

**Российская Академия Наук  
Сибирское отделение**  
*Новосибирский Институт органической  
химии  
имени Н.Н. Ворожцова*

**КРАТКИЙ ОТЧЕТ  
НИОХ СО РАН**

**о научной и научно-организационной  
деятельности**

**за 2013 год**



**Новосибирск 2014**



## СОДЕРЖАНИЕ

1. Кадровый состав	5
2. Дирекция	5
3. Ученый Совет	5
4. Научно-исследовательские подразделения	6
<b>НАУЧНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ИНСТИТУТА</b>	7
5. Основные научные направления деятельности Института	7
6. Лаборатория изучения механизмов органических реакций	8
7. Лаборатория азотистых соединений	10
8. Лаборатория гетероциклических соединений	19
9. Лаборатория галоидных соединений	25
10. Лаборатория изучения нуклеофильных и ион-радикальных реакций	33
11. Лаборатория промежуточных продуктов	36
12. Лаборатория терпеновых соединений	40
13. Лаборатория физических методов исследования	47
14. Лаборатория экологических исследований и хроматографического анализа	64
15. Лаборатория микроанализа	75
16. Группа металлокомплексного катализа	77
17. Группа определения состава и строения органических веществ	78
18. <b>Отдел медицинской химии</b>	80
19. Лаборатория физиологически активных веществ	80
20. Лаборатория медицинской химии	109
21. Лаборатория фармакологических исследований	122
22. <b>Отдел химии материалов</b>	135
23. Лаборатория органических светочувствительных материалов	135
24. Группа функциональных материалов	143
25. Группа синтеза катализаторов полимеризации	147
26. Группа органических материалов для электроники	148
27. Основные научные и прикладные результаты, полученные в ходе выполнения НИР по различным проектам	150
28. Краткий перечень публикаций за 2013 год	156
<b>НАУЧНО-ОРГАНИЗАЦИОННАЯ РАБОТА</b>	156
29. Деятельность Учёного Совета	156
30. Рост и подготовка научных кадров	157
31. Общая характеристика изобретательской и патентно-лицензионной работы	157

32. Международные научные связи	157
33. Научно-образовательные лектории «Актуальные проблемы органической химии»	158
34. Преподавательская деятельность	158
35. V Олимпиада по органической химии для старшеклассников и студентов г. Новосибирска	158
36. Выставочная деятельность	158
37. Гранты и стипендии Президента РФ, молодежные конкурсы и программы, прочие бюджетные финансируемые проекты	159
38. Конкурс научных работ и конкурс молодых ученых, посвященных 55-летию Института	159
39. Награды Института и отдельных ученых	160

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Новосибирский институт органической химии  
им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения  
Российской академии наук  
(создан 27.06.1958 г.)**

**Кадровый состав**

На 31 декабря 2013 года в Институте работает 368 человек, из них 140 научных сотрудников, в том числе 29 докторов наук, 92 кандидата наук, 19 без ученой степени. Должностной состав – 1 и.о. директора, 2 зам. директора по науке, 1 ученый секретарь, 14 зав. лабораториями, 5 руководителей тематических групп, 2 зав. отделом, 7 главных научных сотрудников, 11 ведущих, 54 старших, 39 научных, 14 младших научных сотрудников, 12 молодых специалистов, 23 аспиранта.

**Дирекция**

И.о. директора Института – проф., д.ф.-м.н. Е.Г. Багрянская

Заместители директора по научной работе:

- д.х.н. В.В. Шелковников,

- д.х.н. А.Я. Тихонов

Ученый секретарь – к.х.н. И.А. Халфина

Заместитель директора по общим вопросам – А.П. Грязнов

Заместитель директора по техническим вопросам – А.А. Исаков

**Ученый Совет**

Багрянская Е.Г.	д.ф.-м.н.	и.о. директора института, председатель
Халфина И.А.	к.х.н.	ученый секретарь
Ткачев А.В.	д.х.н.	заведующий лабораторией
Григорьев И.А.	д.х.н.	заведующий лабораторией
Зибарев А.В.	д.х.н.	заведующий лабораторией
Резников В.А.	д.х.н.	ведущий научный сотрудник
Тихонов А.Я.	д.х.н.	заведующий лабораторией
Шелковников В.В.	д.х.н.	заведующий лабораторией
Штейнгарц В.Д.	д.х.н.	заведующий лабораторией
Шубин В.Г.	д.х.н.	заведующий лабораторией
Волчо К.П.	д.х.н.	ведущий научный сотрудник
Олейник И.И.	д.х.н.	руководитель группы
Салахутдинов Н.Ф.	д.х.н.	заведующий отделом
Толстикова Т.Г.	д.б.н.	заведующая лабораторией
Шульц Э.Э.	д.х.н.	заведующая лабораторией
Мажукин Д.Г.	к.х.н.	научный сотрудник
Тихова В.Д.	к.х.н.	заведующая лабораторией
Малыхин Е.В.	к.х.н.	руководитель группы
Маматюк В.И.	к.х.н.	ведущий научный сотрудник
Морозов С.В.	к.х.н.	заведующий лабораторией
Тормышев В.М.	к.х.н.	руководитель группы
Чибирияев А.М.	к.х.н.	старший научный сотрудник
Бредихин Р.А.	к.х.н.	председатель Совета молодых ученых

## **Научно-исследовательские подразделения института и их руководители**

В структуру научных подразделений Института входят 2 отдела, 14 лабораторий и 5 групп:

### Отдел медицинской химии

Руководитель - проф., д.х.н. Н.Ф. Салахутдинов

### Лаборатория физиологически активных веществ

Заведующий лабораторией - проф., д.х.н. Н.Ф. Салахутдинов

### Лаборатория медицинской химии

Заведующая лабораторией - проф., д.х.н. Э.Э. Шульц

### Лаборатория фармакологических исследований

Заведующая лабораторией - проф., д.б.н. Т.Г. Толстикова

### Отдел химии материалов

Руководитель - д.х.н. В.В. Шелковников

### Лаборатория органических светочувствительных материалов

Заведующий лабораторией - д.х.н. В.В. Шелковников

### Группа функциональных материалов

Руководитель группы – к.х.н. Е.В. Малыхин

### Группа синтеза катализаторов полимеризации

Руководитель группы – д.х.н. И.И. Олейник

### Группа органических материалов для электроники

Руководитель группы – к.х.н. Е.А. Мостович

### Лаборатории и группы

### Лаборатория изучения механизмов органических реакций

Заведующий лабораторией - проф., д.х.н. В.Г. Шубин

### Лаборатория азотистых соединений

Заведующий лабораторией - проф., д.х.н. И.А. Григорьев

### Лаборатория галоидных соединений

Заведующий лабораторией - проф., д.х.н. В.Е. Платонов

### Лаборатория гетероциклических соединений

Заведующий лабораторией - д.х.н. А.В. Зибарев

### Лаборатория изучения нуклеофильных и ион-радикальных реакций

Заведующий лабораторией - проф., д.х.н. В.Д. Штейнгарц

### Лаборатория микроанализа

Заведующая лабораторией - к.х.н. В.Д. Тихова

### Лаборатория промежуточных продуктов

Заведующий лабораторией - д.х.н. А.Я. Тихонов

Лаборатория терпеновых соединений

Заведующий лабораторией - проф., д.х.н. А.В. Ткачев

Лаборатория физических методов исследования

Заведующая лабораторией - проф., д.ф.-м.н. Е.Г. Багрянская

Лаборатория экологических исследований и хроматографического анализа

Заведующий лабораторией - к.х.н. С.В. Морозов

Группа металлокомплексного катализа

Руководитель группы - к.х.н. В.М. Тормышев

Группа определения состава и строения органических веществ

Руководитель группы - к.х.н. И.Ф. Михайлова

## **НАУЧНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ИНСТИТУТА**

### **Основные направления фундаментальных и прикладных исследований, утверждённые Уставом**

Институт проводит фундаментальные и прикладные исследования по следующим направлениям:

- изучение механизмов реакций органических соединений, молекулярных перегруппировок, строения и свойств соединений и активных промежуточных частиц, включая квантово-химические методы расчета структуры и свойств веществ;
- методы синтеза ароматических, фторорганических, гетероциклических и гетероатомных (содержащих атомы азота, серы и др.) соединений, включая стабильные радикалы, полимеры, мономеры;
- разработка аналитических и инструментальных методик установления структуры и строения органических соединений, а также контроля объектов окружающей среды;
- синтез, изучение свойств и формирование органических, гибридных и полимерных материалов; разработка научных основ технологий получения практически важных веществ и препаратов;
- методы и технологии выделения, химическая природа, реакционная способность и биологическая активность растительных метаболитов; направленные синтетические трансформации, изучение фармакологических свойств и механизма действия биологически активных агентов природного и синтетического происхождения.

В рамках этих направлений в научных подразделениях Института ведутся исследования по различным проектам и программам.

## НАУЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

### Лаборатория изучения механизмов органических реакций

Заведующий лабораторией - проф., д.х.н. В.Г. Шубин

**Проект V.44.1.13.** «Механизмы ионных, ион-радикальных и радикальных органических реакций. Экспериментальное и теоретическое исследование строения и реакционной способности интермедиатов»

**Пункт 6.** «Изучение реакции циклизации долгоживущих карбокатионов фенантренового ряда»

Методом ЯМР установлено, что долгоживущий 9,9-диметил-10-фенилэтинилфенантрениевый катион в кислотных средах претерпевает циклизацию, направление которой зависит от кислотности среды. В сверхкислоте  $\text{HSO}_3\text{F}\cdot\text{SbF}_5$  протекает циклизация, в которой нуклеофильной компонентой выступает ароматическое кольцо остова, и образуется 5а,6-диметил-4-фенил-4,5,5а,6-тетра-гидро-4Н-ацефенантрилен-4,6-бис-ильный дикатион. В отличие от этого, в трифторуксусной кислоте образуется нейтральное соединение – 8b,14b-диметил-8b,14b-дигидробензо[g]хризен-10-илтрифторацетат, представляющий собой продукт циклизации, в которой нуклеофильной компонентой выступает фенильная группа (схема 1). В кислоте промежуточной силы  $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$  реализуются оба направления реакции.

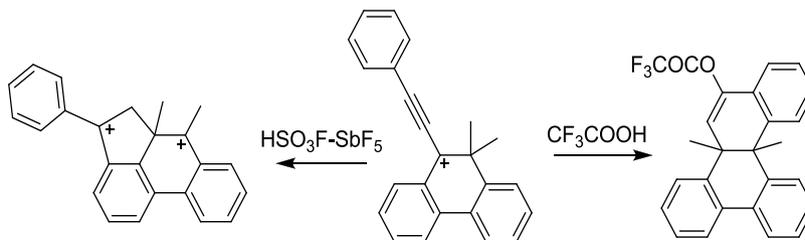


Схема 1

**Программа фундаментальных исследований ОХНМ РАН № 5.1.** «Теоретическое и экспериментальное изучение природы химической связи и механизмов важнейших химических реакций и процессов»

**Проект 5.1.4.** «Изучение механизмов органических электрофильных реакций»

**Пункт 1.** «Разработка методов синтеза соединений-предшественников долгоживущих карбокатионов с ацильными группами в  $\beta$ -положении к катионному центру и подбор условий, необходимых для генерирования таких карбокатионов»

Для получения соединений-предшественников долгоживущих карбокатионов фенантренового ряда с ацильными группами в  $\beta$ -положении к катионному центру взаимодействием альдегидов с триметилсилилцианидом были синтезированы эфиры циангидринов  $\text{RCH}(\text{CN})\text{OSiMe}_3$  ( $\text{R}=\text{Ph}, \text{Me}$ ), которые были использованы в качестве реагентов при взаимодействии с 10,10-диметилфенантреном-9. В случае циангидрина  $\text{PhCH}(\text{CN})\text{OSiMe}_3$  образовался 10,10-диметил-9-бензоил-9-триметилсилилокси-9,10-дигидрофенантрэн (1) – потенциальный предшественник 9-бензоил-9,10-диметилфенантрениевого катиона. Его строение было надёжно установлено спектральными методами и методом рентгеноструктурного анализа. Методом ЯМР было изучено химическое поведение соединения 1 в сверхкислых

средах ( $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}\text{-CD}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{HSO}_3\text{F}\text{-SO}_2\text{ClF}\text{-CD}_2\text{Cl}_2$ ) в широком температурном интервале. Было установлено, что этот карбинол превращается в сложную смесь продуктов.

**Пункт 2.** «Изучение химического поведения карбинолов фенантренового ряда в кислотных средах, изучение влияния кислотной среды на направление реакции циклизации винил-катионных интермедиатов»

Ранее было найдено, что 9-гидрокси-10,10-диметил-9-фенилэтинил-9,10-дигидрофенантрен (**2**) в кислотной системе  $\text{HSO}_3\text{F}\text{-SbF}_5\text{-SO}_2\text{ClF}\text{-CD}_2\text{Cl}_2$  превращается в долгоживущий 9,9-диметил-10-фенилэтинилфенантрениевый катион (**3**) (схема 2). Продолжая исследования химического поведения карбинолов фенантренового ряда в кислотных средах, методом ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  мы установили, что долгоживущий катион **3** образуется и в средах с меньшей кислотностью –  $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$  и  $\text{CF}_3\text{COOH}$ , что, очевидно, обусловлено эффективной делокализацией положительного заряда.

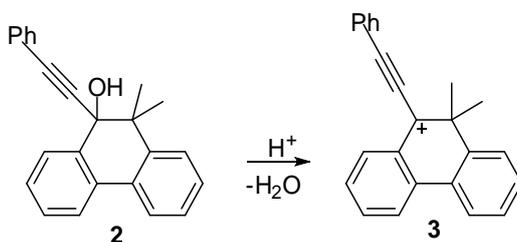
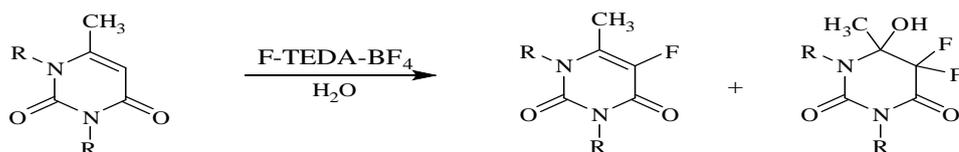


Схема 2

**Пункт 3.** «Изучение реакции электрофильного фторирования *N*-гетероциклических соединений на примере урацила и его производных»

Обнаружено, что в результате электрофильного фторирования 6-метил- и 1,3,6-триметил-урацила (**4** и **5** соответственно) 1-фтор-4-хлорметил-1,4-дизонабицикло[2.2.2]-октаном ( $\text{F-TEDA-BF}_4$ ) в экологически приемлемом растворителе - воде образуются продукты моно- и дифторирования, строение которых установлено методом ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{19}\text{F}$ . (схема 3).



R= H (**4**), Me (**5**)

Схема 3

**Грант РФФИ № 11-03-00205-а**

«Катионные комплексы *N*-центрированных электрофилов с гетероциклическими соединениями»

Методом RI-MP2/L1 изучены нитрозониевые комплексы урацила, тимина, аденина, цитозина и гуанина, а также дуплексов аденин-тимин, цитозин-гуанин. Найдено, что для различных таутомерных форм оснований ДНК энергетически наиболее выгодными являются *n*-комплексы с координацией катиона  $\text{NO}^+$  по атомам азота

или кислорода. Генерированы и изучены методом ЯМР нитрозониевые комплексы 4,4',4''-три(*трет*-бутил)-2,2':6,2-терпиридина, 2,2'-бипиридина и 2,11-дитио-5,6,8,9-тетраметил-[3,2]-1,4-циклофана. Синтезированы соли нитрениевых комплексов аденина, 2,2'- и 4,4'-бипиридила, 2,2'-бипиразина, бис-(3'-пиридил)- и бис-(4'-пиридил)-1,2,4,5-тетра-зинов. На примере димезитилсульфонатов 1,1'-диамино-2,2'-бипиридиния и 1,1'-диамино-4,4'-бипиридиния проведено первое рентгеноструктурное исследование солей N,N'-диамино-дикатионов. Взаимодействием мезитиленсульфонатов 1-амино-2,2'-бипиридиния и 1-амино-4,4'-бипиридиния с цианопиридинами в основных условиях получены различные пиридилзамещенные 1,2,4-триазоло[1,5-а]-пиридины. Реакции димезитиленсульфонатов 1,1'-диамино-4,4'-бипиридиния с замещенными ацетиленами и олефинами приводят к соответствующим бис-пирало[1,5-а]пиридинам. На примере 2-R-пиридинов выявлены основные факторы, контролирующие взаимодействие N-нитрениевых комплексов с производными ацетилена в основных условиях. Обнаружено, что при взаимодействии N,N'-диимино-2,2'-бипиридина и его метилированных производных наряду с обычными продуктами 1,3-биполярного присоединения образуются аномальные продукты, отвечающие расщеплению связи C<sub>py</sub>-C<sub>py</sub>. Осуществлена «нитрениево-ионная» трансформация производного витамина B<sub>6</sub> и лекарственных веществ – пиридостигмин бромида и пралидоксим хлорида, с заменой в них метильной группы на изостерную ей группу NH<sub>2</sub>.

#### **4. Грант РФФИ № 12-03-31322 мол\_а**

*«Химические свойства и синтетическое использование N-аминопроизводных гетероароматических соединений»*

Изучено N-аминирование ряда полиазотсодержащих гетероароматических соединений, получены ди-N-аминопроизводные. Методами РСА и квантовой химии изучено строение катионов 1,1'-диамино-2,2'- и 4,4'-бипиридиния. Обнаружена необычная фрагментация 2,2'-бипиридинильного остова в реакции производных 1,1'-диамино-2,2'-бипиридиния с ацетиленами. Для ряда 2-замещенных-1-аминопиридиния обнаружена возможность протекания реакции 1,3-присоединения с потерей заместителя во 2-ом положении пиридинильного цикла. Показана возможность обращения региоселективности данной реакции увеличением полярности растворителя. Оптимизированы условия взаимодействия 1-аминоазиниевых солей с нитрилами, получен ряд замещенных триазоло[1,5-а]-пиридинов. Взаимодействием мезитиленсульфоната 1-амино-8-оксихинолиния с нитрилами, ацетиленами и алкенами в присутствии основания получены 2-замещенные 9-гидрокси-[1,2,4]триазоло- и замещенные 9-гидрокси-пиразоло[1,5-а]-хинолины.

