

Синтез і біологічна активність S-гетерилзаміщених L-цистеїну та його аналогів

Ю.Ю. Петруша*, Л.О. Омелянчик, О.А. Бражко, М.П. Завгородній

Запорізький національний університет
вул. Жуковського, 66, Запоріжжя, 69600, Україна

Резюме. Синтезовано нові S-гетерилзаміщені L-цистеїну і його структурні аналоги, досліджено їхню гостротоксичність та антирадикальну активність на моделі аутоокислення адреналіну.

Ключові слова: S-гетерилзаміщені L-цистеїну, гостра токсичність, антирадикальна активність.

Вступ. Шестичленні азотовмісні гетероцикли (піридин і акридин) входять до складу багатьох природних та синтетичних сполук: вітамінів, ферментів, алкалоїдів, барвників, пестицидів, лікарських і ветеринарних препаратів, аналітичних реагентів, що пов'язано з широким спектром біологічної активності їхніх похідних. Зокрема, похідні акридину знайшли широке застосування, передусім, як антималярійні та протипаразитарні препарати [1-4].

Гетероциклічні системи піридину й акридину дають певні можливості для модифікації їхніх молекул з метою одержання нових біологічно активних сполук. Цікавим є вивчення похідних такого азагетероциклу, як 1,2,3,4-тетрагідроакридин, який поєднує у своїй структурі ароматичні та неароматичні кільця.

Відомо, що вплив на процеси вільнорадикального окиснення ліпідів зумовлює широкий спектр біологічної дії [5], тому перспективним є пошук нових біологічно активних сполук, що містять у своїй молекулі, окрім гетероциклу, замісник з високими антиоксидантними властивостями — L-цистеїн або його структурні аналоги [6].

У доступній нам літературі є відомості про

синтез S-(акридин-9-іл)-L-цистеїну та його натрієвої солі, S-(акридин-9-іл)-N-ацетил-L-цистеїну і S-(акридин-9-ілтїо)лактату. Результати проведених досліджень свідчать про те, що S-(акридин-9-іл)-L-цистеїн та S-(акридин-9-ілтїо)лактат проявляють антиоксидантну активність на 3-х моделях ініціювання вільнорадикального окиснення. Цим сполукам властива анальгетична активність, а S-(акридин-9-ілтїо)лактат навіть за своїм ефектом перевищує активність анальгіну на 19 %. S-(акридин-9-іл)-L-цистеїн проявляє ще й антидіуретичну дію [5, 7-9].

У літературі зустрічаються і дані про синтез полі[S-(2-9'-акридиніл)-L-цистеїну та 4-(2-аміно-2-карбоксил-етилсульфаніл)нікотинової кислоти, до складу якої також входить L-цистеїн [10, 11].

На основі результатів віртуального скринінгу нових S-гетерилзаміщених L-цистеїну, проведеного за допомогою комп'ютерної програми PASS (Prediction Activity Spectra for Substances) [12], можна зробити висновок, що ця модифікація здатна приводити до підсилення біологічної дії або до появи нових видів біологічної активності, а пошук нових біорегуляторів у цьому ряду є актуальним, має практичну і теоретичну значимість [13].

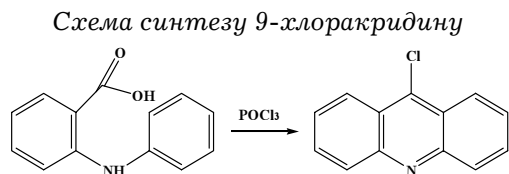
Метою нашої роботи є синтез нових малотоксичних S-гетерилзаміщених L-цистеїну та його структурних аналогів, вивчення гострої

* Corresponding author.

Tel./fax: +38061-2224166

E-mail address: Yulia.ZNU@mail.ru

Схема 1



токсичності й антирадикальної активності цих сполук.

Матеріали і методи дослідження. Структуру синтезованих сполук підтверджено даними ПМР-спектрів, чистоту — методом тонкошарової хроматографії.

Сpektри ПМР знято на приладі «Bruker AC-300» (300 МГц) у ДМСО_d₆+CCl₄ (1:1), внутрішній стандарт — ТМС, величини хімічних зміщень (δ) вимірювали з точністю до 0,01 м.ч.

Тонкошарову хроматографію проведено на пластинках «Silufol UV-254» словацького виробництва в різних системах розчинників. Проявлення хроматограм здійснено за допомогою УФ-променів.

