

АННОТАЦИЯ

диссертации на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности 6D060600 – Химия

Ташенов Ерболат Ордабекович

Новые производные доступных монотерпеноидов растений Казахстана и их биологическая активность

Общая характеристика диссертационного исследования.

Диссертационная работа посвящена поиску и препаративному выделению природных монотерпеноидов из эфирных масел растений Казахстана, а также их химической трансформации с последующим исследованием полученных производных на биологическую и каталитическую активности.

Для трансформационных превращений были выбраны два монотерпеноида сабинол и терпинен-4-ол, которые были препаративно выделены в чистом виде из эфирного масла (ЭМ) растения *Juniperus sabina* L. Ряд производных сабинола и терпинен-4-ола были стереоселективно синтезированы и протестированы на цитотоксическую и антирадикальную активности. Кроме того, синтезированные 3-амино-1,2-диола, диолы и триолы на основе сабинола исследовались в качестве хиральных катализаторов в асимметричной реакции присоединения Et_2Zn к бензальдегиду.

Актуальность темы исследования. Современная наука сосредоточена главным образом на инновационных терапевтических агентах, полученных из природных соединений, которые могут найти широкое применение в медицине, фармацевтике, а также в косметической и парфюмерной промышленности. Благодаря изменению химической структуры природных биологически активных соединений возможно увеличение, уменьшение или модификация их биологической активности. Исходя из этой основной идеи, можно получить широкий спектр различных структур, что приведет к разработке более эффективных терапевтических средств. В этом плане перспективным является применение монотерпеноидов в качестве исходных молекул для синтеза лекарственных веществ в силу их доступности, возобновляемости и широкого спектра биологической активности. В дополнение к пониманию того факта, что этот ресурс является практически неисчерпаемым, следует также упомянуть, что использование монотерпеноидов для разработки лекарств часто снижает токсичность получаемого соединения, что может указывать на наличие комплементарности между природными молекулами и живыми организмами, существующими тысячи лет.

Исследования показали, что как природные монотерпены, так и их синтетические производные обладают различными фармакологическими свойствами, включая противогрибковую, антибактериальную,

антиоксидантную, противоопухолевую, антиаритмическую, антиагрегационную, местноанестезирующую, противовоспалительную, антигистаминную и спазмолитическую активности. Монотерпены действуют также в качестве регуляторов роста, тепла, транспирации, ингибиторов опухолей, ингибиторов окислительного фосфорилирования, репеллентов насекомых и противодиабетических средств. Эти виды биологической активности могут быть потенциально использованы не только в фармацевтической, но и в пищевой и косметической промышленности.

Нахождение в природных источниках монотерпенов в чистых энантиомерных формах делают эти соединения удобными предшественниками для синтеза оптически активных лигандов для использования в асимметричном катализе. Монотерпены представляют собой оптически активные соединения, которые обладают несколькими стереоцентрами. Помимо их коммерческой доступности, преимущество этих молекул состоит в том, что существующие хиральные центры сохраняются в образовавшихся новых молекулах, и перенос хиральности обычно происходит с высокой стереоселективностью. Все эти достоинства делают данный класс соединений очень привлекательными в разработке хиральных лигандов (катализаторов) для целей органического синтеза.

Степень разработанности проблемы. Интерес к природным монотерпенам не перестает падать, и многочисленные исследовательские работы, публикуемые ежегодно в международных научных изданиях, служат доказательством данному факту. Анализ научных работ по фармакологическим свойствам монотерпенов показал, что большинство химически видоизмененных соединений данного класса проявляют противотуберкулезные, противовоспалительные, противомикробные, противовирусные и противоопухолевые свойства. Масштабные исследования по химической трансформации и изучению биологической активности природных монотерпенов проводятся исследовательскими группами под руководством Салахутдинова Н.Ф. (Россия), Zsolt S. (Венгрия), Dimitrov V. (Болгария), Hu Y., Wang Sh. (Китай), Rivas F. (США) и др.

