

УДК 547.94:547.352:577.158

М. Ж. ЖУРИНОВ, О. А. НУРКЕНОВ, М. А. ГАЗАЛИЕВА, Ш. Т. ИБЫШЕВА

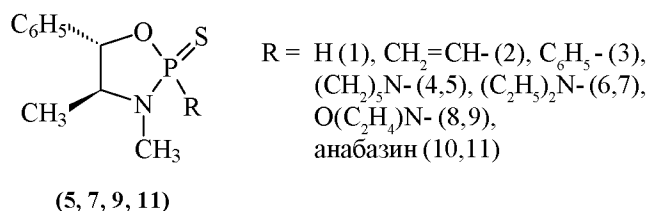
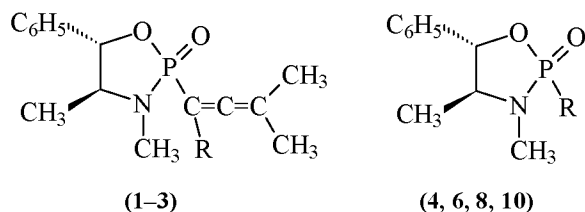
2-ЗАМЕЩЕННЫЕ 1,3,2-ОКСАЗАФОСФОЛАНЫ – ПРОИЗВОДНЫЕ АЛКАЛОИДА d-ПСЕВДОЭФЕДРИНА В КАЧЕСТВЕ СУБСТРАТОВ И ИНГИБИТОРОВ ХОЛИНЭСТЕРАЗ

Представлены результаты антихолинэстеразной активности циклических производных алкалоида d-псевдоэфедрина. Особое внимание уделено вопросам взаимосвязи «строение – антихолинэстеразная активность» 2-замещенных 1,3,2-оксазафосфоланов. Показано, что данные соединения являются ингибиторами холинэстераз средней силы действия и более специфичны по отношению к бутирилхолинэстеразе.

Вещества антихолинэстеразного типа действия, блокирующие работу центральной и парасимпатической нервной системы, применяются в качестве лекарственных препаратов в медицине, в токсикологии при лечении отравления атропином, в сельском хозяйстве [1].

В данной работе изучено взаимодействие циклических производных алкалоида d-псевдоэфедрина – 1,3,2-оксазафосфоланов (ОАФ) с бутирилхолинэстеразой (БухЭ) сыворотки крови лошади и с ацетилхолинэстеразой (АХЭ) эритроцитов человека. Литературные данные [2] свидетельствуют о том, что пятичленное кольцо необходимо для получения препаратов с высокой биологической активностью. Среди 1,3,2-ОАФ обнаружены соединения с инсектицидной активностью [3]. Это и обусловило изучение 1,3,2-ОАФ в качестве ингибиторов холинэстеразы.

Исследуемые соединения составили три группы: 1,3,2-ОАФ, имеющие в молекуле алленовый фрагмент (1–3), циклоамидофосфаты и их тиаоаналоги (4–11).



Интересно отметить, что в основе структуры изученных ОАФ лежат молекулярные структуры высокоактивных природных эфедринных алкалоидов, оказывающих стимулирующее влияние на ЦНС [4].

Реакции 1,3,2-ОАФ с сильными Н-донорами, а также в присутствии щелочей и спиртов идут в нескольких направлениях с раскрытием циклов [4]. Подобные условия могут быть созданы в биохимических экспериментах, где в качестве растворителя 1,3,2-ОАФ используется этиловый спирт или может осуществляться кислотный катализ за счет примеси гидрохлоридов, часто присутствующих в исходных циклических амидофосфатах. Под их влиянием происходит первоначальное раскрытие Р–N-связи цикла, так как скорость гидролиза эндоциклической Р–N-связи в пятичленных циклах превышает скорость гидролиза ациклических амидофосфатов в 10⁶ раз [5]. Иными словами, имеется баланс всех факторов, определяющих характер разрыва и стереохимии реакции.

Нетрудно видеть, что при разрыве Р–N-связи между структурой 1,3,2-ОАФ и природным медиатором ацетилхолином также имеется некоторая структурная связь. Это означает, что соединения, имеющие конфигурацию природных нейроактивных веществ, являются, возможно, подходящими для взаимодействия с ацетилхолинэстеразой, которая, как можно ожидать, будет их мишенью.

Выбор алленовых 1,3,2-ОАФ обусловлен следующими соображениями: во-первых, среди органических соединений пятивалентного фосфора найдено большое число высокоэффективных ингибиторов АХЭ и БухЭ [6,7]; во-вторых, соединения с ненасыщенными связями – весьма активные в физиологическом отношении вещества.

