

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ,  
ՕՐԳԱՆԱԿԱՆ ԵՎ ԴԵՂԱԳՈՐԾԱԿԱՆ ՔԻՄԻԱՅԻ  
ԳԻՏԱՏԵԽՆՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ԿԵՆՏՐՈՆ

**ՀԱԼԵԲՑԱՆ ԶԱՐՈՒՀԻ ՂՈՒԿԱՍԻ**

**$\alpha,\beta$ -ԴԵՀԻԴՐՈՊԵՊՏԻԴՆԵՐԻ ԴԻԱԼԿԻԼԱՄԻՆՈԱԼԿԻԼԱՄԻԴՆԵՐԻ  
ՄԻՆԹԵԶ ՈՒ ՀԱԿԱԽՈԼԻՆԷՍԹԵՐԱԶԱՅԻՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ  
ՈՒՍՈՒՄՆԱՄԻՐՈՒԹՅՈՒՆ**

Բ.00.10 – «Կենսօրգանական քիմիա» մասնագիտությամբ  
քիմիական գիտությունների թեկնածուի զիտական աստիճանի հայցման  
ատենայնություն

**ՍԵՂՄԱԳԻՐ**

ԵՐԵՎԱՆ - 2015

---

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ  
НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР  
ОРГАНИЧЕСКОЙ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

**АЛЕБЯН ЗАРУИ ГУКАСОВНА**

**СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИХОЛИНЭСТЕРАЗНЫХ СВОЙСТВ  
ДИАЛКИЛАМИНОАЛКИЛАМИДОВ  $\alpha,\beta$ -ДЕГИДРОПЕПТИДОВ**

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук  
по специальности 02.00.10 – «Биоорганическая химия»

ЕРЕВАН - 2015

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ Օրգանական և դեղագործական քիմիայի գիտատեխնոլոգիական կենտրոնում

**Գիտական ղեկավար՝**

ՀՀ ԳԱԱ թղթ.-անդամ,

քիմ. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր

Վ.Օ. Թովուրյան

**Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝**

քիմ. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր

քիմ. գիտ. թեկնածու

Ե.Գ. Պարունիկյան

Ա.Ա. Աղեկյան

**Առաջատար կազմակերպություն՝**

ՀՀ ԳԱԱ “Հայկենսատեխնոլոգիա” ԳԱԿ

Ատենախոսության պաշտպանությունը կայանալու է 2015 թ. հունիսի 24-ին, ժամը 15<sup>00</sup>-ին ՀՀ ԳԱԱ Օրգանական և դեղագործական քիմիայի գիտատեխնոլոգիական կենտրոնում գործող ՀՀ ԲՈՀ-ի Օրգանական քիմիայի 010 մասնագիտական խորհրդի նիստում (0014, ք. Երևան, Ազատության պող. 26):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ ՕՐԹ ԳՏԿ-ի գրադարանում:

Սեղմագիրն առաքված է 2015թ. հունիսի 24-ին:

Մասնագիտական խորհրդի գիտնական

քարտուղար, ք.գ.թ.

Գ.Մ. Մակարյան

---

Тема диссертации утверждена в Научно-технологическом центре органической и фармацевтической химии НАН РА

**Научный руководитель:**

член-корр. НАН РА,

доктор хим. наук, профессор

В.О.Топузян

**Официальные оппоненты:**

доктор хим. наук, профессор

кандидат хим. наук

Е.Г. Пароникян

А.А.Агекян

**Ведущая организация:**

НПЦ “Армбиотехнология” НАН РА

Защита диссертации состоится 24-ого июля 2015 г. в 15<sup>00</sup> часов на заседании Специализированного совета ВАК 010 по органической химии, действующего в Научно-технологическом центре органической и фармацевтической химии НАН РА (0014, г. Ереван, пр. Азатутян, 26).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НТЦ ОФХ НАН РА.

Автореферат разослан 24-ого июня 2015 г.

Ученый секретарь

специализированного совета, к.х.н.

Г.М. Макарян

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность работы.** Одной из важнейших задач биоорганической химии является изыскание новых веществ, обладающих биологической активностью, с целью создания лекарственных препаратов. Болезнь Альцгеймера (БА) является одним из наиболее распространенных видов старческих деменций. По данным ВОЗ в мире на 2006 г. насчитывалось около 26 млн. пациентов с БА и ожидается четырехкратное увеличение этого показателя к 2050 г.

Холинергическая теория БА основана на факте дефицита ацетилхолина в мозгу больного, что связано с повышением уровня активности холинэстераз в организме. Установлено, что поведение ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и бутирилхолинэстеразы (БуХЭ) меняется в течении продвижения БА. При тяжелых стадиях болезни активность АХЭ снижается до 10-14 % от нормального значения, а уровень активности БуХЭ повышается на 40-90 %. Кроме того, предполагается, что БуХЭ участвует в процессе образования амилоидных (синильных) бляшек, которые являются характерными признаками БА. В связи с этим поиск новых антихолинэстеразных соединений проявляющих специфичность, особенно по отношению к БуХЭ, представляется весьма актуальной задачей.

**Цель работы.** Разработка методов синтеза диалкиламиноалкиламидов N-замещенных  $\alpha,\beta$ -дегидроаминокислот и пептидов, исследование антихолинэстеразных свойств синтезированных соединений.

**Научная новизна.** Осуществлен синтез новых диалкиламиноалкиламидов N-замещенных производных как  $\alpha,\beta$ -дегидровалина, так и дипептидов, содержащих остаток  $\alpha,\beta$ -дегидроаминокислот (валина, фенилаланина, тирозина). Установлено, что синтезированные как диалкиламиноалкиламиды, так и их четвертичные аммониевые производные обладают антихолинэстеразными свойствами и проявляют специфичность по отношению к БуХЭ. Найдены некоторые закономерности связи между химической структурой и антихолинэстеразными свойствами диалкиламиноалкиламидов N-замещенных производных  $\alpha,\beta$ -дегидровалина и пептидов. На ряде примеров установлены способы взаимодействия синтезированных соединений как с АХЭ, так и с БуХЭ. Установлено также, что синтезированные аминокамиды и их четвертичные аммониевые аналоги проявляют умеренную антибактериальную активность.

**Практическая ценность.** На основе N-замещенных дипептидов, содержащих в N-конце остаток  $\alpha,\beta$ -дегидровалина, разработан доступный метод синтеза ненасыщенных 5(4Н)-оксазолонов, которые являются удобными исходными веществами для синтеза диалкиламиноалкиламидов N-замещенных  $\alpha,\beta$ -дегидропептидов. Показана применимость 1-(*o*-нитрофенилсульфонилокси)бензотриазола для синтеза диалкиламиноалкиламидов N-бензоил- $\alpha,\beta$ -дегидродипептидов, содержащих в С-конце остаток валина. В ходе исследований антихолинэстеразных свойств синтезированных соединений выявлены вещества, проявляющие высокую специфичность по отношению к БуХЭ. Предложен способ индексации структурных изменений третичной аминогруппы в аминок амидах, который может найти применение при оценке влияния кватернизации на проявление антихолинэстеразных свойств веществ.

**Публикации.** Основное содержание диссертационной работы изложено в 4-х статьях и 1-ом тезисе доклада конференции.

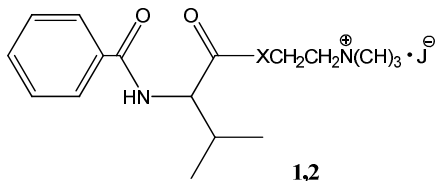
**Апробация работы.** Некоторые положения диссертационной работы докладывались на IV конференции Армянского химического общества (с международным участием) “Достижения и проблемы”, Ереван-Ванадзор, 2014.