Вивчення гострої токсичності проводили на інтактних дорослих двостатевих мишах вагою 16-22 г. Речовини вводили тваринам внутрішньочеревно у вигляді водної суспензії. Спостереження за тваринами проводили протягом 2-х тижнів після одноразового введення досліджуваних сполук. Гостру токсичність визначали за допомогою табличного експрес-методу визначення середніх ефективних способів впливу на біологічні об'єкти за В.Б. Прозоровським [14].

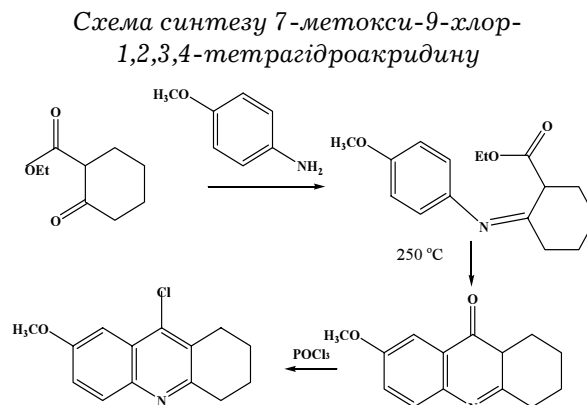
Дослідження антирадикальної активності синтезованих сполук проводили на моделі аутоокислення адреналіну в адренохром [15, 16]. До кювети спектрофотометра «НАСН LANGE DR-2800» вносили 2 мл 0,05 М натрій-карбонатного буфера (рН=10,65). У контрольну пробу додавали 0,1 мл дистильованої води, у дослідну — в об'ємі 0,1 мл розчин досліджуваної сполуки в кінцевій концентрації 125×10^6 ммоль/л (Т=37 °С). Реакцію ініціювали внесенням у систему 0,1 мл 0,01 М адреналіну солянокислого. Приріст оптичної густини виміряли за довжини хвилі 347 нм протягом 5 хв.

Процент інгібування обчислювали за формулою:

$$\% \text{ інгібування (од. акт.)} = 1 - \frac{\Delta D_x}{\Delta D_k} \times 100 \%,$$

де ΔD_x і ΔD_k — швидкості реакції ауто-

Схема 2



окислення адреналіну відповідно в дослідній і контрольній пробах.

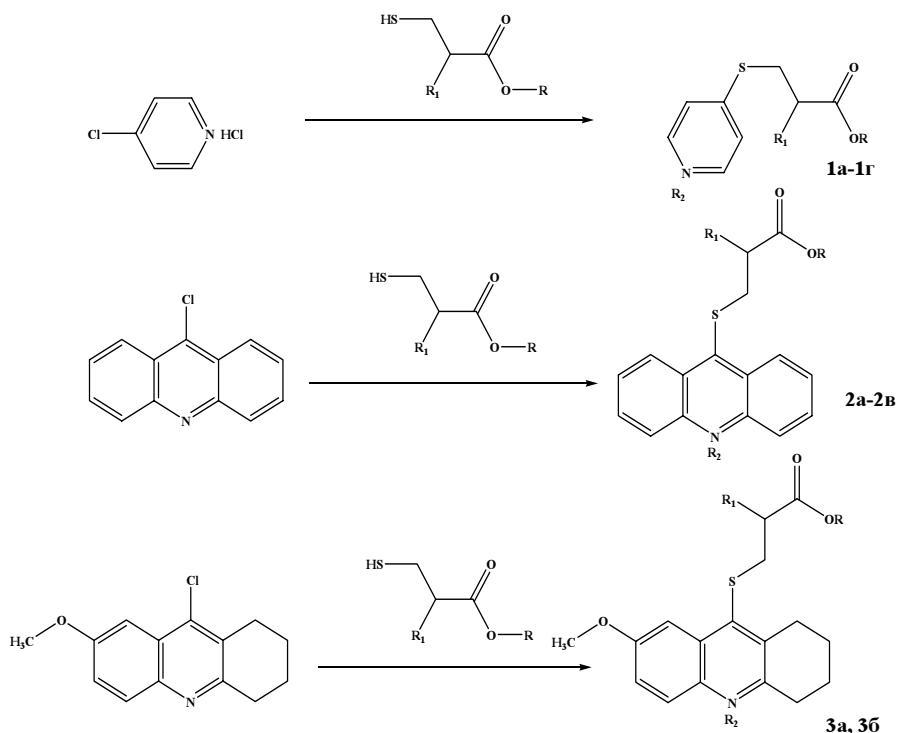
Результати й обговорення. 9-Хлоракридин, необхідний для синтезу, отримано конденсацією N-фенілантранілової кислоти з хлорокисом фосфору (вихід 40 %) (схема 1) [3].

