

СИНТЕЗ ТА АНАЛІЗ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН

Рекомендована д.ф.н., професором П.О. Безуглім

УДК 54.062:543.854.1:681.7.013.2

ЛІПОФІЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕТИЛОВИХ ЕСТЕРІВ N-[**(2-ОКСОІНДОЛІНІЛІДЕН-3)-2-ОКСІАЦЕТИЛ]- АМІНОКИСЛОТ**

С.В. Колісник, О.М. Свєчнікова, В.В. Болотов

Національний фармацевтичний університет

Вивчені ліпофільні властивості етилових естерів N-[(2-оксіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-аміно-кислот** шляхом експериментального визначення їх коефіцієнтів розподілу (P) у бінарній системі октанол-1 — вода. Показано, що ці речовини мають гідрофобні властивості, які визначаються як природою, так і положенням замісників у молекулі. Подовження вуглецевого ланцюга амінокислотного залишку призводить до зростання ліпофільності молекули. Отримані кореляційні рівняння залежності $\log P = f(N)$, де N — загальна кількість атомів карбону в амінокислотному фрагменті молекули, яке дозволяє розрахувати $\log P$ у більш широкому ізоструктурному ряді, тим більше, що спроби теоретичного комп’ютерного обчислення $\log P$ виявились неефективними. Отримані дані будуть використовуватись для молекулярного дизайну активних фармакофорів у цьому ізоструктурному ряду.**

У вивченні закономірностей зв’язку “структурно-активність” важливу роль відіграє дослідження ліпофільних властивостей фармакофорів. Саме ці властивості визначають як можливість молекул проникати крізь ліпідні шари мембрани, так і гідрофобну взаємодію їх з окремими ділянками рецептора.

Ліпофільні властивості молекул оцінюються за величиною коефіцієнта розподілу речовини (P) в системі октанол-1 — вода:

$$P = \frac{C_o}{C_w}, \quad (1)$$

де C_o , C_w — концентрації речовини в органічній та водній фазах, моль/дм³.

Матеріали та методи

В якості об’єктів дослідження були обрані сполуки ряду 2-оксіндоліну, яким притаманний широкий спектр фармакологічної дії [10-14, 16, 17], а саме похідні 2-оксіндолін-3-гліоксилової кис-

лоти, які мають діуретичну, антигіпоксичну, ноотропну, церебропротекторну активність [4-9].

1. Етиловий естер N-[(2-оксіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-аміноцтової кислоти.****

До 0,5 г (0,002 Моль) N-[**(2-оксіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-аміноцтової кислоти [1] додають 10 см³ абсолютноого етанолу та 0,2 см³ кислоти сульфатної концентрованої. Реакційну суміш кип’ятять протягом 90 хв, охолоджують та відфільтровують живтий осад. Переクリсталізовують із етанолу. Вихід — 0,47 г (80,5%). Т.пл. — 210-212°C. ЯМР ¹H, δ, м.д., (J, Гц): 16.18 (1H, с, OH-енол), 11.98 (1H, с, NH-індол), 9.91 (1H, с, NH-амід), 8.01 (1H, с, 4-H), 6.95-7.18 (3H, к, 5,6,7-H), 4.10 (4H, м, OCH₂CH₃ + NH-CH₂), 1.18 (3H, т, CH₂CH₃). Знайдено, %: C 57.85; H 4.67; N 9.80. C₁₄H₁₄N₂O₅. Вираховано, %: C 57.93; H 4.86; N 9.65. Інші досліджувані етилові естери N-[**(2-оксіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот одержували аналогічно.****

2. Розчинники. Октанол-1 очищували змішуванням з розбавленою сульфатною кислотою, промиванням розчином NaOH з наступною перегонкою під вакуумом. Чистоту контролювали методом ГРХ. Октанол-1 насичували дистильованою водою протягом двох діб.

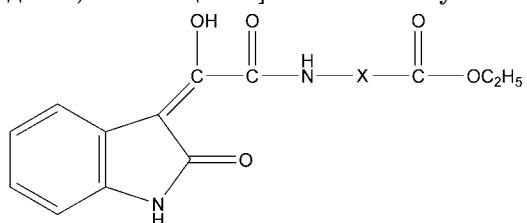
Вода. Використовували бідистильовану воду, вільну від CO₂. Насичували октанолом-1 протягом двох діб.

3. Визначення коефіцієнтів розподілу проводили за методом [3], модифікованим авторами даної роботи [2]. Спектральні вимірювання проводили на спектрофотометрі СФ-46. В якості розчину порівняння використовували октанол-1, насичений водою. Всі вимірювання проводили у трикратній повторюваності і обробляли статистично.