**Структура работы.** Диссертационная работа изложена на 122 страницах компьютерного набора, состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, 13-и таблиц, 19-и рисунков, выводов, списка цитируемой литературы (158 библиографических ссылок) и приложения.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### 1. СИНТЕЗ И АНТИХОЛИНЭСТЕРАЗНЫЕ СВОЙСТВА ДИАЛКИЛАМИНОАЛКИЛАМИДОВ N-ЗАМЕЩЕННЫХ $\alpha,\beta$ -ДЕ- ГИДРОАМИНОКИСЛОТ И ПЕПТИДОВ, СОДЕРЖАЩИХ ОСТАТКИ ВАЛИНА

Ранее в лаборатории N 4 Института тонкой органической химии им. А. Л. Мнджояна Научно-технологического центра органической и фармацевтической химии НАН РА было установлено, что холиновый эфир N-бензоил-DL-валина (**1**) и его амидный аналог являются ингибиторами как ацетилхолинэстеразы (АХЭ, КФ 3.1.1.7), так и бутирилхолинэстеразы (БухЭ, КФ 3.1.1.8), проявляющие большую специфичность по отношению к БухЭ, (30000 и 39000 раз, соответственно).

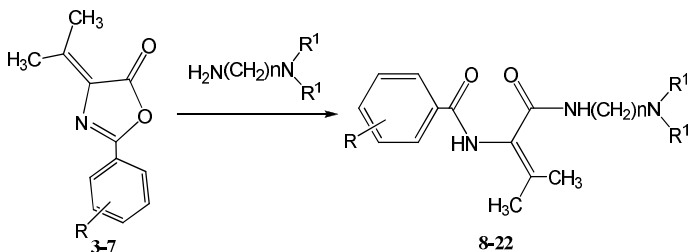


X = O (**1**); NH (**2**).

В связи с этим нами был осуществлен синтез и проведено исследование антихолинэстеразных свойств ряда диалкиламиноалкиламидами N-замещенных  $\alpha,\beta$ -дегидроаминокислот и пептидов, содержащих остатки валина.

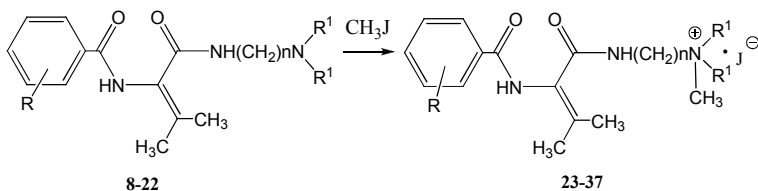
#### 2.1. Синтез диалкиламиноалкиламидами N-замещенных производных $\alpha,\beta$ -дегидровалина

Синтез 2-(диалкиламино)алкиламидами N-ароил- $\alpha,\beta$ -дегидровалина **8-22** осуществлен азлактонным методом, с применением 2-фенил-4-изопропилиден-5-оксазолон **3-7**.



R=H (**3**); R=2-Br (**4**); R=3-Br (**5**); R=4-Br (**6**); R=4-Me<sub>3</sub>C (**7**); R=H, R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>, n=2 (**8**); R=H, R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>, n=3 (**9**); R=H, R<sup>1</sup>=C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, n=2 (**10**); R=2-Br, R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>, n=2 (**11**); R=2-Br, R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>, n=3 (**12**); R=2-Br, R<sup>1</sup>=C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, n=2 (**13**); R=3-Br, R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>, n=2 (**14**); R=3-Br, R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>, n=3 (**15**); R=3-Br, R<sup>1</sup>=C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, n=2 (**16**); R=4-Br, R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>, n=2 (**17**); R=4-Br, R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>, n=3 (**18**); R=4-Br, R<sup>1</sup>=C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, n=2 (**19**); R=4-Me<sub>3</sub>C, R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>, n=2 (**20**); R=4-Me<sub>3</sub>C, R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>, n=3(**21**); R=4-Me<sub>3</sub>C, R<sup>1</sup>=C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, n=2 (**22**).

Ненасыщенные 5(4H)-оксазолонны получены реакцией Эрленмеера-Плеха в присутствии ацетата натрия. Взаимодействие 5(4H)-оксазолонов **3-7** с диалкиламиноалкиламинами проведено в диэтиловом эфире при комнатной температуре в течение 24 ч. Выходы полученных aminoамидов **8-22** составляют 64-92 %. Строение синтезированных соединений **8-22** подтверждены данными ИК и ЯМР <sup>1</sup>H спектров. В ИК спектрах соединений имеются поглощения при 1627-1664 см<sup>-1</sup>, относящиеся к амидному карбонилу. Частота валентных колебаний NH-амидных групп этих соединений находится в области 3200-3385 см<sup>-1</sup>. Взаимодействием aminoалкиламидов α,β-дегидро-валина **8-22** с йодистым метилом в среде ацетона с хорошими выходами получены четвертичные аммониевые соли **23-37**.



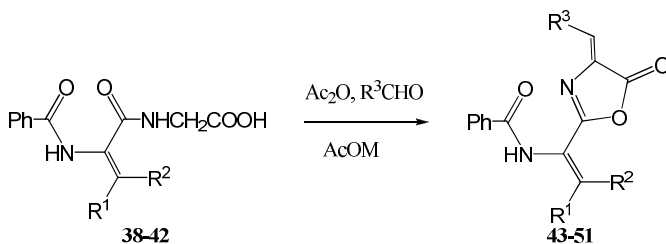
R=H, R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>, n=2 (**23**); R=H, R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>, n=3 (**24**); R=H, R<sup>1</sup>=C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, n=2 (**25**); R=2-Br, R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>, n=2 (**26**); R=2-Br, R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>, n=3 (**27**); R=2-Br, R<sup>1</sup>=C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, n=2 (**28**); R=3-Br, R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>, n=2 (**29**); R=3-Br, R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>, n=3 (**30**); R=3-Br, R<sup>1</sup>=C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, n=2 (**31**); R=4-Br, R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>, n=2 (**32**); R=4-Br, R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>, n=3 (**33**); R=4-Br, R<sup>1</sup>=C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, n=2 (**34**); R=4-Me<sub>3</sub>C, R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>, n=2 (**35**); R=4-Me<sub>3</sub>C, R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>, n=3 (**36**); R=4-Me<sub>3</sub>C, R<sup>1</sup>=C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, n=2 (**37**).

В ИК спектрах соединений **23-37** имеются поглощения при 1627-1664  $\text{см}^{-1}$ , относящиеся к амидному карбонилу. Частота валентных колебаний NH-амидных групп этих соединений находится в области 3200-3385  $\text{см}^{-1}$ .

## 1.2. Синтез диалкиламиноалкиламидов N-замещенных $\alpha,\beta$ -дегидропептидов

### 1.2.1. Синтез (Z)-N-((1-(4-арилиден)-5-оксо-4,5-дигидрооксазол-2-ил)-2-винил)бензамидов

Как уже было отмечено, азлактонный метод является удобным способом для синтеза диалкиламиноалкиламидов N-замещенных  $\alpha,\beta$ -дегидроаминокислот. В связи с этим нами исследована возможность синтеза ненасыщенных 5(4Н)-оксазолонов **43-51** из соответствующих  $\alpha,\beta$ -дегидродипептидов **38-42**.



