



УДК 547.2.33.4-38.4:57.016

РОЛЬ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ПАРАМЕТРОВ СОЛЕЙ ЧЕТВЕРТИЧНОГО АММОНИЯ В ФОРМИРОВАНИИ ИХ АНТИГИББЕРЕЛЛИНОВОЙ (РЕТАРДАНТНОЙ) АКТИВНОСТИ

© 2004 г. Р. Г. Гафуров[#], В. Ю. Григорьев, А. Н. Прошин, В. Г. Чистяков, И. В. Мартынов, Н. С. Зефирова

Институт физиологически активных веществ РАН,
142432, Черноголовка, Северный проезд, 1, Московская обл.

Поступила в редакцию 10.09.2003 г. Принята к печати 17.02.2004 г.

Проведен регрессионный анализ роли шести расчетных молекулярных параметров в формировании антигиббереллиновой (ретардантной) активности четвертичных аммониевых солей, которая определена с помощью биотеста на клеточной культуре гриба *Gibberella fujikuroi*. Установлено, что в случае производных *N,N,N*-триметил-*N*-(2-гидроксиэтил)аммонийхлорида (холина) и *N,N,N*-триэтил-*N*-(2-гидроксиэтил)аммонийхлорида (*N,N,N*-триэтилхолина), имеющих линейную структуру, наибольшее влияние на антигиббереллиновую активность оказывают поляризуемость, протоноакцепторный фактор и липофильность соединений. Антигиббереллиновую активность пространственно более затрудненных солей *N,N*-диалкилпиперидиниев определяет главным образом стерический параметр, меньший вклад вносят поляризуемость, протоноакцепторный фактор и через них – липофильность. Остальные молекулярные параметры играют минорную роль во всех трех группах исследованных соединений.

Ключевые слова: четвертичные аммониевые соли, молекулярные параметры, формирование антигиббереллиновой активности.

ВВЕДЕНИЕ

Четвертичные аммониевые соли сыграли выдающуюся роль в качестве регуляторов роста и развития растений и стресспротекторов при создании интенсивных биотехнологий основных продовольственных и технических сельскохозяйственных культур [1]. Однако развитие синтетической, физической и биологической химии этих соединений имеет более общее системное значение. Оно выходит далеко за рамки указанных прикладных задач. Это определяется той, во многом еще невыясненной ролью, которую четвертичные аммониевые соли играют в работе центральной и периферической нервной системы теплокровных, в развитии патологий этих систем, в процессах фотосинтеза в растениях и в ряде других физиологических процессов, участвующих в поддержании гомеостаза живых организмов, а также в процессах их обмена с внешней средой.

Выявление количественных зависимостей физиологической активности низкомолекулярных биорегуляторов от их структуры и физико-химических свойств является одним из средств компьютерного молекулярного дизайна и прогноза физиологической активности новых соединений.

В медицинской химии этот подход рассматривается как магистральный путь создания новых лекарственных веществ с заданными свойствами. В химии рострегуляторов развитие этого подхода только начинается.

В литературе имеются ограниченные сведения о сравнительной антигиббереллиновой (ретардантной) активности солей четвертичного аммония в рядах с монотонно изменяющимися заместителями при атоме азота [2–8]. Из них лишь две публикации [2, 4] касаются зависимости ретардантной активности от молекулярных свойств соединений. Для оценки стерических требований, необходимых для проявления ретардантной активности, использован [2] топологический дескриптор $1/\chi$, так называемый индекс молекулярного связывания первого порядка [3]. Экспериментально показано, что соли четвертичного аммония высокой и средней активности имеют значения $1/\chi$ в интервале от 2.9 до 4.5. Соединения, у которых индекс $1/\chi$ меньше 2.9 или больше 4.5, неактивны. Выявлено влияние липофильности *N*-(2-феноксиэтил)пиперидинийбромидов, замещенных по одному из положений (2, 3 или 4) фенильной группы, на ретардантный эффект соединений в биотесте на проростках риса [2]. Позже количественно показано, что при введении к атому азота в солях пиперидиния объемных липо-

[#] Автор для переписки (тел./факс: (095) 785-7024; эл. почта: ravig@icp.ac.ru).

