

© Коллектив авторов, 2007

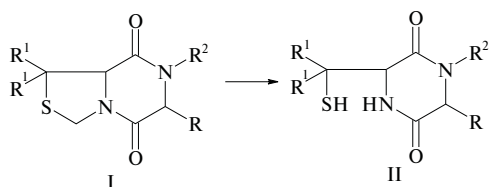
Э. С. Кричевский, Л. М. Алексеева, В. А. Паршин, М. А. Калинин,
В. В. Чернышев, В. Г. Граник

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НОВЫХ N-АЦИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ТИАЗОЛИДИН-4-КАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ

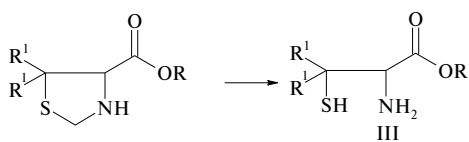
ФГУП Государственный научный центр "ГНЦА", Москва

Взаимодействием метилового эфира 3-хлорацетилтиазолидин-4-карбоновой кислоты с 2-, 3- и 4-аминопиридинами синтезированы 2-амино-1-[[[(4-метоксикарбонилтиазолидин-3-ил)карбонил]метил]пиридиний хлорид (V), 3-амино-1-[[[(4-метоксикарбонилтиазолидин-3-ил)карбонил]метил]пиридиний хлорид (VI), 6-(3-аминопиридиний-1-ил)-5-оксо-5,7а-дигидро-1Н-пирроло[1,2с]тиазол-7-олят (VII) и 6-(4-аминопиридиний-1-ил)-5-оксо-5,7а-дигидро-1Н-пирроло[1,2с]тиазол-7-олят (VIII), оказывающие значимое влияние на процессы обучения и запоминания у экспериментальных животных. Анализ этой активности с помощью холинергических веществ показал, что у этих соединений в определенной степени присутствует влияние на центральную холинергическую систему.

Ранее было показано, что производные тиазолидин-4-карбоновой кислоты довольно легко подвергаются в водных средах расщеплению цикла с образованием соответствующих замещенных α-аминокислот [1, 2]. В работе [3] установлено, что бициклические тиазолинопиперазины (I) также расщепляются в водной среде с образованием меркаптометилпиперазидионов (II).



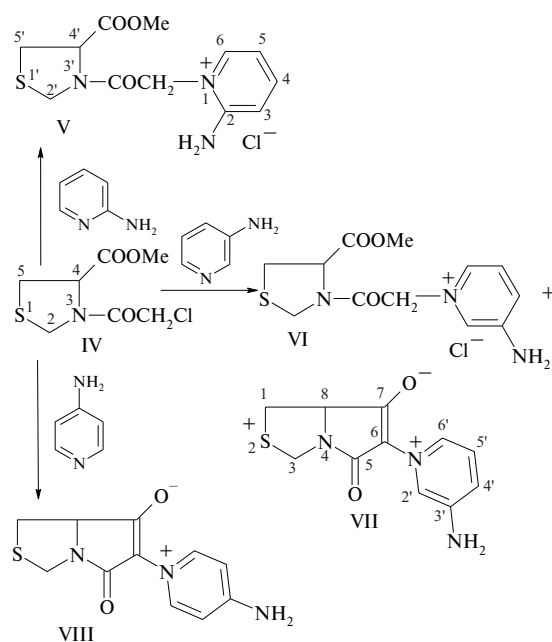
Если учесть, что при гидролитической трансформации тиазолидин-4-карбоновых кислот образуются замещенные цистеины (III) [3, 4], которые, как известно, являются ингибиторами киназы II (ангиотензин конвертирующего фермента — ACE) [5, 6], то такого рода соединения представляют несомненный интерес в плане получения на их основе новых антигипертензивных средств [7 – 9].



Другая сторона функций ингибиторов киназы II привлекает меньше внимания. Дело в том, что в литературе имеются сведения о том, что такие ингибиторы (в частности, каптоприл) обладают свойствами значимых активаторов когнитивных функций [10].

