

УДК 547.787 + 547.79: 57.083.3

СИНТЕЗ І ДОСЛІДЖЕННЯ ВАЗОАКТИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НОВИХ ФОСФОРИЛЬОВАНИХ ПЕПТИДОМІМЕТИКІВ

І.Н.Яковенко, О.І.Лукашук, К.М.Кондратюк, О.В.Головченко, В.В.Жирнов, В.С.Броварець

Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України
02660, м. Київ, вул. Мурманська, 1. E-mail: brovarets@bpci.kiev.ua

Ключові слова: кровоносні судини; біологічно активні речовини; вазодилататори; пептидоміметики

В роботі представлений синтез нових фосфорильованих пептидоміметиків та проведена оцінка біологічної активності синтезованих сполук. Показана можливість використання похідних діетилових естерів 5-аміно-2-фталімідо-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти для синтезу фосфорильованих пептидоміметиків, які містять всередині пептидного ланцюга залишок фосфогліцину. З цією метою підібрані оптимальні умови розщеплення оксазольного кільця у кислому середовищі. Взаємодією діетилових естерів 2-аміноалкіл-5-алкіламіно-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти з ненасиченими азлактонами синтезовані фосфорильовані пептидоміметики, які містять фрагменти дегідроамінокислот. Розроблений метод синтезу є зручним та препаративним, оскільки перетворення проходять у м'яких умовах, що дозволяє уникнути утворення небажаних побічних продуктів, а пептидоміметики отримують із високими виходами без застосування хроматографічних колонок. Біологічні дослідження виявили вазодилатуючу активність нових похідних фосфорильованих пептидоміметиків у залежності від їх хімічної структури при дії на ізольовану аорту щурів. У статті обговорюються можливі молекулярні механізми їх біологічної активності за участі Ca^{2+} -каналів плазматичних мембран гладеньком'язових клітин судин. Наведені дані впливу на тонус судин інгібітора потенціал-залежних Ca^{2+} -каналів L-типу нітрендипіну, встановлено, що концентраційні залежності вазодилатуючої активності синтезованих нами діетилових естерів 5-алкіламіно-2-{N-[N-бензоіл-(4-метилбензиліден)гліцил]амінометил}-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти і нітрендипіну схожі, що може свідчити про зв'язок виявленого вазодилатуючого ефекту даних сполук з пригніченням кальцієвої системи сигналізації. Дослідження свідчать про безпосередній вплив синтезованих сполук на м'язові клітини судин.

THE SYNTHESIS AND INVESTIGATION OF VASOACTIVE PROPERTIES OF NEW PHOSPHORYLATED PEPTIDOMIMETICS

I.N.Iakovenko, O.I.Lukashuk, K.M.Kondratyuk, A.V.Golovchenko, V.V.Zhyrnov, V.S.Brovarets

Key words: blood vessels; biologically active substances; vasodilators; peptidomimetics

The paper presents the synthesis of new phosphorylated peptidomimetics and their action on the isolated rat aorta. It has been shown that derivatives of diethyl 5-amino-2-phthalimidoalkyl-1,3-oxazol-4-ylphosphonates can be employed in the synthesis of phosphorylated peptidomimetics containing a phosphoglycine residue. For this purpose derivatives of 1,3-oxazol-4-ylphosphonates were decomposed hydrolytically in the acidic medium. The reaction of diethyl 5-alkylamino-2-aminoalkyl-1,3-oxazol-4-ylphosphonates with unsaturated azlactones was used to obtain phosphorylated peptidomimetics with dehydroamino acid groups. The method developed is very convenient and preparative because reactions proceed in mild conditions without formation of undesirable by-products. Peptidomimetics are isolated with high yields and their separation does not require chromatography. Biological research has revealed the vasodilating activity of new derivatives of phosphorylated peptidomimetics depending on their chemical structure when acting on the rat's isolated aorta. The possible molecular mechanisms of this activity with participation of the plasma membrane Ca^{2+} -channels of vascular smooth muscle cells are discussed. The data of impact of an inhibitor of voltage-dependent Ca^{2+} -channels of L-type of nitrendipine on the vascular tone are reported. It has been found that the concentration dependences of the vasodilating activity of the diethyl esters of 5-alkylamino-2-{N-[N-benzoyl-(4-methylbenzylidene)glycyl]aminomethyl}-1,3-oxazol-4-ylphosphonates synthesized and nitrendipine are similar. It can testify about the indirect detection of the vasodilatory effect of these compounds associated with inhibition of the calcium signal system. The study shows a direct effect of the compounds synthesized on the muscle cells of blood vessels.