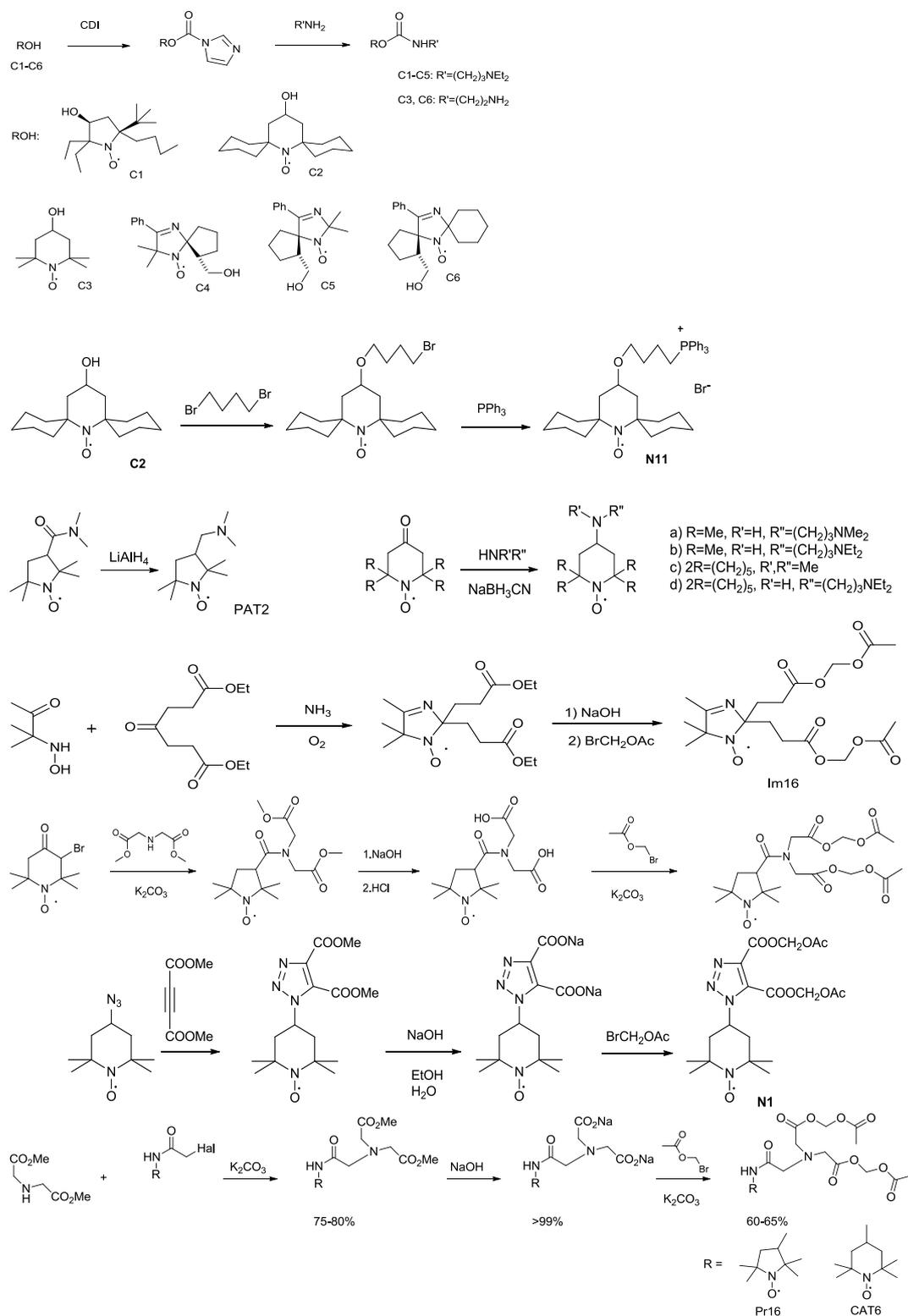
#### **Лаборатория азотистых соединений**

Заведующий лабораторией - проф., д.х.н. И.А. Григорьев

**Проект V.44.5.8.** «Создание новых эффективных методов синтеза соединений с заданными функциональными свойствами на основе ароматических и гетероциклических соединений, включая полифторированные производные»

**Пункт 11.** «Исследование возможности направленного регулирования окислительно-восстановительного статуса живых клеток и тканей с помощью нитро-кислых радикалов различных классов, способных накапливаться в клетках и

Синтезирован большой набор новых производных нитроксильных радикалов (НР), содержащих диалкиламиногруппу, ацетоксиметилловые эфиры карбоновых кислот и комбинации различных функциональных групп (схема 1).



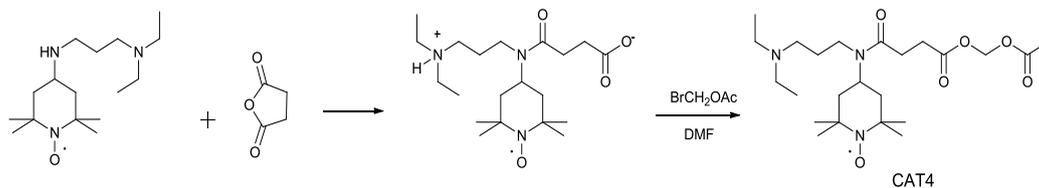


Схема 1

В число полученных производных входят пространственно-затруднённых НР. Установлено, что все полученные соединения, как и трифенилфосфониевые соли, накапливаются в клетках. При этом НР ряда 2,2,6,6-тетраметилпиперидина демонстрируют быструю кинетику падения концентрации радикала внутри клетки, а производные пирролидина или пространственно-затруднённых НР относительно устойчивы. Изучена противоопухолевая активность одного из НР, способных накапливаться в клетках, 4-((2-трифенилфосфонио)-ацетиамидо)-ТЕМПО (ТТРА-ТЕМПО). Показано, что этот НР способен подавлять рост клеток меланомы и вызывать их апоптоз, не влияя на нормальные немалигнанные клетки. На модели *in vivo* препарат эффективно подавлял рост меланомы у мышей. На другой модели – перевиваемой лимфосаркоме мышей - ТТРА-ТЕМПО не показал значительной токсичности в отношении опухолевых клеток, лишь замедлял их пролиферацию, не влияя на жизнеспособность. Однако он существенно усиливал терапевтическое действие циклофосамида. Более того, при введении совместно с опухолевыми клетками этот препарат предотвращал развитие опухоли.

**Пункт 12.** «Разработка методов синтеза рН-чувствительных спиновых зондов имидазолинового и имидазолидинового рядов с анионными фрагментами в боковой цепи и оценка эффективности анионных групп для повышения рК, придания гидрофильности, и повышения устойчивости *in vivo*»

Синтезирован ряд НР ряда имидазолидина и 4-амино-2,5-дигидроимидазола, содержащих карбоксильные группы в боковой цепи и обладающих рН-зависимыми спектрами ЭПР. Для синтеза карбоксилатных производных 4-амино-2,5-дигидроимидазола предложен удобный метод окисления гидроксиметильной группы в карбоксильную без затрагивания нитроксильного фрагмента (схема 2).

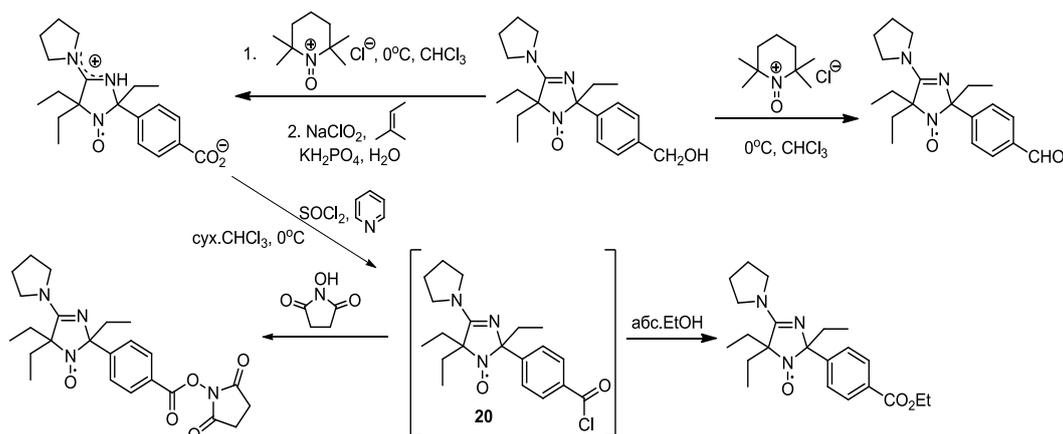


Схема 2

Установлено, что наличие карбоксильной группы в боковой цепи имидазолидиновых НР приводит к повышению рК с 4.5 до 6 – 6.4 единиц (схема 3). Для производных 4-амино-2,5-дигидроимидазола подобный эффект выражен

слабее и наблюдается только для случаев, когда спейсер позволяет внутримолекулярную координацию карбоксилатаниона с катионом протонированной амидиновой группы. Для наиболее перспективных спиновых зондов ряда имидазолидина и 4-амино-2,5-дигидроимидазола синтезированы частично дейтерированные производные, которые показали значительное снижение ширины линий в спектрах ЭПР.

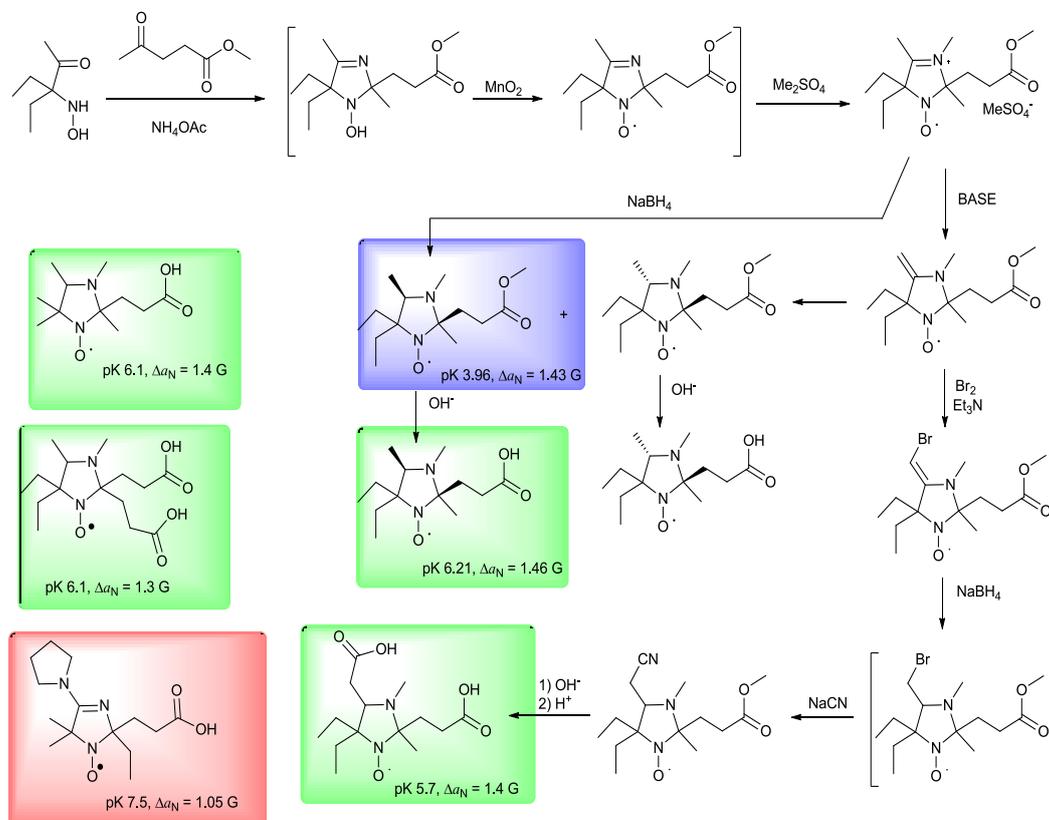


Схема 3

Один из полученных спиновых зондов ряда 4-амино-2,5-дигидроимидазола показал относительно высокое время жизни (десятки минут) в тканях сердца и молочной железы. Это соединение использовано для измерений pH *in vivo* с помощью томографии двойного протон-электронного резонанса с варьируемой радиочастотой (VRF PEDRI).

**Пункт 13.** «Синтез нитроксильных радикалов и их диамагнитных аналогов, содержащих дифосфонатные фрагменты. Исследование потенциала этих соединений в качестве адресных спиновых зондов, контрастирующих агентов для ЯМР-томографии и терапевтических средств»

Взаимодействием 4-амино-2,2,6,6-тетраметилпиперидина с тетраэтиловым эфиром 1,1-этилендиил-бис-фосфоновой кислоты синтезировано новое химическое соединение - тетраэтил-2-(2,2,6,6-тетраметилпиперидин-4-иламино)-этилен-1,1-бисфосфонат. На мышах показано, что это соединение обладает выраженной противоопухолевой активностью, которая характеризуется снижением размера опухоли, существенным увеличением средней продолжительности жизни животных. По своей противоопухолевой активности заявляемое соединение превосходит активность высокоактивного фармакопейного противоракового препарата

циклофосфамида. По аналогичной схеме взаимодействием 4-амино-2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксила с тетраэтил-этен-1,1-диилбис(фосфонатом) осуществлен синтез соответствующего нитроксильного радикала тетраэтил-2-(2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил-4-иламино)-этилен-1,1-бисфосфоната, который передан на изучение противоопухолевой активности на клеточных культурах (схема 4).

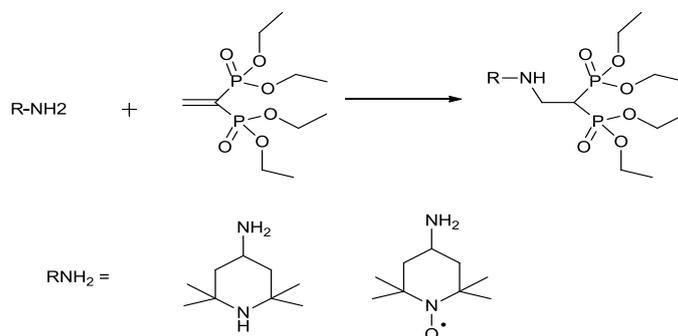


Схема 4

Разработаны методы получения тетраизопропил 3-бутиндиил-1,1-бисфосфоната и тетраэтил (1-((2-аминоэтил)аминоэтан-1,1-диил)бисфосфоната – удобных реагентов для синтеза различных нитроксильных радикалов, содержащих дифосфонатные фрагменты. С помощью этих соединений синтезирован набор новых дифосфонатов (схема 5).

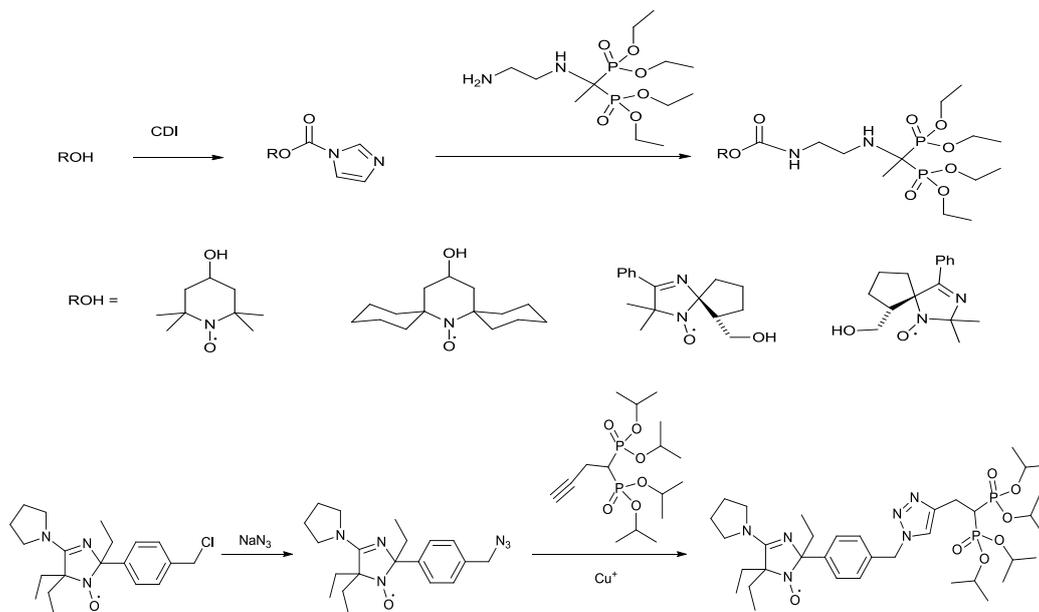


Схема 5

**Пункт 14.** «Развитие методологии синтеза пространственно-затрудненных нитроксильных радикалов, основанной на последовательном введении трет-бутильного и алкильного (арильного) заместителей к α-атому углерода радикального центра»

Посредством кислотного гидролиза соответствующего енаминокетона

имидазолинового ряда с последующей рециклизацией синтезирован 5-трет-бутил-2,2-диэтил-2,4-дигидро-пиррол-3-он-1-оксид. Показано, что этот нитрон не реагирует с этилмагнийбромидом, в то время как в реакции с бутиллитием с высоким выходом получен пространственно-затруднённый нитроксильный радикал. Последний при нагревании разлагается с отщеплением трет-бутильного радикала, а при восстановлении боргидридом даёт термически устойчивый 5-трет-бутил-5-бутил-2,2-диэтилпирролидин-3-он-1-оксид, показавший очень высокую устойчивость к восстановлению в модельных системах и в биологических образцах (рис.1).

