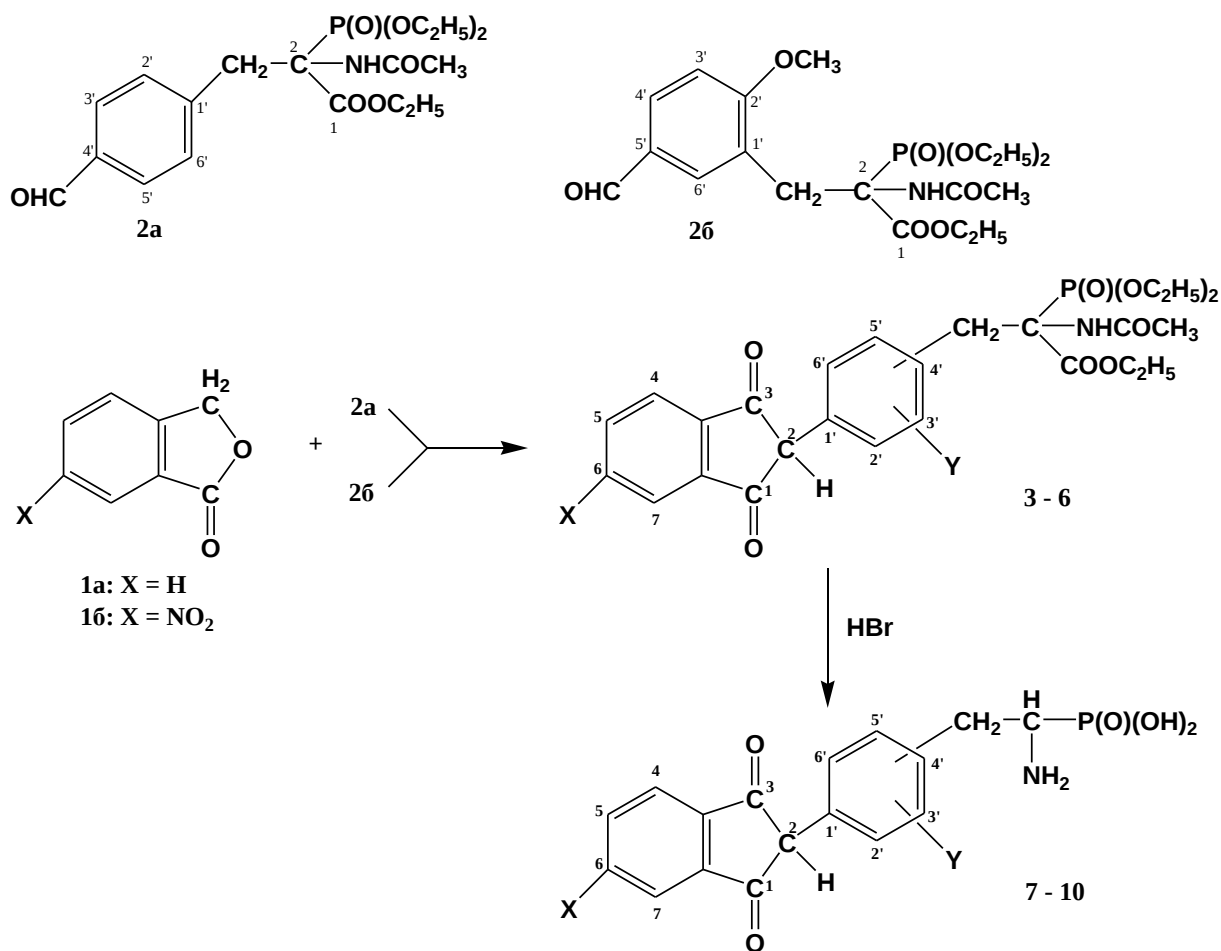
С оглед търсенето на нови производни на неприродни α -аминокиселини притежаващи антикоагулантно действие върху кръвта, си поставихме задачата да синтезираме 2-амино-3-[2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионил]-етилфосфонове киселини (фосфонове аналози на неприродни аминокиселини съдържащи остатъци от 2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-диони).

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 (1а) или на 6-нитро-1(3Н)-изобензофуранон (1б) с етиловия естер на 2-(4'-формилбензил)-2-ацетиламино-2-диетоксифосфонил-оцетна киселина (2а), или с етиловия естер на 2-(2'-метокси-5'-формилбензил)-2-ацетиламино-2-диетоксифосфонилоцетна киселина (2б) в среда от натриев етилат. Получените естерамиди 3 и 4 са жълтооцветени, а 5 и 6 са виолетовооцветени кристални вещества. В

инфрачервените спектри на съединения **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 $1740 - 1720\text{ cm}^{-1}$, дължаща се на валентните трептения от естерна карбонилна група. Тази ивица се препokrива с ивицата на абсорбция на симетричните валентни трептения от цикличните карбонилни групи, поради което се наблюдава една обща широка абсорбционна ивица в областта $1740 - 1720\text{ cm}^{-1}$. 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 амидна

карбонилна група. Наблюдават се и абсорбционни ивици, дължащи се на валентни трептения в областта $3340 - 3270\text{ cm}^{-1}$ и на деформационни трептения в областта $1570 - 1510\text{ cm}^{-1}$ от N-H амидна връзка. В областта 1160 cm^{-1} е налице ивица на абсорбция на валентни трептения от P=O връзка и две абсорбционни ивици в областта $1100 - 990\text{ cm}^{-1}$ и $830 - 760\text{ cm}^{-1}$, 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 амидната и естерните групи и декарбоксилиране 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]-етилфосфоновы киселини (фосфоновы 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 $1740 - 1720\text{ cm}^{-1}$, дължаща се на препokrиване 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 амидна карбонилна група, ивиците на абсорбция, дължащи се на валентни и деформационни трептения от N-H амидна 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

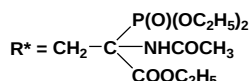
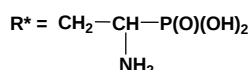
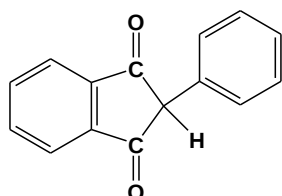


Таблица 2

№	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 природни 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 деценожие. 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. Инфрачервените 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 pH 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

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 pH 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.

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. BG, 43438.
Озол, Я., С. Германе, К. Арен. 1969. Изв. АН Латв. ССР, с.х., 583.
Преображенская, К., Н. Макарова. 1971. Ж. Всесоюз. 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. BG, 45918.
б. Софрониев, Н., М. Кирилов, С. Минчев. 1989. Авт. свид. BG, 45919.
а. Софрониев, Н. 2007. Год. МГУ, 50, св. II, 197.

- 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. Efremova. 1990. Peptides, 630.

Препоръчана за публикуване от
катедра „Химия“, МТФ