Таблица 1. Антигиббереллиновая активность *I* производных холина (I)–(IX) и *N,N,N*-триэтилхолина (X)–(XVII) в тесте на клеточной культуре гриба *G. fujikuroi*

Четвертичная аммониевая соль (ЧАС)*	Катион	Анион	Остаточная концентрация GA ₃ , мг/мл	Степень ингибирования <i>I</i> , %**
(I)	[(CH ₃) ₃ NCH ₂ CH ₂ OH] ⁺	Cl ⁻	1.17	-18
(II)	[(CH ₃) ₃ NCH ₂ CH ₂ OH] ⁺	CH ₃ CO ₂ ⁻	1.16	-17
(III)	[(CH ₃) ₃ NCH ₂ CH ₂ OCH ₃] ⁺	Cl ⁻	0.80	19
(IV)	[(CH ₃) ₃ NCH ₂ CH ₂ OC ₂ H ₅] ⁺	Cl ⁻	0.74	24
(V)	[(CH ₃) ₃ NCH ₂ CH ₂ OCH ₂ C ₆ H ₅] ⁺	Cl ⁻	0.11	89
(VI)	[(CH ₃) ₃ NCH ₂ CH ₂ OCOCH ₃] ⁺	CH ₃ CO ₂ ⁻	1.16	-17
(VII)	[(CH ₃) ₃ NCH ₂ CH ₂ Cl] ⁺	Cl ⁻	0.15	85
(VIII)	[(CH ₃) ₃ NCH ₂ CH ₂ Br] ⁺	Br ⁻	0.14	86
(IX)	[(CH ₃) ₃ NCH ₂ CH ₂ F] ⁺	F ⁻	0.08	92
(X)	[(C ₂ H ₅) ₃ NCH ₂ CH ₂ OH] ⁺	Cl ⁻	0.83	16
(XI)	[(C ₂ H ₅) ₃ NCH ₂ CH ₂ OH] ⁺	CH ₃ CO ₂ ⁻	0.82	17
(XII)	[(C ₂ H ₅) ₃ NCH ₂ CH ₂ OCH ₃] ⁺	Cl ⁻	0.51	48
(XIII)	[(C ₂ H ₅) ₃ NCH ₂ CH ₂ OC ₂ H ₅] ⁺	Cl ⁻	0.32	67
(XIV)	[(C ₂ H ₅) ₃ NCH ₂ CH ₂ OCH ₂ C ₆ H ₅] ⁺	Cl ⁻	0.15	85
(XV)	[(C ₂ H ₅) ₃ NCH ₂ CH ₂ OCOCH ₃] ⁺	CH ₃ CO ₂ ⁻	0.82	16
(XVI)	[(C ₂ H ₅) ₃ NCH ₂ CH ₂ Cl] ⁺	Cl ⁻	0.30	69
(XVII)	[(C ₂ H ₅) ₃ NCH ₂ CH ₂ Br] ⁺	Br ⁻	0.24	76

* Концентрация ЧАС 10⁻³ М.

** $I = 100(m-n)/m$, %; $m = 0.99 \pm 0.02$ мг/л (m – концентрация GA₃ в отсутствие солей; n – концентрация GA₃ в опыте). Отрицательные значения *I* отвечают стимулированию биосинтеза GA₃.

фильных заместителей главенствующее влияние на антигиббереллиновую (ретардантную) активность оказывает не значение липофильности, а стерического фактора E_s^0 [4]. До сих пор отсутствуют данные о влиянии других молекулярных параметров на рострегулирующие свойства солей четвертичного аммония.

Удобным экспресс-тестом для проведения такого исследования является определение остаточной концентрации гибберелловой кислоты в клеточной культуре гриба *Gibberella fujikuroi* по методу [9, 10] после инкубации в присутствии соответствующей соли в концентрациях 10⁻³–10⁻⁶ М. Антигиббереллиновая активность указанных солей связана с торможением превращения геранилгераниолпирофосфата в копалилпирофосфат – предшественник энткаурена в каскаде биохимических реакций образования гиббереллинов. Известно, что эта стадия является общей в биосинтезе гиббереллинов как в грибе *G. fujikuroi*, так и в зеленых растениях [11–13].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Нами проведен регрессионный анализ роли шести расчетных молекулярных параметров в формировании антигиббереллиновой активности четвертичных аммониевых солей [14], которая определена с помощью биотеста на клеточной культуре гриба *G. fujikuroi*. В табл. 1 представлена антигиббереллиновая активность производных холина (I)–(IX) и *N,N,N*-триэтилхолина (X)–(XVII), оцененная по концентрации гиббереллина GA₃ в культуральной жидкости в присутствии исследуемых веществ в концентрации 1 мМ и выраженная как степень ингибирования солями биосинтеза гиббереллина $I = 100(m-n)/m$ %, где m и n концентрации гиббереллина соответственно в контроле и в опыте.