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ ВАЗОАКТИВНЫХ СВОЙСТВ НОВЫХ ФОСФОРИЛИРОВАННЫХ ПЕПТИДОМИМЕТИКОВ

И.Н.Яковенко, Е.И.Лукашук, К.М.Кондратюк, О.В.Головченко, В.В.Жирнов, В.С.Броварець

Ключевые слова: кровеносные сосуды; биологически активные вещества; вазодилататоры; пептидомиметики

В данной работе представлен синтез новых фосфорилированных пептидомиметиков и проведена оценка биологической активности синтезированных соединений. Показана возможность использования производных диэтиловых эфиров 5-амино-2-фталимидаалкил-1,3-оксазол-4-илфосфоновых кислот для синтеза фосфорилированных пептидомиметиков, которые содержат в середине пептидной цепи остаток фосфоглицина. С этой целью подобраны оптимальные условия расщепления оксазольного кольца в кислой среде. Взаимодействием диэтиловых эфиров 2-аминоалкил-5-алкиламино-1,3-оксазол-4-илфосфоновых кислот с ненасыщенными азлактонами синтезированы фосфорилированные пепти-

домиметики, содержащие фрагменты дегидроаминокислот. Разработанный метод синтеза является удобным и препаративным, так как превращения происходят в мягких условиях, что позволяет избежать образования нежелательных побочных продуктов, пептидомиметики выделены с высокими выходами без применения хроматографических колонок. Биологические исследования обнаружили вазодилатирующую активность новых производных фосфорилированных пептидомиметиков в зависимости от их химической структуры при действии на изолированную аорту крыс. В статье обсуждаются возможные молекулярные механизмы их биологической активности с участием Ca^{2+} -каналов плазматических мембран гладкомышечных клеток сосудов. Приведены данные влияния на тонус сосудов ингибитора потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов L-типа нитрендипина, установлено, что концентрационные зависимости вазодилатирующей активности синтезированных нами диэтиловых эфиров 5-алкиламино-2-{N-[N-бензоил-(4-метилбензилден)глицил]аминометил}-1,3-оксазол-4-илфосфоновых кислот и нитрендипина похожи, что может свидетельствовать о косвенном обнаружении вазодилатирующего эффекта данных соединений, связанного подавлением кальцевой системы сигнализации. Исследования свидетельствуют о непосредственном влиянии синтезированных соединений на мышечные клетки сосудов.

Синтез та вивчення біологічної активності нових хімічних сполук з метою їх подальшого застосування в медичній практиці є одним із основних напрямків фармакології. Метою наших досліджень були синтез та оцінка біологічної активності нових фосфорильованих пептидоміметиків із використанням живої тест-системи органної культури ізольованих сегментів аорти щурів за впливом на їх тонус.

Для одержання нових фосфорильованих пептидоміметиків ми використали властивість оксазольного кільця розщеплюватись у кислому середовищі з утворенням амідів фосфоногліцину [1, 2]. Синтез досліджених сполук було здійснено за схемою 1.

Так, при нагріванні фталімідних похідних 2-аміноалкіл-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти **1** [3] у 70%-ій водній оцтовій кислоті відбувається розкриття оксазольного кільця, в результаті чого з високими виходами отримують фталімідозахиснені фосфонопептидоміметики **2**. При обробці їх спиртовим розчином гідразингідрату відбувається зняття фталімідного захисту з утворенням пептидоміметиків **3**. Цей підхід до синтезу таких сполук зручний тим, що перетворення проходить у м'яких умовах, а побічний продукт реакції – фталазид легко відділяється з реакційної суміші.

5-Аміно-1,3-оксазоли **1** були застосовані для отримання фосфорильованих пептидоміметиків більш складної структури. З цією метою нами були здійснені перетворення **1** → **4** → **5** → **6**. При дії гідразингідрату на сполуки **1** спочатку були виділені діетилові естери 2-аміноалкіл-5-аміно-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти **4**, які при взаємодії з 4-(4-метилбензиліден)-2-феніл-4H-оксазол-5-оном дають оксазоловімісні похідні дегідропептидоміметиків **5** як результат розкриття азлактонного циклу. Розщеплення оксазольного кільця з утворенням фосфорильованих пептидоміметиків **6** проводили нагріванням продуктів **5** у 70% водній оцтовій кислоті.

Склад та будова сполук **2-6** узгоджується з даними елементного аналізу, ІЧ- і ЯМР 1H та ^{31}P спектрів (табл. 1, 2).

Експериментальна хімічна частина

Спектри ЯМР отримані на приладах Bruker AVANCE DRX-500: 1H (500 МГц), ^{31}P (202 МГц) в розчині $CDCl_3$, хімічні зсуви наведені відносно ТМС (внутрішній стандарт) або 85% фосфорної кислоти (зовнішній стандарт). ІЧ-спектри сполук записували на спектрометрі Vertex 70 в KBr або дихлорометані. Температури плавлення визначали на приладі Fisher Johns. Контроль за перебігом реакцій здійснювали за допомогою ТШХ (елюент – дихлорометан-метанол, 95:5).