M=Na, Zn, Co;  $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{CH}_3$  (**38**);  $\text{R}^1=\text{C}_6\text{H}_5$ ;  $\text{R}^2=\text{H}$  (**39**);  $\text{R}^1=4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$ ,  $\text{R}^2=\text{H}$  (**40**);  $\text{R}^1=4\text{-BrC}_6\text{H}_4$ ,  $\text{R}^2=\text{H}$  (**41**);  $\text{R}^1=3\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$ ;  $\text{R}^2=\text{H}$  (**42**);  $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{CH}_3$ ,  $\text{R}^3=\text{C}_6\text{H}_5$  (**43**);  $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{CH}_3$ ,  $\text{R}^3=3\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$  (**44**);  $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{CH}_3$ ,  $\text{R}^3=4\text{-BrC}_6\text{H}_4$  (**45**);  $\text{R}^1=\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $\text{R}^2=\text{CH}_3$ ,  $\text{R}^3=4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$  (**46**);  $\text{R}^1=\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $\text{R}^2=\text{H}$ ,  $\text{R}^3=3\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$  (**47**);  $\text{R}^1=\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $\text{R}^2=\text{H}$ ,  $\text{R}^3=4\text{-BrC}_6\text{H}_4$  (**48**);  $\text{R}^1=4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$ ;  $\text{R}^2=\text{H}$ ,  $\text{R}^3=3\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$  (**49**);  $\text{R}^1=4\text{-BrC}_6\text{H}_4$ ,  $\text{R}^2=\text{H}$ ,  $\text{R}^3=4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$  (**50**);  $\text{R}^1=4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$ ;  $\text{R}^2=\text{H}$ ,  $\text{R}^3=4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$  (**51**).

Синтез целевых ненасыщенных 5(4Н)-оксазолонов осуществлен взаимодействием пептидов **38-42** с альдегидами в среде уксусного ангидрида и в присутствии ацетатов натрия, цинка или кобальта. Варьировались также условия проведения реакции (комнатная температура или нагревание при 50-60  $^{\circ}\text{C}$ ). Полученные данные приведены в табл. 1.

На примере синтеза (Z)-N-(1-(4-(3-нитробензилиден)-5-оксо-4,5-дигидрооксазол-2-ил)-2-метилпроп-1-ен-1-ил)бензамида (**44**) установлено, что применение ацетатов натрия и цинка приводит к удовлетворительным результатам (47-75%). Однако наилучший выход оксазолона **44** получается в случае применения ацетата цинка и проведения реакции при комнатной температуре (опыт 2). Нужно отметить, что реакция пептида **38** с бензальдегидами, содержащими электрооакцепторные заместители ( $\text{NO}_2$  или Br, опыты 2 и 5) по сравнению с бензальдегидом (опыт 1, 57 %) и анисовым альдегидом (опыт 6, 22 %) протекает со сравнительно высокими выходами (75 % и 61 %, соответственно).

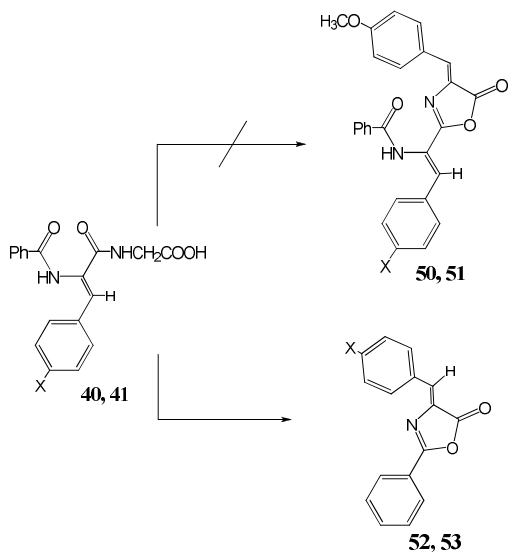
Синтез 2-(фенилвинил)-5(4Н)-оксазолонов **47-51** осуществлен с применением в качестве катализатора как вышеотмеченных ацетатов, так и ацетата кобальта. При этом, выходы ненасыщенных 5(4Н)-оксазолонов **47-51** низкие (17-38 %). Установлено, что природа катализатора мало влияет на выход целевого оксазолона (табл.1, опыты 7-11). Исследование реакционных смесей методом ТСХ показало, что во всех случаях наблюдается образование смеси продуктов. Целевые оксазолоны **47-49** удалось очистить перекристаллизацией.

Таблица 1

Зависимость выходов ненасыщенных 5(4Н)-оксазолонов **43-51** от применяемого ацетата и условий проведения реакции

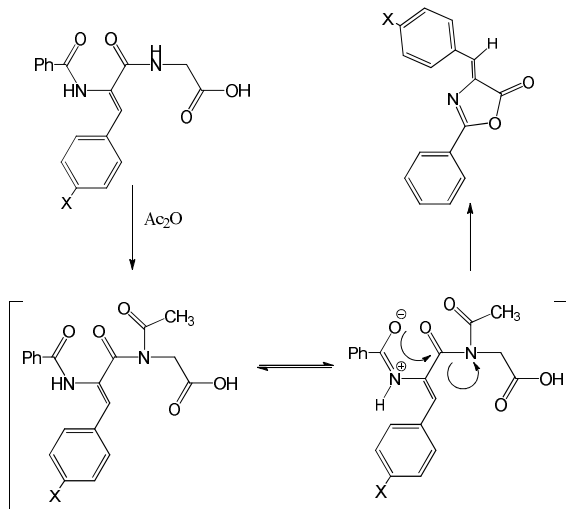
Опыт	Оксазолон	Ацетат	Среда	Температура, °С	Время проведения реакции, ч	Выход оксазолона, %
1	<b>43</b>	(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Zn	EtOH	25	24	57.6
2	<b>44</b>	(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Zn	EtOH	25	24	75.7
3	<b>44</b>	(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Zn	EtOH	50-60	3	47.1
4	<b>44</b>	CH <sub>3</sub> COONa	Ac <sub>2</sub> O	50-60	3	52.9
5	<b>45</b>	(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Zn	EtOH	25	24	61.4
6	<b>46</b>	(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Zn	EtOH	25	24	22.4
7	<b>47</b>	(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Zn	EtOH	25	24	38.4
8	<b>47</b>	CH <sub>3</sub> COONa	Ac <sub>2</sub> O	50-60	3	31.6
9	<b>47</b>	(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Co	EtOH	25	24	28.2
10	<b>48</b>	(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Zn	EtOH	25	24	17.1
11	<b>48</b>	CH <sub>3</sub> COONa	Ac <sub>2</sub> O	50-60	3	39.2
12	<b>49</b>	(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Zn	EtOH	25	24	25.0
13	<b>49</b>	CH <sub>3</sub> COONa	Ac <sub>2</sub> O	50-60	3	32.6

Нужно отметить, что при попытке синтеза N-((Z)-2-(4-бромфенил)-1-((Z)-4-(4-метоксибензилиден)-5-оксо-4,5-дигидрооксазол-2-ил)винил)бензамида (**50**) и N-((Z)-1-((Z)-4-(4-метоксибензилиден)-5-оксо-4,5-дигидрооксазол-2-ил)-2-(4-метоксифенил)винил)бензамида (**51**) обработка реакционной смеси привело к образованию продуктов азлактонизации N-концевого α,β-дегидроаминокислотного остатка дипептидов **40** и **41**.



X = Br, OMe.