Выяснилось, что антигиббереллиновая активность уксуснокислых эфиров холина (VI) и *N,N,N*-триэтилхолина (XV) в данном биотесте совпадает соответственно с активностью самих спиртов. Возможно, что в активном центре биомишени, с которой взаимодействуют четвертичные аммониевые соли, имеется гидролазная система, расщепляющая сложноэфирную связь. При этом холинхлорид (I),

Таблица 2. Расчетные молекулярные параметры производных холина (I)–(IX) и *N,N,N*-триэтилхолина (X)–(XVII)*

ЧАС **	$\alpha, \text{\AA}^3$	$C_{a(0)}$	C_a^{\max}	q_X	C_d	E_s	q_H	$\lg P$	$I, \%$
(I)	12.32	1.54	1.54	-0.310	-1.93	-6.38	0.143	1.74	-18
(II)	12.32	1.54	1.54	-0.310	-1.93	-6.38	0.143	1.74	-17
(III)	14.16	1.46	1.46	-0.270	0	-6.55	0.142	2.31	19
(IV)	15.99	1.49	1.49	-0.278	0	-6.67	0.142	2.76	24
(V)	23.81	2.31	1.25	-0.308	0	-7.10	0.142	4.02	64
(VI)	15.79	1.59	1.59	-0.323	0	-6.7	0.144	2.61	-17
(VII)	13.62	0.39	0.39	-0.010	0	-6.48	0.144	3.23	85
(VIII)	14.31	0.40	0.40	+0.080	0	-6.55	0.143	3.41	86
(IX)	11.60	0.28	0.28	-0.122	0	-6.33	0.144	2.81	92
(X)	17.83	1.54	1.54	-0.326	-1.93	-8.04	0.114	3.20	16
(XI)	17.83	1.54	1.54	-0.326	0	-8.04	0.114	3.20	17
(XII)	19.66	1.46	1.46	-0.272	0	-8.24	0.114	3.77	48
(XIII)	21.50	1.49	1.49	-0.279	0	-8.38	0.114	4.23	67
(XIV)	29.32	2.32	1.49	-0.304	0	-8.91	0.112	5.48	85
(XV)	21.29	1.59	1.59	-0.364	0	-8.51	0.116	4.07	16
(XVI)	19.12	0.39	0.39	-0.026	0	-8.11	0.116	4.70	69
(XVII)	19.82	0.40	0.40	+0.063	0	-8.19	0.115	4.87	76

* Параметры: α – поляризуемость, C_a^{\max} – максимальный протоноакцепторный фактор, $C_{a(0)}$ – суммарный протоноакцепторный фактор, q_X – парциальный отрицательный заряд атомов кислорода или галогена в переменном заместителе, C_d – протонодонорный фактор гидроксильной группы, E_s – стерический параметр, $\lg P$ – липофильность, q_H – положительный заряд атомов водорода метильных групп и I – степень ингибирования биосинтеза гиббереллина GA₃ (см. табл. 1).

** Нумерация соединений по табл. 1.

в отличие от *N,N,N*-триэтилхолинхлорида (X), не только не проявляет антигиббереллиновой активности, но, напротив, усиливает биосинтез гиббереллина. Не исключено, что холин выполняет в жизненном цикле гриба трофическую функцию.

В табл. 2 представлены расчетные значения молекулярных параметров указанных двух групп соединений, полученные без конформационного исследования и только для катионов соединений. Геометрическая и электронная структура молекул и парциальные атомные заряды q_H рассчитаны с помощью полуэмпирического квантово-химического метода AM1, реализованного в программном комплексе HYPERCHEM, версия 4.5 [15]. В качестве стартовых молекул при проведении полной оптимизации служили трехмерные структуры, генерированные программой. Аддитивные значения поляризуемости α , суммарные значения протоноакцепторной активности $C_{a(0)}$, максимальные значения протоноакцепторного параметра C_a^{\max} атома кислорода или галогена (центра с максимальной нуклеофильностью) в переменном заместителе соединений и величина протонодонорного фактора C_d гидроксильной группы рассчитаны с помощью программы HYBOT PLUS

[16] без учета ионизации молекул. Стерические параметры E_s , характеризующие степень экранирования четвертичного атома азота, определены по методу, предложенному в работе [17]. Значения липофильности $\lg P$ (коэффициент распределения вещества в системе *n*-октанол–вода) рассчитаны по методу [18], основанному на использовании данных по поляризуемости молекул α и их суммарной протоноакцепторной способности $C_{a(0)}$: $\lg P = 0.26\alpha - 1.0 C_{a(0)}$.

Из табл. 2 видно, что в обеих группах соединений антигиббереллиновая активность возрастает примерно в 5 раз при переходе от спиртов к простым эфирам и галогенопроизводным. При этом липофильность симбатно увеличивается приблизительно на 1.5 порядка. Значения протоноакцепторной активности соединений C_a^{\max} , напротив, существенно уменьшаются в том же направлении. Значения парциального отрицательного заряда q_X на атомах галогена в переменных заместителях на порядок меньше, чем на атомах кислорода. Галогениды (VII), (VIII), (IX), (XVI) и (XVII) с максимальными значениями q_X являются сильными блокаторами биосинтеза гибберелли-

на. Величина стерического фактора E_s изменяется менее чем на единицу. Значения q_H внутри каждого ряда практически постоянны. Однако при переходе от производных холина к производным N,N,N -триэтилхолина они уменьшаются примерно на 40%. Таким образом, решающую роль в формировании антигипбереллиновой активности исследованных солей играют поляризуемость α , величина протонноакцепторного фактора C_a^{\max} и через них – липофильность P .