Исходя из приведенных данных, в настоящей работе предпринята попытка объединить в единые структуры фрагменты тиазолидин-4-карбоновой кислоты и аминопиридинов, поскольку среди различных аминопиридиновых соединений найдены вещества, оказывающие выраженное влияние на ЦНС и, в частности, на активацию когнитивных функций. Так, известно [11], что производные 4-аминопиридина вызывают высвобождение ацетилхолина в коре головного мозга, а ряд аминопиридиновых производных обладает отчетливым стимулирующим влиянием на холинергическую передачу в центральных и периферических отделах ЦНС [12].

В качестве исходного соединения был выбран синтезированный ранее [3] метиловый эфир 3-хлорацетилтиазолидин-4-карбоновой кислоты (IV), который был введен в реакции с 2-, 3- и 4-аминопиридинами. В результате были получены моноциклические (V, VI) и бициклические (VII, VIII) пиридиниевые соли.



Реакция хлорацетильного производного (IV) с 2-аминопиридином протекает по циклическому азоту — в

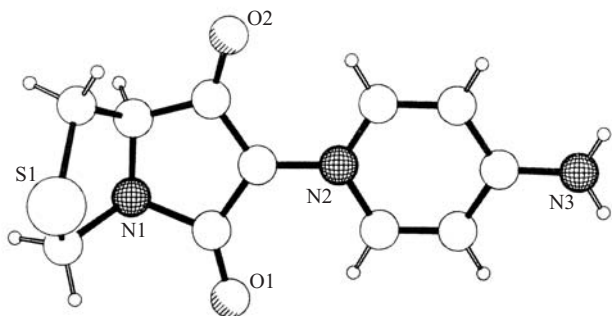
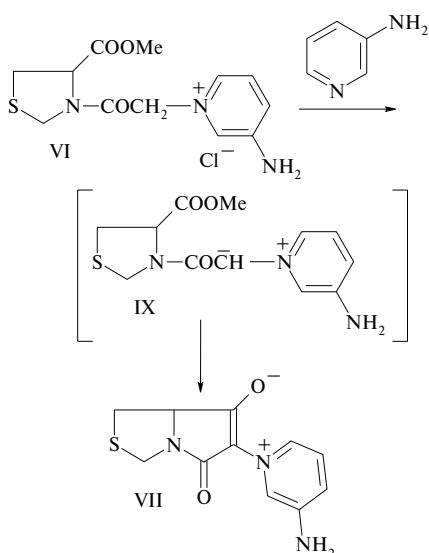


Рис. 1. Структура молекулы VIII по результатам порошкового РСА.

результате с выходом 63 % выделен хлорид (V). При взаимодействии IV с 3-аминопиридином образуются 2 соединения: ожидаемый продукт алкилирования по пиридиновому азоту VI цвиттер-ионное производное пирроло[1,2с]тиазола VII. Следует отметить, продукты VI и VII образуются, по-видимому, в результате последовательных реакций. На это указывает тот факт, что при нагревании раствора VI в изопропиловом спирте выделен бицикл VII.

При реакции IV с 4-аминопиридином удалось выделить в индивидуальном виде только бициклический цвиттер-ион (VIII). Структура полученных соединений доказана с применением ЯМР- и масс-спектров. Цвиттер-ионные соединения возникают за счет циклизации хлоридов типа VI с участием метоксикарбонильной группы и группы CH_2 , обладающей заметной кислотностью, вследствие близости электроноакцепторного пиридинового фрагмента. Представляется вероятным, что образованию интермедиатов типа IX, включающих в свой состав анионные центры, способствуют имеющиеся в смеси довольно сильные основания — аминопиридины.



Поскольку образование цвиттер-ионов VII и VIII явилось достаточно неожиданным, для первого из них получены данные рентгеноструктурного анализа (РСА), достоверно подтверждающего его структуру.

Для определения пространственного строения VIII был использован метод порошковой дифракции [13], по результатам которого удалось установить параметры орторомбической элементарной ячейки $a = 14,070(8) \text{ \AA}$, $b = 15,872(9) \text{ \AA}$, $c = 9,893(5) \text{ \AA}$ и пространственную группу симметрии $Pbca$. Дифракционные измерения проводили в порошковой камере Гинье, $\text{Cu K}\alpha_1$ излучение. На рис. 1 представлена молекула соединения VIII, полученная по итогам определения и уточнения ее структуры из рентгеновских порошковых данных. Детальное описание эксперимента РСА порошка, решения и уточнения кристаллической и молекулярной структуры VIII, а также координаты атомов будут приведены позднее в отдельной публикации.