7-метокси-9-хлор-1,2,3,4-тетрагідроакридин отримано тристадійним методом з n-анізидину й етил-2-оксоциклогексанкарбоксилату за відомими реакціями (вихід 46 %) (схема 2) [17].

З метою пошуку біологічно активних сполук серед S-гетерилзаміщених L-цистеїну та його структурних аналогів взаємодією 4-хлорпіридину, 9-хлоракридину та 7-метокси-9-хлор-1,2,3,4-тетрагідроакридину з L-цистеїном (N-ацетил-L-цистеїн, 3-меркаптопропіонова кислота) в середовищі діоксану синтезовано відповідні гідрохлориди S-гетерил-L-цистеїну та його аналоги (схема 3). Реакції проводили, починаючи від декількох хвилин до 4 год (залежно від природи гетероциклу).

Взаємодією S-гетерил-L-цистеїнів із бурштиновим ангідридом у нейтральному середовищі отримали S-(піридин-4-іл)-N-сукциноіл-L-цистеїн та S-(7-метокси-1,2,3,4-тетрагідроакридин-9-іл)-N-сукциноіл-L-цистеїн. Також взаємодією 4-хлорпіридину гідрохлориду і 7-метокси-9-хлор-1,2,3,4-тетрагідроакридину з метиловим ефіром цистеїну в середовищі діоксану було одержано відповідні метилові естери S-гетерилзаміщених L-цистеїну.

У результаті цих реакцій отримали S-гетерилзаміщені L-цистеїну та його структурних аналогів — білі, жовті або помаранчеві речовини (за винятком гідрохлориду метилового ефіру S-(піридин-4-іл)-L-цистеїну, який має

Схема синтезу *S*-гетерилзаміщених *L*-цистеїну та його структурних аналогів

1a— $R=H$, $R_1=NH_2 \cdot HCl$, $R_2=HCl$; 1б— $R=H$, $R_1=NH_2$; 1в— $R=CH_3$, $R_1=NH_2 \cdot HCl$; 1г— $R=H$, $R_1=NHCO(CH_2)_2COOH$; 2a— $R=H$, $R_1=NH_2 \cdot HCl$, $R_2=HCl$; 2б— $R=CH_3$, $R_1=NH_2$; 2в— $R=H$, $R_1=NHCO(CH_2)_2COOH$; 3a— $R=H$, $R_1=NHCOCH_3$, $R_2=HCl$; 3б— $R=H$, $R_1=H$, $R_2=HCl$

світло-коричневий колір), більшість яких розчиняється у воді та метанолі. Фізико-хімічні властивості синтезованих сполук представлено в табл. 1.

Вивчення гострої токсичності нових сполук дало змогу віднести їх до малотоксичних (100–1000 мг/кг) та нетоксичних (>1000 мг/кг). Виняток становили метиловий ефір *S*-(7-метокси-1,2,3,4-тетрагідроакридин-9-іл)-*L*-цистеїну (сполука **2б**) і гідрохлорид 3-(акридин-9-ілтіо)пропіонової кислоти (сполука **3б**), які ви-

явилися високотоксичними сполуками ($LD_{50} = 77$ і 83 мг/кг відповідно). Гідрохлориди проявляють більш токсичну дію, що можна пояснити їх кращою розчинністю у воді (рис. 1).

При порівнянні дигідрохлориду *S*-(піридин-4-іл)-*L*-цистеїну і *S*-(піридин-4-іл)-*N*-сукциноїл-*L*-цистеїну з відповідними похідними, які замість гетероциклічної системи піридину містять 7-метокси-1,2,3,4-тетрагідроакридин, було виявлено, що токсичність останніх більша вдвічі.

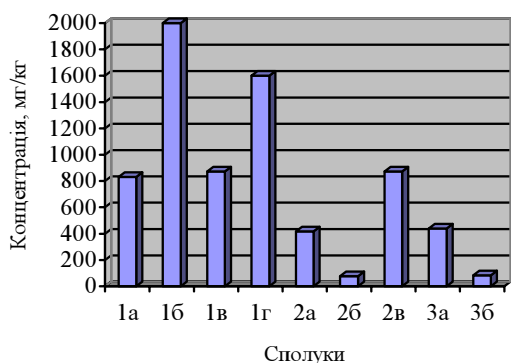
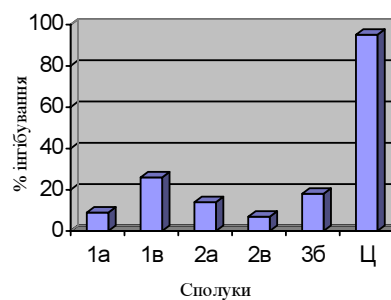


Рис. 1. Результати визначення гострої токсичності *S*-гетерилзаміщених *L*-цистеїну і його структурних аналогів.