Если говорить о применении монотерпенов в асимметричном катализе, то в последние годы было разработано несколько синтетических стратегий для получения энантиоочищенных 3-амино-1,2-диолов и 1,3-аминоспиртов, синтезированных модификацией встречающихся в природе монотерпенов, таких как (+)-лимонен, (+)- и (-)- α -пинен, (-)- β -пинен, (1R)-(-)-миртенол, (+)-пулегон, (+)-камфора, (-)-фенхон, (-)-ментон, (+)-3-карен и (-)-перилальдегид. Эти полезные синтоны были эффективно применены в качестве хиральных лигандов, и их каталитическая активность была тщательно протестирована и интерпретирована.

Нами был проведен подробный анализ литературных данных по монотерпеноидам сабинолу и терпинен-4-олу. Согласно этим данным сабинол хорошо известен своей антигельмитной активностью и как средство, стимулирующее менструацию, а терпинен-4-ол оказывает противоопухолевое действие на клетки рака легкого человека, а также

индуцирует апоптоз в клеточных линиях колоректального рака. Однако, несмотря на то, что эти соединения интенсивно изучались с биологической точки зрения, они практически не исследовались на предмет химических видоизменений. Также отсутствует информация о синтезе хиральных катализаторов на основе сабинановой бициклической системы.

Связь работы с планом государственных научных программ. Диссертационная работа выполнена в рамках совместных научно-исследовательских работ, проводимых в Институте прикладной химии при кафедре химии Евразийского национального университета им. Л.Н. Гумилева, в Институте фармацевтической химии университета Сегед (г. Сегед, Венгрия) и на кафедре химии Католического университета Леувен (г. Леувен, Бельгия).

Цель и задачи исследования. Основной целью исследовательской работы является получение синтетическим путем новых производных природных монотерпеноидов, встречающихся в эфирных маслах растений Казахстана, и их практическое применение в качестве биологически и каталитически активных веществ.

Для достижения заданной цели были поставлены и решались следующие задачи:

- исследовать компонентный состав эфирного масла (ЭМ) растения *Juniperus sabina* L. методом газовой хроматографии для установления количественного содержания сабинил ацетата и терпинен-4-ола;
- препаративно выделить в чистом виде монотерпеноиды терпинен-4-ол и сабинол, который содержится в ЭМ в виде сабинил ацетата;
- стереоселективно синтезировать и изучить трансформационные превращения 3-амино-1,2-диолов на основе сабинановой системы;
- стереоселективно синтезировать и изучить трансформационные превращения диолов и триолов на основе сабинановой бициклической системы;
- синтезировать триазолы и мочевины на основе сабинола;
- синтезировать 2-амино-1,4-диолы на основе *p*-ментановой системы;
- дать полную спектральную характеристику синтезированным производным, включая ^1H , ^{13}C , 2D ЯМР, Масс, X-ray, элементный анализ;
- определить цитотоксическую и антирадикальную активности производных сабинола;
- изучить каталитическую активность 3-амино-1,2-диолов, диолов и триолов на основе сабинановой системы в модельной реакции присоединения диэтилцинка к бензальдегиду.

Объектами исследования являются монотерпеноиды (+)-сабинол и R-терпинен-4-ол, выделенные из эфирного масла можжевельника казацкого.

Выбор объектов исследования основывался на наличии высокого содержания этих молекул в растительном сырье и отсутствии для них данных (в литературных источниках) по химически модифицированным производным.

Сабинол и терпинен-4-ол ранее практически не подвергались синтетическим трансформациям. Кроме того, эти монотерпеноиды содержатся в высоких концентрациях в эфирном масле можжевельника казацкого, что определил выбор данного растения в качестве источника сабинола и терпинен-4-ола.

Предметом исследования в данной диссертационной работе являлись химические превращения монотерпеноида (+)-сабинола с помощью реакций перегруппировки Овермана, дигидроксилирования, гидроборирования-окисления, эпоксилирования, введения-снятия защитных групп, создания гетероциклических систем (оксазин, триазол), а также трехступенчатая химическая трансформация R-терпинен-4-ола с получением ряда 2-амино-1,4-диолов посредством химических реакций создания оксиранового цикла с последующим аминолизом полученного эпоксида.