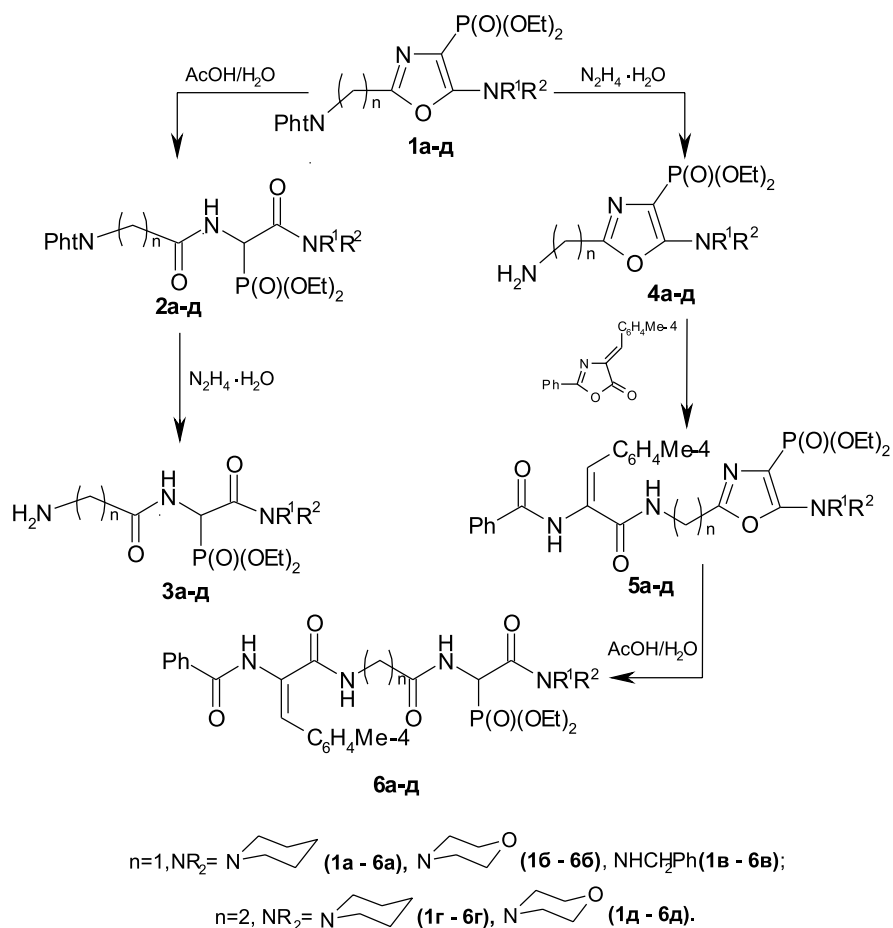
Алкиламід N-(фталімідоацетил)діетоксифосфорилгліцину 2a-в. Розчин 0,01 Моль однієї із сполук **1a-в** в 50 мл суміші оцтова кислота-вода (5:1) нагрівали впродовж 7 год при 75°C на водяній бані, розчинник видаляли у вакуумі. Залишок обробляли 5% розчином соди (20 мл), екстрагували дихлорометаном (3×50 мл), екстракт висушували над $MgSO_4$ і розчинник видаляли при пониженому тиску. Сполуки **2a-в** аналізували без додаткової очистки.

Алкиламід N-(β-фталімідопропіоніл)діетоксифосфорилгліцину 2гд були отримані з оксазолів **1гд** подібно до сполук **2a-в**.

Алкиламід N-(гліцил)діетоксифосфорилгліцину 3a-в. До розчину 0,01 Моль однієї із сполук **2a-в** в 50 мл етанолу додавали 1,2 мл (0,012 Моль) гідразингідрату, суміш нагрівали впродовж 1-2 год при 50-55°C (контроль ТШХ). Осад фталазиду відфільтровували, фільтрат видаляли при пониженому тиску, оливоподібний залишок розчиняли у 20 мл дихлорометану, осад відфільтровували, фільтрат видаляли при пониженому тиску і сполуки **3a-в** аналізували без додаткової очистки.

Алкиламід N-(β-аланіл)діетоксифосфорилгліцину 3гд були отримані із сполук **2гд** подібно до продуктів **3a-в**.

Діетилові естери 5-алкіламіно-2-{N-[N-бензоіл-(4-метилбензиліден)глицил]аминометил}-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти 5a-в. До розчину 0,015 Моль однієї із сполук **4a-в** в 50 мл безводного бензолу додавали 2,6 г (0,01 Моль) 4-(4-метилбензиліден)-2-феніл-4H-оксазол-5-ону,



Схема

Таблиця 1

Характеристики сполук 2-6

Сполука	Формула	Вихід, %	Т.пл., °С	Знайдено, %		Вирахувано, %	
				N	P	N	P
2а	$C_{21}H_{28}N_3O_7P$	95	191-192	9.09	6.63	9.03	6.65
2б	$C_{20}H_{26}N_3O_8P$	93	185-187	8.98	6.62	8.99	6.63
2в	$C_{23}H_{26}N_3O_7P$	88	197-198	8.51	6.28	8.62	6.35
2г	$C_{22}H_{30}N_3O_7P$	96	176-178	6.50	8.69	8.76	6.46
2д	$C_{21}H_{28}N_3O_8P$	90	195-196	6.45	8.72	8.73	6.43
3а	$C_{13}H_{26}N_3O_5P$	75	Олива	12.50	9.26	12.53	9.24
3б	$C_{12}H_{24}N_3O_6P$	76	Олива	123	9.14	12.46	9.18
3в	$C_{15}H_{24}N_3O_5P$	78	Олива	11.79	8.59	11.76	8.67
3г	$C_{14}H_{28}N_3O_5P$	77	Олива	12.06	8.85	12.03	8.87
3д	$C_{13}H_{26}N_3O_6P$	78	Олива	11.99	8.81	11.96	8.82
5а	$C_{30}H_{37}N_4O_6P$	86	69-71	9.68	5.41	9.65	5.33
5б	$C_{29}H_{35}N_4O_7P$	83	79-80	9.65	5.33	9.62	5.32
5в	$C_{32}H_{35}N_4O_6P$	92	83-85	9.29	5.03	9.30	5.14
5г	$C_{31}H_{39}N_4O_6P$	85	75-77	9.48	5.24	9.42	5.21
5д	$C_{30}H_{37}N_4O_7P$	79	65-66	9.34	5.16	9.39	5.19
6а	$C_{30}H_{39}N_4O_7P$	88	86-87	9.39	5.11	9.36	5.17
6б	$C_{29}H_{37}N_4O_8P$	87	94-96	9.36	5.25	9.33	5.16
6в	$C_{31}H_{41}N_4O_7P$	88	93-95	9.19	5.11	9.14	5.06
6г	$C_{30}H_{39}N_4O_8P$	79	77-78	9.15	5.03	9.12	5.04