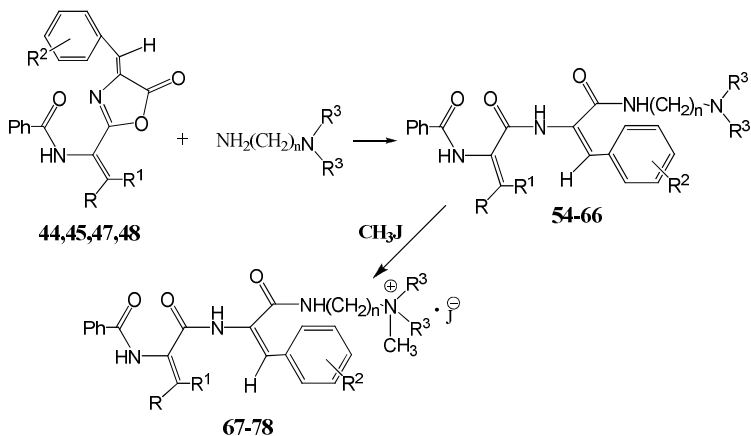
Выходы полученных таким образом ненасыщенных 5(4H)-оксазолонов **52** и **53** составили 42,8 и 44,9 %, соответственно. Структуры последних доказаны с помощью данных ИК и ЯМР  $^1\text{H}$  спектров. Исходя из этого можно предположить, что в случае дипептидов **39-42**, содержащих остатки  $\alpha,\beta$ -дегидрофенилаланина и  $\alpha,\beta$ -дегидротирозина синтез соответствующих ненасыщенных оксазолонов **47-51** протекает с частичным разрывом пептидной связи, которое можно представить следующей схемой:





### 1.2.2. Синтез диалкиламиноалкиламидов N-бензоил $\alpha,\beta$ -дегидропептидов

Синтез 2-(диалкиламино)алкиламидов N-бензоил- $\alpha,\beta$ -дегидродипептидов **54-66** и их четвертичных аммониевых солей **67-78** осуществлен азлактонным методом с применением ненасыщенных 5(4H)-оксазолонов **44,45,47** и **48**.



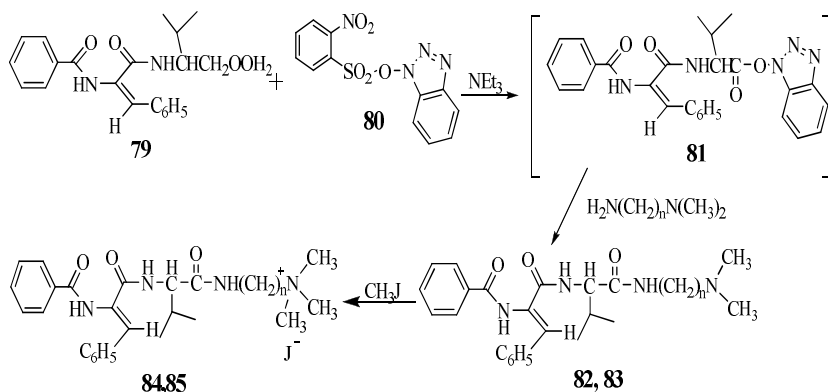
$R=R^1=\text{CH}_3$ ,  $R^2=\text{H}$ ,  $R^3=\text{CH}_3$ ,  $n=2$  (**54**);  $R=R^1=\text{CH}_3$ ,  $R^2=4\text{-Br}$ ,  $R^3=\text{CH}_3$ ,  $n=2$  (**55, 67**);  $R=R^1=\text{CH}_3$ ,  $R^2=4\text{-Br}$ ,  $R^3=\text{CH}_3$ ,  $n=3$  (**56, 68**);  $R=R^1=\text{CH}_3$ ,  $R^2=4\text{-Br}$ ,  $R^3=\text{C}_2\text{H}_5$ ,  $n=2$  (**57, 69**);  $R=R^1=\text{CH}_3$ ,  $R^2=3\text{-NO}_2$ ,  $R^3=\text{CH}_3$ ,  $n=2$  (**58, 70**);  $R=R^1=\text{CH}_3$ ,  $R^2=3\text{-NO}_2$ ,  $R^3=\text{CH}_3$ ,  $n=3$  (**59, 71**);  $R=R^1=\text{CH}_3$ ,  $R^2=3\text{-NO}_2$ ,  $R^3=\text{C}_2\text{H}_5$ ,  $n=2$  (**60, 72**);  $R=\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $R^1=\text{H}$ ,  $R^2=4\text{-Br}$ ,  $R^3=\text{CH}_3$ ,  $n=2$  (**61, 73**);  $R=\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $R^1=\text{H}$ ,  $R^2=4\text{-Br}$ ,  $R^3=\text{CH}_3$ ,  $n=3$  (**62, 74**);  $R=\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $R^1=\text{H}$ ,  $R^2=4\text{-Br}$ ,  $R^3=\text{C}_2\text{H}_5$ ,  $n=2$  (**63, 75**);  $R=\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $R^1=\text{H}$ ,  $R^2=3\text{-NO}_2$ ,  $R^3=\text{CH}_3$ ,  $n=2$  (**64, 76**);  $R=\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $R^1=\text{H}$ ,  $R^2=3\text{-NO}_2$ ,  $R^3=\text{CH}_3$ ,  $n=3$  (**65, 77**);  $R=4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$ ,  $R^1=\text{H}$ ,  $R^2=3\text{-NO}_2$ ,  $R^3=\text{CH}_3$ ,  $n=2$  (**66, 78**).

Взаимодействием ненасыщенных 5(4H)-оксазолонов (**44, 45, 47, 48**) с диалкиламиноалкиламинами в среде ацетона при комнатной температуре получены 2-(диалкиламино)алкиламиды **54-66**, 48-97 %-ными выходами. Последние взаимодействием с йодистым метилом в среде этанола превращены в четвертичные аммониевые соли **67-78**.

### 1.2.3. Синтез диалкиламиноалкиламидов N-бензоил- $\alpha,\beta$ -дегидропептидов, содержащих остатки DL-валина

С целью установления роли  $\alpha,\beta$ -дегидроаминокислотного остатка в проявлении антихолинэстеразных свойств аминоксидов синтезированы диметиламиноалкиламиды N-бензоил- $\alpha,\beta$ -дегидрофенилаланил-DL-валина **82** и **83**. Синтез последних проведен методом активированных эфиров. Активация карбоксильной группы пептида

79 была осуществлена с помощью 1-(*o*-нитрофенилсульфонилокси)бензотриазола (**80**) в среде ацетонитрила при комнатной температуре в течение 24 ч.



$n = 2, 3$ .

Оксибензотриазоловый эфир пептида **81** без выделения из реакционной среды был введен в реакцию с диметиламиноалкиламидами. В результате получены диалкиламиноалкиламиды **82** и **83** с хорошими выходами (68 – 69 %), далее превращенные в йодметилаты **84** и **85**.

### 1.3. Исследование антихолинэстеразных свойств синтезированных соединений

Для всех синтезированных диалкиламиноалкиламидов и их четвертичных аммониевых солей по методу Элмана определены значения  $IC_{50}$  (концентрация, ингибирующая активность фермента на 50 %) для эритроцитарной ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и для плазменной бутирилхолинэстеразы (БуХЭ) человека. Расчитаны также данные индексов специфичности (ИС) по отношению к БуХЭ и индексов структурных изменений при кватернизации ( $ИСИ_{кват.}$ ).