Регрессионный анализ, выполненный с помощью программы SVD [19], дал следующие уравнения зависимости степени ингибирования I от молекулярных параметров соединений. Для холина и его производных:

$$I = 38.3 + 5.64\alpha - 68.7C_a^{\max} \quad (\text{A})$$

($N = 6$; $R = 0.991$; $SD = 6.0$)

или

$$I = 32.7 \lg P - 40.1C_a^{\max} \quad (\text{B})$$

($N = 6$; $R = 0.971$; $SD = 9.3$),

где N – число соединений, R – коэффициент линейной корреляции, SD – стандартное отклонение.

Для N,N,N -триэтилхолина и его производных с учетом протоннодонорного фактора C_d гидроксильной группы:

$$I = 4.04\alpha - 19.0C_a^{\max} + 13.9C_d \quad (\text{C})$$

($N = 6$; $R = 0.980$; $SD = 6.4$)

или

$$I = 15.5 \lg P - 2.19C_a^{\max} + 15.7C_d \quad (\text{D})$$

($N = 6$; $R = 0.985$; $SD = 5.7$).

Из-за аномального поведения соединений в выбранном биотесте из рассмотрения были исключены данные по антигипбереллиновой активности солей холина (I) и (II) и солей уксуснокислых эфиров холина и N,N,N -триэтилхолина (VI) и (XV).

Корреляционные тенденции проявляются только в однородных по химической структуре рядах (кластерах). Кластеризующим структурным признаком здесь являются алкильные заместители в исходном третичном амине: производные холина составляют один кластер, производные N,N,N -триэтилхолина – другой. Стерический фактор E_s не имеет здесь большого влияния. Причина этого – линейное строение соединений, допускающее свободное вращение отдельных участков молекулы вокруг связей C–C и тем самым не препятствующее возникновению той конформации молекулы, которая необходима для ее взаимодействия с активным центром биомишени. Более того, вве-

дение значений E_s в уравнения регрессии (A)–(D) резко ухудшает корреляционные параметры.

Как видно из значений угловых коэффициентов при переменных членах уравнений (A) и (C), ингибирующая способность производных холина более чувствительна к влиянию протонноакцепторной активности C_a^{\max} , чем у производных N,N,N -триэтилхолина. Это связано с меньшим объемом молекулы у производных холина и соответственно большей плотностью неподеленных пар электронов атомов кислорода и галогенов на отрицательном конце молекулярного диполя.

Для N,N -диалкилпиперидинийхлоридов (XVIII)–(XXIX), молекулярные параметры которых представлены в табл. 3, в качестве критерия ретардантной активности взяты значения равноэффективных концентраций J_{50}^i , ингибирующих биосинтез гиббереллина на 50% по сравнению с контролем. Они представлены в виде отрицательных значений логарифмов pJ_{50}^i . Здесь, в отличие от производных холина и N,N,N -триэтилхолина, в проявлении антигипбереллиновой активности существенную роль играет не только поляризуемость α и протонноакцепторная активность C_a^{\max} или липофильность $\lg P$, но и стерический фактор E_s , причем наибольший вклад вносит именно он. Уравнения регрессии имеют вид:

$$pJ_{50}^i = 14.93 + 0.41\alpha - 0.833C_a^{\max} + 1.52E_s \quad (\text{E})$$

($N = 12$; $R = 0.946$; $SD = 0.38$)

или

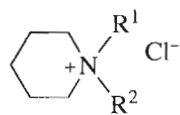
$$pJ_{50}^i = 15.65 + 0.84 \lg P + 1.81E_s \quad (\text{F})$$

($N = 12$; $R = 0.943$; $SD = 0.37$).

Определяющее влияние стерического фактора E_s связано, по-видимому, с тем, что четвертичный атом азота встроен в пиперидиновое кольцо. Это ограничивает конформационные возможности молекулы при ее взаимодействии с активным центром рецептора и предъявляет повышенные требования к молекулярным свойствам, которые привносят фрагменты R^1 и R^2 .

Если рассматривать соединения (I)–(XVII) как молекулярные биохимические зонды, то следует сказать, что кроме анионного сайта и гидрофобного участка, в активном центре кауренсинтазы у гриба *G. fujikuroi*, вероятно, имеется протоннодонорный фрагмент, взаимодействующий с нуклеофильными атомами и группами, содержащимися в переменных заместителях молекул ретардантов.

