© Український журнал клінічної та лабораторної медицини, 2009
УДК 54.062: 543.854.1: 681.7.013.2

Ліпофільні властивості метилових естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот

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

Національний фармацевтичний університет, кафедра аналітичної хімії
Харків, Україна

Вивчені ліпофільні властивості метилових естерів похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти 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 в молекулі. Подовження вуглецевого ланцюга амінокислотного залишку призводить до зростання ліпофільності молекули. Отримані кореляційні рівняння залежності log P — f(N), де N — загальна кількість атомів у вуглецевому фрагменті молекули, яке дозволяє розрахувати log P у більш широкому ізоструктурному ряді, тим більше, що спроби теоретичного обчислення log P і ACD/log P Batch виявились неефективними. Отримані дані будуть використовуватись для молекулярного дизайну активних фармакофорів в цьому ізоструктурному ряді.

Ключові слова: ліпофільні властивості, похідні 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти.

ВСТУП

Похідні 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти мають поліфункціональну біологічну активність і є потенційними ноотропними препаратами [2-7]. Натомість, фізико-хімічні властивості сполук цього гомологічного ряду не вивчені. Тому дослідження ліпофільних властивостей представляє безсумнівний як теоретичний, так і практичний інтерес, дозволяє виявляти кількісні закономірності зв'язку біологічної активності сполук від хімічної структури. Саме ліпофільні властивості визначають як здатність молекул проникати крізь ліпідні шари мембран, так і їх гідрофобну взаємодію з окремими ділянками рецептору.

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

$$P = \frac{\tilde{N}_i}{C_a}, \quad (1)$$

де C_o, $C_в$ — концентрації речовини в органічній та водній фазах, моль/дм^3.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В якості об'єктів дослідження були обрані похідні 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти, яким притаманний широкий спектр фармакологічної дії, а саме метилові естери N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот.

1. Метиловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінооцтової кислоти. До 0,5 г (0,002 моль) N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінооцтової кислоти додають 10 см^3 абсолютного метанолу та 0,2 см^3 кислоти сульфатної концентрованої. Реакційну суміш кип'ятять протягом 90 хв., охолоджують та відфільтровують жовтий осад. Перекристалізовують із етанолу. Вихід: 0,44 г (80%). $T_{пл.}$ =236-238 С. ЯМР ^{1}Н, , м.д., (*J*, Гц): 16.10 (1Н, с, ОН-єнол), 11.91 (1Н, с, NH-індол), 10.01 (1Н, с, NH-амід), 8.10 (1Н, т, 4-Н), 7.19-6.90 (3Н, к, 5,6,7-Н), 4.10 (2Н, д, $NH\underline{CH}_2$), 3.64 (3Н, с, OCH_3). Знайдено, %: С 56.34; Н 4.45; N 10.31. $C_{13}H_{12}N_2O_5$. Вирахувано, %: С 56.52; Н 4.38; N 10.14.

Інші досліджувані метилові естери N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот одержували аналогічно.

2. Розчинники. Октанол-1 очищувався 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. Використовувалась бідистильована вода, вільна від CO_2. Насичувалась октанолом-1 протягом двох діб.

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

Готували 5 розчинів метилових естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот в октанолі-1, який був насичений дистильованою водою. Тому що концентрація сполук визначалась спектрофотометрично, то і вихідна концентрація речовин в октанолі-1 була підібрана таким чином, щоб оптична густина розчинів знаходилась в інтервалі 0,15-0,90. Це відповідає інтервалу концентрацій $2{,}5\cdot10^{-5}$-$1\cdot10^{-4}$ моль/дм^3.

Об'ємне співвідношення фаз обирали так, щоб після розподілу оптична густина октанольних розчинів знаходилась в інтервалі 0,15-0,80. Для метилових естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот з нерозгалуженим ланцюгом використовували 20 см^3 органічної фази і 600 см^3 дистильованої води, яка була насичена октанолом-1. Для естерів з розгалуженим ланцюгом — 20 см^3 розчину в октанолі-1 і 1000 см^3 водної фази.