Полученные данные показывают, что все исследованные соединения являются ингибиторами как АХЭ, так и БуХЭ. При этом все они проявляют специфичность по отношению к БуХЭ ( $ИС > 1$ ). Согласно полученным данным  $ИСИ_{кват.}$  для АХЭ находятся в пределах 0,3-4,2, тогда как для БуХЭ предел колебания составляет 0,3-37. В связи с этим можно заключить, что кватернизация третичной аминогруппы в диалкиламиноалкиламидах сравнительно эффективно влияет на антибутирилхолинэстеразные свойства соединений.

На примере диалкиламиноалкиламидов N-замещенных  $\alpha,\beta$ -дегидровалинов **8-22** установлено, что введение заместителя (Br или *трет*-Bu) в ароматическое кольцо N-бензоильной группы, в основном приводит к увеличению антиацетилхолинэстеразных свойств диалкиламиноалкиламидов. При этом исключением являются соединения **11** и **12**. В случае четвертичных аммониевых солей **23-37** наблюдается другая картина: при введении атома брома в положение 3 бензоильной группы существенно возрастает антихолинэстеразная активность. Из этого ряда соединений сравнительно высокой антиацетилхолинэстеразной активностью обладает йодметилат 3-диметиламинопропиламида N-3-бромбензоил- $\alpha,\beta$ -дегидровалина (**30**), тогда как сравнительно высокая антибутирилхолинэстеразная активность зарегистрирована у йодметилата 2-диметиламиноэтиламида N-3-бром-бензоил- $\alpha,\beta$ -дегидровалина (**29**).

Проведены исследования с целью выяснения влияния природы аминокислотного остатка на антихолинэстеразные свойства. В табл. 2 и 3 приведены данные, которые показывают, что введение двойной связи в остаток валина, в основном, приводит к ослаблению антихолинэстеразных свойств как диметиламиноалкиламидов, так и их четвертичных аммониевых солей.

Таблица 2

Влияние аминокислотного остатка на антихолинэстеразные свойства диалкиламиноалкиламидов  $C_6H_5CO-X-Y-NH(CH_2)_nZ$

Соед.	X	Y	IC <sub>50</sub> AXЭ, мМ			IC <sub>50</sub> БyXЭ, мМ		
			Z= NMe <sub>2</sub>		Z=NEt <sub>2</sub>	Z= NMe <sub>2</sub>		Z= NEt <sub>2</sub>
			n=2	n=3	n=2	n=2	n=3	n=2
<b>86*</b>	Val	-	0,24	0,64	-	0,00029	0,0009	-
<b>8-10</b>	$\Delta$ -Val	-	1,22	2,04	2,48	0,0016	0,0042	0,0048
<b>54</b>	$\Delta$ -Val	$\Delta$ -Phe	1,61	-	-	0,0077	-	-
<b>55-57</b>	$\Delta$ -Val	$\Delta$ -Phe-4Br	0,29	0,42	0,33	0,0048	0,01	0,01
<b>58-60</b>	$\Delta$ -Val	$\Delta$ -Phe-3NO <sub>2</sub>	0,19	0,39	0,43	0,007	0,0052	0,0056
<b>61-63</b>	$\Delta$ -Phe	$\Delta$ -Phe-4Br	0,22	0,20	0,13	0,00055	0,00079	0,00081
<b>64,65</b>	$\Delta$ -Phe	$\Delta$ -Phe-3NO <sub>2</sub>	0,14	0,1	-	0,011	0,0016	-
<b>66</b>	$\Delta$ -TyrOMe	$\Delta$ -Phe-3NO <sub>2</sub>	0,14	-	-	0,017	-	-
<b>82,83</b>	$\Delta$ -Phe	Val	9,1	1,39	-	0,05	0,02	-

\*Литературные данные.

Таблица 3

Влияние аминокислотного остатка на антихолинэстеразные свойства йодметилатов диалкиламиноалкиламидов  $C_6H_5CO-X-Y-NH(CH_2)_nZ^+ \cdot J^-$

Соед.	X	Y	IC <sub>50</sub> AXЭ, мМ			IC <sub>50</sub> БУХЭ, мМ		
			Z= NMe <sub>2</sub>		Z= Et <sub>2</sub>	Z= NMe <sub>2</sub>		Z= NEt <sub>2</sub>
			n=2	n=3	n=2	n=2	n=3	n=2
2*	Val	-	1,42	1,40	-	0,000036	0,00019	-
23-25	Δ-Val	-	1,41	0,88	3,45	0,00024	0,00031	0,00085
67-69	Δ-Val	Δ-Phe-4Br	0,34	0,78	0,21	0,0021	0,0067	0,0095
70-72	Δ-Val	Δ-Phe-3NO <sub>2</sub>	0,38	0,44	0,37	0,0058	0,017	0,0073
73-75	Δ-Phe	Δ-Phe-4Br	0,19	0,18	0,13	0,00060	0,0019	0,13
76,77	Δ-Phe	Δ-Phe-3NO <sub>2</sub>	0,23	0,14	-	0,0046	0,0037	-
78	Δ-TyrOMe	Δ-Phe-3NO <sub>2</sub>	0,14	-	-	0,0059	-	-
84,85	Δ-Phe	Val	2,0	3,3	-	0,014	0,017	-

\*Литературные данные.

Однако при переходе от аминокислотных остатков α,β-дегидровалина (соединения **8-10**, **23-25**) к ненасыщенным пептидам, содержащим остаток α,β-дегидровалина (соединения **54-60**, **67-72**), в основном, наблюдается увеличение антиацетилхолинэстеразной активности. Ингибирующая активность пептидов **54-60** и **67-72** по отношению к БУХЭ уступает аминокислотным остаткам α,β-дегидровалина **8-10** и **23-25**. Замена в пептидах остатка α,β-дегидровалина на α,β-дегидрофенилаланин (соединения **61-65**, **73-77**) в основном положительно действует на ингибирующие свойства соединений как по отношению к АХЭ, так и к БУХЭ. Нужно отметить, что введение в С-конец ненасыщенных пептидов остатка валина (**82-85**) приводит к уменьшению антихолинэстеразных свойств соединений.

Согласно данным табл.4, соединение **23** проявляет высокую специфичность по отношению к БУХЭ (IC 5966).

Таблица 4

Данные IC<sub>50</sub> АХЭ, IC<sub>50</sub> БУХЭ и IC йодметилата N-бензоилдегидровалина диметиламиноэтиламида (**23**) и некоторых лекарственных веществ, применяемых в медицинской практике

Вещество	IC <sub>50</sub> АХЭ, нМ	IC <sub>50</sub> БУХЭ, нМ	IC
Галантамин	800	7300	0.11
Донепезил	22	4150	0.005
Ривастигмин	4150	37	112.16
Физостигмин	28	16	1.75
Такрин	190	47	4.04
Bzl-Δ-Val- NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> N <sup>+</sup> (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	1408•10 <sup>3</sup>	236	5966

В табл. 4 приведены данные  $IC_{50}$  АХЭ,  $IC_{50}$  БуХЭ и ИС некоторых известных в литературе антихолинэстеразных препаратов, а также соединения **23**. Сравнение указанных данных показывает, что аминоксид **23** по антиацетилхолинэстеразным свойствам уступает известным препаратам, однако по антибутирилхолинэстеразным свойствам в некоторых случаях (галантамин и донепезил) превосходит их, уступая остальным в 5-14 раз. По значению индекса селективности по отношению к БуХЭ соединение **23** превосходит все отмеченные препараты в 53-54236 раз.