Экспериментальная химическая часть

Масс-спектры зарегистрированы на масс-спектрометре “Waters ZQ-2000”, электроспрей, с вводом образца, минуя хроматографическую колонку. Спектры ЯМР ^1H получены на спектрометре “Bruker AC-300” в DMSO-d_6 с использованием стандартных методик фирмы. Контроль за ходом реакций и индивидуальностью веществ осуществляли методом ТСХ на пластинках “TLC-Cards Silica gel” (Fluka), в системе хлороформ–метанол, 9:1, проявление в УФ-свете. Выходы, данные элементного анализа и физико-химические характеристики синтезированных соединений представлены в табл. 1. Температуры плавления определены на нагревательном столике типа “Voetius”.

2-Амино-1-[[4-метоксикарбонилтиазолидин-3-ил]-карбонил]метил]пиридиний хлорид (V).

Смесь 0,015 моль IV, 0,03 моль 2-аминопиридина в 50 мл изопропилового спирта кипятят 8 ч. Реакционную массу охлаждают, осадок отфильтровывают, сушат, получают хлорид V.

ПМР-спектр ($\text{DMSO-d}_6 + \text{CDCl}_3$), смесь *цис*- и *транс*-изомеров, δ , м. д.: *транс* (70 %) 3,66 с (3H, COOMe), 4,68, 4,83 АВ система (по 1H, 2- CH_2), 4,91 дд (1H, $J_{\text{внц}(1)}$ 7,0 Гц, $J_{\text{внц}(2)}$ 3,4 Гц, 4-H), 5,45 АВ система (4H, $\text{N}^+ \text{CH}_2$), 6,79; 7,13; 7,76; 7,85 все м (все по 1H, Py), 8,80 уш. с. (2H, NH_2), *цис* 3,78 с (3H, COOMe), 4,37; 4,62 АВ система (по 1H, 2- CH_2), 5,04; 5,61 АВ система (4H, $\text{N}^+ \text{CH}_2$), 5,51 д (1H, $J_{\text{внц}}$ 5,6 Гц, 4-H), 6,79; 7,13; 7,76; 7,85 все м (все по 1H, Py), 8,80 уш. с. (2H, NH_2),

3-Амино-1-[[4-метоксикарбонилтиазолидин-3-ил]-карбонил]метил]пиридиний хлорид (VI), 6-(3-аминопиридиний-1-ил)-5-оксо-5,7-а-дигидро-1H-пирроло[1,2с]тиазол-7-олят (VII).

Кипятят 8 ч раствор 0,01 моль соединения IV, 0,02 моль 3-аминопиридина в 40 мл изопропилового спирта. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают изопропиловым спиртом, сушат, получают соединение VI.

ПМР-спектр ($\text{DMSO-d}_6 + \text{CDCl}_3$), смесь *цис*- и *транс*-изомеров, δ , м. д.: *транс* (70 %) 3,66 с (3H, COOMe), 4,67; 4,84 АВ система (по 1H, 2- CH_2), 4,92 дд

Таблица 1
Физико-химические свойства синтезированных соединений

Соединение	Выход, %	Т. пл., °С, растворитель	M ⁺	Брутто-формула
V	63,1	200 – 202 (спирт)	317	C ₁₂ H ₁₆ ClN ₃ O ₃ S
VI	37,8	190 – 192 (спирт)	317	C ₁₂ H ₁₆ ClN ₃ O ₃ S
VII	40,1	206 – 208 (вода)	249	C ₁₁ H ₁₁ N ₃ O ₂ S
VIII	58,3	245 – 246 (вода)	249	C ₁₁ H ₁₁ N ₃ O ₂ S

(1H, J_{виц(1)} 7,0 Гц, J_{виц(2)} 3,4 Гц, 4-Н), 5,85 АВ система (4Н, N⁺ CH₂), 6,72 уш. с. (2Н, NH₂), 7,54; 7,66; 8,00 все м (по 1Н, 1Н, 2Н, Ру), *цис* 3,77 с (3Н, COOMe), 4,39; 4,59 АВ система (по 1Н, 2-CH₂), 5,21; 5,98 АВ система (4Н, N⁺ CH₂), 5,55 д (1Н, J_{виц} 4,7 Гц, 4-Н), 6,69 уш. с. (2Н, NH₂), 7,54; 7,66; 8,00 все м (по 1Н, 1Н, 2Н, Ру).