Таблиця 2

Дані ІЧ-, ЯМР, ^1H та ^{31}P -спектрів синтезованих сполук

Сполука	ІЧ-спектр у, cm^{-1} (KBr) ¹	Спектр ЯМР ^{31}P (CDCl_3), δ, м. ч.	Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3), δ, м.ч.
1	2	3	4
2а	3285 (N-H), 1727, 1677, 1638 (C=O), 1254 (P=O), 1026 (P-O-C), 955 (P-O-C-C)	17.2	1.32 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 3.53 м (2H, NCH_2 , морфолін), 3.66 м (2H, NCH_2 , морфолін), 3.76 м (4H, $\text{O}(\text{CH}_2)_2$, морфолін), 4.17 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 4.48 с (2H, CH_2), 5.52 дд (1H, CH , $^2J_{\text{HP}}$ 18.0 Гц, $^3J_{\text{HH}}$ 8.6 Гц), 7.75, 7.88 м (4H, $o\text{-C}_6\text{H}_4$), 7.83 д (1H, NH , $^3J_{\text{HH}}$ 8.6 Гц)
2б	3331 (N-H), 1725-1656 (C=O), 253 (P=O), 1025 (P-O-C), 961 (P-O-C-C)	17.0	1.25 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 4.13 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 4.44-4.50 м (4H, CH_2 гліцин, CH_2 бензиламін), 5.11 дд (1H, CH , $^2J_{\text{HP}}$ 19.0 Гц, $^3J_{\text{HH}}$ 7.3 Гц), 7.01 д (1H, NH , $^3J_{\text{HH}}$ 7.3 Гц), 7.16 ш.с (1H, NH), 7.28 м (5H, C_6H_5), 7.23-7.86 м (4H, $o\text{-C}_6\text{H}_4$)
2в	3256 (N-H), 1717, 1634 (C=O), 1266 (P=O), 1017 (P-O-C), 977 (P-O-C-C)	19.2	1.29 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 1.62-1.66 м (6H, 3CH_2 піперидин), 2.73 м (2H, CH_2), 3.51 м (1H, N-CH піперидин), 3.57 м (2H, N-CH піперидин), 3.72 м (1H, N-CH піперидин), 4.02 м (2H, CH_2), 4.11 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 5.59 дд (1H, NH , $^2J_{\text{HP}}$ 18 Гц, $^3J_{\text{HH}}$ 8.6 Гц), 7.31 д (1H, NH , $^3J_{\text{HH}}$ 8.6 Гц), 7.72-7.84 м (4H, $o\text{-C}_6\text{H}_4$)
2г	3403 (N-H), 1717, 1644 (C=O), 1245 (P=O), 1023 (P-O-C), 977 (P-O-C-C)	17.6	1.28 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 2.73 м (2H, CH_2), 3.56 м (2H, NCH_2 , морфолін), 3.66 м (1H, NCH , морфолін), 3.75 м (5H, NCH , морфолін, $\text{O}(\text{CH}_2)_2$ морфолін), 4.00 м (2H, CH_2), 4.12 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 5.57 дд (1H, CH , $^2J_{\text{HP}}$ 19.0 Гц, $^3J_{\text{HH}}$ 9.0 Гц), 7.63 д (1H, NH , $^3J_{\text{HH}}$ 9.0 Гц), 7.72-7.83 м (4H, $o\text{-C}_6\text{H}_4$)
2д	3401 (N-H), 1720, 1651 (C=O), 1245 (P=O), 1026 (P-O-C)	17.6	1.34 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 1.59-1.66 м (6H, 3CH_2 піперидин), 1.97 ш.с (2H, NH_2), 3.42 с (2H, CH_2), 3.60 м (3H, $\text{CH}_2\text{NC-N}$ піперидин), 3.68 м (1H, NC-N піперидин), 4.18 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 5.56 дд (1H, CH , $^2J_{\text{HP}}$ 17.0 Гц, $^3J_{\text{HH}}$ 7.3 Гц), 8.13 д (1H, NH , $^3J_{\text{HH}}$ 7.3 Гц)
3а	3298 (N-H), 1638 (C=O), 1233 (P=O), 1049 (P-O-C), 947 (P-O-C-C)	18.1	1.33 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 3.04 ш.с (2H, NH_2), 3.44 с (2H, CH_2), 3.54-3.81 м (8H, 4CH_2 морфолін), 4.18 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 5.53 дд (1H, CH , $^2J_{\text{HP}}$ 17.0 Гц, $^3J_{\text{HH}}$ 6.2 Гц), 8.13 д (1H, NH , $^3J_{\text{HH}}$ 6.2 Гц)
