

АННОТАЦИЯ

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

Аманжан Әсел

Синтез новых биологически активных соединений на основе алкалоида гармина

Общая характеристика работы. Диссертационная работа посвящена синтезу новых соединений на основе алкалоида гармина, разработке оптимальных методов синтеза, изучению строения новых производных гармина, и получению на их основе новых биологически активных соединений лекарственного назначения.

Актуальность работы. β -Карболиновые алкалоиды характеризуются широким спектром биологической активности, включая противоопухолевое, антидепрессантное, нейротропное, анальгезирующее, антибактериальное, гепатопротекторное и инсектицидное действие, что позволяет рассматривать их перспективным источником для разработки новых оригинальных лекарственных средств.

Доступным и перспективным исходным соединением для направленной химической модификации является β -карболиновый алкалоид гармин, содержащийся в подземной части *Peganum harmala* L. (гармала обыкновенная).

Цель исследования: Разработка рационального способа выделения алкалоида гармина из *Peganum harmala* L., создание эффективных методов введения алкинильных, ароматических и гетероциклических заместителей по углеродному атому С-6 и С-8, установление взаимосвязи структуры синтезированных соединений с их биологической активностью.

Задачи исследования:

1. Разработка эффективного способа выделения алкалоида гармина из *Peganum harmala* L.;
2. Синтез 8-ацетилгармина и изучение условий его конденсации с ароматическими альдегидами и циклизации образующихся халконов с гидразин гидратом;
3. Изучение стереоселективности реакции 8-ацетилгармина с гидразингидратом. Получение (*Z*)-гидразона 8-ацетилгармина и изучение условий его конденсации с арилальдегидами;
4. Бромирование 8-ацетилгармина; изучение условий реакции Сузуки-Мияура 6-бром-8-ацетилгармина с арилборными кислотами;
5. Изучение условий иодирования гармина и 8-ацетилгармина;
6. Кросс-сочетание 8-иодгармина и 6-иод-8-ацетилгармина с TMS-ацетиленом в толуоле (Реакция Соногаширы);
7. [3+2] циклоприсоединении между (алкил)азидом и терминальным алкином, введённым в структуру гармина, образующие 1,2,3-триазол (CuAAC);
8. Молекулярный докинг и биоскрининг образцов синтезированных новых соединений;
9. Анализ связи «структура-активность» в ряду синтезированных производных гармина. Выявление наиболее перспективных алкалоидных

соединений, обладающих потенциалом для дальнейшего использования в качестве основы при разработке лекарственных субстанций.

Методы исследования: В процессе работы применялись современные методы органического синтеза, включая реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения и кросс-сочетания. Для выделения и очистки β -карболиновых алкалоидов использовались методы экстракции, осаждения, хроматографии и кристаллизации. В исследовании применялись физико-химические методы для установления структуры молекул синтезированных соединений: ультрафиолетовая и инфракрасная спектроскопия, спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР), масс-спектрометрия (МС), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), рентгеноструктурный анализ (РСА), элементный анализ, измерение оптического вращения и температуры плавления, а также проведение квантово-химических расчётов с целью оценки реакционной способности соединений. Для анализа связи «структура-активность» в ряду синтезированных производных гармина проведен молекулярный докинг и биоскрининг образцов синтезированных новых соединений.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Сравнительно высокая эффективность экстракции суммы алкалоидов и мажорного компонента – гармина (степень извлечения до 97% от содержания в воздушно-сухом сырье) из корней *Peganum harmala* L. обеспечивает метод перколяции, при этом оптимальным режимом экстракции является степень измельчения сырья – 2-3 мм, двукратная экстракция с гидромодулем 1:10 при температуре 65°C в течение трех часов.

2. Избирательное введение заместителей в положение С-8 гармина по методу Фриделя-Крафтса, позволяет синтезировать новое производное 8-ацетилгармин с выходом 61%. Формилирование гармина под действием дихлорметоксиметана в хлороформе при 0°C в присутствии четыреххлористого олова позволяет синтезировать 8-формилгармин с выходом 64%.

3. При эффективном использовании 5 мл 25% водного раствора гидроксида натрия в реакции конденсации Кляйзена-Шмидта 8-ацетилгармина с ароматическими альдегидами в этаноле при комнатной температуре, выход синтезированных соответствующих халконов составляет 90–95%. Обработка β -карболиновых халконов действием гидразингидрата и уксусной кислоты позволяет синтезировать производные гармина, содержащие 5-арил-1-ацетилпиразолиновый заместитель в положении С-8 с выходами 56-78%.