Готовали 5 розчинів етилових естерів N-[**(2-оксіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот в октанолі-1, який був насичений дистильованою во-**

Таблиця

Коефіцієнти розподілу етилових естерів
N-[(2-оксоіндоліліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот у системі октанол-1 — вода



N*	X	$\log P_{\text{експ.}}$	Метод Реккера [15]		Комп'ютерна програма ACD/log P	
			$\log P$	$\Delta \log P = \log P_{\text{експ.}} - \log P$	$\log P$	$\Delta \log P = \log P_{\text{експ.}} - \log P$
1	-CH ₂ -	2,28	-3,14	5,42	-0,06	2,34
2	-(CH ₂) ₂ -	2,57	-2,60	5,17	-0,19	2,76
3	-(CH ₂) ₃ -	2,76	-2,06	4,82	0,02	2,74
4	-(CH ₂) ₄ -	2,82	-1,52	4,34	0,33	2,49
5	-(CH ₂) ₅ -	3,42	-1,08	4,50	0,55	2,87
2	-CH(CH ₃)-	2,52	-2,48	5,00	0,29	2,23
4	-CH(CH(CH ₃) ₂)-	2,95	-2,18	5,13	1,17	1,78
5	-CH(CH ₂ CH(CH ₃) ₂)-	3,38	-0,50	3,88	1,70	1,68
9	-CH ₂ -CH(C ₆ H ₅)-CH ₂ -	4,56	-0,39	4,95	1,53	2,93

Примітки: N* — кількість атомів Карбону в радикалі X.

дою. Так як концентрацію сполук визначали спектрофотометрично, то вихідну концентрацію речовин в октанолі-1 підбирали таким чином, щоб оптична густина розчинів знаходилась в інтервалі

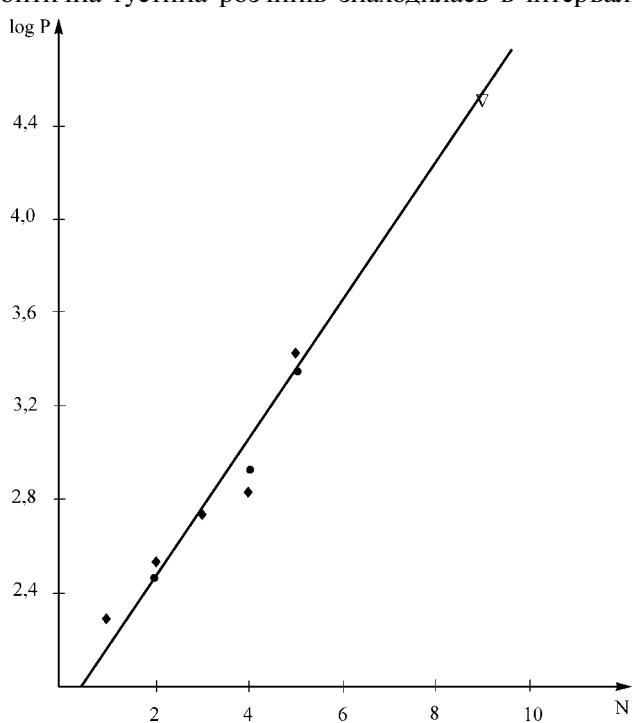


Рис. Залежність $\log P = f(N)$ етилових естерів N-[(2-оксоіндоліліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот з нерозгалуженим вуглецевим ланцюгом X (♦), розгалуженим (●) та фенільним радикалом (▽).

0,15-0,90. Це відповідає інтервалу концентрацій $2,5 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-4}$ моль/дм³.

Об'ємне співвідношення фаз обирали так, щоб після розподілу оптична густина октанольних розчинів знаходилась в інтервалі 0,15-0,90. Для етилових естерів N-[(2-оксоіндоліліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот з нерозгалуженим ланцюгом використовували 20 см³ органічної фази і 600 см³ дистильованої води, яка була наасичена октанолом-1. Для естерів з розгалуженим ланцюгом — 20 см³ розчину в октанолі-1 і 1000 см³ водної фази.

Суміш струшували протягом 1 год, а потім центрифугували при 5000 об/хв для руйнування емульсії, що утворюється. Органічну фазу відділяли і визначали в ній концентрацію речовини після розподілу. Постійну температуру при розподіленні не підтримували, так як попередні дослідження показали, що похиби за рахунок коливань температури менші, ніж аналітичні похиби визначення концентрацій.