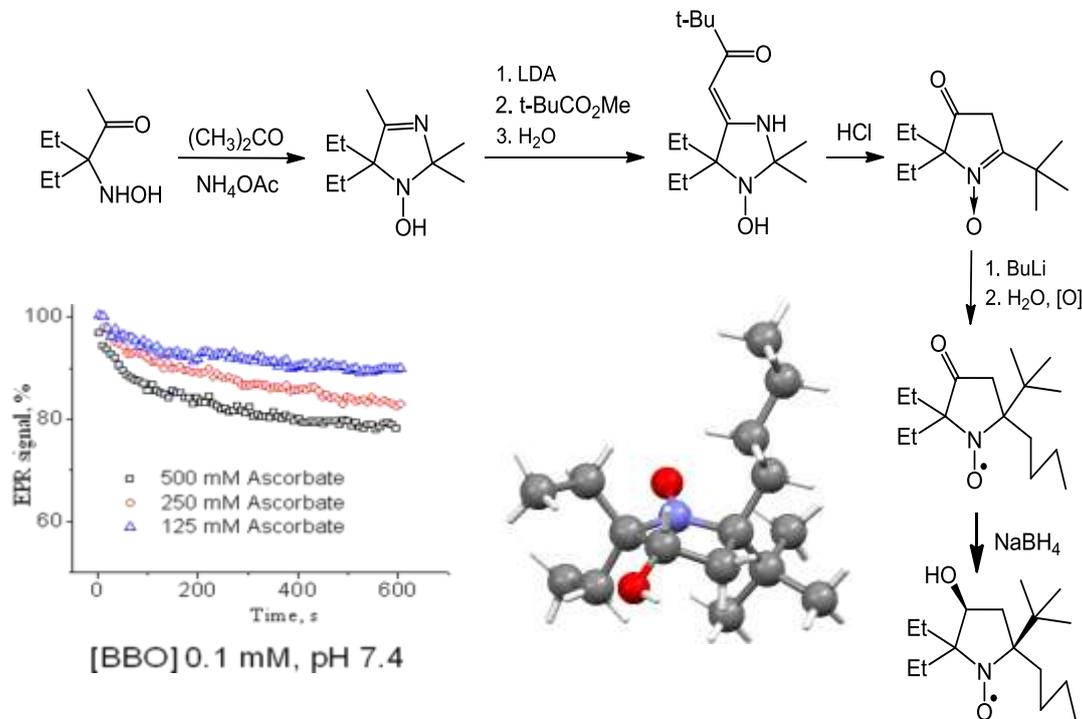


Рис.1

Разработаны методы синтеза 5-диметиламино- и 5-пирролидино-2-трет-бутил-4,4-диэтил-4Н-имидазол-3-оксидов. При обработке этих нитронов бутиллитием с высокими выходами получены соответствующие нитроксильные радикалы, обладающие рН-зависимыми спектрами ЭПР. Термолиз их приводит к образованию 2-бутил-4Н-имидазол-3-оксидов через гомолитическое отщепление трет-бутильного радикала (схема 6).

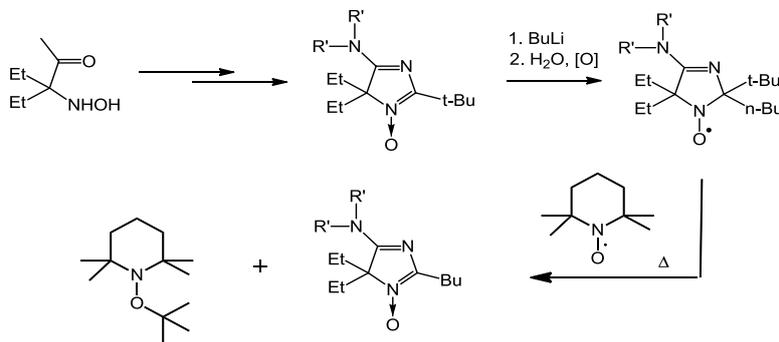


Схема 6

**Пункт 18.** «Синтез конъюгатов биологически активных природных соединений (токоферола, дигидрокверцетина, кверцетина, цитизина и др.) с а) другими природными соединениями; б) нитроксильными радикалами; в) фрагментами 1,1-дифосфоновых кислот. Изучение их биологической активности и возможности использования в качестве контрастирующих агентов в ЭПР- и ЯМР-томографии»

Синтезировано новое спин-меченое производное кинуренина – натуральной аминокислоты, выполняющей роль УФ-фильтра в хрусталике глаза человека. Спиновую метку - 14-изоцианато-7-азадиспиро[5.1.5.2]пентадекан-7-оксил **L9-Q**, получали из 14-карбокси-7-азадиспиро[5.1.5.2]пентадекан-7-оксила (схема 7). Полученный конъюгат **L9-Q** обладает улучшенными светозащитными свойствами и более высокой устойчивостью к восстановлению по сравнению с ранее синтезированными производными.

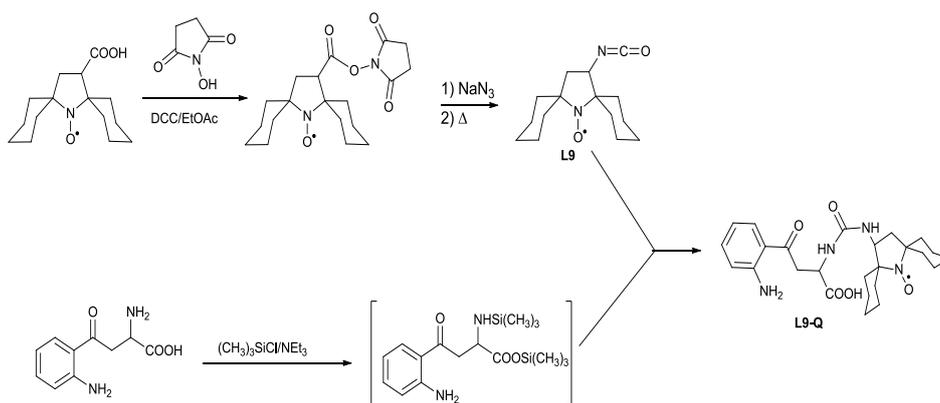


Схема 7

В настоящее время среди производных альфа-токоферола, вызывающих апоптоз раковых клеток, соединением-лидером является альфа-токоферил сукцинат (**Tos**). Для синтеза водорастворимого спин-меченого производного альфа-токоферил сукцината (**Tos-L10**) использовали синтетическую аминокислоту 4-амино-4-карбокси-ТЕМРО (схема 8).

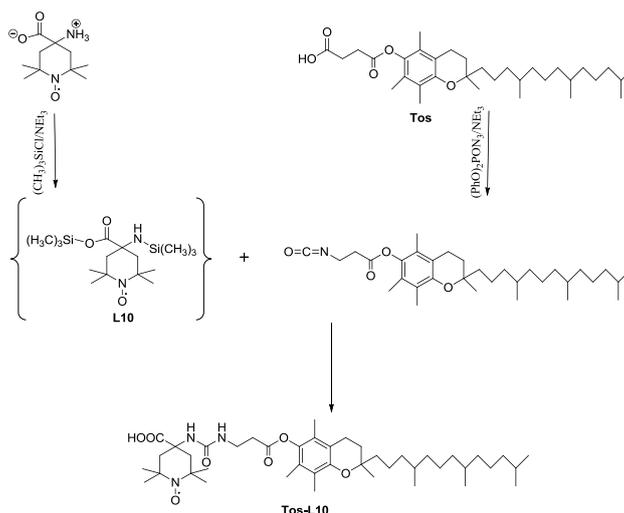


Схема 8

Арабиногалактан (AG) – природный водорастворимый полисахарид, обладающий широким спектром биологической активности. Для введения спиновой метки использовали механохимический метод, ранее разработанный с участием авторов. В качестве спиновых меток использовали 3-иодацетиамидо-проксил (**L5**) и 4-иодацетиамидо-ТЕМПО (**L6**), 4-ацетиамидо-ТЕМПО (**L7**) и 2,3-дифенил-2-метил-1,4-диазоспиро[4,5]дека-3-ен-1-оксил (**L8**), которые вводили аналогичным образом, но без добавления щёлочи. Среднее количество парамагнитных центров на макромолекулу составляло 1.7, 1.5, 1.6 и 1.1 соответственно. Установлено, что аддукты **L5-AG** и **L6-AG** и комплекс **L8-AG** при пероральном введении разлагаются в желудке и в кровь попадают уже в виде свободных НР. В отличие от этого, при введении **L5-AG** и **L6-AG** i.p. в крови наблюдаются сигналы иммобилизованных НР, характерные для аддуктов. При введении **L7-AG** во всех случаях наблюдается только сигнал свободного НР. Введение в виде комплекса **L8-AG** способствует более полной абсорбции **L8** в кровь.

Изучена фармакокинетика спин-меченых цитизинов с помощью ЭПР томографии L-диапазона на примере наиболее устойчивого к восстановлению конъюгата **Cy2**. Показано, что при внутривенном введении самцам белых беспородных мышей массой 25-30 гр. (8 недель) спин-меченый цитизин попадает в печень и накапливается в желчном пузыре животных, а также выводится почками и обнаруживается в мочевом пузыре.

При пероральном введении спин-меченого дигидрокверцетина **DHQb** получены ЭПР томограммы L-диапазона брюшной области лабораторной мыши. ЭПР-контрастная репортерная группа спин-меченого дигидрокверцетина в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) мыши оказалась достаточно устойчивой для измерения трехмерной ЭПР-томограммы желудочной области. На 3D-томограмме отчетливо видны как кардия (cardiac region), так и привратник (piloric region) желудка мыши. Исходя из 3D-изображения сделано заключение, что желудок испытуемой мыши достаточно чистый и не содержит крупных полипов, т.е. размер которых достаточно для наблюдения ЭПР томографией с разрешением в 1.08 мм (ширина линии спектра сравнения составляла 1.52 Гс) (рис. 2).

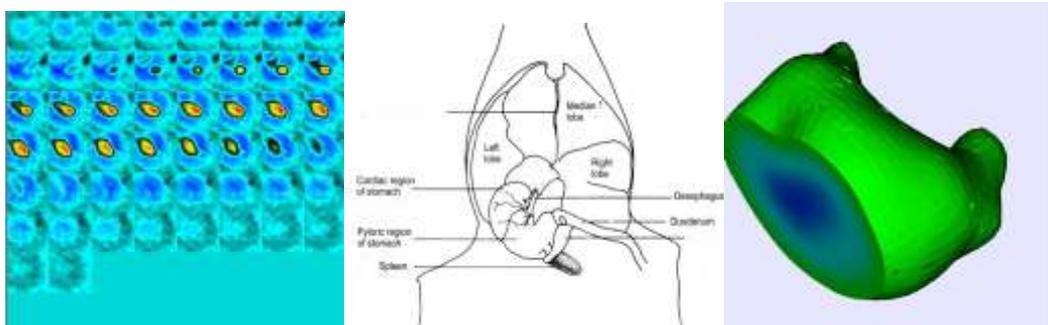


Рис. 2. Массив 2D проекций (а), анатомия брюшной полости с указанием области наблюдения (б) и 3D-ЭПР томограмма желудочной области мыши (в) при пероральном введении спин-меченого дигидрокверцетина **DHQb**.

#### Грант РФФИ 12-03-00718-а

*«Разработка специфически адресованных нитроксильных радикалов и гидроксиламинов для исследования окислительного стресса и регуляции окислительно-восстановительного статуса»*

Для серии гидроксиламинов (рис.3) измерены скорости реакций с супероксидным радикалом, рК и липофильности.

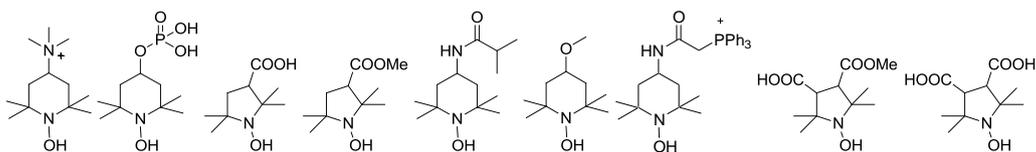


Рис.3

Полученные данные показывают, что и в пирролидиновом, и в пиперидиновом рядах наблюдается повышение константы скорости с супероксидным радикалом при понижении рК. Примечательно, что необычно высокое значение константы скорости с супероксидным радикалом измерено для 1-гидрокси-3-карбокси-4-(метоксикарбонил)-2,2,5,5-тетраметилпирролидина (MDCP-H). Этот радикал в нейтральной среде существует в виде аниона.

Синтезирован изотопно-меченый 1-гидрокси-2,2,6,6-тетраметил-4-(триметиламмоний)-пиперидиния- $^{15}\text{N}$ ,  $\text{D}_{12}$  дихлорид (**CAT1-H- $^{15}\text{N}, \text{D}_{12}$** ) (схема 9). Исследование свойств этого соединения показало, что в модельной системе он реагирует с супероксидным радикалом, давая в два раза более интенсивный сигнал, чем сигнал не содержащего изотопы аналога (**CAT1-H**). Возможность одновременного измерения АКМ в различных клеточных компартментах проверяли в экспериментах с спленоцитами (клетками селезёнки). Для измерений использовали **CAT1-H- $^{15}\text{N}, \text{D}_{12}$** , неспособный проникать в клетки 1-гидрокси-4-трифенилфосфониоацетиламино-2,2,6,6-тетраметилпиперидиния хлорид (**mT-H**), который эффективно накапливается в митохондриях за счёт трансмембранного электростатического потенциала.

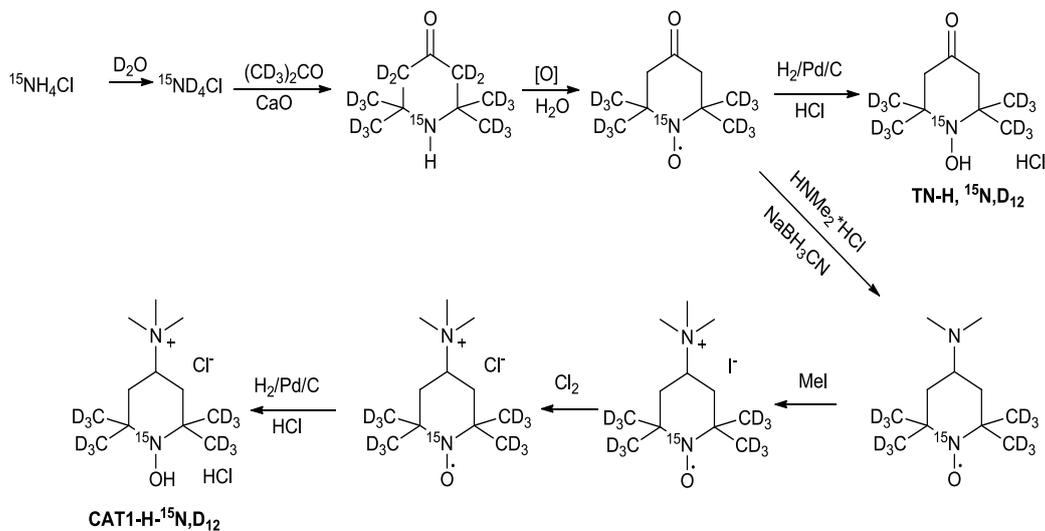


Схема 9

В результате проведённых исследований обнаружено: 1) после инкубации спленоцитов с указанными гидроксиламинами появляются сигналы соответствующих НР, причём возникающие сигналы **mT** и **CAT1- $^{15}\text{N}, \text{D}_{12}$**  легко различимы и независимы 2) стимуляция продукции АКМ с помощью форбола миристана ацетата (PMA), активатора калиевых каналов 7-хлор-3-метил-4Н-1,2,4-бензотиадазин-1,1-диоксида (Diazoxide), фактора некроза опухолей (TNF-alpha) или цитокина IL-17a приводит к увеличению интенсивности сигналов обоих НР (из-за взаимосвязи различных каналов стимуляции); 3) стимуляция TNF-alpha, вызывающим генерацию АКМ преимущественно вне клетки, приводит к более значительному

росту сигнала **CAT1-<sup>15</sup>N,<sup>12</sup>D**, а стимуляция IL-17а, вызывающего NADPH-оксидазо-зависимую генерацию АКМ внутри клеток – напротив, вызывала более значительный рост сигнала **mT**.

Таким образом, использование изотопно-меченых гидроксилamines с известной клеточной локализацией действительно позволяет проводить одновременное независимое исследование образования АКМ в различных клеточных компартаментах. Это обстоятельство делает такие гидроксилamines перспективными молекулярными зондами для исследования механизмов образования АКМ в клеточных системах.

## Лаборатория гетероциклических соединений

Заведующий лабораторией - д.х.н. А.В. Зибарев

### Проект V.44.5.8.

«Создание новых эффективных методов синтеза соединений с заданными функциональными свойствами на основе ароматических и гетероциклических соединений, включая полифторированные производные»

### Пункты 1, 23, 24

Предложены и реализованы:

- новые методы синтеза полифторированных хиноксалинов и их халькоген-аналогов – 2,1,3-бензотиа(селена)диазолов – перспективных компонентов функциональных молекулярных материалов (пункт № 1; схема 1);

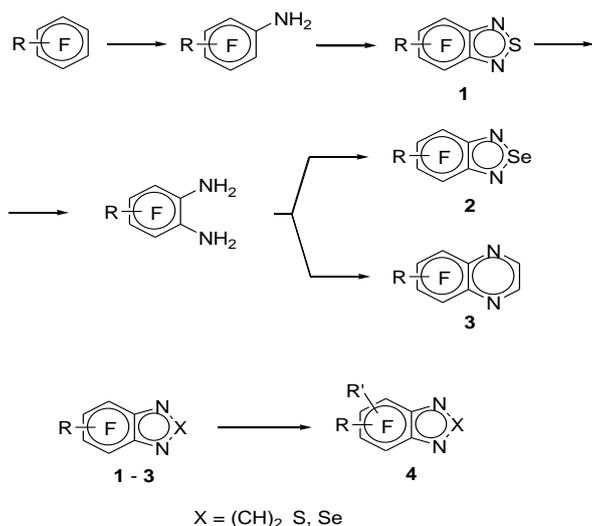
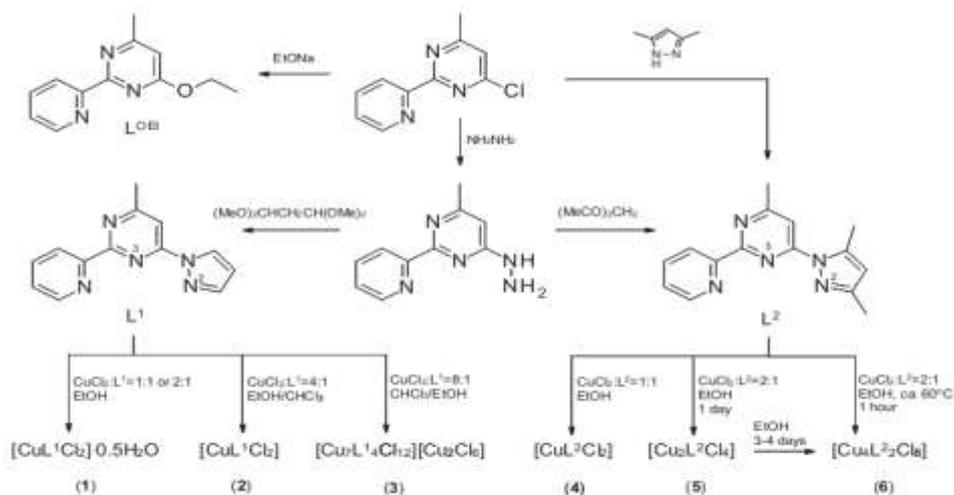


Схема 1

- новые методы синтеза хелатирующих N,N-бидентатных 4-(3,5-дифенил-1H-пиразол-1-ил)-6-(пиперидин-1-ил)пиримидинов и N,N,N-тридентатных 4-(1H-пиразол-1-ил)-2-(пиридин-2-ил)пиримидинов – лигандов для координационных соединений переходных металлов (пункт 24; схема 2);



Scheme 2. Synthesis of the ligands ( $L^1$  and  $L^2$ ) and their complexes with copper(II) chloride.