Таким образом, проведен регрессионный анализ роли шести расчетных молекулярных параметров в формировании антигипбереллиновой (ретардантной) активности четвертичных аммо-

Таблица 3. Антигипбереллиновая активность и молекулярные параметры хлоридов *N,N*-диалкилпиперидиниев

(XVIII)–(XXIX)*

ЧАС	R^1	R^2	pJ_{50}^i	$\alpha, \text{\AA}^3$	$C_{a(0)}$	C_a^{\max}	E_s	$\lg P$
(XVIII)	CH ₃	CH ₃	5.95	14.58	0.00	0.00	-7.09	3.88
(XIX)	CH ₃	C ₄ H ₉	5.41	20.09	0.00	0.00	-8.15	5.34
(XX)	C ₃ H ₇	C ₄ H ₉	4.28	23.76	0.00	0.00	-9.10	6.32
(XXI)	CH ₃	C ₂ H ₄ OCH ₃	4.85	18.89	1.46	1.46	-8.02	3.56
(XXII)	C ₂ H ₅	C ₂ H ₄ OCH ₃	3.62	20.72	1.46	1.46	-8.64	4.05
(XXIII)	CH ₃	C ₂ H ₄ OC ₂ H ₅	4.15	20.72	1.49	1.49	-8.19	4.02
(XXIV)	C ₄ H ₉	C ₂ H ₄ OCH ₃	2.98	24.39	1.46	1.46	-9.12	5.03
(XXV)	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₂ CH ₂ -OCH ₂ C ₆ H ₅	3.68	38.21	2.73	1.49	-10.25	7.43
(XXVI)	C ₃ H ₇	C ₂ H ₄ OCH ₃	3.00	22.56	1.46	1.46	-8.92	4.54
(XXVII)	CH ₂ C ₆ H ₅	C ₂ H ₄ OCH ₃	3.00	28.55	1.87	1.46	-9.71	5.72
(XXVIII)	CH ₃	CH ₂ CH ₂ -OCH ₂ C ₆ H ₅	4.55	28.55	2.32	1.49	-8.50	5.27
(XXIX)	CH ₃	C ₆ H ₅	5.25	22.53	0.32	0.32	-8.66	5.67

* Определение параметров см. табл. 2; pJ_{50}^i – равноэффективные концентрации ЧАС, ингибирующие биосинтез гиббереллина на 50% (взяты в виде десятичных логарифмов).

ниевых солей, которая определялась с помощью теста на клеточной культуре гриба *G. fujikuroi*. Установлено, что в случае производных холина и *N,N,N*-триэтилхолина, имеющих линейную структуру, наибольшее влияние на антигипбереллиновую активность оказывают поляризуемость, протон-акцепторный фактор и через них – липофильность соединений. Антигипбереллиновую активность пространственно более затрудненных солей *N,N*-диалкилпиперидиниев определяет главным образом стерический параметр, меньший вклад вносят поляризуемость, протон-акцепторный фактор и, через них, липофильность. Остальные молекулярные параметры играют минорную роль во всех трех группах исследованных соединений.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ¹H-ЯМР регистрировали в D₂O на ЯМР-спектрометре Bruker DPX-200 (ФРГ) с рабочей частотой 200 МГц. В качестве внутреннего стандарта использовали химический сдвиг (δ 4.8 м.д. от Me₄Si) сигнала протонов примеси ¹H₂O в D₂O. УФ-спектры снимали на УФ-спектрометре Perkin-Elmer 550. Элементный анализ проводили на автоматическом C,H,N-анализаторе Carlo-Erba 1106. Температуры плавления определяли на приборе Voetius.

Хлориды и ацетаты холина (I), (II) и *N,N,N*-триэтилхолина (X), (XI), ацетаты их уксуснокислых эфиров (VI), (XV), а также хлориды *N,N,N*-три-

метил-*N*-(2-хлорэтил)аммония (хлорхолинхлорид крист.) (VII) и *N,N,N*-триэтил-*N*-(2-хлорэтил)аммония (XVI), бромиды *N,N,N*-триметил-*N*-(2-бромэтил)аммония (VIII) и *N,N,N*-триэтил-*N*-(2-бромэтил)аммония (XVII) – коммерческие продукты фирмы “Fluka”. *N,N,N*-Триэтил-*N*-(2-бензилоксиэтил)аммонийхлорид (XIV) получен по методу [20]. Хлориды *N,N*-диалкилпиперидиниев (XVIII)–(XXIX) получены по методикам, описанным в работе [4]. Методы получения остальных соединений описаны ниже.