Маточный раствор после отделения соединения VI упаривают, осадок отфильтровывают, сушат, получают соединение VII. ПМР-спектр (ДМСО-d₆), δ, м. д.: 2,94 дд (1Н, J_{гем} 11,3 Гц, J_{виц(1)} 4,7 Гц, 1-CH_a), 3,25 дд (1Н, J_{гем} 11,3 Гц, J_{виц(2)} 8,6 Гц, 1-CH_b), 3,96 дд (1Н, J_{виц(1)} 4,7 Гц, J_{виц(2)} 8,6 Гц, 8-Н), 4,00; 4,90 два д (по 1Н, J_{гем} 10,0 Гц, 3-CH₂), 6,32 уш. с. (2Н, NH₂), 7,24 дд (1Н, J_{орто} 8,5 Гц, J_{мета} 2,5 Гц, 4'-Н), 7,55 дд (1Н, J_{орто(1)} 8,5 Гц, J_{орто(2)} 6,2 Гц, 5'-Н), 8,90 д (1Н, J_{орто} 6,2 Гц, 6'-Н), 9,12 уш. с. (1Н, 2'-Н).

Это же соединение образуется с выходом 16 % при кипячении соединения VI в пиридине в течение 16 ч. Смешанная проба плавления не дает депрессии с веществом, полученным ранее.

6-(4-Аминопиридиний-1-ил)-5-оксо-5,7а-дигидро-1Н-пирроло[1,2с]тиазол-7-олят (VIII).

Раствор 0,01 моль соединения IV, 0,02 моль 4-аминопиридина в 50 мл изопропилового спирта кипятят 8 ч, оставляют на ночь. Раствор упаривают до 0,5 объема, оставляют в холодильнике на 4 ч. Отфильтровывают выпавший осадок соединения VIII, сушат.

ПМР-спектр (ДМСО-d₆), δ, м. д.: 2,93 дд (1Н, J_{гем} 11,3 Гц, J_{виц(1)} 4,3 Гц, 1-CH_a), 3,18 дд (1Н, J_{гем} 11,3 Гц, J_{виц(2)} 8,7 Гц, 1-CH_b), 3,87 дд (1Н, J_{виц(1)} 4,3 Гц, J_{виц(2)} 8,7 Гц, 8-Н), 3,94; 4,84 два д (по 1Н, J_{гем} 9,8 Гц, 3-CH₂), 7,77 уш. с. (2Н, NH₂), 6,81; 8,51 м (оба по 2Н, 2', 3', 5', 6'-Н).

Отметим, что сигналы 5-CH₂ в соединениях V и VI перекрываются сигналом воды в ДМСО в районе 3,33 м. д. и не могут быть детально охарактеризованы.

Экспериментальная биологическая часть

Исследования проводили на беспородных белых мышах-самцах массой 20 – 24 г, по 10 – 12 животных в группе.

Изучали влияние соединений на выработку условной реакции пассивного избегания (УРПИ) у мышей в условиях нарушения ее скополамином, влияние на центральные эффекты ареколина и на активность холинэстеразы в опытах *in vitro*. Кроме того, оценивали общее действие и острую токсичность при введении внутрь.