Схема 2

- впервые изучена трехкомпонентная реакция Биджинелли нитроацетона с салициловым альдегидом и мочевиной и синтезированы новые хиральные производные аза-гетероциклов (пункт 23; схема 3);

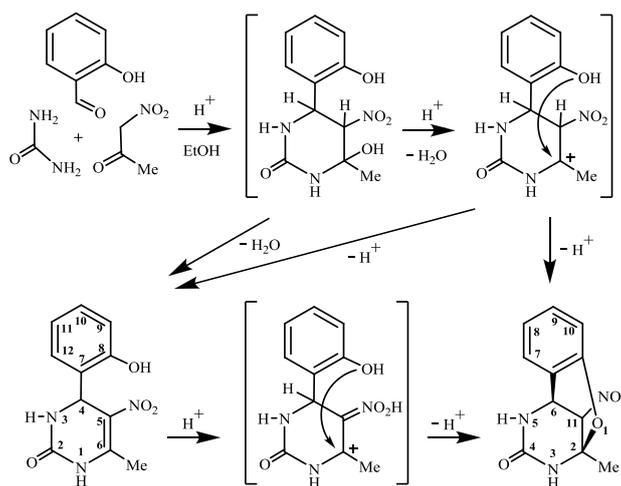


Схема 3

Полученные результаты создают новые возможности в конструировании и синтезе функциональных молекулярных материалов и биологически активных веществ.

#### Проект № 14.

«Дизайн, синтез, исследование структуры и свойств новых молекулярных магнитоактивных веществ на основе халькоген-азотных гетероциклических анион-радикалов» программы фундаментальных исследований Президиума РАН № 8 «Разработка методов получения химических веществ и создание новых материалов»

Предложены и реализованы методы синтеза ранее неизвестных гетероспиновых гетероциклических анион-радикальных (AP) солей на основе 1,2,5-

халькогенадиазолов, содержащих в катион-радикале атомы молибдена или самария – переходных 4d- и 4f-металлов, соответственно (схема 4).

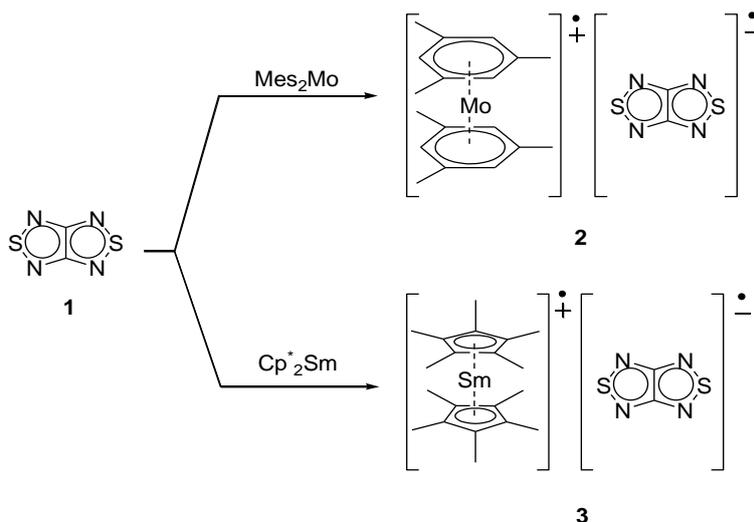


Схема 4

Магнитные свойства AP новых солей, полученных восстановлением [1,2,5]тиадиазоло[3,4-с][1,2,5]тиадиазола **1** бис(арен)молибденами (арен: толуол, мезитилен), принципиально отличаются от всех ранее изученных AP солей на основе 1,2,5-халькогенадиазолов наличием низкотемпературного ферромагнитного упорядочения их спиновых систем.

Полученные результаты создают принципиально новые возможности в конструировании и синтезе магнитоактивных молекулярных материалов.

#### Проект фундаментальных исследований СО РАН № 13

«Новый подход к комплексам с переносом заряда и анион-радикальным солям – перспективным структурным блокам функциональных молекулярных материалов» выполняемый совместно с НАН Украины»

Предложены и реализованы методы синтеза ранее неизвестных гетероциклических анион-радикальных (AP) солей на основе 1,2,3-дителиазолов (схема 5).

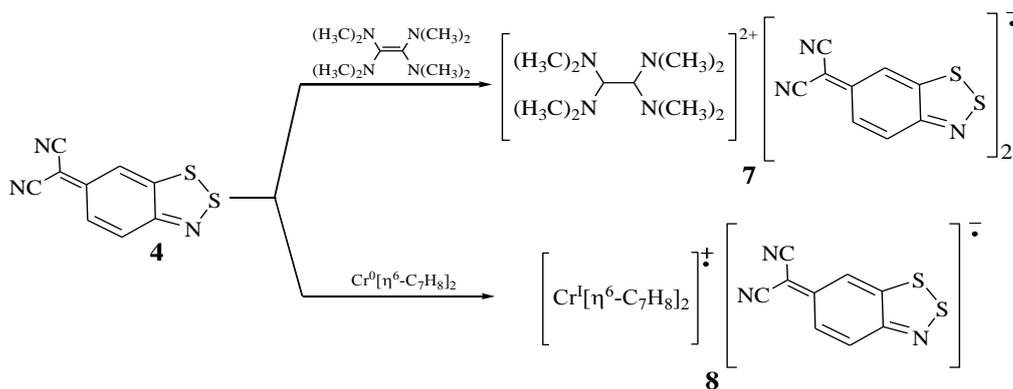


Схема 5

Парамагнитный характер AP солей подтвержден методом ЭПР в растворе и твердом теле. Магнитные свойства солей в температурном интервале 2-300 К подчиняются закону Кюри-Вейса. У соли **8** (схема 5) в твердом состоянии AP π-димеризованы, ее величина  $T_c$  соответствует энергии обменных взаимодействий между катионами  $zJ = -1.4 \text{ см}^{-1}$ .

Полученные результаты создают принципиально новые возможности в конструировании и синтезе магнитоактивных молекулярных материалов.

### Проект Royal Society's International Joint Project 2010/R3

«1,2,5-Chalcogenadiazolidyls: A new class of spin and charge carriers» (Великобритания)

Показано, что экономичные квантово-химические расчеты методами теории функционала плотности (DFT) с гибридным функционалом (U)B3LYP и базисом 6-31+G(d) применимы для вычисления величины газофазного сродства к электрону (СЭ) халькоген-азотных π-гетероциклов, завышая его значение лишь на ~ 0.2 эВ по сравнению с высокоточным, но затратным методом G3B3. Рассчитано газофазное СЭ более 50 халькоген-азотных π-гетероциклов – производных 1,2,5-халькогенадиазольной гетероциклической системы (схема 6).

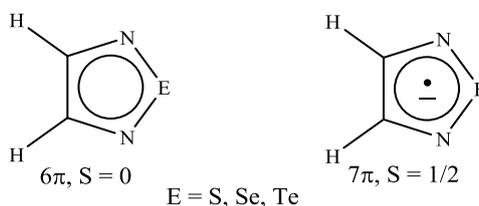


Схема 6

Установлено, что расчетные значения хорошо коррелируют с имеющимися экспериментальными электрохимическими потенциалами восстановления этих соединений. Данные результаты создают надежную методологическую основу теоретического дизайна и последующего синтеза халькоген-азотных π-гетероциклов – нейтральных предшественников новых анион-радикальных солей и комплексов с переносом заряда.

Полученные результаты создают принципиально новые возможности в конструировании и синтезе новых носителей заряда и спина для функциональных молекулярных материалов.

### Проект Deutsche Forschungsgemeinschaft's Project BE 3716/3-1

«New tellurium-nitrogen π-heterocycles: Syntheses, structures and potential applications as molecular magnets and conductors» (ФРГ)

Для демонстрации общности открытой в 2011 г. новой реакции – гиперкоординации заряженных нуклеофилов к 1,2,5-халькогенадиазолам с тяжелыми (Se, Te) халькогенами – синтезированы и структурно охарактеризованы ранее неизвестные ионные комплексы 1,2,5-теллурадиазолов с фторид-, иодид- и тиофенолят-анионами (схема 7).

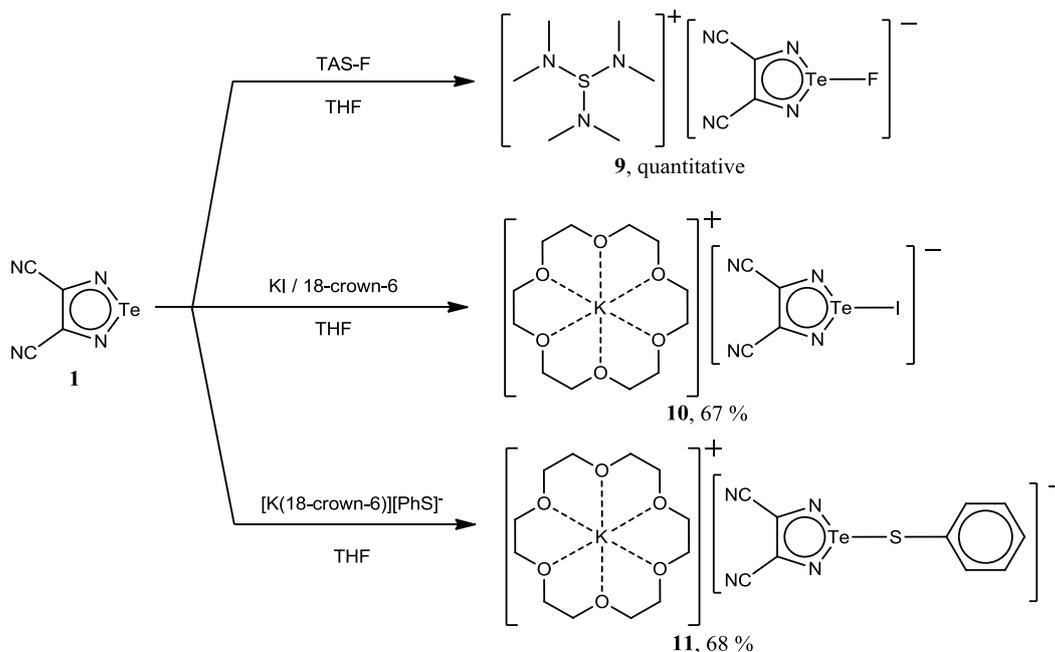


Схема 7

Посредством квантово-химических расчетов методом NBO показано, что во всех случаях – прежних и новых – реализуется единый механизм формирования координационной связи: отрицательная гиперконъюгация. Получены предварительные данные о возможности фотоактивации дальнейшего переноса электрона от донора к акцептору в синтезированных комплексах, приводящей к гетероциклическим AP.

Полученные результаты вносят оригинальный новый вклад в химию теллур-азотных гетероциклов и создают перспективы ее применения к созданию магнитоактивных молекулярных материалов.

#### Проект Leverhulme Trust's Project IN-2012-094

«Chalcogen-nitrogen compounds for electronics and spintronics» (Великобритания)

Проведены экспериментальные и теоретические исследования, в ходе которых предложены и реализованы новые методы синтеза халькоген-азотных π-гетероциклических соединений – потенциальных структурных блоков функциональных материалов для электроники и спинтроники. Найдена новая реакция (схема 8).

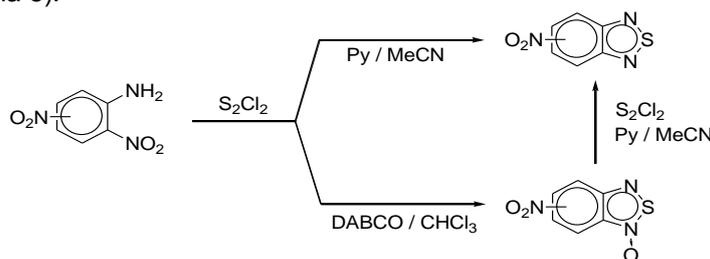


Схема 8

Полученные результаты вносят оригинальный новый вклад в химию халькоген-азотных гетероциклов и создают перспективы ее применения к созданию функциональных молекулярных материалов.

**Проект Japanese Society for the Promotion of Science's Core-to-Core Project**  
 «Organic electronics of highly correlated systems» (Япония)

Начаты экспериментальные и теоретические исследования по синтезу, структурной и функциональной характеристике новых халькоген-азотных π-гетероциклов (потенциальных органических полупроводников) и гомо- и гетероспиновых AP солей на их основе (потенциальных органических магнетиков). Проведены 2 рабочие встречи по проекту в Лондоне (Великобритания; специальный семинар в Имперском колледже / Imperial College в июле) и Нагое (Япония; семинар в университете в октябре).

**Договор о сотрудничестве № 79/12 между НИОХ СО РАН и НИУ-ТГУ**

«Создание методов синтеза аза-гетаренов, включая полифторированные, на основе глиоксаля, изучение их химических свойств и биологической активности, поиск применения синтезированных веществ в биомедицине и (или) материаловедении функциональных молекулярных материалов»

Детально изучены различные методы функционализации полифторированных анилинов Ar-NH<sub>2</sub> в азатиены Ar-N=S=N-SiMe<sub>3</sub> и далее в 2,1,3-бензотиадиазолы и 1,2-диаминобензолы – исходные вещества в синтезе хиноксалинов из глиоксаля (схема 9).

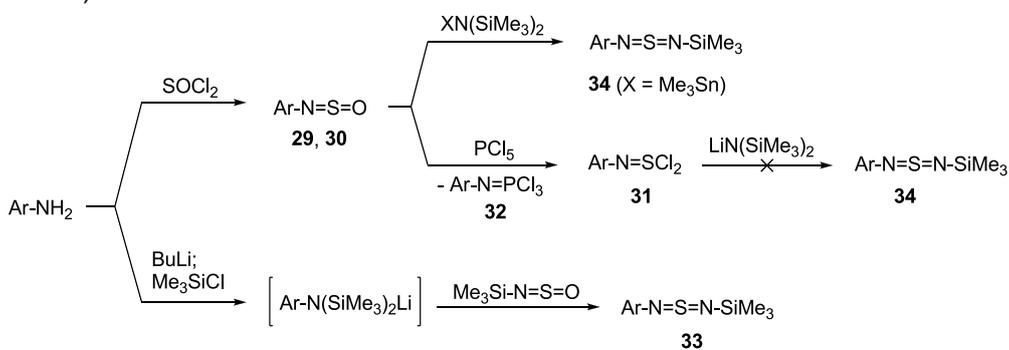
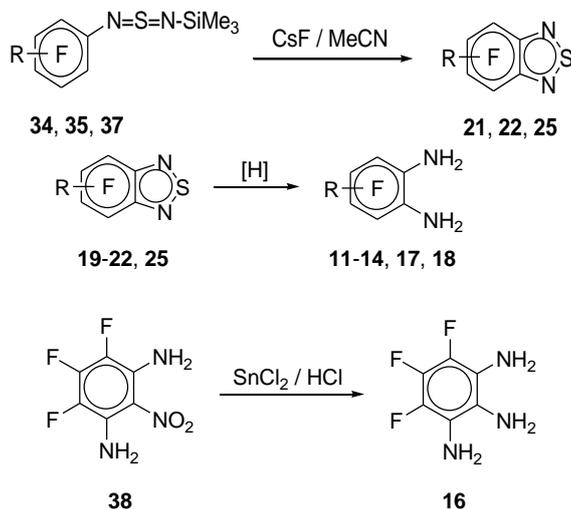


Схема 9

Методом PCA охарактеризован ряд промежуточных и конечных соединений:



Полученные результаты вносят оригинальный новый вклад в химию полифторированных аза-гетероциклов и родственных соединений и создают перспективы ее применения к созданию новых биологически активных веществ и функциональных молекулярных материалов.

## Лаборатория галогидных соединений

Заведующий лабораторией - проф., д.х.н. В.Е. Платонов

**Проект V.44.5.8.** «Создание новых эффективных методов синтеза соединений с заданными функциональными свойствами на основе ароматических и гетероциклических соединений, включая полифторированные производные»

**Пункт 5.** «Исследование реакции перфтор-1-метил-2-этилбензоциклобутена и перфтор-1-метил-2-изопропилбензоциклобутена с пентафторбензолом в среде  $SbF_5$  с целью синтеза перфтор-1,2-диалкил-1-фенилбензоциклобутенов и изучения их скелетных превращений в среде пятифтористой сурьмы)»

При взаимодействии перфтор-1-метил-2-этилбензоциклобутена (I) с  $C_6F_5H$  в среде  $SbF_5$  с добавлением  $SO_2ClF$  происходит пентафторфенилирование соединения (I), при этом генерируется перфтор-2-метил-2-фенил-1-этилбензоциклобутен-1-ильный катион (II). При гидролизе соли катиона образуется смесь, содержащая *E*-перфтор-2-метил-2-фенил-1-этилбензоциклобутен (III), *E*-перфтор-2-метил-2-фенил-1-этилбензоциклобутен-1-ол (IV) и перфтор-8-метил-8-фенил-7-этилбицикло[4.2.0]-окта-1,4,6-триен-3-он (V) (схема 1.).

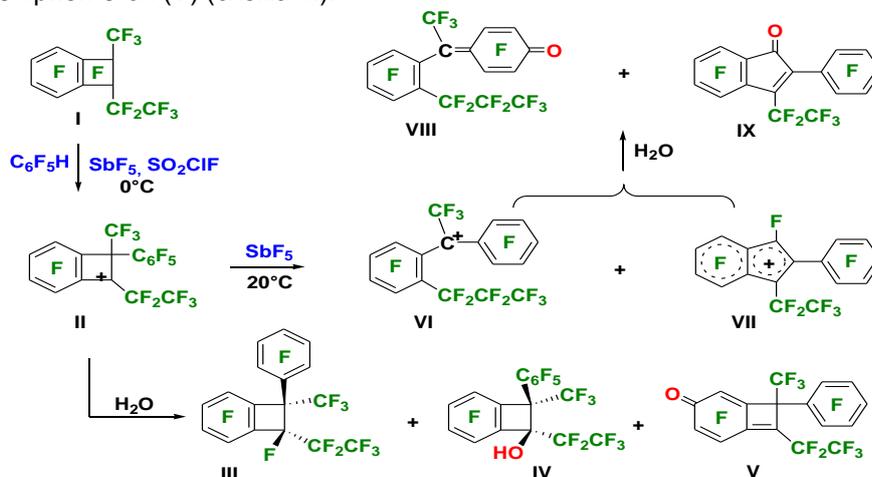


Схема 1.