4. При действии гидразингидрата с 8-ацетилгармином в спиртовой среде при температуре реакционной смеси 60°C образует Z-гидразон-8-ацетилгармин, и его конденсация с ароматическими альдегидами приводит к 2,3-диаминам в (Z,Z)-конфигурации с выходами 56-82%.

5. Селективность образования 6-бром-8-ацетилгармина с выходом 90%, гладко протекает при взаимодействии 8-ацетилгармина с N-бромсукцинимидом при двух эквивалентном мольном соотношении в хлористом метиле.

6. Синтез 6-арил-8-ацетилгармина на основе реакции кросс-сочетания 6-бром-8-ацетилгармина с арилборными кислотами протекает при кипячении в водном толуоле (1:5) в присутствии $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ в качестве катализатора, Na_2CO_3 в качестве основания и аммониевой соли $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{Br}^-$ в качестве добавки.

Основными результатами исследования диссертационной работы являются: разработан эффективный способ выделения алкалоида гармина из

Peganum harmala L. методом перколяции; предложены эффективные способы синтеза производных β -карболинового алкалоида 8-формил- и 8-ацетилгармина; конденсацией 8-ацетилгармина с ароматическими альдегидами синтезированы соответствующие халконы, реакцией которых с гидразин гидратом в уксусной кислоте получены 3-замещенные 1-ацетилпиразолины; предложен на основе гармина эффективный метод синтеза (Z)-гидразон-8-ацетилгармина и изучены условия его взаимодействия с альдегидами; предложены условия селективного галогенирования гармина для реакции кросс-сочетания, катализируемые палладием; изучены условия click chemistry, использующий катализируемое соединениями меди(I) азид-алкиновое циклоприсоединение (CuAAC).

В целом по результатам проведенных экспериментов синтезированы 35 новых алкалоидных соединений. По результатам молекулярного докинга и биоскрининга образцов синтезированных соединений определены перспективные источники новых лекарственных субстанций.

Научная новизна работы:

1. Разработаны эффективные методики избирательного введения заместителей в положение С-8 гармина.

- Показано, что формилирование гармина под действием дихлорметоксиметана в хлороформе в присутствии четыреххлористого олова приводит к образованию 8-формилгармина.

- При ацетилировании гармина действием ацетила хлористого в хлористом метиле при пониженной температуре в присутствии четыреххлористого олова гладко образуется 8-ацетилгармин.

- Предложены условия гидразинолиза 8-ацетилгармина, протекающего с образованием (Z)-гидразон-8-ацетилгармина, конденсацией которого с ароматическими альдегидами синтезированы 8-[1-(арилиденгидразоно)этил]замещенные производные гармина в (Z,Z) конфигурации.

- Разработаны эффективные подходы к синтезу производных гармина, содержащих (5-арил-1-ацетил-4,5-дигидропиразол-3-ильный) заместитель в положении С-8 последовательностью конденсации 8-ацетилгармина с ароматическими альдегидами и реакции образовавшихся β -карболиновых халконов с гидразингидратом.

2. Предложены условия селективного бромирования 8-ацетилгармина с образованием 6-бром-8-ацетилгармина. Показано, что реакция кросс-сочетания 6-бром-8-ацетилгармина с арилборными кислотами легко протекает при кипячении в водном толуоле (1:5) в присутствии $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ в качестве катализатора, Na_2CO_3 в качестве основания и аммониевой соли $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{Br}^-$ (1 экв): добавление аммониевой соли инициирует реакцию кросс-сочетания.

3. Предложены методики препаративного синтеза 6-иод-8-ацетилгармина и 8-иодгармина на основе реакции иодирования N-иодсукцинимидом в среде трифторуксусная кислота-хлористый метиле в соотношении 1:4. Разработан метод синтеза 8-ацетил-6-этинилгармина реакцией Соногаширы 6-иод-8-ацетилгармина с (триметилсилил)ацетиленом в толуоле и последующего десилилирования. Осуществлена селективная модификация 6-этинил-8-ацетилгармина с введением 1,2,3-триазольного гетероциклического заместителя в положение С-6 β -карболинового остова на основе CuAAC-реакции 6-этинил-8-ацетилгармина с азидами различной природы.