Научная новизна полученных результатов исследований констатируется тем фактом, что впервые:

- разработана оптимальная технология выделения и очистки (+)-сабинола и R-терпинен-4-ола из эфирного масла можжевельника казацкого (*Juniperus sabina* L.);

- стереоселективно синтезированы 19 новых энантиомерно чистых соединений на основе бициклического сабинанового каркаса (диолы, триолы, аминодиолы, триазолы, мочевины и др.) с установлением их тонкой химической структуры;

- стереоселективно синтезированы 6 новых соединений на основе терпинен-4-ола с выходами более 50% с детальным анализом их спектральных данных при установлении молекулярной структуры;

- был проведен биоскрининг новых синтезированных производных на цитотоксическую и антирадикальную активности;

- синтезированные 3-амино-1,2-диолы, 1,3-диол и триолы на основе (+)-сабинола были применены в качестве катализаторов при этилировании бензальдегида диэтилцинком.

Теоретическая значимость исследования заключается в том, что разработаны методы по препаративному извлечению монотерпеноидов из природных источников. Кроме того, реакции трансформации (+)-сабинола и R-терпинен-4-ола расширили общие знания по химическим свойствам моно- и бициклических монотерпенов с гидроксильными и алкенильными функциональными группами. Структура диола на основе сабинановой бициклической системы, охарактеризованного методом рентгеноструктурного анализа, зарегистрирована в Кембриджском банке структурных данных.

Практическая значимость исследования заключается в возможности применения синтезированных соединений в качестве потенциальных биологически активных веществ. Также многообещающей является использование синтезированных аминодиолов на основе бициклической сабинановой системы в качестве хиральных катализаторов для синтеза энантиомерно чистых соединений, что является весьма актуальной для получения

синтетических лекарственных веществ с высокой чистотой, которое имеет прямое влияние на их биологическое действие.

Личный вклад автора работы состоит в сборе, обработке и анализе литературных данных по теме диссертации, непосредственном планировании и проведении экспериментальной части. Соискатель принимал участие в анализе, интерпретации и оформлении полученных результатов исследований и их обсуждении, а также в подготовке научных статей для публикации в республиканских и международных изданиях.

Основные положения, выносимые на защиту:

- исследование компонентного состава эфирного масла, выделенного из надземной части растения *Juniperus sabina* L.;
- методы выделения и очистки монотерпеноидов (+)-сабинола и R-терпинен-4-ола;
- химическая трансформация (+)-сабинола;
- химическая трансформация R-терпинен-4-ола;
- биологическая активность (антирадикальная и цитотоксическая) синтезированных производных;
- каталитическая активность аминодиолов, диолов и триолов, стереоселективно синтезированных из (+)-сабинола.

Выводы по результатам диссертационного исследования:

1. Методом хромато-масс спектрометрии был исследован компонентный состав эфирного масла растения *Juniperus sabina* L., взятое в качестве объекта исследования и источника монотерпеноидов. В результате проведенного эксперимента установлено, что ЭМ можжевельника казацкого содержит 42 соединений, в сумме дающих 100% летучего состава. Для препаративного извлечения представляют интерес сабинен, *транс*-сабинил ацетат и терпинен-4-ол в ЭМ *Juniperus sabina* L. с количественным содержанием 37.92%, 31.47% и 10.87%, соответственно.

2. Разработана эффективная технология для препаративного разделения кислородсодержащих монотерпенов, которая позволила выделить (+)-сабинол и R-терпинен-4-ол из ЭМ *Juniperus sabina* L. с чистотой не менее 95% в количествах (более 1 г), достаточных для использования в качестве исходных соединений при химической трансформации.

3. Стереоселективно синтезирован ряд 2-амино-1,3-диолов на основе бициклической сабинановой системы. Синтетический путь к первичному аминодиолу (136), лежал через основную реакцию перегруппировки Овермана, замены защитной трихлорацетамидной группы на *трет*-бутилкарбонатную, реакций дигидроксилирования и снятия протекторной группы. Весь процесс синтеза целевой молекулы (136) состоял из 7 стадий с показателями выходов продуктов реакций >77%. Далее аминодиол (136) трансформировали в N-бензил производный вторичный аминодиол (137), а затем был получен конечный продукт кольцевого замыкания спирооксазолидин (138) с выходом 90%.