Выдерживание раствора соли катиона (II) в пятифтористой сурьме при  $20^\circ C$  в течение 24 ч приводит к раскрытию четырехчленного цикла катиона наряду с расширением четырехчленного цикла в пятичленный, при этом образуются перфторированные 1-(2-пропилфенил)-1-фенилэтильный (VI) и 2-фенил-1-этилиндельный (VII) катионы примерно в равном соотношении (данные ЯМР $^{19}F$ ), а после обработки реакционной массы водой получается смесь, содержащая примерно равные количества перфтор-4-[1-(2-пропилфенил)этилиден]-2,5-циклогексадиен-1-она (VIII) и перфтор-2-фенил-3-этилинден-1-она (IX) (схема 1). Превращение катиона (II) в (VI) происходит, по-видимому, по пути 1 (схема 2) с участием бензоциклобутенилэтильного катиона **A**, который изомеризуется с раскрытием четырехчленного цикла в диарилэтильный катион **B**. Последний присоединяет анион фтора с образованием диарилэтана **B**. Фторирование двойной связи в соединении **B** с последующим отщеплением аниона фтора приводит к катиону (VI) и затем, после гидролиза, к кетону (VIII). Расширение четырехчленного кольца в пятичленное может быть представлено через бензоциклобутенилметильный катион **Г** (путь 2), в котором происходит миграция фенильной группы к катионному центру, приводящая к бензоциклобутенильному катиону **Д** (схема 2).

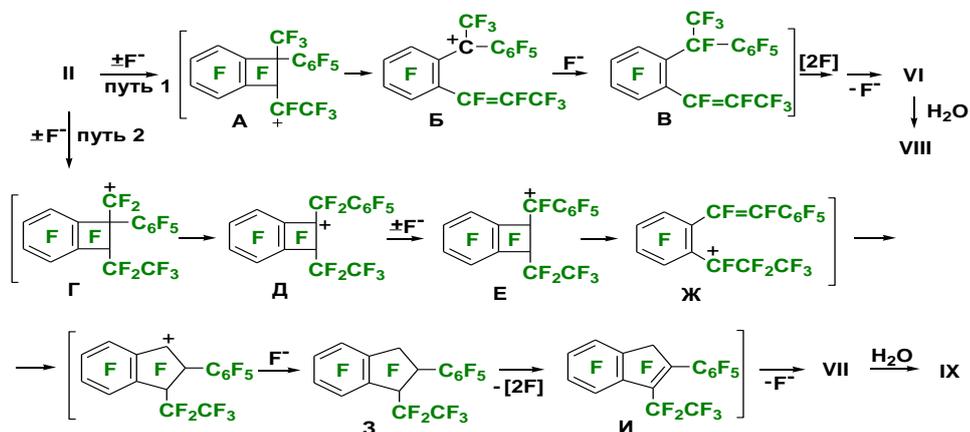


Схема 2

Последний далее превращается в катион **Е** путем присоединения-отщепления аниона фтора, а катион **Е**, в свою очередь, изомеризуется с раскрытием четырехчленного цикла в бензильный катион **Ж**. Циклизация иона **Ж** с последующим присоединением аниона фтора приводит к индану **3**. Последний дефторирован с образованием индена **И**, а из него в среде  $\text{SbF}_5$  генерируется инденильный катион (VII), который при гидролизе дает инденон (IX). Следует отметить, что в процессе дефторирования индана **3** роль акцептора атомов фтора может выполнять, например, соединение **В**, содержащее двойную связь. Перфтор-1-метил-1-этилбензоциклобутен (**X**) оказался менее реакционно-способным в реакции с  $\text{C}_6\text{F}_5\text{H}$  по сравнению с 1,2-изомером (I). Так, при взаимодействии смеси бензоциклобутенов (I) и (X) с недостатком  $\text{C}_6\text{F}_5\text{H}$  в среде  $\text{SbF}_5$  при  $0^\circ\text{C}$  в реакцию вступает только 1,2-изомер (I), что приводит после обработки реакционной массы водой к смеси, содержащей исходный 1,1-изомер (X), перфтор-2-метил-2-этилбензоциклобутен-1-он (XI), а также соединения (VIII) – продукты реакции бензоциклобутена (I) с пентафторбензолом (схема 3).

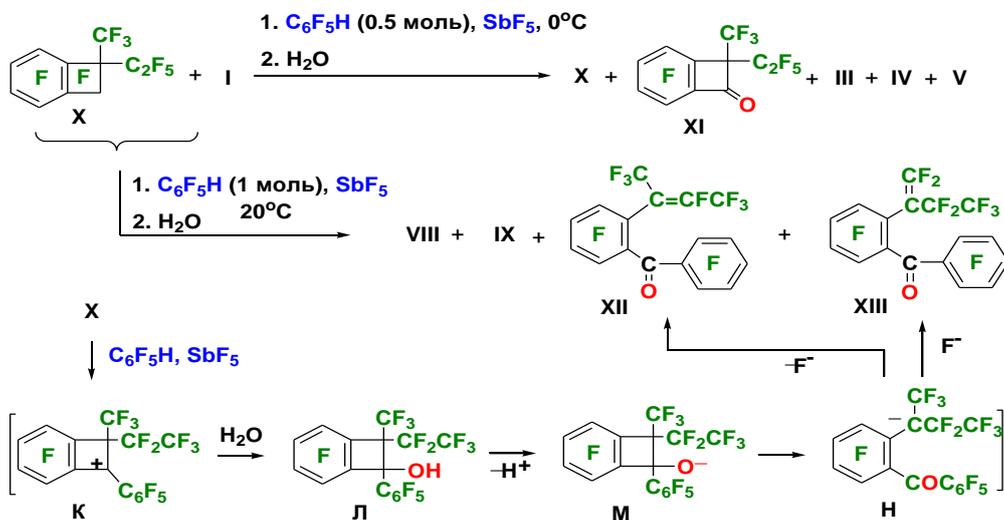


Схема 3

Взаимодействие смеси бензоциклобутенов (I) и (X) с эквимолярным количеством  $\text{C}_6\text{F}_5\text{H}$  в среде  $\text{SbF}_5$  при  $20^\circ\text{C}$  приводит к пентафторфенилированию обоих изомеров, и после обработки реакционной массы водой получается смесь, содержащая перфтор-2-(бут-2-ен-2-ил)бензофенон (XII) (E:Z=45:55) и перфтор-2-(бут-1-ен-2-ил)бензофенон (XIII) наряду с кетонами (VIII) и (IX) (схема 3).

Можно полагать, что соединение (X) реагирует с  $C_6F_5H$  в среде  $SbF_5$  с образованием фенилбензоциклобутенильного катиона **K**, который, в отличие от катиона (II), в условиях реакции не претерпевает скелетных превращений, а при гидролизе дает гидроксипроизводное **L**. В последнем происходит раскрытие четырехчленного цикла по типу галоформного распада через промежуточные анионы **M** и **H** с образованием бензофенонов (XII) и (XIII) (схема 3).

При взаимодействии перфтор-1-метилбензоциклобутена (XIV) с  $C_6F_5H$ , а затем с тетрафторэтиленом в среде  $SbF_5$  получен перфтор-1-метил-2-фенил-2-этилбензоциклобутен (XV). При его растворении в избытке  $SbF_5$  с добавлением  $SO_2ClF$  генерирован перфтор-1-метил-2-фенил-2-этилбензоциклобутен-1-ильный катион (XVI) (схема 4), изомерный катиону (II).

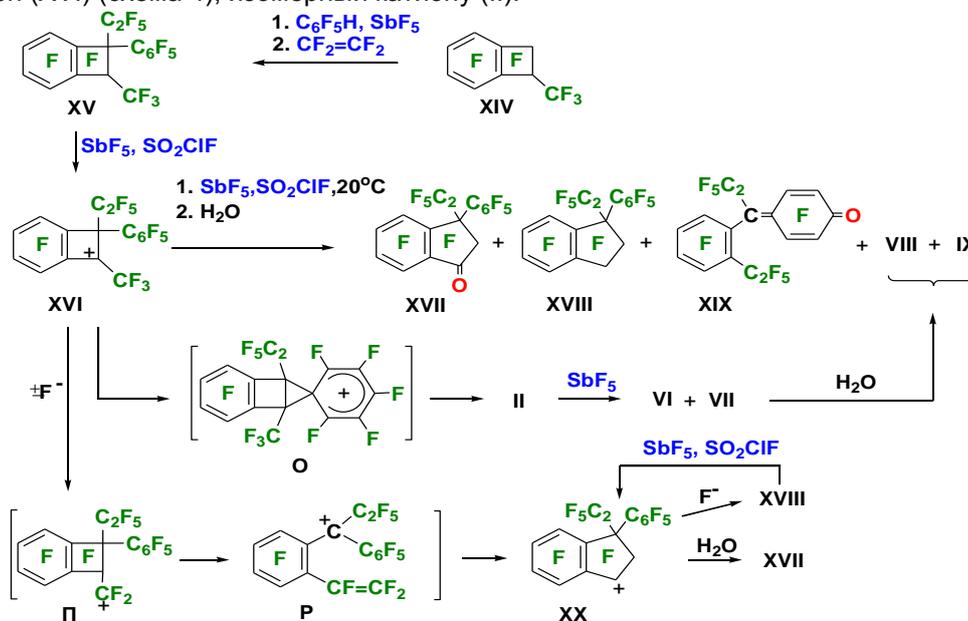


Схема 4

Выдерживание раствора соли катиона (XVI) в системе  $SbF_5-SO_2ClF$  при  $20^\circ C$  в течение нескольких суток с последующей обработкой водой приводит к смеси, содержащей перфторированные 3-фенил-3-этилиндан-1-он (XVII), 1-фенил-1-этилиндан (XVIII) и 4-[1-(2-этилфенил)пропилиден]-2,5-циклогексадиен-1-он (XIX) наряду с кетонами (VIII) и (IX) (схема 4). Принимая во внимание тот факт, что кетоны (VIII) и (IX) являются продуктами гидролиза катионов (VI) и (VII), которые получают в результате скелетных превращений катиона (II), можно предположить, что катион (XVI) в среде  $SbF_5$  частично изомеризуется в катион (II), возможно, через промежуточное образование фенонииевого иона **O** (схема 4).

Раскрытие четырехчленного цикла в катионе (XVI), приводящее в конечном итоге к кетону (XIX), может быть представлено аналогично таковому для катиона (II), а расширение четырехчленного цикла до пятичленного в ионе (XVI) происходит, по-видимому, с участием бензоциклобутенилметильного катиона **П**, который изомеризуется с раскрытием цикла в диарилалкильный катион **P**. Циклизация последнего приводит к перфтор-3-фенил-3-этилиндан-1-ильному катиону (XX) и затем к кетону (XVII) и соединению (XVIII). Катион (XX) генерирован нами при растворении соединения (XVIII) в избытке  $SbF_5$  с добавлением  $SO_2ClF$  (схема 4).

При взаимодействии перфтор-1-метил-2-изопропилбензоциклобутена (XXI) с  $C_6F_5H$  в среде  $SbF_5$  с добавлением  $SO_2ClF$  генерируется перфтор-2-метил-1-изопропил-2-фенилбензоциклобутен-1-ильный катион (XXII), из которого в результате гидролиза образуется перфтор-8-метил-8-фенил-7-изопропилбицикло[4.2.0]окта-1,4,6-триен-3-он (XXIII). Под действием  $SbF_5$  в катионе (XXII), также как в катионах (II) и (XVI),

происходит раскрытие и расширение четырехчленного цикла, однако эти процессы в случае катиона (XXII) требуют более длительной выдержки. Так, катион (XXII) под действием  $\text{SbF}_5$  при 20-25°C в течение 4.5 месяцев превращается в смесь перфторированных 1-(2-изобутилфенил)-1-фенилэт-1-ильного (XXIV) и 3-изопропил-2-фенилинденильного (XXV) катионов с преобладанием первого. Обработка реакционной массы водой приводит к смеси перфтор-4-[1-(2-изобутилфенил)этилиден]-2,5-циклогексадиен-1-она (XXVI) и перфтор-3-изопропил-2-фенилинден-1-она (XXVII) (схема 5).

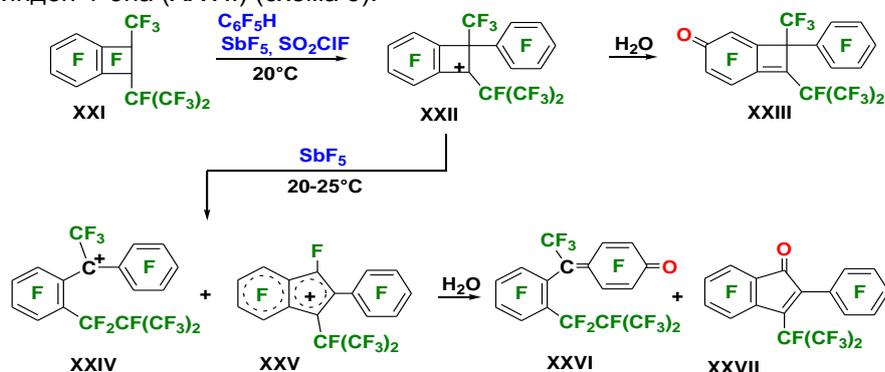
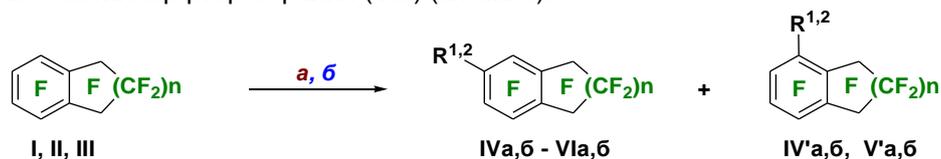


Схема 5

Продуктов расширения пентафторбензольного кольца в семичленный цикл, в изученных реакциях не обнаружено.

**Пункт 6.** «Изучение взаимодействия перфторированных бензоциклобутена, индана и тетралина с циануксусным эфиром с целью получения полифторированных бензоциклоалкенилуксусных кислот и их производных»

Изучено взаимодействие перфторированных бензоциклобутена (I), индана (II) и тетралина (III) с метиллитием и циануксусным эфиром, а также некоторые превращения образующихся соединений. В реакции соединения (I) с метиллитием в диэтиловом эфире образуется смесь 4-метилперфторбензоциклобутена (IVa) и 3-метилперфторбензоциклобутена (IV'a) в соотношении 78:22 (схема 6). В аналогичной реакции соединения (II) получают 5-метилперфториндан (Va) и 4-метилперфториндан (V'a) в соотношении 96:4, а из соединения (III) образуется только 6-метилперфтортетралин (VIa) (схема 6).



**a**,  $\text{CH}_3\text{Li}/\text{эфир}$ , 0-20°C,  $\text{R}^1 = \text{CH}_3$  ;

**b**,  $\text{H}_2\text{C}(\text{CN})\text{COOEt}/\text{K}_2\text{CO}_3/\text{ДМФА}$ , 90°C,

$\text{R}^2 = \text{CH}(\text{CN})\text{COOEt}$

$n = 0$  (I, IVa, b, IV'a, b), 1 (II, Va, b, V'a, b), 2 (III, VIa, b)

Схема 6

Подобная картина наблюдается в реакции соединений (I – III) с циануксусным эфиром. Из соединения (I) образуется смесь этил 2-(перфторбензоциклобутен-4-ил)-2-цианоацетата (IVб) и этил 2-(перфторбензоциклобутен-3-ил)-2-цианоацетата (IV'б) в соотношении 76:24, а из соединения (III) получается только этил 2-(перфтортетралин-6-ил)-2-цианоацетат (VIб). Из соединения (II) образуется этил 2-(перфториндан-5-ил)-2-цианоацетат (Vб) (схема 6). При этом в смеси, по-видимому, содержится небольшое количество этил 2-(перфториндан-4-ил)-2-цианоацетата

(V'б), поскольку метилиндан (Va), полученный в результате цепочки превращений (схема 7) из цианоацетата (Vб), содержит примесь (~2%) изомерного метилиндана (V'a).

При нагревании эфиров (IV'б, IVб – VIб) с концентрированной серной кислотой образуются соответствующие 2-(перфторбензоциклоалкенил)ацетамиды (IV'в, IVв – VIв), которые далее под действием  $H_2SO_4 - H_2O$  превращаются в (перфторбензоциклоалкенил)уксусные кислоты (IV'г, IVг – VIг) (схема 7). Нагревание кислоты (Vг) в ДМФА приводит к ее декарбоксилированию и образованию метилиндана (Va) (схема 7).

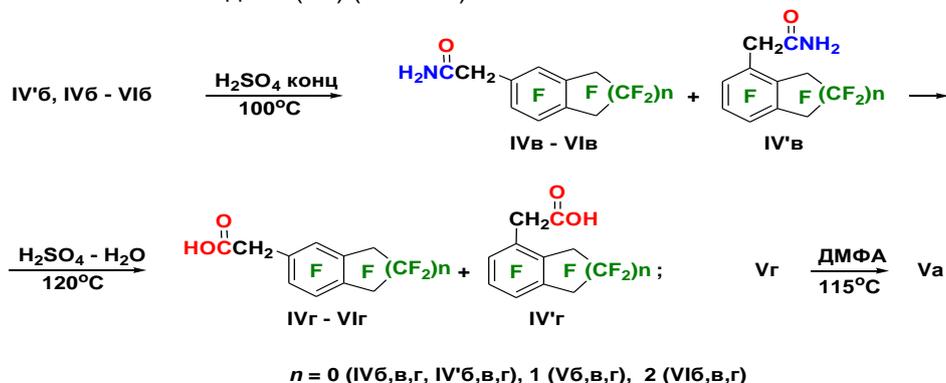


Схема 7

Кислоты (IV'г, IVг – VIг) при действии  $PCl_5$  при  $230^\circ\text{C}$  хлорируются, образуя хлорангидриды (перфторбензоциклоалкенил)дихлоруксусных кислот (IV'д, IVд – VIд), которые в присутствии  $SbF_5$  в результате декарбонилирования и обмена атомов хлора на фтор превращаются в перфторметилбензоциклоалкены (IV'е, IVе – VIе).

(Перфторбензоциклоалкенил)дихлоруксусные кислоты (IV'ж, IVж – VIж), образующиеся при гидролизе соответствующих хлорангидридов, при нагревании в ДМФА декарбоксилируются с образованием (дихлорметил)-перфторбензоциклоалкенов (IV'з, IVз – VIз). Из последних в результате обмена атомов хлора на фтор под действием  $CsF$  получают (диформетил)перфторбензоциклоалкены (IV'и, IVи – VIи) (схема 8).