Примітка: Ц — цистеїн (еталон порівняння)

Рис. 2. Антирадикальна активність *S*-гетерилзаміщених *L*-цистеїну і його структурних аналогів.

Таблиця 1

Фізико-хімічні властивості S-гетерилзаміщених L-цистеїну та його структурних аналогів

Сполука	Гетероцикл	R	R ₁	Емпірична формула	T _{пл} (°C)	Хроматографічний аналіз	Вихід, %
						Система розчинників: хлороформ-метанол (4:1); Rf*100	
1а*	Піридин	H	NH ₂ ·HCl	C ₈ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O ₂ S	148-150	61	52
1б	Піридин	H	NH ₂	C ₈ H ₁₀ N ₂ O ₂ S	153-155	64	52
1в	Піридин	CH ₃	NH ₂ ·HCl	C ₉ H ₁₃ ClN ₂ O ₂ S	128-130	6	50
1г	Піридин	H	NHCO(CH ₂) ₂ COOH	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O ₆ S	143-145	58	57
2а*	7-Метокси-9-хлор-1,2,3,4-тетрагідроакридин	H	NH ₂ ·HCl	C ₁₇ H ₂₂ Cl ₂ N ₂ O ₃ S	169-170	7	50
2б	7-Метокси-9-хлор-1,2,3,4-тетрагідроакридин	CH ₃	NH ₂	C ₁₈ H ₂₂ N ₂ O ₃ S	107-109	98	64
2в	7-Метокси-9-хлор-1,2,3,4-тетрагідроакридин	H	NHCO(CH ₂) ₂ COOH	C ₂₁ H ₂₄ N ₂ O ₆ S	157-158	53	50
3а*	Акридин	H	NHCOCH ₃	C ₁₈ H ₁₇ ClN ₂ O ₃ S	222-225	92	51
3б*	Акридин	H	H	C ₁₈ H ₁₄ ClNO ₃ S	238-240	97	87

Примітка: * — R₂=HCl.

Серед досліджуваних сполук до нетоксичних належать S-(піридин-4-іл)-N-сукциноіл-L-цистеїн і S-(піридин-4-іл)-L-цистеїн, LD₅₀ яких становить більше 1600 та 2000 мг/кг відповідно.

Аналіз результатів дослідження антирадикальної активності нових S-гетерилзаміщених L-цистеїну і його структурних аналогів на моделі аутоокислення адреналіну в адренохром свідчить, що ці сполуки наділені слабкою активністю (рис. 2).

Здобуті результати вказують на перспективність дослідження цього ряду сполук на інших моделях вивчення антиоксидантної активності.

Висновки. Проведено цілеспрямований синтез і створено комбінаторну бібліотеку S-гетерилзаміщених L-цистеїну взаємодією галогенпохідних відповідних гетероциклів із цистеїном та його структурними аналогами. Визна-

чення гострої токсичності синтезованих сполук показало, що вони, згідно з класифікацією К.К. Сидорова, є малотоксичними або нетоксичними (S-(піридин-4-іл)-N-сукциноіл-L-цистеїн і S-(піридин-4-іл)-L-цистеїн). Установлено, що заміна в молекулі гетероциклічної системи піридину на акридин або 7-метокси-1,2,3,4-тетрагідроакридин веде до збільшення токсичності. Гідрохлориди проявляють більш токсичну дію. Вивчено антирадикальну дію S-гетерилзаміщених L-цистеїну. Досліджені сполуки проявляють слабку антирадикальну активність. Найбільша активність (26 %) властива гідрохлориду метилового ефіру S-(піридин-4-іл)-L-цистеїну (сполука **1в**). Модифікація молекули шляхом блокування аміногрупи залишком бурштинової кислоти (сполука **2в**) веде до незначного зниження активності.

Надійшла в редакцію 27.10.2010 р.