#### 1.4. Молекулярное моделирование взаимодействия некоторых лигандов с ферментами АХЭ и БуХЭ

С целью выяснения возможных закономерностей взаимодействия (комплексобразования) синтезированных соединений с ферментами АХЭ и БуХЭ исследовали модели их молекулярного докинга. При этом, в качестве моделей выбраны те комплексы, в которых конформация лиганда обеспечивала сравнительно низкое значение энергии комплексобразования с ферментом. При докинг исследованиях учтены расположение лиганда по отношению к трем важным участкам активного центра ферментов – холинсвязывающему, ацилсвязывающему и каталитической триаде обоих ферментов.

Проведенные докинг исследования на примере некоторых синтезированных лигандов показывают, что исследуемые соединения, как и ожидалось, третичной или четвертичной аммониевой группой, в основном, приближены к аминокислотному остатку Trp82 (БуХЭ) или Trp86 (АХЭ) холинсвязывающим участкам ферментов. Это расстояние при АХЭ колеблется в пределах 3-4,4 Å, а при БуХЭ – 3,6-4,4 Å. В случае АХЭ исключения являются соединения **23** и **68**, аммониевая или триалкиламинная группы которых приближены к аминокислотному остатку Phe295 ацилсвязывающей части фермента.

Аналогичные исключения наблюдаются также в случае докинг исследований с участием БуХЭ. При этом аммониевые группы соединений **8**, **23** и **29** приближены к аминокислотному остатку Ser198 на 2,7-3,1 Å.

Данные докинг исследований показали, что испытанные соединения в активных центрах обоих ферментов находятся вблизи каталитических триад. В случае АХЭ расстояние между атомом кислорода амидной группы от остатков Ser203 или His447 каталитической триады составляет 1,9-7,7 Å, тогда как в случае БуХЭ удаленность того же атома кислорода от аминокислотных остатков каталитической триады Ser198 или His438 колеблется в пределах 2,8-6,8 Å. Очевидно, что проявление антагонистических свойств по отношению к холинэстеразам со стороны синтезированных соединений можно объяснить их близким расположением к каталитической триаде в активных центрах ферментов. Такое расположение антагониста в активном центре фермента может препятствовать приближению субстрата (ацетилхолина) к триаде и тем самым препятствовать его гидролизу. Нужно отметить, что блокировка каталитической триады аминоксидов  $\alpha,\beta$ -дегидропептидов происходит как за счет диалкиламиноалкиламидной (CONH-1) или пептидной (CONH-2), так и N-концевой (CONH-3) амидных групп.

Полученные данные показывают, что ацилсвязывающие части активных центров обоих ферментов не всегда блокированы исследуемыми ингибиторами.

С целью выявления существенной разницы (ИС 5966) антагонистических свойств йодметилата 2-(диметиламино)этиламида N-бензоил- $\alpha,\beta$ -дегидрвалина (**23**) по отношению к АХЭ и БуХЭ, рассмотрены результаты докинга этого соединения с обоими ферментами. Как видно из рис. 1 и 2, четвертичное аммониевое соединение **23** при АХЭ находится на расстоянии 6-6,53 Å от аминокислотных остатков (His447 и Ser203) каталитической триады. Однако, в случае БуХЭ кислородный атом диметиламиноэтиламидной группы в соединении **23** находится вблизи (~2,8 Å от His438 и 5,01 Å от Ser198) каталитической триады.

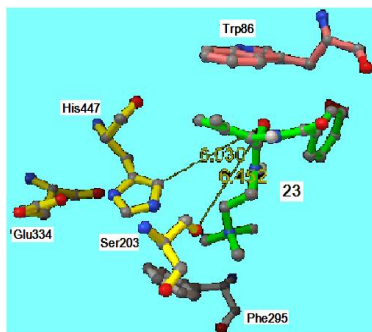


Рис. 1. Молекулярное моделирование ингибитора **23** (в зеленом), состыкованного в «кармане» активного центра АХЭ.

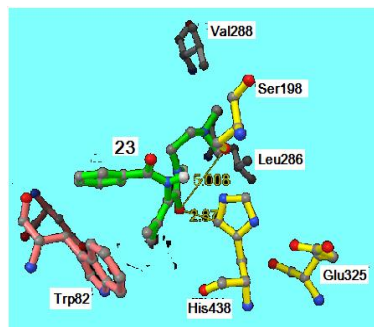


Рис. 2. Молекулярное моделирование ингибитора **23** (в зеленом), состыкованного в «кармане» активного центра БуХЭ.

Очевидно, что более близкое расположение соединения **23** к обоим аминокислотным остаткам (Ser198 и His438) каталитической триады активного центра БуХЭ, является причиной сравнительно высокой специфичности этого лиганда по отношению к БуХЭ.

В пользу сделанного предположения свидетельствуют литературные данные, объясняющие специфичность йодметилата диметиламиноэтиламида N-бензоид-DL-валина близким расположением (~3 Å) этого ингибитора к обоим аминокислотным остаткам Ser198 и His438 активного центра БуХЭ.

### 1.5. Антибактериальная активность синтезированных соединений

Антибактериальная активность синтезированных соединений была исследована в биологическом отделе Института тонкой органической химии им. А. Л. Мнджояна НТЦ ОФХ НАН РА. Исследования проводились на грамположительных стафилококках (*Staphylococcus aureus* 209 и 1) и грамотрицательных палочках (*St. Flexneri* 6858 и *E. Coli* 0-55).

Согласно полученным данным  $\alpha,\beta$ -дегидропептиды **38-42** и **79**, в основном проявляют избирательность по отношению к грамположительным стафилококкам.

Исключением является валинсодержащий  $\alpha,\beta$ -дегидродипептид **79**, который лишен антибактериальной активности. Однако N-бензоил- $\alpha,\beta$ -дегидровалилглицин (**38**) проявляет умеренную антибактериальную активность по отношению как к грамположительным стафилококкам, так и к грамотрицательным палочкам.

Ненасыщенные 5(4H)-оксазолонны **43-49**, за исключением соединения **44**, проявляют умеренную активность по отношению к обоим типам бактерий. При этом, зона подавления роста бактерий колеблется в пределах 9-11 мм. Аналогичная картина наблюдается у диалкиламиноалкиламидов N-замещенных производных  $\alpha,\beta$ -дегидровалина **8-22** и их четвертичных аммониевых солей **23-27**. Для обоих рядов этих соединений максимальная зона подавления роста бактерий составляет 16 мм. Соединения **18-20** из ряда диалкиламиноалкиламидов лишены антибактериальной активности. Аналогичные результаты получены также при испытании антибактериальных свойств четвертичных аммониевых солей **23, 24, 28** и **34**. При сравнении данных диалкиламиноалкиламидов N-замещенных производных  $\alpha,\beta$ -дегидровалина и их четвертичных аммониевых солей видно, что кватернизация третичной аминогруппы диалкиламиноалкильного остатка отрицательно влияет на проявление антибактериальной активности.

Сравнительно высокую антибактериальную активность проявляют диалкиламиноалкиламиды N-замещенных  $\alpha,\beta$ -дегидропептидов **54-78** и **82-85**. Максимальная зона подавления роста бактерий для некоторых членов этого ряда (**63, 65**) достигает 20 мм. Однако в целом все исследованные соединения по антибактериальным свойствам уступают контрольному препарату фуразолидону.