Таблица 2
Влияние производных 2,3,4-аминопиридинов на скополаминую амнезию и холиномиметические эффекты физостигмина и ареколина у мышей

Соединения, введение за 40 мин до скополамина (1 мг/кг)	Дозы, мг/кг, р. о.	УРПИ		
		% мышей с удержанием на платформе 1 мин (при тестировании)	физостигмина, (0,5 мг/кг, в/в) Летальность (%)	ареколина (16 мг/кг, п/к) Тремор (мин.)
1 % раствор КМЦ (контроль)	–	30 (24)	25 (24)	19,6 ± 1,1 (24)
ОФ 6145	3,0 (в/б)	62,5* (20)	19,4 (16)	22,0 ± 1,2 (16)
V	30	60,0* (20)	33,3 (20)	25,7 ± 1,1* (20)
	100	63,7* (12)	–	–
VI	30	40,0 (20)	25,0 (16)	15,9 ± 0,9 (20)
	100	–	–	–
VIII	30	50,0 (20)	19,7 (20)	22,0 ± 1,1 (12)
	100	75,0* (12)	–	–

* Различия с контролем достоверны при $p < 0,05$. В скобках указано количество животных, использованных в опыте.

Влияние на выработку УРПИ изучали в эксперименте по методу *step down* [14], в камере размером 24 × 20 × 20 см с электродным полом, в центре которого помещалась деревянная платформа диаметром 9 см, высотой 2 см. Обучение проводили в течение 3 сессий. При уходе на пол животному наносили электрическое раздражение через лапы с параметрами 50 в течение 3 – 5 с и сразу удаляли из камеры. Тестирование проводили через 2 ч после обучения. Критерием обучения являлось удержание животного на платформе в течение 1 мин. Нарушение обучения УРПИ моделировали острым введением центрального холиноблокатора скополамина (1 мг/кг, в/б) за 15 мин до обучения. Соединения вводили перорально в дозах 10, 30 и 100 мг/кг за 40 – 60 мин до скополамина.

Для оценки влияния на центральную и периферическую холинэргическую систему исследовали взаимодействие с физостигмином и ареколином [15]. Центральное холиномиметическое действие оценивали по способности усиливать тремор, вызываемый введением ареколина (16 мг/кг, п/к).

Антихолинэстеразную активность изучали в опытах *in vitro* с применением стандартного набора реактивов для определения ХЭ фирмы Lachema (Чешская Республика). Определение проводили на ФЭКе модели КФ-2-УХЛ-4.2 (Россия). Ингибирующую активность выражали в ИК₅₀, концентрации ингибитора, при которой активность фермента блокируется на 50 % по сравнению с контролем.

Общее действие оценивали при визуальном наблюдении за поведением и состоянием животных при изучении переносимости и острого токсического действия. Исследуемые соединения вводили перорально, в

желудок, в виде взвеси в 1 % растворе КМЦ, в дозах 10 – 30 – 100 – 300 и 900 мг/кг.

Результаты обрабатывали статистически с вычислением средних значений активности, достоверность различий оценивали при 95 % уровне вероятности.

Результаты и их обсуждение

Исследования проводили в сравнении с изученным ранее активным производным аминопиридина (ОФ 6145) [16, 17].

Как показали исследования, после 3-ей сессии обучения на фоне предварительного введения исследуемых соединений и скополамина, количество обучившихся животных составляет 20 – 30 %. Это количество обученных животных сохраняется в контрольной группе при тестировании через 2 ч. Соединение ОФ 6145 в дозе 3 мг/кг, в/б при тестировании через 2 ч увеличивает количество обученных животных на фоне скополамина до 62 %. Введение мышам соединений V, VI, VIII в дозе 10 мг/кг показало, что они по активности не отличаются от контрольной группы со скополамином. Однако в дозе 30 мг/кг соединения V, VI, VIII достоверно увеличивают количество обученных животных до 40 – 60 %, а в дозе 100 мг/кг — до 50 – 70 % (табл. 2).

Исследование взаимодействия соединений с ареколином (0,25 мг/кг, п/к) проводили в дозе 30 мг/кг. Соединения V, VI, VIII в 1,5 – 2 раза увеличивают продолжительность ареколинового тремора у мышей. Эти данные могут свидетельствовать о наличии у соединений определенного влияния на холинергическую систему мозга и организма в целом.

Исследование соединений V, VI, VIII по влиянию на активность холинэстеразы показало, что соединения в этом аспекте практически не активны.

Исследование общего действия, переносимости и токсичности показало, что соединения V, VI, VIII, в отличие от ОФ 6145, в указанном диапазоне доз не изменяют общего состояния и поведения животных. ЛД₅₀ для этих соединений составляет более 1000 мг/кг.