Synthesis and biological activity of S-geterilsubstitutes of L-cysteine and its analogs

Y.Y. Petrusha, L.A. Omelyanchik, A.A. Brazhko, M.P. Zavgorodny

Zaporizhzhya National University
66 Zhukovskogo Str., Zaporizhzhya, 69600, Ukraine

Summary. It was synthesized new S-geterilsubstitutes of L-cysteine and its structural analogs, it was investigated their acute toxicity and antiradical activity on model autooxidation of adrenaline.

Keywords: S-geterilsubstitutes of L-cysteine, acute toxicity, antiradical activity.

Перелік літератури

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. В 2 т. / М.Д. Машковский. — М.: Новая волна, 2000. — Т. 2. — 608 с.
2. Мельников Н.Н. Пестициды. Химия, технология и применение / Н.Н. Мельников. — М.: Химия, 1987. — 712 с.
3. Омелянчик Л.А. Синтез, свойства и биологическая активность N- и S-замещенных акридина, хинолина и пиридина: дисс. ... доктора фарм. наук / Омелянчик Людмила Александровна. — Запорожье, 1991. — 367 с.
4. Сухомлинов О.К. Акридин — основа для констрування лікарських засобів / О.К. Сухомлинов, Кумар Шаха Дилип, З.Г. Сичова, О.І. Сухомлинова // Фармацевтичний журнал. — 1984. — № 1. — С. 29-34.
5. Бражко О.А. Біологічно активні похідні хіноліну та акридину з азото- та сірковмісними функціональними групами: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня док. біол. наук. — Запоріжжя, 2005. — 43 с.
6. Антиоксидантные и антитоксические свойства ацетилцистеина // Український медичний часопис. — XI/XII 1999. — № 6 (14). — С. 74-80.
7. Khan M.N. Kinetics and mechanism of thiolytic cleavage of the antitumor compound 4'-[(9-acridinyl)amino]methanesulfon-*m*-anisidide / M.N. Khan, L. Malspeis // J. Org. Chem. — 1982. — No. 47. — P. 2731-2740.
8. Омелянчик Л.О. Про взаємодію 9-хлоракридину з L(-)-цистеїном / Л.О. Омелянчик, М.П. Завгородній, О.А. Бражко // Вісник Запорізького державного університету. — 1998. — № 1. — С. 1-4.
9. Омелянчик Л.О. Біологічна активність S-гетерилпохідних L(-)-цистеїну / Л.О. Омелянчик, О.А. Бражко, І.Ф. Беленічев, М.П. Завгородній, С.Н. Варламов, В.В. Івчук // Питання біоіндикації та екології. — 2000. — Вип. 5. — № 3. — С. 153-159.
10. Oshima R. Synthesis of poly[S-(2-9'-acridinylethyl)-L-cysteine] and its TCNQ salt / R. Oshima, T. Sato, J. Kumanotani // Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition. — 2003. — Vol. 23, Issue 3. — P. 787-793.
11. Ross. The preparation of some 4-substituted nicotinic acids and nicotinamides / Ross // J. Chem. Soc. (C). — 1966. — P. 1816-1820.
12. Поройков В.В. Компьютерное предсказание биологической активности химических веществ: виртуальная хемогеномика / В.В. Поройков, Д.А. Филимонов, Т.А. Глориозова, А.А. Лагунин и др. // Вестник ВОГиС. — 2009. — Т. 13, № 1. — С. 137-143.
13. Петруша Ю.Ю. Комп'ютерний прогноз біологічної активності як перший етап синтезу S-гетерилзаміщених L-цистеїну / Ю.Ю. Петруша, Л.О. Омелянчик // Медична хімія. — 2010. — Т. 12, № 2 (43). — С. 27-35.
14. Прозоровский В.Б. Табличный экспресс-метод определения средних эффективных мер воздействия на биологические объекты / В.Б. Прозоровский // Токсикологический вестник. — 1998. — № 1. — С. 28-32.
15. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы / Т.В. Сирота // Вопросы медицинской химии. — 1999. — № 31. — С. 3-14.
16. Губський Ю.І. Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних сполук при ініціюванні вільнорадикальних процесів у дослідях *in vitro*. Методичні рекомендації / Ю.І. Губський, В.В. Дунаєв, І.Ф. Беленічев та ін. — Київ, 2002. — 27 с.
17. Общая органическая химия / В 12-ти т. Пер. с англ. Под ред. Н.К. Кочеткова. — М.: Химия. — Т. 8. Азотсодержащие гетероциклы / Д.М. Смит, А.Е. Портер, П.А. Кларе и др. Пер. с англ. Г.Я. Кондратьевой, Н.С. Вульфсона. — 1985. — 751 с.