Строение молекул новых синтезированных соединений установлено с использованием ИК-, УФ-, ^1H -, ^{13}C - (HSQC, HMBC, COSY, NOESY) ЯМР- и масс-спектрологии, элементного и рентгеноструктурного анализа.

По результатам проведенного биоскрининга новые С-6 и С-8 замещенные производные гармина в 4-7 раз менее токсичны в дозе 100 мкг/мл в отношении личинок морских рачков *Artemia salina* Leach.

- По результатам исследований нейротропной активности в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Открытое поле», показано, что 8-ацетилгармин, азометины гармина, β -карболино-халконовый гибрид и 6-(1-арилтриазол-4-ил)производные 8-ацетилгармина в дозе 10 мг/кг обладают анксиолитическим действием.

- В результате исследований антидепрессантного эффекта гармин в тесте «Порсолт» проявил выраженный антидепрессивный эффект, и превосходил активностью препарата Амитриптилин, введенного в дозе 10 мг/кг, результаты для 4-фторгидразонгармина и 6-арилзамещенных производных 8-ацетилгармина, сопоставимы с действием референтного препарата «Амитриптилин», вводимого в аналогичной дозе.

- В результате исследований синтезированных производные гармина установлена анальгетическая активность для (Z)-гидразон-8-ацетилгармин и 6-(1-арилтриазол-4-ил) производных 8-ацетилгармина в тесте «уксусные корчи», сравнимая с эффектом препарата «Диклофенак натрия».

Наиболее перспективными по совокупности свойств являются 8-ацетилгармин, Z-гидразон-8-ацетилгармин, β -карболино-халконовый гибрид и 6-(1-арилтриазол-4-ил) производные 8-ацетилгармина, которые могут быть рассмотрены как прототипы для разработки новых лекарственных препаратов многопрофильного действия.

Важность полученных результатов исследования заключается в установлении закономерностей и особенностей синтетических трансформаций алкалоида гармина, ведущих к образованию 8-замещенных производных с различным структурным строением. В работе предложены новые подходы к химической модификации в положении С-6 и С-8 гармина. Применение каталитических систем на основе соединений палладия для кросс-сочетания в настоящей работе позволило уточнить реакционное поведение полифункциональных молекул. Проведенные превращения открывают новые возможности модификации молекулы гармина по ароматическому кольцу и расширяют теоретические представления и химических свойствах доступного β -карболинового алкалоида гармина.

По результатам первичного тестирования на цитотоксичность, анальгетическую, нейротропную и антидепрессантную активности производных гармина выявлены перспективные для дальнейшего исследования анальгетические агенты и антидепрессанты.

Связь работы с планом государственных научных программ. Диссертационная работа выполнена в АО «НПЦ «Фитохимия» по темам: №АР05135304 «Химическое изучение алкалоидоносных растений, как перспективных источников биологически активных веществ» на 2018-2020 гг. и №АР08052389 «Разработка нового нейротропного препарата: фармакологические и клинические исследования» на 2020-2022 гг.

Личный вклад автора в диссертационную работу заключается в анализе научно-технических и патентных источников. Автор лично провела планирование и проведение химических экспериментов, хроматографическое разделение реакционных смесей, выделение новых индивидуальных соединений, а также структурную идентификацию веществ с использованием спектральных данных, а также полученные результаты обсуждала с научными консультантами. На основе полученных материалов диссертационной работы соискателем подготовлены научные статьи и тезисы докладов.

Вкладом докторанта в подготовку каждой публикации является проведение литературного и патентного поиска, выбор научного журнала, подготовка и описание статьи и интерпретация полученных результатов, переписка с редакцией журналов и рецензентами в следующих научных статьях:

1. «Synthetic modifications of carboline alkaloid harmine: Synthesis of 8-substituted derivatives» <https://doi.org/10.1007/s10593-019-02429-1> - Синтез гармина по углеродному атому С-8, установление строения структуры молекул новых синтезированных соединений по данным физико-химических констант.

2. «Structure and stereochemistry of a hydrazone derivative of harmine» <https://doi.org/10.1134/S0022476621030161> – Синтез Z-гидразон-8-ацетилгармин, кристаллизация этанолом для установления строения молекулы методом РСА.