## ВЫВОДЫ

1. Показана возможность применения азлактонного метода для синтеза диалкиламиноалкиламидов N-замещенных производных  $\alpha,\beta$ -дегидровалина и дипептидов, содержащих остатки  $\alpha,\beta$ -дегидроаминокислот.
2. Разработан удобный метод синтеза ненасыщенных 5(4H)-оксазолонов из N-замещенных  $\alpha,\beta$ -дегидропептидов.
3. Установлено, что диалкиламиноалкиламиды N-замещенных производных  $\alpha,\beta$ -дегидровалина и  $\alpha,\beta$ -дегидродипептидов проявляют антихолинэстеразные свойства, как по отношению к АХЭ, так и к БуХЭ, при этом проявляют специфичность по отношению к бутирилхолинэстеразе.
4. Найдены некоторые закономерности связи между структурными изменениями и антихолинэстеразными свойствами синтезированных диалкиламиноалкиламидов.
5. Установлено, что диалкиламиноалкиламиды N-замещенных  $\alpha,\beta$ -дегидроаминокислот и пептидов проявляют умеренную антибактериальную активность как по отношению к грамположительным, так и к грамотрицательным бактериям.

**Основное содержание диссертации отражено в следующих публикациях:**

1. Алебян З.Г. Синтез (Z)-N-((1-(4-арилиден)-5-оксо-4,5-дигидрооксазол-2-ил)-2-винил)бензамидов. // Хим. ж. Армении, 2014, т. 67, N 4, с. 418-423.
2. Алебян З.Г., Топузян В.О. Синтез и свойства диметиламиноалкиламидов N-бензоил- $\alpha,\beta$ -дегидрофенилаланил-DL-валинов. // IV Научная конференция Армянского химического общества (с международным участием) “Достижения и проблемы”. Ереван-Ванадзор, 2014, с. 151.
3. Топузян В.О., Алебян З.Г., Пароникян Р.В. Синтез, антихолинэстеразная и антибактериальная активность диалкиламиноалкиламидов N-ароил- $\alpha$ -аминоакриловой кислоты. // Хим. фарм. ж., 2015, т. 49, N 5, с. 19-22.
4. Топузян В.О., Алебян З.Г. Синтез и антихолинэстеразная активность диалкиламиноалкиламидов N-бензоил- $\alpha,\beta$ -дегидровалил- $\alpha,\beta$ -дегидрофенилаланинов. // Хим. ж. Армении, 2015, т. 68, N 1, с. 122-128.
5. Топузян В.О., Алебян З.Г. Синтез и антихолинэстеразная активность диалкиламиноалкиламидов N-бензоил- $\alpha,\beta$ -дегидродипептидов. // Хим. ж. Армении, 2015, т. 68, N 1, с. 129-136.



## ՀԱԼԵՔՅԱՆ ԶԱՐՈՒՀԻ ՂՈՒԿԱՍԻ

### **α,β-ԴԵՀԻԴՐՈՊԵՊՏԻԴՆԵՐԻ ԴԻԱԼԿԻԼԱՍԻՆՈԱԼԿԻԼԱՍԻԴՆԵՐԻ ՄԻՆԹԵԶ ՈՒ ՀԱԿԱՆՈՒԼԻՆԷՍԹԵՐԱԶԱՅԻՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆ**

#### **Ամփոփագիր**

Ատենախոսությունը նվիրված է N-տեղակալված α,β-դեհիդրովալինների և α,β-դեհիդրոպեպտիդների դիալկիլամինոալկիլամինների սինթեզի եղանակների մշակմանն ու ստացված միացությունների հակախոլինէսթերազային հատկությունների ուսումնասիրմանը:

Նպատակային միացությունների սինթեզն հիմնականում իրականացվել է ազլակտոնային եղանակով: N-Արոիլ-α,β-դեհիդրովալինի դիալկիլամինոալկիլամինների սինթեզի համար որպես էլանյութ օգտագործվել են 2-արիլ-4-իզոպրոպիլիդեն-5(4H)-օքսազոլոնները:

Հետազոտվել են α,β-դեհիդրոպեպտիդներից չհագեցած 5(4H)-օքսազոլոնների ստացման եղանակները՝ համապատասխան պեպտիդների և ալդեհիդների փոխազդեցությամբ, քացախաթթվի կամ էթանոլի միջավայրում, ցինկի, նատրիումի կամ կոբալտի ացետատների ներկայությամբ՝ փոփոխելով նաև ռեակցիայի իրականացման ջերմաստիճանը (սենյակային ջերմաստիճան կամ 50-60 °C): α,β-Դեհիդրովալինի մնացորդ պարունակող դիպեպտիդի ազլակտոնացման լավագույն արդյունք գրանցվել է էթանոլի միջավայրում, ցինկի ացետատի ներկայությամբ, սենյակային պայմաններում: Պարզվել է, որ N-բենզոիլդեհիդրովալիլգլիցինի փոխազդեցությունը էլեկտրոնակցեպտոր խմբեր պարունակող բենզալդեհիդների հետ ավելի լավ էլքերով է ընթանում, քան բենզալդեհիդի կամ *γ*-մեթօքսիբենզալդեհիդի հետ: Պարզվել է նաև, որ α,β-դեհիդրոֆենիլալանինի կամ α,β-դեհիդրոթիրոզինի մնացորդ պարունակող պեպտիդների ազլակտոնացումն ընթանում է N-ծայրային պեպտիդային կապի մասնակի ձեռքմամբ:

Սինթեզված 5(4H)-օքսազոլոնները փոխազդեցության մեջ են դրվել դիալկիլամինոալկիլամինների հետ, որի արդյունքում ստացվել են N-տեղակալված α,β-դեհիդրոդիպեպտիդների ամիդները: Վերջիններս փոխարկվել են չորրորդային ամոնիումային աղերի:

Ամինաթթվային մնացորդի դերը միացությունների հակախոլինէսթերազային հատկությունների ցուցաբերման հարցում պարզելու համար սինթեզվել են նաև N-բենզոիլ-α,β-դեհիդրոֆենիլալանիլ-D,L-վալինի դիմեթիլամինոէթիլ- և դիմեթիլամինոպրոպիլամինները: Վերջիններս սինթեզն իրականացվել է ակտիվացված էսթերների եղանակով, որպես վերաէսթերացնող ռեագենտ կիրառելով 1-(օ-նիտրոֆենիլսուլֆոնիլօքսի)բենզոտրիազոլը: Ռեակցիան իրականացվել է սենյակային ջերմաստիճանում, ացետոնիտրիլի միջավայրում: Պեպտիդի օքսիբենզոտրիազոլային էսթերն, առանց ռեակցիոն միջավայրից անջատելու, փոխազդեցությամբ

յան մեջ է դրվել դիմելիամինոէթիլ- և դիմելիլամինոպրոպիլլամինների հետ: Ստացված ամիդները վերածվել են չորրորդային ամոնիումային աղերի:

Ուսումնասիրվել են սինթեզված ամինոամիդների և դրանց չորրորդային ամոնիումային աղերի հակախոլինէսթերազային հատկությունները: Հետազոտության ընթացքում օգտագործվել են մարդու արյունից անջատված և մաքրված էրիթրոցիտար ացետիլխոլինէսթերազը (ԱՄԵ) և պլազմային բուտիրիլխոլինէսթերազը (ԲուՄԵ): Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ բոլոր միացությունները ցուցաբերում են ընտրողականություն ԲուՄԵ-ի հանդեպ:

Սինթեզված միացություններից համեմատաբար բարձր հակաացետիլխոլինէսթերազային ակտիվությամբ օժտված է N-3-բրոմբենզոիլ- $\alpha,\beta$ -դեհիդրոպլալինի 3-դիմելիլամինոպրոպիլլամիդի յոդմելիատը: Հակաբուտիրիլխոլինէսթերազային համեմատաբար բարձր ակտիվությամբ է օժտված N-3-բրոմբենզոիլ- $\alpha,\beta$ -դեհիդրոպլալինի 2-դիմելիլամինոէթիլամիդի չորրորդային ամոնիումային աղը: Բոլոր սինթեզված միացությունների շարքում ԲուՄԵ-ի նկատմամբ համեմատաբար բարձր ընտրողականություն ունի N-բենզոիլ- $\alpha,\beta$ -դեհիդրոպլալիդիմելիլամինոէթիլամիդի յոդմելիատը (5966 անգամ): Վերջինիս համակարգչային մոդելավորումը ցույց է տվել, որ ֆերմենտ-լիզանդ կոմպլեքսում ԱՄԵ-ի ակտիվ կենտրոնում կատալիտիկ եռյակի ամինաթթվային մնացորդներից լիզանդի հեռավորությունը գերազանցում է ԲուՄԵ-ի դեպքում նույն հեռավորությանը: Մա նշանակում է, որ ԲուՄԵ-ի ակտիվ կենտրոնի՝ կատալիտիկ եռյակի նկատմամբ լիզանդի մոտ դասավորվածությամբ է պայմանավորված դրա համեմատաբար բարձր ընտրողականությունը:

Գտնվել են մի շարք օրինաչափություններ սինթեզված միացությունների կառուցվածքի և կենսաբանական ակտիվության միջև: Հետազոտությունների արդյունքները ցույց են տվել, որ վալինի մնացորդում կրկնակի կապի ներմուծումը հիմնականում բերում է ամինոամիդների հակախոլինէսթերազային հատկությունների նվազեցմանը:  $\alpha,\beta$ -Դեհիդրոպլալինի ամինոակլիլամիդներից պեպտիդներին անցման ժամանակ նկատվում է հակաացետիլխոլինէսթերազային հատկությունների լավացում:  $\alpha,\beta$ -Դեհիդրոպլալինի ամինոակլիլամիդները և դրանց չորրորդային ամոնիումային աղերը իրենց հակաբուտիրիլխոլինէսթերազային ակտիվությամբ գերազանցում են պեպտիդների ամիդների և յոդմելիատների ակտիվությունները: Պեպտիդային մնացորդներում  $\alpha,\beta$ -դեհիդրոպլալինի փոխարինումը  $\alpha,\beta$ -դեհիդրոֆենիլլանինի մնացորդով հիմնականում դրական ազդեցություն ունի երկու ֆերմենտների արգելակման վրա: Պարզվել է, որ ամինոակլիլամիդների երրորդային ամինոխմբի չորրորդայնացումն ավելի լավ անդրադառնում է միացությունների հակաբուտիրիլխոլինէսթերազային հատկությունների վրա:

Սինթեզված միացությունները ցուցաբերել են թույլ կամ չափավոր հակաբակտերիալ ակտիվություն:

## HALEBYAN ZARUHI GHUKAS

### SYNTHESIS AND STUDY OF ANTICHOLINESTERASE PROPERTIES OF DIALKYLAMINOALKYL AMIDES OF $\alpha,\beta$ -DEHYDRODIPEPTIDES

#### Summary

The thesis is devoted to investigation of the methods for the synthesis of dialkylaminoalkyl amides of N-substituted  $\alpha,\beta$ -dehydrovalines and  $\alpha,\beta$ -dehydropeptides and studies of the anticholinesterase properties of the synthesized compounds.

The synthesis of the target compounds was mainly fulfilled by the method of azlactones. Dialkylaminoalkyl amides of N-aryl- $\alpha,\beta$ -dehydrovalines were synthesized using 2-aryl-4-isopropyliden-5(4H)-oxazolones as starting compounds.

We have investigated the methods for the synthesis of unsaturated 5(4H)-oxazolones from  $\alpha,\beta$ -dehydropeptides by the interaction of the appropriate peptides with aldehydes in acetic anhydride or ethanol in the presence of zinc, sodium or cobalt acetates, the temperature of the reaction being modified (room temperature or 50-60 °C). The best result for azlactonization of dipeptides which contain  $\alpha,\beta$ -dehydrovaline residue is noted in ethanol in the presence of zinc acetate at room temperature. It was determined that the interaction of N-benzoyldehydrovalylglycine and benzaldehydes containing electron acceptor groups proceeded better in comparison with benzaldehyde or *p*-methoxyaldehyde. It was also determined that azlactonization of peptides containing  $\alpha,\beta$ -dehydrophenylalanine or  $\alpha,\beta$ -dehydrotyrosine residues proceeded with partial disruption of N-terminal peptide bond.

Synthesized 5(4H)-oxazolones were in interaction with dialkylaminoalkylamines and as a result amides of N-substituted  $\alpha,\beta$ -dehydrodipeptides were formed. These compounds were converted to quaternary ammonium salts.

We also synthesized dimethylaminoethyl and dimethylaminopropyl amides of N-benzoic- $\alpha,\beta$ -dehydrovalyl-D,L-valine for understanding the effect of amino acid residue on anticholinesterase properties. These compounds were synthesized by the method of active esters by using 1-(*o*-nitrophenylsulfonyloxy)benzotriazole as a reesterification reagent. The reaction was conducted at room temperature in acetonitrile. The resulting peptide active ester without isolation was reacted with

dimethylaminoethyl and dimethylaminopropyl amines, affording amides that were converted to quaternary ammonium salts.

Anticholinesterase properties of all synthesized aminoamides and their quaternary salts were studied. Human erythrocyte acetylcholinesterase (AChE) and plasmatic butyrylcholinesterase (BuChE) were used. It was established that all synthesized compounds had specificity against BuChE.

From all synthesized compounds relatively high antiacetylcholinesterase activity has iodomethylate of 3-dimethylaminopropylamide of N-3-bromobenzoic- $\alpha,\beta$ -dehydrovaline. Relatively high antibutyrylcholinesterase activity had quaternary ammonium salt of 2-dimethylaminoethylamide of N-3-bromobenzoic- $\alpha,\beta$ -dehydrovaline. The highest specificity against BuChE had iodomethylate of 2-dimethylaminoethylamide of N-benzoic- $\alpha,\beta$ -dehydrovaline (5966 times). Computer modeling of the latter has shown that in ligand-enzyme complex the distance between the ligand and triplet of active site of AChE exceeds the same distance for BuChE. It means that close arrangement of the ligand to the triplet of the BuChE active site is the reason for relatively high selectivity of this compound.

Structure-activity relationship (SAR) between the chemical structure and biological activity of the synthesized compounds has been revealed. Results show that import of the double bond in the valine residue mainly weakens the anticholinesterase properties of both aminoalkylamides and their quaternary ammonium salts. At the transition from aminoalkylamides of  $\alpha,\beta$ -dehydrovaline to unsaturated peptides containing a residue of  $\alpha,\beta$ -dehydrovaline increase of antiacetylcholinesterase properties is mainly observed. Inhibitory activity against BuChE of aminoalkylamides of  $\alpha,\beta$ -dehydrovaline and their quaternary ammonium salts exceeds that of aminoalkylamides of peptides and their quaternary ammonium salts. Replacing of  $\alpha,\beta$ -dehydrovaline by  $\alpha,\beta$ -dehydrophenylalanine in peptides residues has basically favorable effect on the inhibition of enzymes. The import of the valine residue in the C-terminus of unsaturated peptides reduces the anticholinesterase properties of the compounds. It is determined that quaternization of the tertiary amino group in the dialkyl aminoalkylamides has relatively higher effect on antibutyrylcholinesterase properties of the compounds.

The synthesized compounds have weak or mild antibacterial activity.