Результати та їх обговорення

Визначені коефіцієнти розподілу 9 похідних 2-оксоіндолін-3-глюксилової кислоти (таблиця). Дані таблиці свідчать, що всі досліджені речовини мають гідрофобні властивості, які визначаються як природою, так і положенням замісників в амінокислотному фрагменті X молекули. Подовження його вуглецевого ланцюга призводить до збільшення ліпофільноті молекули. Залежність $\log P$

від N (N-кількість атомів Карбону в нерозгалуженому вуглецевому ланцюгу (фрагмент X — див. табл.) є лінійною (рисунок) і описується кореляційним рівнянням з достатньо високим рівнем статистичної значимості:

$$\log P = (2,01 \pm 0,43) + (0,25 \pm 0,09) \cdot N \quad (2)$$

$$N = 5 \quad s = 0,147 \quad r = 0,952$$

Введення в лінійний вуглецевий ланцюг X молекули естера аліфатичних вуглецевих радикалів призводить до зростання ліпофільноти. Але залежність $\log P$ від N (N — загальна кількість атомів Карбону у фрагменті X) залишається лінійною з більш високим рівнем статистичної значущості, ніж рівняння (2):

$$\log P = (1,99 \pm 0,24) + (0,26 \pm 0,07) \cdot N \quad (3)$$

$$N = 8 \quad s = 0,118 \quad r = 0,964$$

Поява гідрофобного фенільного радикалу у лінійному вуглецевому ланцюгу молекули етилового естера призводить до найбільшого зростання ліпофільноти молекул у досліджуваному ряду. При цьому загальне кореляційне рівняння залежності $\log P = f(N)$ має найбільш статистично значущі параметри у порівнянні з рівняннями (2, 3):

$$\log P = (1,92 \pm 0,18) + (0,29 \pm 0,04) \cdot N \quad (4)$$

$$N = 9 \quad s = 0,114 \quad r = 0,987$$

Залежність $\log P$ від N фрагменту X наведена на рисунку. Це опосередковано свідчить про єдиний механізм сольватації в досліджуваному гомологічному ряду.

Труднощі експериментального визначення коефіцієнтів розподілу стимулюють пошук методів теоретичного розрахунку цих величин для біологічно активних сполук. З метою оцінки можли-

вості теоретичного розрахунку $\log P$ для досліджуваного масиву сполук були розраховані коефіцієнти розподілу етилових естерів N-[(2-оксоіндолін-3)-2-оксіацетил]-амінокислот методами Реккера [15] і за допомогою комп’ютерної програми ACD/log P Batch, що ґрунтуються на принципі адитивності вільної енергії розподілу (таблиця). З даних таблиці видно, що розраховані обома методами $\log P$ суттєво менші, ніж визначені експериментальним шляхом, імовірно, внаслідок особливостей сольватацийних процесів для цих сполук, що не дозволяє використовувати ці методи для розрахунку $\log P$ етилових естерів N-[(2-оксоіндолін-3)-2-оксіацетил]-амінокислот.

Отримані залежності $\log P = f(N)$ можна застосовувати для розрахунків як коефіцієнтів розподілу в більш широких ізоструктурних рядах, так і для встановлення кількісних співвідношень “структурна — активність” при молекулярному дизайні лікарських препаратів даного ряду.

ВИСНОВКИ

1. Визначено коефіцієнти розподілу 9 похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти в системі октанол-1 — вода.

2. Доведено, що ліпофільність досліджуваних сполук залежить як від довжини вуглецевого ланцюга амінокислотного фрагмента, так і від ступеня його розгалуженості.

3. Одержано статистично значущі кореляційні рівняння $\log P$ від кількості вуглецевих атомів в амінокислотному фрагменті.

4. Одержані рівняння дозволяють розраховувати $\log P$ в даному гомологічному ряду.

5. Отримані дані використовуються у молекулярному дизайні активних фармакофорів у ряду похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти.