Суміш струшували протягом 1 години, 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 розподілі не підтримували, бо попередні дослідження показали, що похибки за рахунок коливань температури менші, ніж аналітичні похибки визначення концентрацій.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Визначені коефіцієнти розподілу 9 похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти (табл. 1). Дані таблиці свідчать, що всі досліджені речовини мають гідрофобні властивості,

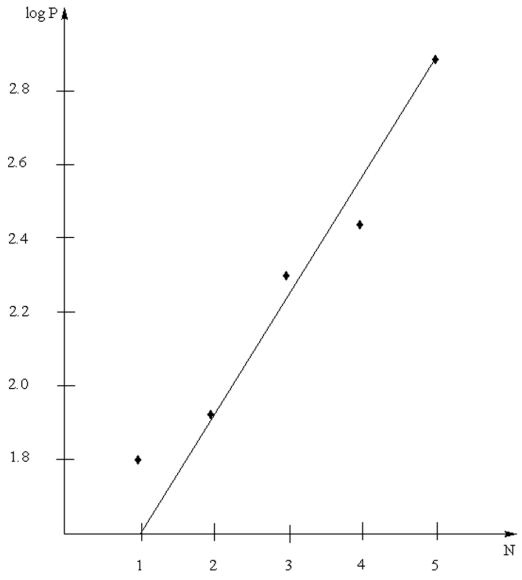


Рис. 1. Залежність log P — f(N) для нерозгалуженого вуглецевого ланцюга метилових естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот.

які визначаються як природою, так і положенням замісників в молекулі. Подовження вуглецевого ланцюга призводить до збільшення ліпофільності молекули. Кореляційна залежність log P від N (N-кількість атомів Карбону в нерозгалуженому вуглецевому ланцюгу молекули) є лінійною (рис. 1) і є статистично значимою:

$$\text{Log P}=(1{,}47\pm0{,}28)+(0{,}26\pm0{,}09)\text{N},\ n=5,\ s=0{,}099,\ r=0{,}979\ (2)$$

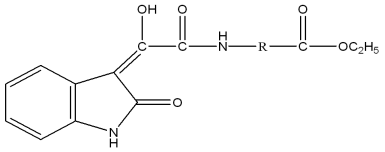
Введення в лінійний вуглецевий фрагмент молекули метилового естеру аліфатичних вуглецевих радикалів призводить до зростання ліпофільності. Але залежність log P від N (N-загальна кількість атомів Карбону у вуглецевому ланцюгу молекули) залишається лінійною з більш високим рівнем статистичної значимості, ніж рівняння (2):

$$\text{Log P}=(1{,}43\pm0{,}18)+(0{,}27\pm0{,}05)\text{N},\ n=8,\ s=0{,}083,\ r=0{,}982\ (3)$$

Введення гідрофобного фенільного радикалу у лінійний вуглецевий ланцюг молекули метилового естеру призводить до найбільшого зростання ліпофільності молекул у досліджуваному ряду. Але при цьому кореляційне рівняння залежності log P — f(N) (N-загальна кількість атомів Карбону у вуглецевому фрагменті молекули) має кращі статистичні параметри у порівнянні з рівняннями (2, 3):

ТАБЛИЦЯ 1

Коефіцієнти розподілу метилових естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот в системі октанол-1 – вода



№ з/п	N*	R	logP експ.	Метод Реккера [8]		Комп'ютерна програма ACD/log P [9]	
				log P	Δlog P=log P експ. - log P	log P	Δlog P=log P експ. - log P
1	1	CH_2	1,80	-3,68	5,48	-0,59	2,39
2	2	$(CH_2)_2$	1,92	-3,14	5,06	-0,72	2,64
3	3	$(CH_2)_3$	2,30	-2,60	4,90	-0,51	2,81
4	4	$(CH_2)_4$	2,42	-2,06	4,48	-0,21	2,63
5	5	$(CH_2)_5$	2,87	-1,52	4,39	0,02	2,85
6	2	$CH(CH_3)$	1,88	-3,02	4,90	-0,24	2,12
7	4	$CH(CH(CH_3)_2)$	2,51	-2,72	5,23	0,64	1,87
8	5	$CH(CH_2CH(CH_3)_2)$	2,75	-1,04	3,79	1,17	1,58
9	9	$CH_2CH(C_6H_5)CH_2$	3,80	-0,93	4,73	1,00	2,80

Примітки: N — кількість атомів Карбону в радикалі R*

$$\log P=(1,45\pm0,12)+(0,26\pm0,03)N,\ n=9,\ s=0,077,\ r=0,987\ (4)$$

Труднощі експериментального визначення коефіцієнтів розподілу стимулюють пошук методів теоретичного розрахунку цих величин для біологічно активних сполук. З метою оцінки можливості теоретичного розрахунку log P для гомологічного ряду були розраховані коефіцієнти розподілу метилових естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот за методами Реккера [8] і за комп'ютерною програмою ACD/log P Batch [9], що ґрунтуються на принципі адитивності вільної енергії розподілу (табл. 1). З даних таблиці 1 витікає, що розраховані обома методами log P суттєво відрізняються від експериментальних значень, внаслідок особливостей процесу їх сольватації.