3б	3329 (N-H), 1649 (C=O), 1241 (P=O), 1026 (P-O-C), 965 (P-O-C-C)	17.3	1.29 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 2.40 ш.с (2H, NH_2), 3.44 с (2H, CH_2), 4.08 м (2H, OCH_2CH_3), 4.20 м (2H, OCH_2CH_3), 4.44 дд (1H, CH , $^2J_{\text{HP}}$ 15.0 Гц, $^3J_{\text{HH}}$ 5.2 Гц), 4.54 дд (1H, CH , $^2J_{\text{HP}}$ 15.0 Гц, $^3J_{\text{HH}}$ 6.0 Гц), 5.18 дд (1H, $^2J_{\text{HP}}$ 20.0 Гц, $^3J_{\text{HH}}$ 8.3 Гц), 7.32 м (5H, C_6H_5 ; 1H, NH), 8.03 д (1H, NH , $^3J_{\text{HH}}$ 8.3 Гц)
3в	3309 (N-H), 1675 (C=O), 1247 (P=O), 1025 (P-O-C), 977 (P-O-C-C)	17.1	1.31 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 1.57-1.64 м (6H, 3CH_2 піперидин), 2.61 м (2H, CH_2), 3.13 м (2H, CH_2), 3.56 м (4H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2$ піперидин), 4.15 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 5.48 дд (1H, CH , $^2J_{\text{HP}}$ 17.0 Гц, $^3J_{\text{HH}}$ 6.8 Гц), 8.01 д (1H, NH , $^3J_{\text{HH}}$ 6.8 Гц), 8.17 ш.с (2H, NH_2)
3г	3301 (N-H), 1663 (C=O), 1242 (P=O), 1028 (P-O-C), 963 (P-O-C-C)	18.5	1.31 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 2.64 м (2H, CH_2), 3.14 м (2H, CH_2), 3.52-3.76 м (8H, 4CH_2 морфолін), 4.16 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 5.48 м (1H, CH), 6.28 ш.с (2H, NH_2), 8.18 м (1H, NH)
3д	3291 (N-H), 1652 (C=O), 1231 (P=O), 1026 (P-O-C), 966 (P-O-C-C)	18.2	1.30 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 1.63 м (6H, 3CH_2 піперидин), 2.33 с (3H, CH_3), 3.48 м (4H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2$ піперидин), 4.08 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 4.53 д (2H, CH_2 , $^3J_{\text{HH}}$ 6 Гц), 7.13-7.90 м (9H, C_6H_5 , $n\text{-C}_6\text{H}_4$), 7.30 с (1H, CH), 7.38 ш.с (1H, NH), 8.20 ш.с (1H, NH)
5а	3250 (N-H), 1652 (C=O), 1625 (C-N), 1517 (C-N), 1278 (P=O), 1024 (P-O-C), 966 (P-O-C-C)	14.2	1.31 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 2.34 с (3H, CH_3), 3.58 м (4H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2$ морфолін), 3.78 м (4H, $\text{O}(\text{CH}_2)_2$ морфолін), 4.10 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 4.56 д (2H, CH_2 , $^3J_{\text{HH}}$ 5.2 Гц), 7.05 ш.с (1H, NH), 7.15, 7.34, 7.48, 7.58, 7.87 м (9H, C_6H_5 , $n\text{-C}_6\text{H}_4$), 7.24 с (1H, CH), 7.94 ш.с (1H, NH)
5б	3258 (N-H), 1662 (C=O), 1623 (C-N), 1578 (C=N), 1517 (C-N), 1271 (P=O), 1024 (P-O-C), 967 (P-O-C-C)	13.0	1.27 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 1.63 м (6H, 3CH_2 піперидин), 2.33 с (3H, CH_3), 2.89 м (2H, CH_2), 3.46 м (4H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2$ піперидин), 3.75 м (2H, CH_2), 4.05 м (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 7.10-7.91 м (11H, C_6H_5 , $n\text{-C}_6\text{H}_4$, CH , NH), 8.20 ш.с (1H, NH)
5в	3246 (N-H), 1626 (C=O) (смуга із плечем), 1578 (C=N), 1518 (C-N), 1283 (P=O), 1025 (P-O-C), 966 (P-O-C-C)	14.1	1.27 м (6H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 2.32 с (3H, CH_3), 2.90 м (2H, CH_2), 3.53 м (4H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2$ морфолін), 3.72 м (2H, CH_2), 3.77 м (4H, $\text{O}(\text{CH}_2)_2$ морфолін), 7.02 ш.с (1H, NH), 7.12- 7.88 м (10H, C_6H_5 , $n\text{-C}_6\text{H}_4$, CH), 8.16 ш.с (1H, NH)