***N,N,N*-Триметил-*N*-(2-метоксиэтил)аммонийхлорид (III).** Смесь 5.9 г (0.1 моль) триметиламина, 9.45 г (0.1 моль) 2-хлорэтилметилового эфира и 20 мл этанола нагревали в автоклавной пробирке при 180°C в течение 2.5 ч. Растворитель упаривали до минимального объема в вакууме. Образовавшиеся кристаллы отфильтровывали, промывали ацетоном, высушивали в вакууме, перекристаллизовывали. Получено 14.3 г гигроскопических бесцветных кристаллов, выход 93%, т. пл. 169–172°C (ацетонитрил). Найдено, %: C 46.72; H 10.75; N 8.17; Cl 23.21. C₆H₁₆NOCl. Вычислено, %: C 46.88; H 10.82; N 8.35; Cl 23.06. Спектр ¹H-ЯМР: 3.19 (9 H, с, 3CH₃); 3.40 (2 H, с, CH₂); 3.57–3.64 (3 H, т, CH₃); 3.85–3.96 (2 H, м, CH₂).

***N,N,N*-Триметил-*N*-(2-этоксиэтил)аммонийхлорид (IV)** получен как (III) из 5.9 г (0.1 моль) триметиламина и 10.85 г (0.1 моль) 2-хлордиэтилового эфира. Бесцветные гигроскопические кристаллы, т. пл. 162–164°C, масса 11.7 г, выход 70%.

Найдено, %: С 49.78; Н 10.56; N 7.79; Cl 20.61. $C_7H_{18}NOCl$. Вычислено, %: С 50.12; Н 10.82; N 8.35; Cl 21.14. Спектр 1H -ЯМР: 1.20 (3 Н, т, CH_3); 3.20 (9 Н, с, 3 CH_3); 3.8 (2 Н, т, CH_2); 4.0 (2 Н, кв, CH_2); 4.2 (2 Н, т, CH_2).

***N,N,N*-Триметил-(2-бензилоксиэтил)аммонийхлорид (V).** К 13.95 г (0.1 моль) холина прибавляли при 10–15°C раствор 8 г (0.2 моль) гидроокиси натрия в 8 мл воды, 0.68 г (0.003 моль) *N,N,N*-триэтил-*N*-бензиламмонийхлорида в качестве катализатора межфазного переноса и 12.65 г (0.1 моль) хлористого бензила. Смесь перемешивали при 70–90°C в течение 1 ч, охлаждали до 15–20°C, прибавляли 100 мл воды для растворения осадка хлористого натрия и органический слой экстрагировали *n*-бутанолом (2 × 100 мл). Бутанольный слой отделяли, встряхивали с 20 г безводного сульфата магния для удаления остатков воды, фильтровали и упаривали в вакууме, к остатку прибавляли 100 мл этилацетата. Выпавшие кристаллы отфильтровывали, перекристаллизовывали из смеси ацетона и ацетонитрила (1 : 1). Получено 10.04 г бесцветных кристаллов, выход 43%, т. пл. 150–152°C. Найдено, %: С 62.81; Н 8.56; N 6.03; Cl 15.34. $C_{12}H_{20}NOCl$. Вычислено, %: С 62.72; Н 8.77; N 6.10; Cl 15.45. Спектр 1H -ЯМР: 3.08 (9 Н, с, CH_3); 3.53 (2 Н, м, CH_2); 3.86–3.98 (2 Н, м, CH_2); 4.56 (2 Н, с, CH_2); 7.4 (5 Н, с, C_6H_5). Пикрат: желтые кристаллы, т. пл. 95.0–97.5°C (этанол).

***N,N,N*-Триметил-*N*-(2-фторэтил)аммонийфторид (IX).** Смесь 3.2 г (0.023 моль) холинхлорида, 30 мл нитрометана и 5.06 г (0.046 моль) четырехфтористой серы нагревали в автоклавной пробирке при температуре 85°C в течение 8 ч. Пробирку охлаждали в бане с сухим льдом, отходящие газы пропускали через поглотительную склянку Тищенко со щелочью. Пробирку вскрывали при комнатной температуре, растворитель отгоняли при остаточном давлении 1–2 мм. Твердый остаток перекристаллизовывали из смеси ацетона с этилацетатом (1 : 1). Получено 2.44 г бесцветных кристаллов, выход 85%, т. пл. выше 360°C. Найдено, %: С 42.23; Н 9.55; N 9.64; F 26.28. $C_5H_{13}NOF_2$. Вычислено, %: С 42.40; Н 9.25; N 9.89; F 26.83. УФ-спектр (λ , нм): 192 (связь С–F). Спектр 1H -ЯМР: 3.20 (9 Н, с, CH_3); 3.80 (2 Н, кв, CH_2); 4.0 (2 Н, м, CH_2).