Антихолинэстеразная эффективность 1,3,2-ОАФ (1–11)

№ соед.	R	АХЭЭЧ				БуХЭЛ			
		ТТ*	pK _i	pK _i '	pK _i	ТТ*	pK _i	pK _i '	pK _i
1	H	с	3,39	2,16	3,41	с/н	3,92	3,87	3,95
2	CH=CH ₂	н	3,96	4,06	4,00	с	4,77	4,36	4,52
3	C ₆ H ₅	с	3,70	3,14	3,75	с	5,05	4,30	5,12
4	(CH ₂) ₅ N	с	2,60	2,92	3,05	с	3,05	3,80	3,96
5	(CH ₂) ₅ N	к/с	4,00	3,05	4,05	к	4,80	–	4,80
6	(C ₂ H ₅) ₂ N	с/н	3,17	2,95	3,32	с	4,62	4,16	4,77
7	(C ₂ H ₅) ₂ N	к/с	3,59	2,70	3,64	к	4,57	–	4,57
8	O(C ₂ H ₄)N	с	2,66	2,90	3,24	с	3,70	2,90	3,76
9	O(C ₂ H ₄)N	к	4,10	–	4,10	к	4,20	–	4,20
10	анабазин	с	3,20	2,56	3,30	с	3,66	4,00	4,18
11	анабазин	к	3,82	–	3,82	к	4,54	–	4,54

*Тип торможения: с – смешанный, к – конкурентный, н – неконкурентный.

Как видно из таблицы, все соединения являются обратимыми ингибиторами. Несмотря на то, что концентрации ингибитора во много раз превышали концентрацию фермента, увеличение сроков инкубации фермента с ингибитором от 1 до 20 мин не повышало степени торможения ферментативной реакции. Это свидетельствует об обратимом характере ингибирования. Если бы ингибиторы подавляли активность ферментов необратимо, как это отмечается при фосфорилировании активного центра холинэстераз некоторыми производными фосфорной и фосфоновой кислот, то с увеличением времени взаимодействия фермента с ингибитором степень торможения постепенно бы повышалась до полного исчезновения каталитической активности.

Обобщенная ингибиторная константа K_i , учитывающая вклад (K_i) конкурентной и (K_i') бесконкурентной составляющих согласно $1/K_i = 1/K_i + 1/K_i'$, позволяет сравнивать эффективность обратимых ингибиторов разного типа. Независимо от типа обратимого торможения антихолинэстеразная активность ингибитора при условии $K_M/[S] = 1$ тем больше, чем меньше величина K_i или чем больше величина pK_i .

Из таблицы видно, что в случае смешанного торможения 1,3,2-ОАФ вклад конкурентной составляющей, как правило, был более значителен. Например, по отношению к холинэстеразам млекопитающих тионовые ФОС проявляли либо истинно конкурентный тип торможения [соед. (9) и (11) при действии на АХЭЭЧ и БуХЭЛ; соед. (5) и (7) – на БуХЭЛ], либо в значительной степени конкурентный тип действия: величины pK_i значительно больше pK_i'

[для соед. (5) и (7) по отношению к АХЭЭЧ]. Видимо, сорбция псевдоэфедриновых происходит главным образом в районе активного центра холинэстераз.

Соединение (3), не обладающее значительной специфичностью к АХЭЭЧ, между тем более эффективно по отношению к бутирилхолинэстеразе по сравнению с другими двумя алленовыми 1,3,2-ОАФ, что, вероятно, обусловлено наличием фенильной группы.

Как и следовало ожидать, алленовые 1,3,2-ОАФ сильнее ингибировали БуХЭ по сравнению с АХЭ, поскольку известно [8, 9], что на активной поверхности БуХЭ расположены более обширные гидрофобные участки, играющие важную роль в сорбции на ней как субстратов, так и ингибиторов. Например, соединение (3), утяжеленное фенильным радикалом, оказалось по отношению к БуХЭ в 15 раз более эффективным ингибитором, чем соединение (1), и почти в 25 раз сильнее угнетало БуХЭ, чем АХЭ.

Другая группа – циклоамидофосфаты (4), (6), (8), и (10) и их тиоаналоги (5), (7), (9) и (11) также являются обратимыми ингибиторами холинэстеразы. Установлено, что 1,3,2-ОАФ с экзоциклической диэтиламидогруппой, как и со вторичными аминами (пиперидином, морфолином и алкалоидом анабазинном), представляют собой ингибиторы средней силы.

Особый интерес вызывают полярные группы $P=O$ и $P=S$, которые могут по-разному влиять на сорбцию соединений. Если рассмотреть циклоамидофосфаты и соответствующие тионпроизводные попарно, а именно (4) и (5), (6) и (7), (8) и (9), (10) и

(11), то видно, что по отношению к АХЭ тионовые ФОС являются более активными ингибиторами.