Продовження табл. 2

1	2	3	4
5г	3255 (N-H), 1604 (C=O) (смуга з плечем), 1579 (C=N), 1519 (C-N), 1275 (P=O), 1025 (P-O-C), 967 (P-O-C-C)	13.4	1.25 м (6H, 2OCH ₂ CH ₃), 2.34 с (3H, CH ₃), 2.92 м (2H, CH ₂), 3.76 м (2H, CH ₂), 4.02 м (4H, 2OCH ₂ CH ₃), 4.47 д (2H, CH ₂ , ³ J _{HH} 5.7 Гц), 6.32 т (1H, NH, ³ J _{HH} 5.7 Гц), 6.97-7.86 м (16H, 2C ₆ H ₅ , <i>n</i> -C ₆ H ₄ , CH, 2NH), 7.56 ш.с (1H, NH)
5д	3249 (N-H), 1637 (C=O) (смуга з плечем), 1519 (C-N), 1281 (P=O), 1024 (P-O-C), 967 (P-O-C-C)	14.5	1.29 м (6H, 2OCH ₂ CH ₃), 1.55-1.63 м (6H, 3CH ₂ піперидин), 2.33 с (3H, CH ₃), 3.54 м (4H, N(CH ₂) ₂ піперидин), 4.15 м (6H, 2OCH ₂ CH ₃ , CH ₂), 5.54 дд (1H, CH, ² J _{HP} 17.6 Гц, ³ J _{HH} 8.3 Гц)?, 7.13-7.94 м (12H, C ₆ H ₅ , <i>n</i> -C ₆ H ₄ , 2NH), 8.21 с (1H, NH)
6а	3402 (N-H), 1644 (C=O), 1249 (P=O), 1023 (P-O-C), 976 (P-O-C-C)	17.5	1.31 м (6H, 2OCH ₂ CH ₃), 2.34 с (3H, CH ₃), 3.48-3.76 м (8H, 4CH ₂ морфолін), 4.16 м (6H, 2OCH ₂ CH ₃ , CH ₂), 5.49 дд (1H, CH, ² J _{HP} 16.4 Гц, ³ J _{HH} 7.5 Гц), 7.16-7.91 м (12H, C ₆ H ₅ , <i>n</i> -C ₆ H ₄ , CH, 2NH), 8.01 с (1H, NH)
6б	3283 (N-H), 1651 (C=O), 1252 (P=O), 1026 (P-O-C), 975 (P-O-C-C)	17.0	1.20 м (6H, 2OCH ₂ CH ₃), 1.54-1.65 м (6H, 3CH ₂ піперидин), 2.32 с (3H, CH ₃), 2.50 м (1H, CH), 2.60 м (1H, CH), 3.53 м (4H, N(CH ₂) ₂ піперидин), 3.64 м (1H, CH), 3.71 м (1H, CH), 4.08 м (4H, 2OCH ₂ CH ₃), 5.45 дд (1H, CH, ² J _{HP} 17.6 Гц, ³ J _{HH} 8.3 Гц), 7.11-7.95 м (12H, C ₆ H ₅ , <i>n</i> -C ₆ H ₄ , CH, 2NH), 8.55 ш.с (1H, NH)
6в	3250 (N-H), 1627 (C=O), 1260 (P=O), 1025 (P-O-C), 966 (P-O-C-C)	18.3	1.26 м (6H, 2OCH ₂ CH ₃), 2.33 с (3H, CH ₃), 2.58 м (2H, CH ₂), 3.49-3.75 м (10H, 4CH ₂ морфолін, CH ₂), 4.09 м (4H, 2OCH ₂ CH ₃), 5.43 дд (1H, CH, ² J _{HP} 17.7 Гц, ³ J _{HH} 8.0 Гц), 7.04-7.93 м (12H, C ₆ H ₅ , <i>n</i> -C ₆ H ₄ , CH, 2NH), 8.23 ш.с (1H, NH)
6г	3286 (N-H), 1649 (C=O), 1250 (P=O), 1025 (P-O-C), 974 (P-O-C-C)	17.0	1.32 м (6H, 2OCH ₂ CH ₃), 3.53 м (2H, NCH ₂ , морфолін), 3.66 м (2H, NCH ₂ , морфолін), 3.76 м (4H, O(CH ₂) ₂ , морфолін), 4.17 м (4H, 2OCH ₂ CH ₃), 4.48 с (2H, CH ₂), 5.52 дд (1H, NH, ² J _{HP} 18.0 Гц, ³ J _{HH} 8.6 Гц), 7.75, 7.88 м (4H, <i>o</i> -C ₆ H ₄), 7.83 д (1H, NH, ³ J _{HH} 8.6 Гц)

Примітка: ¹ІЧ-спектри сполук **3а-д** були записані у розчині CH₂Cl₂

суміш нагрівали впродовж 5-6 год при 60-65°C (контроль ТШХ), бензол видаляли у вакуумі, залишок розчиняли в 20 мл бензолу та додавали 7 мл петролейного ефіру (70-100°C), суміш залишали на 2-3 год при 5-10°C, розчин декантували, розчинники видаляли у вакуумі і сполуки **5а-в** аналізували та використовували у наступних перетвореннях без додаткової очистки.

Діетилові естери 5-алкіламіно-2-[N-[N-бензоіл-(4-метилбензиліден)гліцил]аміноетил]-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти 5г,д були отримані із сполук **4г,д** подібно до сполук **5а-в**.

Алкіламіди N-[N-[N-бензоіл-(4-метилбензиліден)гліцил]гліцил]діетоксифосфорилгліцину 6а-в були отримані із сполук **5а-в** подібно до продуктів **2а-в**.