ЛІТЕРАТУРА

1. Колісник С.В., Болотов В.В., Ляшенко О.В. // ЖОФХ. — 2009. — Т. 7, №4. — С. 55-59.
2. Колісник С.В., Свєчнікова О.М., Болотов В.В. // Вісник фармації. — 2009. — №4 (60). — С. 5-8.
3. Коренман И.М. Экстракция в анализе органических веществ. — М.: Химия, 1977. — 200 с.
4. Луценко Р.В., Дев'яткіна Т.О., Колісник С.В. та ін. // Укр. журн. клін. та лаборатор. медицини. — 2008. — Т. 3, №3. — С. 89-92.
5. Луценко Р.В., Дев'яткіна Т.О., Сидоренко А.Г. та ін. // Клінічна фармація. — 2009. — Т. 13, №1. — С. 47-49.
6. Шатілов О.В., Штриголь С.Ю., Колісник С.В. та ін. // Акт. пробл. сучасної медицини: Вісник Укр. мед. стоматол. академії. — 2009. — Т. 9, вип. 2 (26). — С. 139-142.
7. Шевцов I.I., Березняков В.І., Торянік Е.Л. та ін. // Мед. хімія. — 2006. — Т. 8, №1. — С. 67-71.
8. Штриголь С.Ю., Сміхарний О.О., Колісник С.В. та ін. // Вісник фармації. — 2008. — №3 (55). — С. 60-63.
9. Штриголь С.Ю., Сміхарний О.О., Колісник С.В. та ін. // Вісник фармації. — 2008. — №4 (56). — С. 75-77.
10. Balderamos M., Ankati H., Akubathini Sh.K. et al. // Exp. Biol. Med. — 2008. — №233. — Р. 1395-1402.
11. Bouchikhi F., Rossignil E., Sancelme M. et al. // Eur. J. Med. Chem. — 2008. — №43. — Р. 2316-2322.
12. Jarrahpour A., Khalili D. // Molecules. — 2006. — №11. — Р. 59-63.
13. Jarrahpour A., Khalili D., Clercq E.D. et al. // Molecules. — 2007. — №12. — Р. 1720-1730.
14. Jost W.H., Angersbach D. // CNS Drug Rev. — 2005. — Vol. 11, №3. — Р. 253-272.

15. Rekker R. *The Hydrophobic Fragmental Constant: its derivation and application with a means of characterizing membrane systems.* — Amsterdam. The Netherland: Elsevier, 1977. — 390 p.
16. Sassatelli M., Debiton E., Aboab B. et al. // Eur. J. Med. Chem. — 2006. — №41. — P. 709-716.
17. Shmidt M.S., Reverdito A.M., Kremenchuzky L. et al. // Molecules. — 2008. — №13. — P. 831-840.

УДК 54.062:543.854.1:681.7.013.2

ЛИПОФИЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЭТИЛОВЫХ ЭФИРОВ N-[(2-ОКСОИНДОЛИДЕН-3)-2-ОКСИАЦЕТИЛ]-АМИНОКИСЛОТ

С.В.Колесник, Е.Н.Свечникова, В.В.Болотов

Изучены липофильные свойства этиловых эфиров N-[(2-оксоЭндолинилден-3)-2-оксиацетил]-аминокислот путем экспериментального определения их коэффициентов распределения (P) в бинарной системе октанол-1 — вода. Показано, что эти вещества обладают гидрофобными свойствами, которые определяются как природой, так и положением заместителей в молекуле. Удлинение углеводородной цепи аминокислотного остатка приводит возрастанию липофильности молекулы. Получены корелляционные уравнения зависимости $\log P = f(N)$, где N — общее количество атомов углерода в аминокислотном фрагменте молекулы, позволяющие рассчитывать $\log P$ в более широком изоструктурном ряду, тем более, что попытки теоретического компьютерного вычисления $\log P$ оказались неэффективными. Полученные данные будут использованы для молекулярного дизайна активных фармакофоров в этом изоструктурном ряду.

УДК 54.062:543.854.1:681.7.013.2

LYPOPHYLIC PROPERTIES OF N-[(2-OXOINDOLINILIDEN-3)-2-OXYACETYL]-AMINO ACIDS ETHYL ESTERS
S.V.Kolesnik, O.M.Svechnikova, V.V.Bolotov

Lipophylic properties of ethyl esters of N-[(2-oxoindoliniliden-3)-2oxycetyl]-aminoacid have been studied by experimental determination of their distribution coefficients in the octanol-1 — water binary system. It has been shown that these substances possess hydrophobic properties, which are determined both by nature and the position of substitutes in the molecule. The hydrocarbon chain lengthening of the amino acid residue results in increasing the molecule lipophilicity. The correlation equations of $\log P = f(N)$ dependence, where N is the total amount of carbon atoms in the molecule at the aminoacid fragment, which allows to calculate $\log P$ in more wide isostructural line, have been deduced, and the attempts of theoretical computer calculation of $\log P$ appeared to be ineffective. The results obtained will be applied in the molecular design of active pharmacophores in this isostructural line.