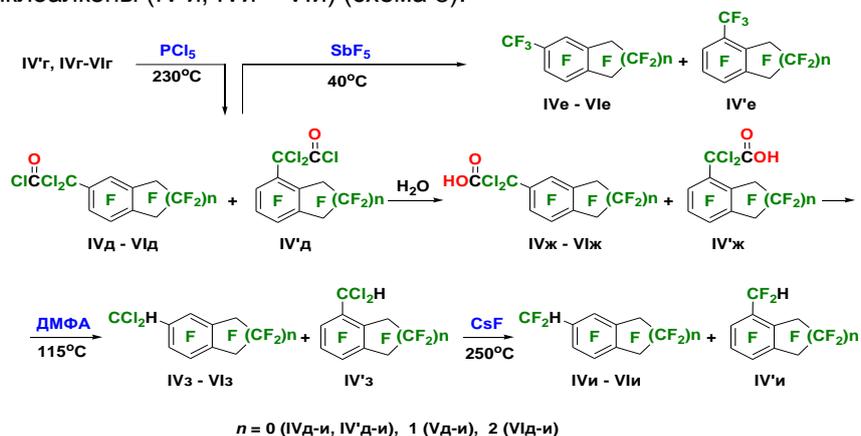
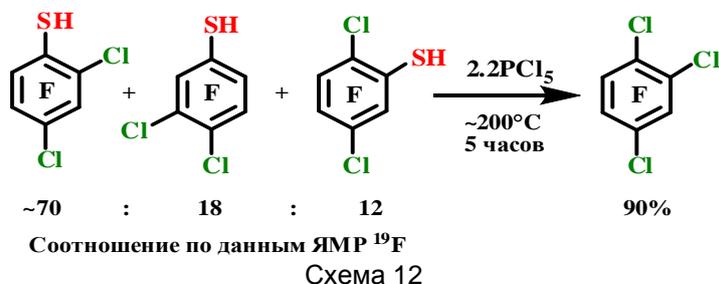


Схема 8

**Пункт 7. «Разработка метода получения полифторароматических нитрилов на основе полифторароматических альдегидов»**

Разработан метод получения полифторароматических нитрилов на основе полифторароматических альдегидов, заключающийся в переводе последних в

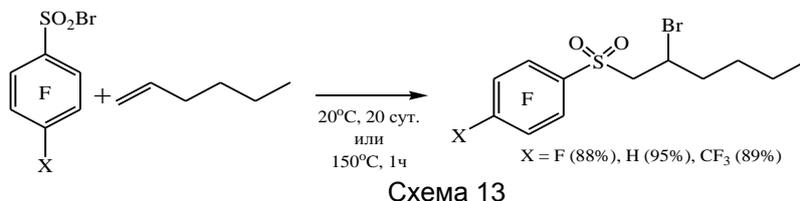




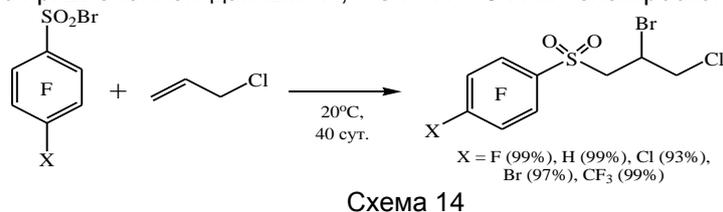
Изомерная смесь дихлортрифторбензолтиолов синтезирована реакцией технической смеси *o*-, *m*-, *p*- $\text{C}_6\text{F}_4\text{Cl}_2$  с KSH с выходом 90%.

**Пункт 9.** «Изучение реакций присоединения полифтораренсульфонилбромидов к непредельным соединениям, содержащим одну двойную углерод-углеродную связь»

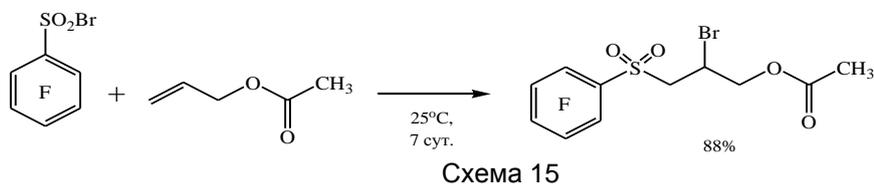
Исследованы реакции присоединения полифтораренсульфонилбромидов к непредельным соединениям, содержащим одну двойную углерод-углеродную связь. Полифтораренсульфонилбромиды представляют интерес как источники полифтораренсульфонильного радикала, обладающего электрофильным характером. Нами показано, при взаимодействии полифтораренсульфонилбромидов с гексен-1 получаются 1-(полифтораренсульфонил)-2-бромгексаны с высокими выходами (схема 13)



В реакции полифтораренсульфонилбромидов с хлористым аллилом также получаются соответствующие аддукты с высокими выходами (схема 14). Относительное расположение атомов хлора и брома в продукте реакции надежно установлено с привлечением данных  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  и  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектроскопии.



При взаимодействии пентафторбензолсульфонилбромида с аллилацетатом синтезирован 1-пентафторбензолсульфонил-3-ацетокси-2-бромпропан (схема 15).



Установлено, что реакции полифтораренсульфонилбромидов с алкенами ускоряются при освещении рассеянным дневным светом или УФ-светом, а также в присутствии иодида меди(I). На основании этих данных сформулирована гипотеза о радикальном характере процесса (схема 16).



### Синтез 1-тетрафториодил(перфторарил)алкинов



Схема 21

В отличие от перфторированных соединений, углеводородные 1-иодалкины реагируют с этой фторирующей системой двумя параллельными путями, один из которых даёт продукт присоединения 4- атом. фтора к тройной связи, а другой – крайне неустойчивые  $\text{RC}\equiv\text{CIF}_n$  ( $n = 2, 4$ ) (предположительно), которые разлагаются с образованием  $\text{IF}_5$  и множества неидентифицированных продуктов (осмоление). Так же реагирует  $\text{C}_6\text{H}_5\text{C}\equiv\text{C-I}$ .

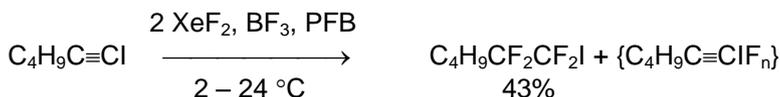


Схема 21

### Реакции с нуклеофильными реагентами

Действие фторид-аниона ( $[\text{Me}_4\text{N}][\text{F}]$  в диглиме или ацетонитриле, "naked fluoride") ведёт к элиминированию и сложной смеси ненасыщенных перфторсоединений.

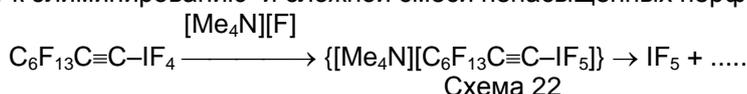
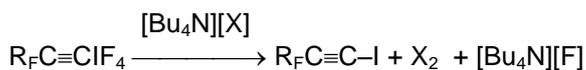


Схема 22

Взаимодействие с хлорид, бромид и иодид анионами даёт 1-иодперфторалкин и соответствующий галоген.



(X = Cl, Br, I)

схема 23

Взаимодействие с водой или MeOH, по-видимому, даёт сначала продукты частичного замещения атом. фтора на OH (OMe), который быстро превращается в  $\text{R}_f\text{C}\equiv\text{C-I}$  и смесь других перфторсоединений (схема 24).



Схема 24

### Лаборатория изучения нуклеофильных и ион-радикальных реакций

Заведующий лабораторией - проф., д.х.н. В.Д. Штейнгарц

**Проект V.44.1.13.** «Механизмы ионных, ион-радикальных и радикальных органических реакций. Экспериментальное и теоретическое исследование строения и реакционной способности интермедиатов» (пункты 4,5)

Установлена и квантово-химически интерпретирована ориентация протонирования и алкилирования дианиона 4-циандифенила с образованием долгоживущих циклогексадиенильных анионов. Для алкилирования выявлена зависимость времени жизни образующегося аниона и, соответственно, возможность его использования в качестве синтона от природы используемого алкилгалогенида.

Обнаружена ценная для тонкого органического синтеза реакция цианметилдефторирования фторсодержащих бензонитрилов, установлены структурные закономерности ее конкуренции с побочным направлением (схема 1) и их отличие от таковых для *пара*-цианфенилирования тех же бензонитрилов дианионом терефталонитрила. Тем самым подтверждена правомерность представлений о протекании последней реакции через промежуточное образование комплекса с переносом заряда. Генерированы анион-радикалы изомерных циандифенилов, 2-циан-4'-метилдифенила и 2-фтор-4,4'-дициандифенила и, по данным спектров ЭПР, установлено их электронное строение. Разработан синтез азосоединений из 4-амино-2,3',4'-трициандифенила и, на их основе, комплексов фталоцианинов, содержащих арилазинильный фрагмент.

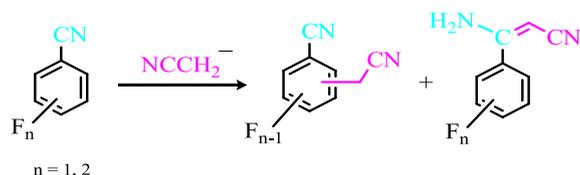


Схема 1. Цианметилдефторирование фторированных бензонитрилов

**Проект V.44.5.8.** «Создание новых эффективных методов синтеза соединений с заданными функциональными свойствами на основе ароматических и гетероциклических соединений, включая полифторированные производные» (пункты 2,3,4)

Установлены структурные закономерности конкуренции аминодехлорирования и аминодифторирования 2-хлорхинолинов жидким аммиаком при 70 °С и возможности синтеза на этой основе полифторированных по бензольному кольцу аминохинолинов. Разработан синтез полифторированных 1,4-нафтохинонов, содержащих в хиноном фрагменте 2-хлорэтокси- и -этилсульфанильные группы (схема 2) и способных алкилировать нуклеофильные центры биологических молекул. По результатам первичного тестирования выявлена их ростиингибирующая активность по отношению к раковым клеткам, а также антиоксидантные и антимуtagenные свойства. Показано, что взаимодействие моно- и 2,6-дифторбензонитрилов с дианионом терефталонитрила является способом их цианфенилирования с замещением, в зависимости от структуры нитрила, водорода или фтора и одностадийным синтезом соответствующих фтор- и дифтор(*пара*-цианфенил)бензонитрилов.

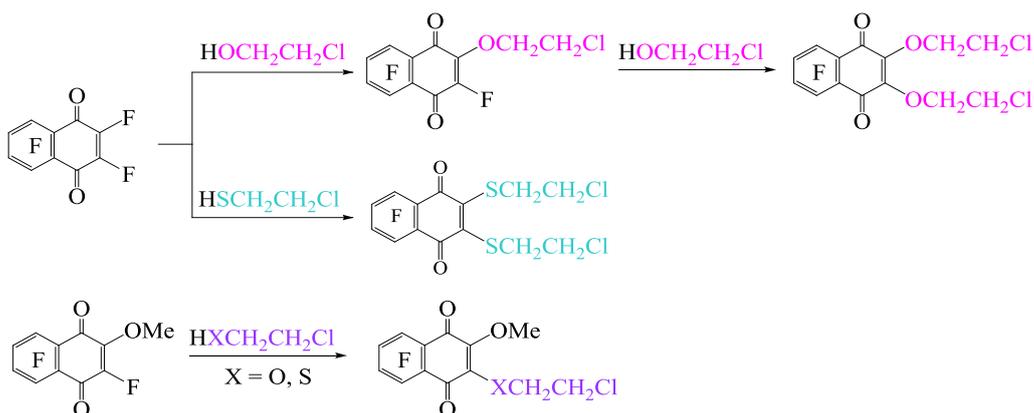


Схема 2. Синтез полифторированных 1,4-нафтохинонов с алкилирующими функциями в положении 2

### Проект ОХНМ 5.1.7.

«Изучение природы, электронного строения и реакционной способности анионных интермедиатов, возникающих в реакциях циан- и полифтораренов, инициируемых их анионной активацией»

Генерированы долгоживущие интермедиаты алкилирования активированного двухэлектронным восстановлением 4-циандифенила, с помощью квантовохимических расчетов установлена их относительная стабильность и электронное строение, выявлена возможность их дальнейшего алкилирования с синтетически значимым образованием разнообразных 1,4-диалкил-4-циано-1,4-дигидродифенилов и получены свидетельства в пользу реализации в этих реакциях механизма  $S_N2$ . Впервые генерированы долгоживущие анион-радикалы (АР) ряда циандифенилов и получены их ЭПР характеристики, отражающие влияние циано- и метильной групп и атома фтора на их электронное строение. Осуществлено взаимодействие фторбензонитрилов с дианионом терефталонитрила, получены данные о механизме и синтетической значимости этих реакций. Для модельной реакции указанного дианиона с бензонитрилом с помощью квантовохимических расчетов подтверждена вероятность промежуточного образования комплекса с переносом заряда, и охарактеризованы строение и энергетика его конформаций (рис. 1).

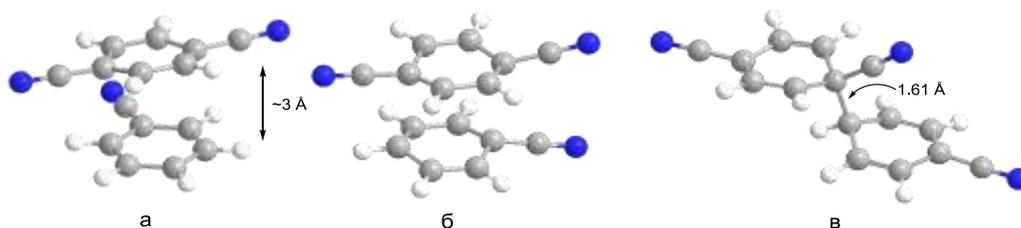


Рис. 1. Рассчитанные (MP2/6-31+G\*) молекулярные структуры образуемых бензонитрилом и дианионом терефталонитрила (а) перпендикулярной конформации КПЗ, (б) параллельной конформации КПЗ, (в) «заторможенной» конформации ЦГДА

### Интеграционный проект № 59

**Пункт 1.** «Изучение возможности синтеза полифторированных 2-(2-хлорэтокси)- и 2-(2-хлорэтилтио)нафталин-1,4-дионов с целью изучения их биологической активности»

**Пункт 2.** «Изучение возможности синтеза производных полифторированных 2-(ω-карбоксиалкил)нафталин-1,4-дионов по карбоксильной группе»

Установлены характер и региоселективность взаимодействия полифторированных нафталин-1,4-дионов с 2-окси- и 2-меркаптоэтилхлоридом и возможность синтеза на этой основе функционализированных полифторированных 2-(2-хлорэтокси)- и 2-(2-хлорэтилтио)нафталин-1,4-дионов с целью изучения их биологической активности. Для взаимодействия гексафторнафталин-1,4-диона с аминокислотами выявлена зависимость конкуренции amino- и карбоксидефторирования по положению 2. Показана возможность трансформации карбоксильной функции 2-(ω-карбоксиалкил)нафталин-1,4-дионов в хлорангидридную и, далее, в зависимости от длины полиметиленовой цепи, в сложноэфирную и диалкиламидную функции или в 2-оксопирролидиновый фрагмент (схема 3). По результатам первичного тестирования среди синтезированных этими путями полифторированных функциональных производных нафталин-1,4-диона выявлены (*in vitro*) соединения с высокой канцеростатической и противомутагенной активностью.

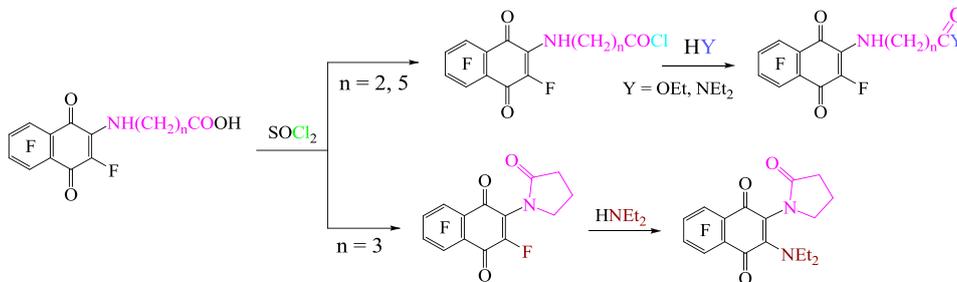


Схема 3. Синтез полифторированных функциональных производных нафталин-1,4-диона

## Лаборатория промежуточных продуктов

Заведующий лабораторией - д.х.н. А.Я. Тихонов

**Проект V.44.1.13.** «Механизмы ионных, ион-радикальных и радикальных органических реакций. Экспериментальное и теоретическое исследование строения и реакционной способности интермедиатов»

**Пункт 7.** «Выявление изокINETического соотношения для бимолекулярных нуклеофильных реакций производных бензола в растворе»

Бимолекулярные нуклеофильные реакции (БНР) замещения и присоединения образуют один из основных фундаментов синтеза разнообразных органических соединений. К этим реакциям относятся, например, такие как  $S_N2$ ,  $S_NV$ ,  $Ad_N$ ,  $S_NAr$  реакции, а также реакции ацильного переноса (рис.1). Энергетика БНР зависит от природы субстрата, нуклеофила, уходящей группы и растворителя. Систематический подход по выявлению роли этих факторов позволяет решать задачу количественного описания эффектов заместителя в ароматическом кольце на активационные параметры в БНР в рамках единого уравнения.

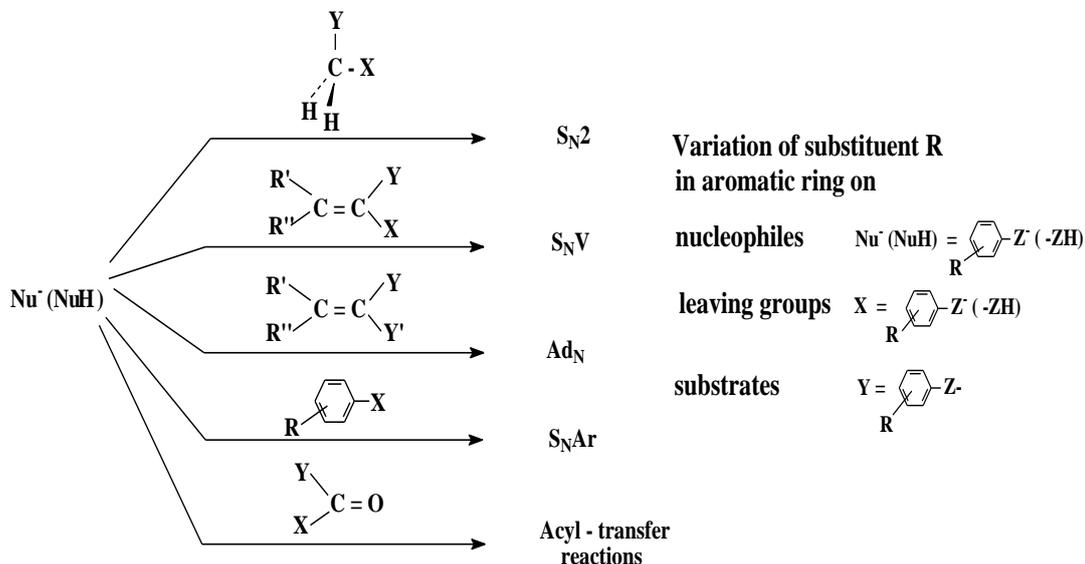


Рис. 1. Типичные БНР, изученные в настоящем проекте

Установлены закономерности изменения активационных параметров  $\Delta H^\ddagger$  и  $\Delta S^\ddagger$  в  $S_N2$ ,  $S_NV$ ,  $Ad_N$ ,  $S_NAr$  реакциях и реакциях с переносом ацильной группы с нуклеофилами на основе фенолов, анилинов и пиридинов в различных

растворителях. Константы реакций  $\delta\Delta H^\ddagger$  и  $\delta\Delta S^\ddagger$ , полученные из уравнений  $\Delta H^\ddagger$  vs.  $\sigma$  и  $\Delta S^\ddagger$  vs.  $\sigma$ , где  $\sigma$  – константы заместителей в ароматическом кольце нуклеофилов, позволяют количественно определить вклад изменений внутренней энthalпии  $\delta\Delta H^\ddagger_{\text{int}}$ , не зависящей от сольватации.