Этот результат согласуется с данными работы [10], авторы которой изучали производные оксидов и тиооксидов в-(2-пиридил)-этилфосфина и наблюдали резкое повышение антихолинэстеразной активности при замене группы $P=O$ на группу $P=S$. Экспериментально доказано [11, 12], что замена кислорода в производных кислот фосфора на серу как в алкоксильной, так и в фосфорильной группах ведет к возрастанию дефицита электронной плотности на атоме фосфора молекул в основном состоянии, что связано с наличием p_p-d_p сопряжения в фосфорильной группе $P=O$. Поэтому соединения с $P=S$ -группой могут лучше сорбироваться на активной поверхности холинэстеразы за счет более выраженного диполь-дипольного взаимодействия с полярными группами фермента.

Это справедливо и по отношению к БУХЭ; inclusion составляют лишь 2-оксо- и 2-тио-1,3,2-ОАФ с экзоциклической диэтиламидогруппой у атома фосфора – соединения (6) и (7), поскольку кислородный аналог проявил более сильные ингибиторные свойства, хотя выявленное различие незначительно, что, по-видимому, можно объяснить различной поляризуемостью $P=O$, $P=S$ -соединений и влиянием сольватации, стерических и других факторов.

Таким образом, производные алкалоида псевдоэфедрина являются обратимыми ингибиторами холинэстераз средней силы действия и более специфичными по отношению к БУХЭ. При ингибировании БУХЭ значительный вклад вносят гидрофобные взаимодействия, обусловленные наличием остатков алкалоидов. 1,3,2-ОАФ, содержащие $P=S$ -группу, сильнее ингибировали как АХЭ, так и БУХЭ по сравнению с кислородсодержащими соединениями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сазонов П.В. Каталог инсектицидов и акарицидов, прошедших государственные испытания в 1960–1975 гг. М.: Колос, 1977. 196 с.
2. Газалиев А.М., Журинов М.Ж., Абдувахобов А.А., Муканова К.Д., Нуркенов О.А. // Структура и функции физиологически активных соединений. Ташкент: Фан, 1990. С. 295–373.
3. Газалиев А.М., Журинов М.Ж., Фазылов С.Д. Новые фосфорпроизводные эфедриновых алкалоидов. Алматы: Фылм, 1992. 176 с.
4. Журинов М.Ж., Газалиев А.М., Фазылов С.Д. Химия эфедриновых алкалоидов. Алматы: Фылм, 1990. 144 с.
5. Brown C., Boudreau J.A., Heuiston B., Hudson R.F. // J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1975. V. 1. P. 504–508.
6. Розенгарт Е.В., Майзель Е.Б., Хакимов Ю.Р., Абдувахобов А.А., Асланов Х.А. // Биохимия. 1978. Т. 43. С. 1150–1155.
7. Садыков А.С., Далимов Д.Н., Годовиков Н.Н. // Успехи химии. 1983. Т. 52, №10. С. 1602–1623.
8. Кабачник М.И., Бресткин А.П., Годовиков Н.Н., Михайлов С.С., Розенгарт Е.В., Розенгарт В.И. // Успехи химии. 1970. Т. 39, № 6. С. 1054–1074.
9. Kabachnik M.I., Brestkin A.P., Godovikov N.N., Michelson M.I., Rozengart E.V., Rozengart V.I. // Pharmacol. Rev. 1978. V. 27, N2. P. 335–388.
10. Бресткин А.П., Брик И.Л., Камай Г.Х., Крутский Я.Н., Ткаченко С.И., Цивунин В.С. // Реакционная способность органических соединений. Тарту, 1985. Т. 7, №1. С. 234–243.
11. Неймышева А.А., Савчук В.И., Ермолаева М.В., Кнуяниц И.Л. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1968. С. 2222–2229.
12. Неймышева А.А., Савчук В.И., Кнуяниц И.Л. // ЖОХ. 1966. № 36. С. 500–506.

Резюме

d-псевдоэфедрин алкалоидтың циклдык туындыларының антихолинэстеразды белсенділігінің нәтижелері көрсетілген. «Құрылым – антихолинэстеразды белсенділік» өзара байланысы мәселесіне ерекше көңіл бөлінді. Берілген қосылыстар холинэстеразға орташа күшпен әсер ететін ингибитор және арнайы бутирилхолинэстеразға байланысты екендігі дәлелденді.

Summary

Results cholinesterastic activities are presented of cyclic derivatives d-pseudoephedrine alkaloids. The special attention is given to questions of interrelation «structures-cholinesterastic activity» 2-substituted 1,3,2-oxazophospholanes. It is shown, that the given compounds are inhibitor cholinesterase average force of action and more specific in relation to butyrylcholineesterase.

Институт органического
синтеза и углеродной РК,
г. Караганда

Поступила 5.01.06г.