4. (+)-Сабинол применялся в качестве исходного соединения для стереоселективного получения диолов и триолов. Синтез диола

осуществлялся за счет реакции гидроборирования-окисления с применением боргидридных комплексов $\text{BH}_3 \cdot \text{TGF}$ или $\text{BH}_3 \cdot \text{Me}_2\text{S}$, приводящие к продукту с выходами 47% и 70%, соответственно. Синтез двух диастреоизомерных триолов осуществлен разными синтетическими путями: первый – стереоселективным дигидроксилированием сабинола системой OsO_4/N -метилморфолин N -оксид и, второй - щелочным гидролизом региоизомерных сложных эфиров, образованных при реакции эпокидирования сабинола с м-ХПБК.

5. Селективно получены два 1,5-дизамещенных 1,2,3-триазола трехкомпонентной реакцией, состоящей из первичного амина на основе бициклической монотерпеновой системы, енолизуемых кетонов и 4-нитрофенилазида с помощью органокасадного процесса с выходами продуктов >50%. В результате взаимодействия первичного амина и гексил изоцианата был получен уреид в виде желтого маслянистого вещества с 95% выходом.

6. Стереоселективно и с высокими выходами синтезированы шесть новых 2-амино-1,4-диолов на основе *p*-ментановой системы с помощью последовательных реакций эпокидирования *R*-терпинен-4-ола с последующим открытием оксиранового цикла первичными бензил и фенил аминами, замещенными в кольце различными функциональными группами.

7. Доказательство химических структур новых синтезированных соединений на основе (+)-сабинола и *R*-терпинен-4-ола проводилось с помощью комбинацией ^1H , ^{13}C ЯМР и Масс-спектрологии, элементного анализа, ГХ-МС, ВЭЖХ. Абсолютные конфигурации молекул и положения атомов были установлены с помощью двумерных спектров ЯМР (^1H - ^1H COSY, HSQC, HMBC, NOSY). Кроме того, структура диола исследована рентгеноструктурным анализом.

8. Новые производные сабинола (131), (132) и (146) испытаны на антирадикальную и цитотоксическую активности и установлено, что все они обладают цитотоксичностью и не обладают свойством захвата свободных радикалов.

9. Синтезированные новые хиральные аминодиолы, диолы и триолы на основе (+)-сабинола служили в качестве асимметричных катализаторов в модельной реакции присоединения диэтилцинка к бензальдегиду. В результате исследования установлено, что аминодиолы являются более эффективными катализаторами по сравнению с диол или триол производными с показателями $ee > 44\%$.

Апробация полученных результатов. Основные результаты диссертационной работы прошли апробацию в виде устного и постерного доклада в следующих конференциях и симпозиумах: Республиканская научно-практическая конференция «Постиндустриальный мир: зеленый рост и зеленая экономика» (Усть-Каменогорск, 24-25 ноября, 2016); V Научно-практическая конференция «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине» (Москва, Российская Федерация, 15 марта, 2017); VI Международная научная

конференция «Теоретическая и экспериментальная химия» (Караганда, 15-17 июня, 2017); и XVI Международный научный симпозиум «16th Belgian Organic Synthesis Symposium» (Брюссель, 8-13 июля, 2018); а также обсуждались на семинаре в Университете Сегед во время прохождения научно-исследовательской стажировки (Сегед, Венгрия, 2018).

Публикации. Основные результаты исследований по теме диссертации представлены в 9 опубликованных работах, в том числе 2 статьи в международных изданиях, имеющих ненулевой импакт-фактор по данным базы научных журналов Scopus (Q3) и Web of Science (Q2), 3 статьи в журналах, входящих в список рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК, и 4 работ в сборниках научных трудов международных и республиканских конференций.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, результатов исследования и их обсуждения, заключения, списка процитированных источников и приложений. Общий объем работы составляет 117 страниц машинописного текста и включает в себя 45 рисунков, 21 таблицу и 168 наименований использованных источников.