Алкіламіди N-[N-[N-бензоіл-(4-метилбензиліден)гліцил]-β-аланіл]діетоксифосфорилгліцину 6г,д були отримані із сполук **5г,д** подібно до продуктів **2а-в**.

Експериментальна біологічна частина

Кільцеві сегменти аорти щурів діаметром 2,5 мм та довжиною 2 мм фіксувались ізометрично в камері з фізіологічним буфером Кребса між сталевим стаціонарним гачком та ізометричним перетворювачем, з'єднаним з самописцем. Експериментальну камеру з судинами перфузували при 37°C буфером Кребса, який містив (в мМ): NaCl – 133; KCl – 4,7; CaCl₂ – 2,5; MgCl₂ – 1,2; NaHCO₃ – 10; NaH₂PO₄ – 1,38; глюкозу – 7,8; HEPES – 10 (pH 7,4).

Вплив сполук на тонус судин досліджували на попередньо скорочених агоністом α₁-адренорецепторів фенілефрином (1·10⁻⁵ М), рівень якого приймали за 100%, як це було описано нами раніше [4]. Досліджувані сполуки розчиняли в диметилсульфоксиді (ДМСО) та вносили в перфузуючий судинний сегмент буфер Кребса. Об'єм ДМСО відповідних максимальних аліквот сполук не перевищував 0,05% та в контрольних експериментах достовірно не впливав на тонус судин.

Дослідження виявили вазодилатуючу активність сполук у залежності від їх хімічної структури (табл. 3). Найбільшу активність виявили сполуки **5а** та **5в**, які, починаючи з порівняно низької концентрації (1·10⁻⁶ М), достовірно зменшували тонус активованих фенілефрином судин. Інші сполуки виявили активність в порівняно більш високих концентраціях: 5·10⁻⁶ М – **6г** та 1·10⁻⁵ М – **2а**, **5б**, **6б** та **6д**. Сполуки **3а**, **3в** та **2д** на тонус судин не впливали. В табл. 3 також наведені дані впливу на тонус судин інгібітора потенціал-залежних Ca²⁺-каналів L-типу нітрэндипіну. Як видно з табл. 3, концентраційні залежності вазодилатуючої активності синтезованих нами сполук **5а** та **5в** і нітрэндипіну схожі, що може свідчити про опосередкованість виявленого вазодилатуючого ефекту даних сполук пригніченням кальцієвої системи сигналізації.

Враховуючи ключову роль ендотелію в регуляції тонусу судин за рахунок ендотеліальних вазодилатуючих факторів (простацикліну, оксиду

Таблиця 3

Вплив нових сполук на тонус попередньо скорочених фенілефрином ($1 \cdot 10^{-5}$ М)
ізолюваних сегментів аорти щурів*

Сполука	Формула	Концентрація, М		
		% від скорочення, викликаного фенілефрином		
		$1 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$
2a		-	-	77,4±2,8
2д		-	-	-
3a		-	-	-
3в		-	-	-
5a		90,3±2,7	43,5±2,5	22,2±1,0
5б		-	-	81,2±2,7
5в		89,1±2,8	33,3±2,2	27,1±1,1
6б		-	-	71,2±2,5
6г		-	70,6±2,8	45,2±1,8
6д		-	-	85,2±2,9
	Нітрєндипін	89,0±2,7	33,2±2,6	29,1±1,9

Примітки. Показники ($M \pm m$; $n = 3$) розраховані як відсоток від прийнятого за 100% скорочення, викликаного фенілефрином ($1 \cdot 10^{-5}$ М);
* – наведені значення, які достовірно відрізняються від контролю ($p < 0,05$).

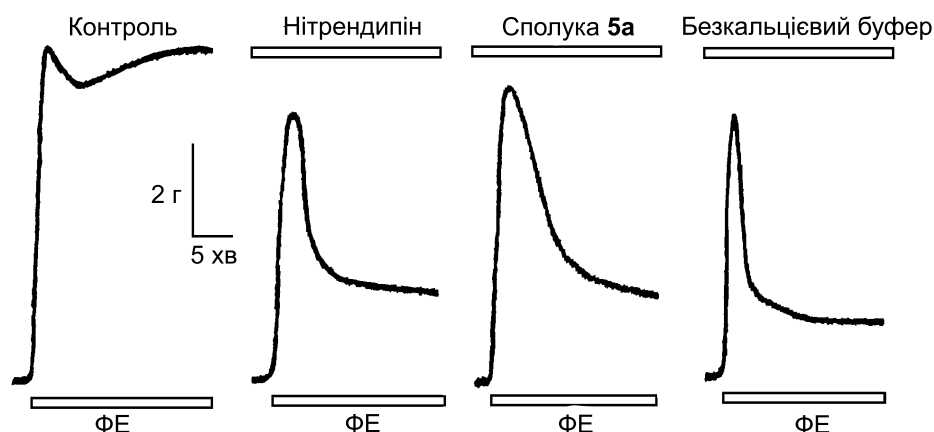


Рис. Типова динаміка ініційованого фенілефрином (ФЕ, $1 \cdot 10^{-5}$ М) скорочення ізольованих сегментів аорти щурів у контролі на фоні дії нітрендипіну ($1 \cdot 10^{-5}$ М) або сполуки **5a** ($1 \cdot 10^{-5}$ М) в стандартному буфері Кребса та в безкальцієвому буфері Кребса.