Таким образом, исследованные соединения оказывают значимое влияние на процессы обучения и запоминания у экспериментальных животных. Анализ этой активности с помощью холинергических веществ показал, что у соединений в определенной степени присутствует влияние на центральную холинергическую систему.

Работа выполнена при финансовой поддержке Федерального агентства по науке и инновациям (контракт № 1/05).

ЛИТЕРАТУРА

1. S. Rather and H. T. Clarke, *J. Am. Chem. Soc.*, **59**, 200 – 206 (1937).
2. R. Riemschneider and G. A. Hoyer, *Z. Naturforsch.*, **186**, 25 – 30 (1963).
3. С. И. Гризик, Э. С. Кричевский, Е. Ф. Кулешова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **27**(3), 17 – 22 (1993).
4. И. Ф. Фаермарк, Г. Я. Шварц, С. И. Гризик, В. Г. Граник, *Хим.-фарм. журн.*, **24**(4), 35 – 38 (1990).
5. Г. Я. Шварц, В. Г. Граник, *Хим.-фарм. журн.*, **16**(3), 271 – 282 (1984).
6. Г. Я. Шварц, *Фармакол. и токсикол.*, **2**, 105 – 115 (1984).
7. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, изд. 13, Харьков, Торгсин (1997).
8. М. Д. Машковский, *Лекарства XX века*, “Новая волна”, Москва (1998).
9. В. Г. Граник, “Лекарства”. *Фармакологический, биохимический и химический аспекты*, Вузовская книга, Москва (2001).
10. T. M. Barnes, N. M. Barnes, B. Costall, et al., *ACE Inhibition and Cognition*, in: “Current Advances in ACE Inhibition”, G. A. MacGregor, P. S. Sever (eds.), Churchill Livingstone, Edinburgh, London, Melbourne, New-York (1989), pp. 160 – 171.
11. F. Casamenti, R. Corradetti, K. Löffelholz, et al., *Br. J. Pharmacol.*, **76**, 439 – 445 (1982).
12. K. Löffelholz and W. Weide, *TIPS*, **3**, 147 – 149 (1982).
13. В. В. Чернышев, *Изв. РАН, Сер. Хим.*, 2171 (2001).
14. R. Cumin, E. F. Bandle, E. Gamzu, and W. E. Haefely, *Psychopharmacology (Berl.)*, **78**, 104 – 111 (1982).
15. C. J. E. Neemegeers, F. Awouters, F. M. Lenaerts, et al., *Arch. Pharmacodyn. Ther.*, **259**, 153 – 165 (1982).
16. В. Л. Дорофеев, В. В. Чистяков, А. П. Арзамасцев, *Хим.-фарм. журн.*, **31**(5), 53 – 54 (1997).
17. В. Л. Дорофеев, В. В. Чистяков, А. П. Арзамасцев, *Хим.-фарм. журн.*, **31**(11), 3 – 4 (1997).

Поступила 19.06.06

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF NEW N-ACYL-THIAZOLIDINE-4-CARBOXYLIC ACID DERIVATIVES

E. S. Krichevskii, L. M. Alekseeva, V. A. Parshin, M. A. Kalinkina, V. V. Chernyshov, and V. G. Granik

State Scientific Center for Antibiotics, Moscow, Russia

2-Amino-1-[(4-methoxycarbonyl thiazolidin-3-yl)carbonyl]pyridinium chloride, 3-amino-1-[(4-methoxycarbonyl thiazolidin-3-yl)carbonyl]pyridinium chloride, 6-(3-aminopyridinium-1-yl)-5-oxo-5,7a-dihydro-1H-pyrrolo[1,2-c]thiazol-7-olate, and 6-(4-aminopyridinium-1-yl)-5-oxo-5,7a-dihydro-1H-pyrrolo[1,2-c]thiazol-7-olate were synthesized via the interaction of thiazolidine-4-carboxylic acid methyl ester with 2-, 3- and 4-aminopyridines. The synthesized compounds show significant influence on the learning and memory in experimental animals. An analysis of this activity with the use of cholinergic compounds showed that these N-acyl-thiazolidine-4-carboxylic acid derivatives are capable of influencing the central cholinergic system.