Найдена единая линейная зависимость (1) внутренней энthalпийной константы  $\delta\Delta H^\ddagger_{\text{int}}$  от разницы в энтропийной компоненте  $(T_{\text{iso}} - T_{\text{comp}}) \delta\Delta S^\ddagger$  (рис. 2). Эта зависимость дает возможность предсказать значение изокинетической температуры  $T_{\text{iso}}$  для типичных бимолекулярных нуклеофильных реакций.

$$\delta\Delta H^\ddagger_{\text{int}} = (-0.32 \pm 0.31) + (1.00 \pm 0.02)(T_{\text{iso}} - T_{\text{comp}}) \delta\Delta S^\ddagger \quad (1)$$

$r 0.995, s 1.67, n 30$

В этом уравнении  $T_{\text{iso}}$  и  $T_{\text{comp}}$  – изокинетическая и компенсационная температуры,  $\delta\Delta H^\ddagger_{\text{int}}$  и  $\delta\Delta S^\ddagger$  – изменения внутренней энthalпии и энтропии соответственно.

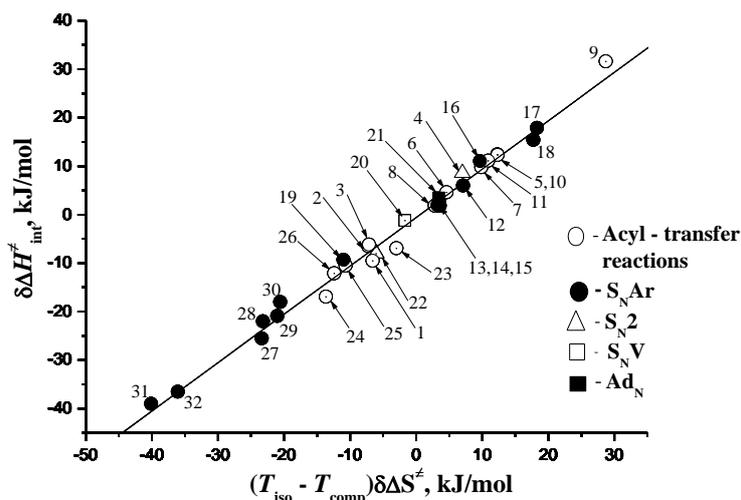


Рис. 2. Зависимость внутренней энthalпийной константы  $\delta\Delta H^\ddagger_{\text{int}}$  от разницы в энтропийной компоненте  $(T_{\text{iso}} - T_{\text{comp}}) \delta\Delta S^\ddagger$ .

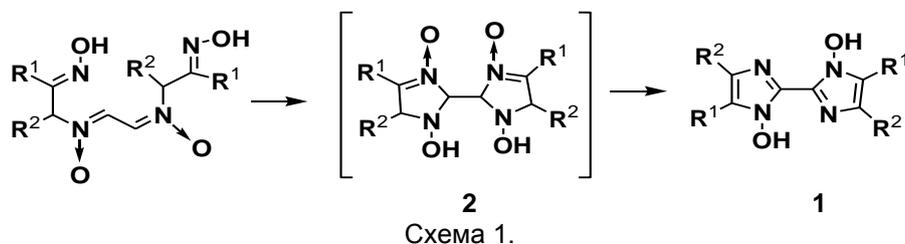
На основе изучения изменений активационных параметров в типичных бимолекулярных нуклеофильных реакциях производных бензола с анионными и нейтральными нуклеофилами в различных растворителях установлена единая зависимость для предсказания изокинетической температуры, что важно для установления энthalпийного или энтропийного контроля для этих реакций.

### Проект V.44.5.8.

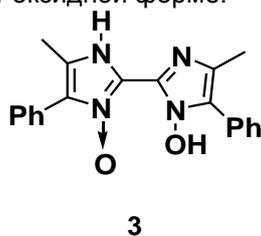
«Создание новых эффективных методов синтеза соединений с заданными функциональными свойствами на основе ароматических и гетероциклических соединений, включая полифторированные производные»

**Пункт 21.** «Изучение циклизации  $\alpha$ -динитронов с целью получения производных бисимидазола»

Взаимодействием 1,2-гидроксиламинооксимов с глиоксалем были получены динитроны в виде смеси геометрических изомеров. Кипячение динитронов в уксусной кислоте привело к образованию мало изученных 1,1'-дигидрокси-2,2'-бисимидазолов (1) (схема 1).

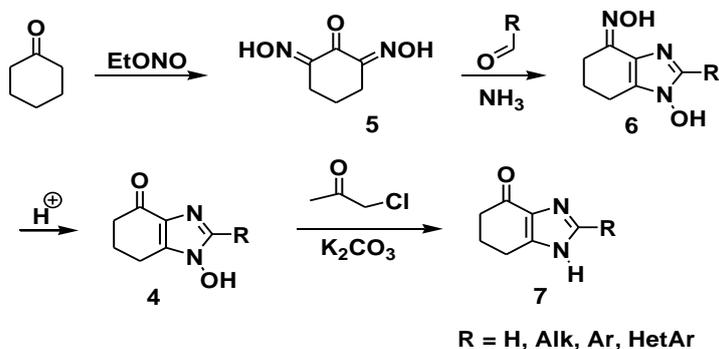


Бисимидазолы (1), по-видимому, образуются в результате дегидратации промежуточных 2,2'-бис(3-имидазолинов) (2) с участием атомов водорода в положении 2-гетероциклов, на что указывают данные РСА для несимметрично замещенных бисимидазолов (3), причем в молекуле один гетероцикл находится в 1-гидроксиформе, другой в таутомерной N-оксидной форме.

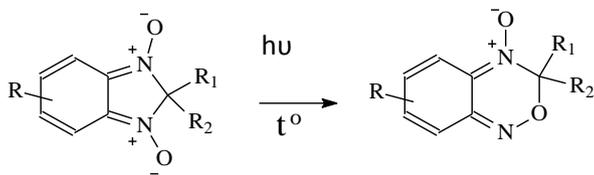


**Пункт 22. «Изучение свойств 1-гидрокси-1H-4,5,6,7-тетрагидробензимидазолов»**

Разработан простой и эффективный способ синтеза 1-гидрокси 4-оксо-1H-4,5,6,7-тетрагидробензимидазолов (4). Эти соединения образуются при взаимодействии 2,6-дизонитрозоциклогексанона (5), полученного из циклогексанона, с альдегидами и аммиаком. Реакция имеет достаточно общий характер. В неё вступают формальдегид, алифатические, ароматические и гетероароматические альдегиды с образованием 1-гидрокси 4-гидроксимино-1H-4,5,6,7-тетрагидробензимидазолов (6). Оксимная группа в этих соединениях легко гидролизуется с образованием 1-гидрокси 4-оксо-1H-4,5,6,7-тетрагидробензимидазолов (4). При взаимодействии 1-гидрокси 4-оксо-1H-4,5,6,7-тетрагидробензимидазолов (4) с хлорацетоном в присутствии основания (триэтиламин или поташ) происходит дезоксигенирование этих соединений с образованием соответствующих имидазолов - 2-R-4-оксо-4,5,6,7-тетрагидро-1H-бензимидазолов (7).



Обнаружено, что 2H-бензимидазол-1,3-диоксиды проявляют фотохромные свойства: при нагревании они превращаются в 3H-[2,1,4]бензоксадиазин-4-оксиды, которые при облучении солнечным светом превращаются в исходные 2H-бензимидазол-1,3-диоксиды.



Образование при нагревании производного бензоксадиазина говорит о большей термодинамической стабильности данного соединения по сравнению с 2H-бензимидазол-1,3-диоксидом.

Нами впервые описано фотохимическое превращение 2H-бензимидазол-1,3-диоксида в бензоксадиазин.



Рисунок, иллюстрирующий фотохромные свойства

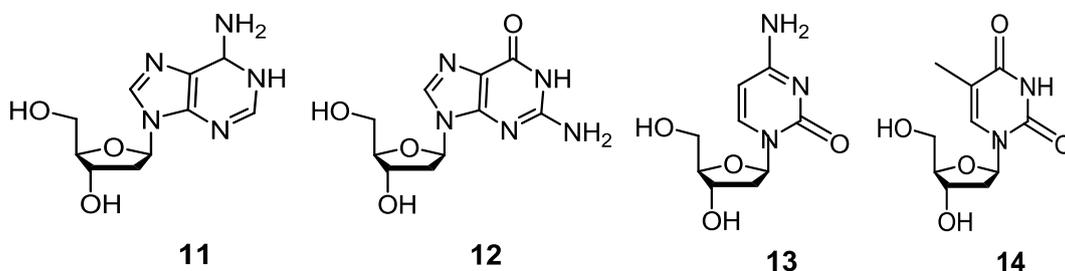
Фильтровальная бумага пропитана бензоксадиразином, наложен трафарет и подвергнуто облучению солнечным светом. Синим проявился 2H-бензимидазол-1,3-диоксид.

Таким образом, мы нашли новые фотохромные соединения - 2H-бензимидазол-1,3-диоксиды.

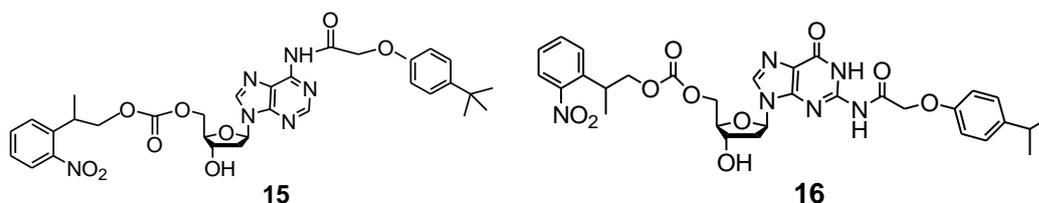
### Междисциплинарный интеграционный проект № 138

«Технологическая платформа для синтетической биологии»

Проведен синтез производных дезоксиинуклеозидов, содержащих фотолабильную группу с использованием дезоксиаденозина (**11**), дезоксигуанозина (**12**), дезоксцитидина (**13**) и тимидина (**14**).

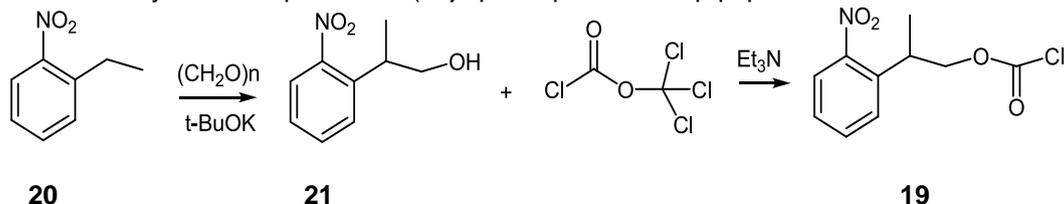


Были получены соединения:





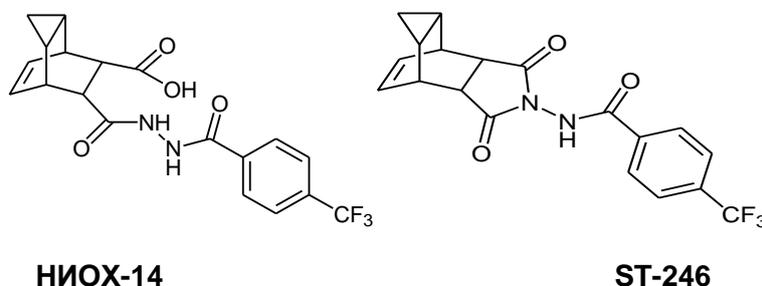
Для введения фотолabileй группы был использован 2-(2-нитрофенил)пропокси-карбонилхлорид (**19**), который получен взаимодействием 2-нитроэтилбензола (**20**) с параформом в присутствии *трет*-бутилата калия с последующим ацилированием полученного пропанола (**21**) трихлорметил хлорформатом:



**Федеральная целевая программа "Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации"**  
 Договор № НИОХ-14/13 с ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»:

«Разработка способов синтеза новых функциональных конденсированных производных пирролдона и их предшественников и технико-экономического плана создания участка по производству субстанции противоопухолевого препарата НИОХ-14».

В рамках сотрудничества с ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» получены два метаболита 7-[N'-(4-трифтор-метилбензоил)гидразинокарбонил]трицикло[3.2.2.0<sup>2,4</sup>]нон-8-ен-6-карбоновой кислоты (НИОХ-14), синтезированы и отправлены на испытания на противовирусную активность более 10 новых конденсированных гидрированных производных изоиндолдиона - аналогов соединения ST-246.



### Лаборатория терпеновых соединений

Заведующий лабораторией - проф., д.х.н. А.В. Ткачев

**Проект V.44.5.8.** «Создание новых эффективных методов синтеза соединений с заданными функциональными свойствами на основе ароматических и гетероциклических соединений, включая полифторированные производные»

**Пункт 25.** «Изучение синтетических подходов к хиральным высокосимметричным макроциклическим соединениям»

Разработан эффективный способ сборки хиральных макроциклических соединений

симметрии  $D_2$  с использованием темплатного синтеза в комплексе  $Ni^{2+}$  на ключевой стадии сборки тетратерпенового промежуточного продукта. На примере производных (+)-3-карена этот способ выглядит так, как показано на схеме 1.

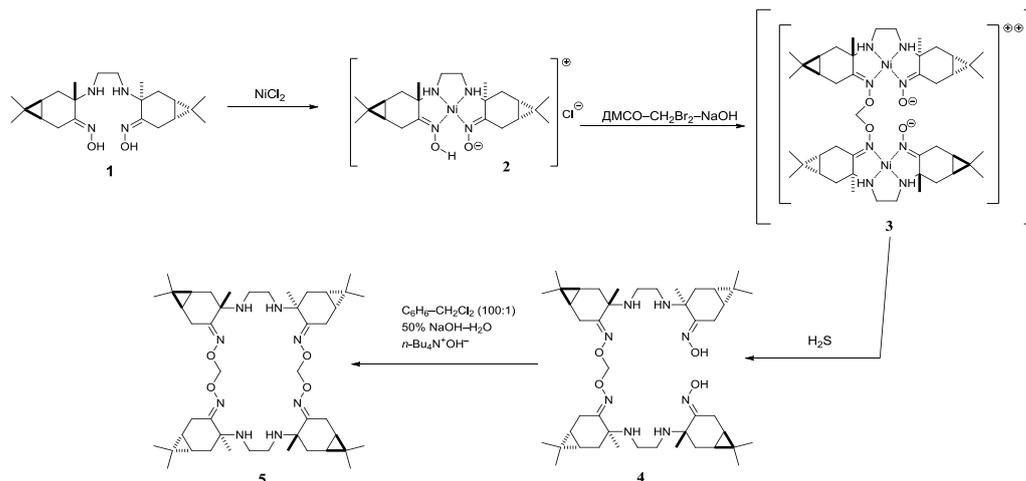


Схема 1

Метод основан на легком образовании прочных никелевых комплексов как исходных бис- $\alpha$ -аминооксимов типа **1**, так и тетракис- $\alpha$ -аминооксимов типа **4**. Бис- $\alpha$ -аминооксим сначала превращают в комплекс с  $Ni^{2+}$ , который далее вводят в реакцию с бромистым метиленом и получают никелевый комплекс продукта сшивки по оксимным группам, который предположительно имеет структуру типа **3**. Примечательно, что в этих условиях образования макроциклов не происходит, и реакция останавливается на стадии образования продукта сшивки исходного аминоксима **1** по одной паре оксимных групп. Продукт сшивки **3** образует очень прочный комплекс с ионами  $Ni^{2+}$ , однако при длительном выдерживании продуктов реакции с избытком  $H_2S$  удаётся выделить целевое соединение, которое далее подвергают макроциклизации путем сшивки по оставшейся паре свободных оксимных групп с образованием  $D_2$ -симметричного макроциклического соединения. Показано, что бис- $\alpha$ -аминооксимы, полученные из 3-карена, лимонена и  $\alpha$ -пинена обладают сходными комплексообразующими свойствами в реакциях с металлами первого переходного ряда, поэтому разработанный метод темплатной сборки имеет общий характер и применим для построения других  $D_2$ -симметричных макроциклических соединений с фрагментами молекул  $\alpha$ -пинена, лимонена и – в перспективе – других терпеновых соединений.

**Пункт 26. «Дизайн и синтез новых типов лигандов для люминесцентных комплексов переходных металлов»**

Пинопиридиновые гибриды – хиральные молекулы, содержащие фрагменты пинана, конденсированные с пиридовым ядром, являются перспективными лигандами для прикладной координационной химии. Разработан чрезвычайно простой одностадийный метод синтеза бис-пинопиридиновых производных на основе разработанного нами нового метода сборки пиридинового ядра (схема 2).

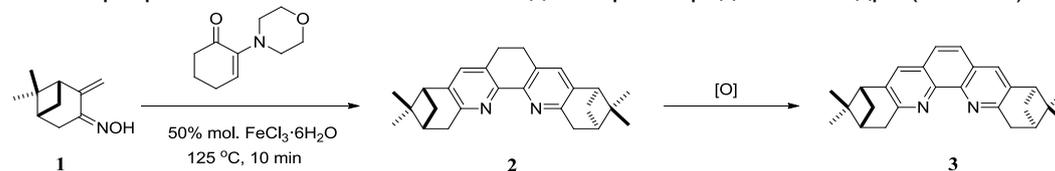


Схема 2

В этом методе реализуется, по всей вероятности, темплатный вариант сборки в комплексе  $Fe^{3+}$ . Метод пригоден для получения хиральных конденсированных производных фенантролинового и дигидрофенантролинового типа, обладающих

собственной люминесценцией, усиливающейся в комплексах с переходными металлами.