азоту та ендотеліального гіперполяризуючого фактора), які синтезуються клітинами ендотелію при збільшенні в їх цитозолі концентрації Ca^{2+} , нами були проведені додаткові дослідження впливу найбільш активної сполуки **5a** на тонус сегментів аорти щурів з видаленням ендотелієм порівняно з інтактними судинами. Ендотелій попередньо видаляли механічною обробкою внутрішньої поверхні артерій бавовняним тампоном з подальшим контролем відсутності вазодилатації на ацетилхолін, яка є ендотелій-опосередкованою, як описано нами раніше [5]. Дослідження не виявили суттєвих розбіжностей вазодилатуючої активності сполуки **5a** при її дії на судини з видаленням ендотелієм порівняно з інтактними, що свідчить про безпосередній вплив синтезованих сполук на м'язові клітини судин.

Як відомо, судини скорочуються за рахунок підвищення в цитозолі міоцитів вмісту внутрішньоклітинного Ca^{2+} в результаті збільшення його входу через Ca^{2+} -канали плазматичних мембран, а також вивільнення з внутрішньоклітинних депо. Показано, що початковий транзиторний компонент вазоконстрикції в основному обумовлений вивільненням Ca^{2+} саркоплазматичним ретикуломом, а подальший стійкий тонічний компонент скорочення опосередкований збільшенням входу зовнішньоклітинного Ca^{2+} через плазматичні мембрани [6]. Тому тонічний компонент, на відміну від транзиторного, не спостерігається при перфузії ізольованих судин буфером, що не містить Ca^{2+} [6]. Для більш детального аналізу молекулярного механізму вазодилатативного ефекту синтезованих сполук на кальцієву систему сигналізації нами додатково досліджена динаміка ініційованого фенілефрином скорочення судин в безкальцієвому буфері Кребса, а також на фоні дії нітрендипіну, діетилового естеру 5-алкіламіно-2-[N-[N-бензоіл-(4-метилбензиліден)гліцил]амінометил]-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти **5a**

у стандартному буфері Кребса. При цьому судини попередньо протягом 30 хв до активації фенілефрином ($1 \cdot 10^{-5}$ М) перфузували буфером Кребса з нітрендипіном ($1 \cdot 10^{-5}$ М) або з фосфонатом **5a** ($1 \cdot 10^{-5}$ М). Як видно з рисунка, блокування потенціалзалежних кальцієвих каналів плазматичних мембран нітрендипіном, як і дія сполуки **5a**, мало впливають на початковий транзиторний компонент скорочення судин, викликаючи суттєве пригнічення тонічного компонента. Аналогічна динаміка ініційованої фенілефрином вазоконстрикції спостерігалась за умов попередньої (30 хв) перфузії сегментів аорти безкальцієвим буфером Кребса (рис.). Отримані дані свідчать про можливу опосередкованість виявленої вазодилатуючої активності синтезованих пептидоміметиків інгібуванням потенціал-залежних Ca^{2+} -каналів плазматичних мембран гладеньком'язових клітин судин. Детальні механізми безпосереднього або опосередкованого модифікацією внутрішньоклітинних регуляторних систем інгібування синтезованими сполуками Ca^{2+} -каналів судинних міоцитів можуть бути предметом подальших досліджень.

Висновки

1. Синтезовані та досліджені нові похідні фосфорильованих пептидоміметиків, серед яких знайдені біологічно активні сполуки, які у діапазоні концентрацій $1 \cdot 10^{-6}$ - $1 \cdot 10^{-5}$ М викликають вазодилатацію ізольованих сегментів аорти щурів.

2. Найбільшу вазодилатуючу активність серед досліджених сполук виявляють діетилові естери 5-алкіламіно-2-[N-[N-бензоіл-(4-метилбензиліден)гліцил]амінометил]-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти.

3. Падіння тонусу кровоносних судин при дії нових фосфорильованих пептидоміметиків можливо опосередковане інгібуванням активності Ca^{2+} -каналів плазматичних мембран гладеньком'язових клітин.

Література

1. Röhr G., Schnell M., Köckritz A. // *Synthesis*. – 1992. – Vol. 10. – P. 1031-1034.
2. Кондратюк К.М., Лукашук Е.И., Головченко А.В. и др. // *ЖОХ*. – 2012. – Т. 82, №4. – С. 556-566.
3. Kondratyuk K.M., Lukashuk O.I., Golovchenko A.V. et al. // *Tetrahedron*. – 2013. – Vol. 69. – P. 6251-6261.
4. Яковенко І.Н., Шабликін О.В., Козаченко О.П., Броварець В.С. // *ЖОФХ*. – 2012. – Т. 10, №3. – С. 56-58.
5. Яковенко И.Н., Жирнов В.В. // *Доп. НАН України*. – 2010. – №7. – С. 163-169.
6. McCarron J.G., Craig J.W., Bradley K.N., Muir T.C. // *J. Cell Sci*. – 2002. – Vol. 115. – P. 2207-2218.

Надійшла до редакції 10.06.2013 р.