Отримані дані дозволяють розрахувати коефіцієнти розподілу в більш широких ізоструктурних рядах і провести молекулярний дизайн найбільш активних фармакофорів в цих рядах.

ВИСНОВКИ

Визначено коефіцієнти розподілу 9 похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти в системі октанол-1 — вода. Доведено, що ліпофільність досліджуваних сполук залежіть як від довжини вуглецевого ланцюга, так і ступеня його розгалуженості. Одержано статистично значимі кореляційні рівняння log P від кількості вуглецевих атомів у радикалі.

Одержані рівняння дозволяють розраховувати log P в даному гомологічному ряду. Отримані дані використовуються у молекулярному дизайні активних фармакофорів у ряду похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти.

ЛІТЕРАТУРА

1. Коренман И.М. Экстракция в анализе органических веществ. — М.: Химия, 1977. — 101 с.
2. Луценко Р.В., Дев'яткіна Т.О., Колісник С.В. та ін. Вплив похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти на фізичну витривалість тварин за умов гіпотермії // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. — 2008. — Т. 3, №3. — С. 89-92.
3. Луценко Р.В, Дев'яткіна Т.О, Сидоренко А.Г. та ін. Дослідження антидепресивної активності похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти в тесті Порсолта // Клінічна фармація. — 2009. — Т. 13, №1. — С. 47-49.
4. Шатілов О.В., Штриголь С.Ю., Колісник С.В. та ін. Доклінічне вивчення ноотропної активності та супутніх психотропних властивостей похідних 2-оксоіндоліну // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. — 2009. — Т. 9, вип. 2(26). — С. 139-142.
5. Шевцов І.І., Березняков В.І., Торянік Е.Л. та ін. Зв'язок "структура-дія-активність" у ряду похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти // Медична хімія. — 2006. — Т. 8, №1. — С. 67-71.
6. Штриголь С.Ю., Стіхарний О.О., Колісник С.В. та ін. Церебропротекторні властивості похідних 2-ок-

соіндолін-3-гліоксилової кислоти // Вісник фармації. — 2008. — №3 (55). — С. 60-63.
7. Штриголь С.Ю., Стіхарний О.О., Колісник С.В. та ін. Ноотропні властивості нових похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти // Вісник фармації. — 2008. — №4 (56). — С. 75-77.
8. Rekker R. The Hydrophobic Fragmental Constant: its derivation and application with a means of characterizing membrane systems. — Amsterdam. The Netherland: Elsevier, 1977. — 390 p.
9. www.ACDlabs.com.

С.В.Колесник, Е.Н.Свечникова, В.В.Болотов, А.А.Алтухов. Липофильные свойства метиловых эфиров N-[(2-оксоиндолинилиден-3)-2-оксиацетил]-аминокислот. Харьков, Украина.

Ключевые слова: *Липофильные свойства; производные 2-оксоиндолин-3-глиоксиловой кислоты.*

Изучены липофильные свойства метиловых эфиров производных 2-оксоиндолин-3-глиоксиловой кислоты 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 к возрастанию липофильности молекулы. Получены корелляционные уравнения зависимости log P — f(N), где N — общее количество атомов в углеводородном фрагменте молекулы, позволяющее рассчитать log P в более широком изоструктурном ряду, тем более, что попытки теоретического вычисления log P и ACD/log P Batch, оказались неэффективными. Полученные данные будут использованы для молекулярного дизайна активных фармакофоров в этом изоструктурном ряду.

S.V.Kolesnik, E.N.Svechnikova, V.V.Bolotov, A.A.Altuhov. Methyl esters of N-[(2-oxoindoliniliden-3)-2-oxyacetil]-aminoacids lypophylic properties. Kharkiv, Ukraine.

Key words: *lypophylic properties; 2-oxoindolin-3-glyoxylic acid derivates.*

Lypophylic properties of methyl esters of 2-oxoindolin-3-glyoxylic acid derivates by experimental determining of their distributing coefficients in binary system octanol-1 — water have been studied. It has been shown, that these substances possess hydrophobic properties, which are determined both by nature, and position of substituents in molecule. The hydrocarbon chain lengthening of aminoacid residual results in increase of molecule lipophility. Correlated dependence equation log P — f(N), where N is general quantity of atoms in the molecule hydrocarbon fragment, which allow to calculate log P in more wide isostructural line, have been received, especially as attempts of log P and ACD/log P Batch theoretical calculation appeared uneffective. Received results will be use for the molecular design of active pharmacophores in this isostructural line.

Надійшла до редакції 31.08.2009 р.