3. «Analgesic and antidepressant activity of 8-substituted harmine derivatives» <https://doi.org/10.1007/s10593-022-03092-9> - Синтез новых производных гармина, установление структуры молекул физико-химическими методами: ИК-, УФ-, ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия, элементный анализ, определение оптического вращения и температуры плавления.

4. «Synthesis of 6-aryl-substituted derivatives of 8-acetylharmine and evaluation of their cytotoxicity and antidepressant activity» <https://doi.org/10.1007/s10600-024-04530-0> - Синтез 6-арилзамещенных производных 8-ацетилгармина реакцией кросс-сочетания по Сузуки-Мияура моногалогенпроизводного 8-ацетилгармина с производными фенилборной кислотой. Отнесение сигналов ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии для установления структуры молекул синтезированных новых производных гармина.

5. «Synthesis and structure of hydrazone derivatives of harmine» <https://doi.org/10.32014/2020.2518-1491.48> - Синтез и отнесение сигналов методом ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии для установления структуры молекул синтезированных новых производных гармина.

6. «Нейротропная активность растительных алкалоидов» <https://doi.org/10.26577/eb.2021.v88.i3.14> - Нарботка алкалоида гармина для изучения нейротропной активности.

7. «Synthesis of new acetylharmine derivatives and their neurotropic activity» <https://doi.org/10.26577/IJBCh20251811> - // Синтез и отнесение сигналов методом ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии для установления структуры молекул синтезированных новых производных гармина, изучения нейротропной активности производных.

Основные положения, выводы и научные результаты диссертации докладывались и обсуждались на международных конференциях:

1. Моделирование способа выделения гармина из сырья *Peganum harmala* L. – Барнаул, 2021. - Оптимизирован способ выделения алкалоида гармина из *Peganum harmala* L.(статья в журнале реферируемого в базе РИНЦ)

2. Синтез новых соединений на основе гармина и их цитотоксичность. - Сыктывкар, 2024. – Синтезированы новые производные гармина для изучения цитотоксичности.

3. Синтез ацетиленовых производных гармина и триазолов на их основе. – Новосибирск, 2023. - Проведена реакция кросс-сочетания иодпроизводных с триметилсилилацетиленом с последующим десилилированием, изучены условия 6-этилпроизводного 8-ацетилгармина с азидами (CuAAC-реакция).

4. Синтез и структура нового 8-арилакрилоилпроизводного гармина. — Караганда: Изд-во НАО «Карагандинский ун-т им. акад. Е.А. Букетова», 2023. - Синтез и отнесение сигналов методом ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии для установления структуры молекулы нового 8-арилакрилоилпроизводного гармина.

5. Новые биологически активные производные 8-ацетилгармина. – Шерегеш, Кемеровская обл., 2022. – Синтез новых производных гармина, определение нейротропной активности.

6. Новые гетероциклические соединения на основе гармина. Строение и биологическая активность. – Пермь, 2022. – Синтез новых производных гармина, определение антимикробной активности.

7. 6,8-Дизамещенные производные гармина, обладающие нейротропной активностью. – Новосибирск, 2022. – Синтез 6,8-Дизамещенных производных гармина, установление строения молекул новых производных.

8. New hydrazone derivatives of harmine. – Shanghai, 2019. – Синтез гидразонпроизводных гармина.

Публикации и апробация работы. Основные положения диссертации отражены в следующих публикациях: 3 статьи в журналах, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан; 4 статьи в зарубежных научных изданиях, входящих в базы данных Web of Science и Scopus; 1 статья в журнале реферируемого в базе РИНЦ; тезисы 7 докладов в материалах международных конференций.

Основные положения, выводы и научные результаты диссертации докладывались и обсуждались на международных конференциях: XIII Международной научной конф. «Химия и технология растительных веществ» (Сыктывкар, 2024г.), Всероссийская научная конф. с международн. участием «Современные проблемы органической химии» (Новосибирск, 2022 и 2023гг.), VII Международная научно-практическая конф. «Теоретическая и экспериментальная химия» (Караганда, 2023г.), Всероссийская молодёжная научная школа-конф. «Актуальные проблемы органической химии» (Шерегеш, Кемеровская обл. 2022г.), VII Всероссийская конф. с международн. участием «Техническая химия. От теории к практике» (Пермь, 2022г.), XIII Международная конф. «Актуальные проблемы химии, биологии и технологии природных соединений» (Шанхай, Китай, 2019г.).