***N,N,N*-Триэтил-*N*-(2-этоксиэтил)аммониййодид.** Смесь 100 мл безводного 2,5,8-триоксанонана (диглима), 11.7 г (0.1 моль) диэтиламиноэтанола и 2.3 г (0.1 г.-атом) металлического натрия нагревали в течение 30 мин при 110°C без доступа влаги до полного растворения натрия и прекращения выделения водорода. Смесь охлаждали, прибавляли 31.2 г (0.2 моль) йодистого этила и нагревали при 60°C в течение 2 ч. Выпавшие кристаллы отфильтровывали, промывали 100 мл ацетона для удаления йодистого натрия. Получено 24.10 г бес-

цветных, желтеющих на воздухе кристаллов, выход 80%, т. пл. 93–95°C (ацетон). Найдено, %: С 40.23; Н 8.26; N 4.49. $C_{10}H_{24}NOI$. Вычислено, %: С 39.86; Н 8.03; N 4.65. Спектр 1H -ЯМР: 1.20 (3 Н, т, CH_3); 1.40 (9 Н, т, 3 CH_3); 3.70 (6 Н, кв, 3 CH_2); 3.8 (2 Н, т, CH_2); 4.00 (2 Н, кв, CH_2); 4.20 (2 Н, т, CH_2).

***N,N,N*-Триэтил-*N*-(2-метоксиэтил)аммониййодид.** К раствору 28.3 г (0.1 моль) *N,N,N*-триэтил-*N*-(2-гидроксиэтил)аммониййодида в 50 мл воды прибавляли при перемешивании и температуре 0–5°C 8.0 г (0.2 моль) гидроокиси натрия и через 15 мин 14.2 г (0.1 моль) йодистого метила. Смесь перемешивали при 35–40°C в колбе с обратным холодильником в течение 3 ч. Затем реакционную смесь упаривали досуха в вакууме при 70–75°C. Твердый остаток промывали ацетоном (2 × 50 мл) для удаления йодистого натрия и перекристаллизовывали из ацетона. Получено 23.50 г бесцветных, желтеющих на воздухе кристаллов, выход 81.8%, т. пл. 135–136°C. Найдено, %: С 37.32; Н 8.03; N 4.45. $C_9H_{22}NOI$. Вычислено, %: С 37.62; Н 7.72; N 4.88. Спектр 1H -ЯМР: 1.40 (9 Н, т, 3 CH_3); 3.2 (6 Н, кв, 3 CH_2); 3.5 (3 Н, с, OCH_3); 3.80 (2 Н, т, CH_2); 4.20 (2 Н, т, CH_2).

***N,N,N*-Триэтил-*N*-(2-этоксиэтил)аммонийхлорид (XIII).** В стеклянную колонку длиной 200 мм и диаметром 30 мм помещали 100 мл анионита “Amberlite IRA-400” в хлоридной (Cl^-) форме. Через колонку пропускали раствор 30.13 г (0.1 моль) *N,N,N*-триэтил-*N*-(2-этоксиэтил)аммониййодида в 50 мл воды со скоростью 2 мл/мин. Затем колонку промывали 200 мл воды со скоростью 5 мл/мин. Полученный раствор выпаривали досуха в вакууме. Получено 20.71 г бесцветной вязкой жидкости, частично кристаллизующейся при –5–0°C, выход 98.7%. Найдено, %: С 56.97; Н 11.75; N 6.36; Cl 16.81. $C_{10}H_{24}NOCl$. Вычислено, %: С 57.24; Н 11.53; N 6.68; Cl 16.2.

***N,N,N*-Триэтил-*N*-(2-метоксиэтил)аммонийхлорид (XII).** По предыдущей методике из 14.15 г (0.05 моль) *N,N,N*-триэтил-*N*-(2-метоксиэтил)аммониййодида получено 10.42 г бесцветной вязкой жидкости, медленно кристаллизующейся при –5–0°C, выход 99.3%. Найдено, %: С 54.94; Н 11.67; N 6.96; Cl 17.88. $C_9H_{22}NOCl$. Вычислено, %: С 55.21; Н 11.33; N 7.15; Cl 18.13.

Опыты на клеточной культуре гриба *G. fujikuroi* проведены три раза в трех повторениях; результаты статистически обработаны с применением критерия Стьюдента, $p < 0.001$ для разницы более 8% от значения величины в контроле. Контроль – вода; содержание GA_3 в культуральной жидкости (m) 0.99 ± 0.02 мг/л.

Авторы приносят дань глубокого уважения памяти акад. РАСХН Г.С. Муромцева, который был одним из участников этой работы в ее начале, и выражают свою искреннюю признатель-

ность А.В. Кокуруину за помощь при проведении биологических экспериментов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Никкел Л.Дж.* Регуляторы роста растений. Применение в сельском хозяйстве. М.: Колос, 1984. 192 с.
2. *Sauter H.* Plant Bioregulators. Chemistry and Uses. Transactions of Symposium at 186th Meeting of Amer. Chem. Soc. Aug. 28–Sept. 2. 1983. Washington, D.C., 1984. P. 9–21.
3. *Rekker R.F.* // The Hydrophobic Fragmental Constants. Pharmacochimistry Librery. V. 1. / Eds Nauta W.Th., Rekker R.F. Amsterdam; Oxford; New York: Elsevier, 1977. P. 158.
4. *Гафуров Р.Г., Чистяков В.Г., Кокурин А.В., Григорьев В.Ю., Прошин А.Н., Раевский О.А., Муромцев Г.С., Мартынов И.В.* // Агрехимия. 1991. № 12. С. 81–85.
5. *Zeeh B., König K.-H., Jung J.* // *Kemia-Kemi*. 1974. V. 5. P. 621.
6. *Karanov E.N.* Plant Regulation World Agriculture. New York, London: Plenum Press, 1979. P. 234–249.
7. *Jung J.* Plant Bioregulators. Chemistry and Uses. Transactions of Symposium at 186th Meeting of Am. Chem. Soc. Aug. 28–Sept. 2. 1983. Washington, D.C., 1984. P. 29–43.
8. *Grossman K., Rademacher W., Sauter H., Jung J.* // *Plant Growth Regulation*. 1984. V. 3. P. 197.
9. *Murpmtsev G.S., Kokurin A.V.* Abstr. 11th Intern. Congr. on Plant Growth Substances. Aberythwyth. Wales: 1982. P. 122.
10. *Муромцев Г.С., Кокурин А.В.* Методы определения регуляторов роста растений (методические рекомендации). М.: ВАСХНИЛ, 1984. 21 с.
11. *Barnes M.F., Light E.N., Lang A.* // *Planta*. 1969. V. 88. P. 172–182.
12. *Lang A.* // *Ann. Rev. Plant Physiol*. 1970. V. 21. P. 537–570.
13. *Hedden P., MacMillan J., Phinney B.O.* // *Ann. Rev. Plant Physiol*. 1978. V. 29. P. 149.
14. *Гафуров Р.Г., Григорьев В.Ю., Прошин А.Н., Чистяков В.Г., Мартынов И.В., Зефирев Н.С.* // Докл. АН. 2004. Т. 394. С. 710–714.
15. <http://www.hyper.com>.
16. *Raevsky O.A.* // Computer-Assisted Lead Finding and Optimization / Eds Testa B., Folkers G. Weinheim: Wiley-VCH, 1997. P. 369–378.
17. *Галкин В.И., Саяхов Р.Д., Черкасов Р.А.* // *Металлоорг. хим.* 1990. Т. 3. С. 986–993.
18. *Раевский О.А., Григорьев В.Ю.* // *Хим.-фарм. журн.* 1999. Т. 33. С. 46–49.
19. *Форсайт Дж., Малькольм М., Моулер К.* Машинные методы математических вычислений. М.: Мир, 1980. С. 215.
20. *Гафуров Р.Г., Федоров Б.С., Мартынов И.В.* Патент РФ № 2214395. Приоритет от 17.06.2001 г. // Б. И. 2003. № 29.

The Importance of Molecular Parameters of Quaternary Ammonium Salts in Their Antigibberellin (Retardant) Activity

R. G. Gafurov[#], V. Yu. Grigor'ev, A. N. Proshin,
V. G. Chistyakov, I. V. Martynov, and N. S. Zefirov

[#] *Phonelfax: +7(095) 785-7024; e-mail: ravig@icp.ac.ru*
Institute of Physiologically Active Substances, Russian Academy of Sciences,
Severnoy proezd 1, Chernogolovka, Moscow oblast, 142432 Russia

The importance of six theoretically calculated molecular parameters in the antigibberellin (retardant) activity of quaternary ammonium salts is studied using regression analysis. A bioassay system based on cell culture of fungus *Gibberella fujikuroi* is used to determine the activity. In the case of *N,N,N*-trimethyl-*N*-(2-hydroxyethyl)ammonium chloride (choline) and *N,N,N*-triethyl-*N*-(2-hydroxyethyl)ammonium chloride (*N,N,N*-triethylcholine) derivatives with linear structure, the polarizability, proton acceptor activity, and lipophilicity of these compounds exert the largest effect on the antigibberellin activity. The antigibberellin activity of more sterically hindered *N,N*-dialkylpiperidinium salts was mainly defined by the steric parameter, while the polarizability, proton acceptor activity, and (through them) lipophilicity exert a lesser effect. Other parameters are of minor importance for the three groups of compounds studied. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2004, vol. 30, no. 6; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: antigibberellin activity, molecular parameters, quaternary ammonium salts