**Пункт 27.** «Исследование синтетических подходов к построению новых типов терпенсодержащих конденсированных гетероциклических структур»

Разработан новый метод сборки пинопиридиновых гибридов, заключающийся в конденсации оксима пинокравона с енаминами в условиях микроволновой активации в присутствии соли переходного металла в качестве катализатора (схема 3).

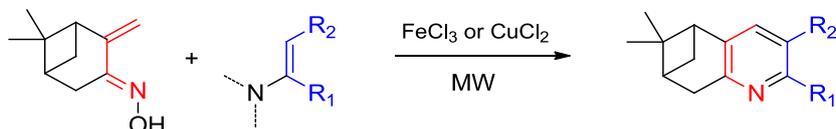


Схема 3

Метод отличается мягкими условиями проведения синтеза, что позволяет вовлекать в реакцию оксимом пинокравона **1** различные енамины **2** – не только простейшие, но и полифункциональные, приводящие, в конечном счете, к простым и функционализированным пинопиридиновым гибридам **3** (схема 4).

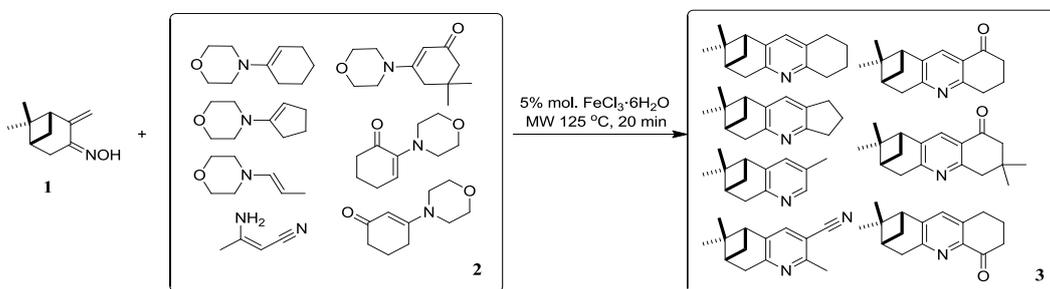


Схема 4

**Пункт 28.** «Изучение стереодифференциации в реакциях образования гибридных производных, построенных из аминокислот терпенового ряд»

Изучено взаимодействие нитрозохлоридов 3-карена и альфа-пинена с рацемическими аминокислотами и их алкиловыми эфирами (схема 5).

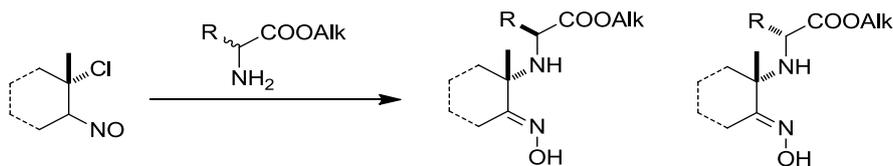


Схема 5

Показано, что в зависимости от природы реагентов в реакцию может вступать преимущественно L- или D-энантиомер аминокислоты или её производное. При этом диастереоселективность варьирует во всем возможном диапазоне значений – от 0% для фенилаланина до 100% в случае производных гистидина.

Таким образом, реакция рацемических аминокислот и их производных с оптически активными нитрозохлоридами терпенов приводит к стереодифференциации и преимущественному образованию одного из диастереомеров, что открывает путь к диастереоселективному синтезу терпен-аминокислотных гибридов.

**Пункт 29.** «Изучение подходов к введению аминофосфонатных групп в производные природных терпеновых соединений»

Изучено взаимодействие *O*-метильных эфиров  $\alpha$ -аминооксимов ряда 3-карена и (-)- $\alpha$ -пинена с бензальдегидом и диметилфосфитом под действием различных катализаторов. Показано, что в определенных условиях протекает образование аминофосфонатов – фосфорных аналогов производных аминокислот (схема 6).

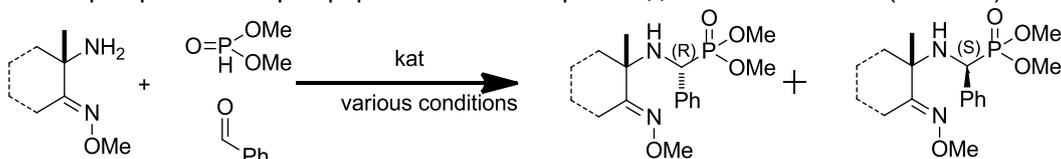


Схема 6

Установлено, что для получения производных 3-карена наилучшие выходы дают гомогенные каталитические системы (растворимые кислоты Льюиса –  $\text{SnCl}_2$ ,  $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{BF}_3\text{-OEt}_2$ ), в то время как при получении производных  $\alpha$ -пинена предпочтительней использовать варианты гетерогенного катализа (силикагель или оксид алюминия с нанесенными на них минеральными кислотами). Показано, что в условиях микроволновой активации при одновременном охлаждении возможно осуществления стереоселективного синтеза терпен-аминофосфонатных гибридов с диастереоселективностью до 50%.

**Проект V.46.5.4.** «Развитие методологии комплексных исследований органических веществ и материалов синтетического, природного и антропогенного происхождения, реакций и процессов, протекающих в живых системах и объектах окружающей среды»

**Пункт 4.** «Разработка методов обнаружения прохамазуленовых соединений в растительном сырье с использованием комплекса химических и хроматографических методов»

Разработан экспресс-метод обнаружения нативных предшественников хамазулена (прохамазуленовых соединений) в растительном сырье. Метод основан на нестабильности прохамазуленов при нагревании в водной среде в присутствии кислот и включает комплекс экстракционных и хроматографических процедур, позволяющих в экспресс-режиме (за время порядка десятка минут) определить наличие в экстрактах прохамазуленовых соединений. Метод реализуется как в «пробирочном» варианте, так и на хроматографических пластинках, что позволяет, во-первых, анализировать малые количества вещества и, во-вторых, локализовать прохамазулены во фракциях различной полярности и таким образом одновременно определить химическую природу предшественников азулена.

**Пункт 5.** «Изучение распространенности важнейших моноциклических предшественников биосинтеза растительных сесквитерпеноидов различных химических групп»

Методами газовой хромато-масс-спектрометрии, в том числе и в двумерном варианте, исследованы эфирные масла и экстракты (всего около 300 экстрактов) на предмет содержания важнейших моноциклических предшественников биосинтеза растительных сесквитерпеноидов – гумулена и гермакрена D. Показано, что в растительных объектах Южной Сибири гумулен и его простейшие производные встречаются не часто и никогда не обнаруживаются в качестве доминирующих компонентов, всегда являясь спутниками структурно родственного бициклического кариофиллена. При этом сам гумулен является нативным продуктом, а его производные – артефактами, образующимися из гумулена при переработке растительного сырья. В противоположность этому гермакрен D распространен

очень широко и встречается во многих растениях, причем иногда – в виде основного компонента экстрактов. Гермакрену D в составе растительных экстрактов также всегда сопутствуют продукты его ферментативных и неферментативных превращений.

**Пункт 6. «Исследование изменчивости энантиомерного состава монотерпеновых углеводов хвойных деревьев Сибири»**

Исследовано распределение энантиомеров монотерпеновых углеводов ( $\alpha$ - и  $\beta$ -пиненов, 3-карена, лимонена,  $\beta$ -феллдрена и сабинена) в 5-ти основных лесобразующих породах хвойных деревьев (сосна, кедр сибирский, ель, пихта, лиственница) на территории Западной Сибири. Показано, что 3-карен присутствует всегда только в виде (+)-энантиомера, и даже следов (-)-энантиомера зафиксировать не удается. В противоположность этому оптическая чистота других монотерпенов варьирует в широких пределах, причем один и тот же монотерпен обнаруживается в объектах преимущественно в виде (+)-энантиомера, в других – преимущественно в (-)-энантиомера. Наибольшая оптическая чистота  $\alpha$ -пинена характерна для кедра и лиственницы,  $\beta$ -пинена – для пихты, ели и лиственницы, камфен – для пихты, лимонен – для ели и лиственницы,  $\beta$ -феллдрен – для сосны и пихты.

**Грант РФФИ 13-03-00600-а «Исследование вторичных метаболитов терпеновой природы – ключевых промежуточных продуктов важнейших биологически активных веществ в растениях флоры Сибири»**

Выполнено сравнительное исследование химической природы и содержания прохамазуленовых соединений, содержащихся в сибирских хеморасах полыни понтийской (*Artemisia pontica*), полыни якутской (*Artemisia jacutica*) и полыни крупноголовой (*Artemisia macrocephala*); установлена химическая природа молекул основных прохамазуленовых соединений этих полыней.

Методами молекулярной спектроскопии изучено строение молекул прохамазуленовых соединений сибирских полыней. Показано, что за образование хамазулена в ходе паро- и гидродистилляции растительного сырья в случае полыни якутской (*Artemisia jacutica*) и полыни крупноголовой (*Artemisia macrocephala*) отвечают сесквитерпеновые лактоны ряда 6,12-гвайянолида – арборесцин в случае полыни якутской и смесь арборесцина и арглабина – в случае полыни крупноголовой (*Artemisia macrocephala*). В случае полыни понтийской (*Artemisia pontica*) предшественниками хамазулена при гидродистилляции является смесь сесквитерпеновых лактонов группы 6,12-гвайянолида в виде конъюгатов с сахарами. Разработана техника выполнения энантиоселективного анализа цембрена методом хироспецифической ГЖХ в двумерном варианте, включающем анализ углеводородной фракции исследуемой на колонке с ахиральной малополярной фазой при детектировании пламенно-ионизационном детекторов и последующем анализе выбранного участка на циклодекстриновом хиральном селекторе при детектировании масс-селективным детектором.

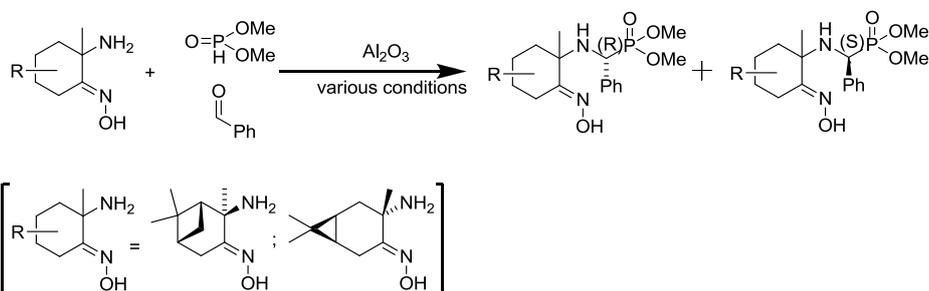
Создана электронная база данных эфирномасличной флоры Южной Сибири. База содержит сведения примерно о 900 образцах, собранных в ходе экспедиционных исследований на территории Южной Сибири (Новосибирская, Томская и Кемеровская области, Алтайский и Красноярский края, Республики Алтай, Тува, Хакасия, Восточно-Казахстанская область Республики Казахстан) и включает информацию о месте сбора растительного сырья (с указанием точных географических координат для привязки к спутниковым снимкам, высоты над уровнем моря и экологической приуроченности мест произрастания популяции), выходах и физико-химических характеристиках эфирного масла, полученного методом пародистилляции свежесобранного сырья, хроматографические профили эфирных масел с указанием содержания основных компонентов, фотографии растений и экологических сообществ.

База данных представляет собой набор массивов (реляционная база данных под управлением СУБД MySQL, изображения формата PNG и JPEG, PDF-файлы).

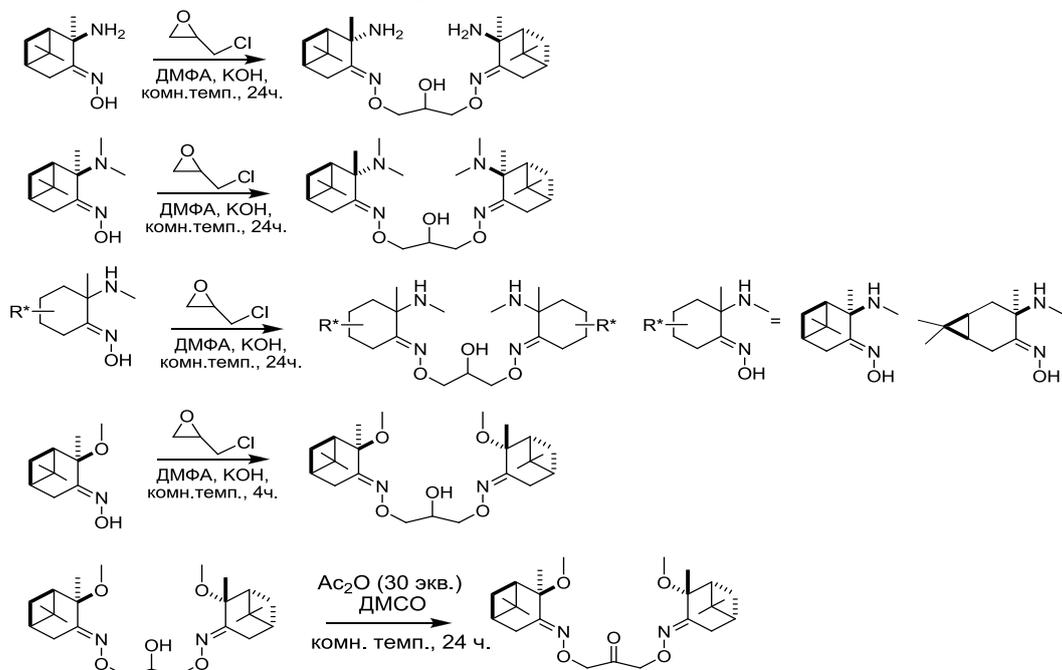
Доступ к базе реализован через сеть *Internet* по протоколу *http*. Разметка интерфейса написана на языке HTML (часть информации – в виде статических HTML-страниц, часть – в виде динамических HTML-страниц). Запросы сведений из базы написаны на языке SQL, а сценарии обработки данных – на языках PHP и JavaScript с использованием технологии асинхронного обмена (AJAX). База постоянно пополняется и обновляется по мере обработки экспериментальных данных. База доступна по адресу <http://web.nioch.nsc.ru/siboils/>

**Грант РФФИ 12-03-31078 мол\_а «Новые подходы к синтезу гетероатомных производных природных терпенов с использованием микроволновой активации»**

Изучено взаимодействие  $\alpha$ -аминооксимов ряда 3-карена и (-)- $\alpha$ -пинена с бензальдегидом и диметилфосфитом с использованием в качестве катализатора кислой окиси алюминия (схема 7). Установлено, что в случае производных 3-карена лучшие результаты достигаются при использовании комбинации приборов, состоящей из СВЧ реактора и криогенного блока, позволяющей проводить реакции при микроволновом облучении смеси с охлаждением. В таком случае достигается максимальная диастереоселективность (соотношение диастереомеров 4:1). Для  $\alpha$ -аминооксима ряда (-)- $\alpha$ -пинена лучший результат дало использование микроволновой активации без охлаждения.



Разработан метод синтеза симметричных спиртов из  $\alpha$ -аминооксимов ряда 3-карена, (-)- $\alpha$ -пинена и эпихлоргидрина в одну стадию под действием гидроксида натрия в диметилформамиде и проверена его общность на ряде аминоксимов различного строения (схема 8). Исследовано окисление спиртов такого строения системой диметилсульфоксид – уксусный ангидрид



Исследованы подходы к синтезу  $C_2$ -симметричных гибридных молекул, содержащих фрагменты аминокислот и монотерпенов. В рамках этой задачи был разработан синтетический метод, позволяющий получать  $C_2$ -симметричные молекулы путем сшивки хлористым метиленом двух фрагментов терпена через оксимную группу в условиях межфазного катализа (схема 9).

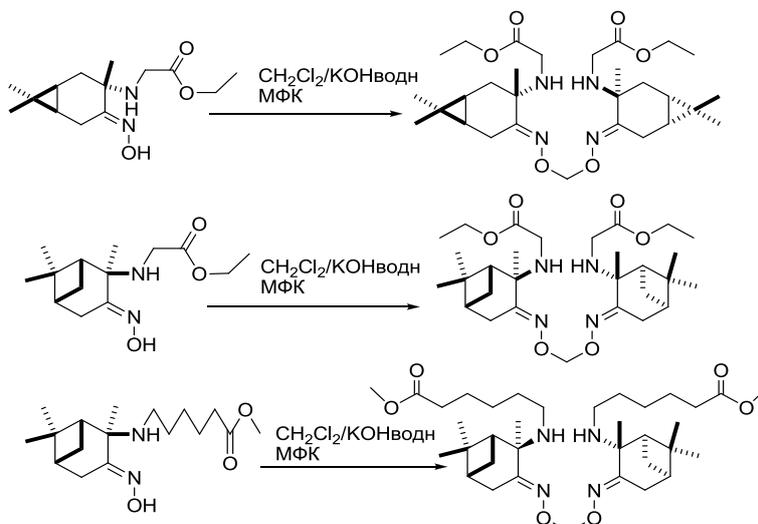


Схема 9

**Проект** «Проведение научной экспедиции по изучению эфирно-масличной флоры юга Сибири» (грант Программы поддержки экспедиционных исследований СО РАН 2013 года)

Экспедиционным отрядом НИОХ СО РАН с мая по сентябрь 2013 года проводились работы по получению в полевых условиях образцов суммарных экстрактов вторичных метаболитов для хроматографического профилирования вторичных метаболитов. Образцы экстрактов получали из свежесобранного растительного сырья в полевых условиях прямо на месте сбора. Анализ экстрактов проводили в лабораторных условиях (в НИОХ СО РАН).

Полевые работы проводились на территории Томской области (май и сентябрь месяцы) и в Кемеровской области, Красноярском крае и Республике Хакасия, а также в Восточно-Казахстанской области Республики Казахстан (июль-август).

В ходе экспедиционных работ собран 61 образец растительного сырья 61 вида растений (большинство образцов к настоящему моменту уже идентифицировано), из которых в полевых условиях получены экстракты – концентраты низкомолекулярных вторичных метаболитов.

**Проект 140.** «Интеграционной программы СО РАН «Структура и климатически обусловленная динамика разнообразия 5-хвойных сосен России»

Отработаны методы анализа экстрактов летучих и нелетучих низкомолекулярных вторичных метаболитов пятихвойных сосен. Показано, что основными компонентами летучей части экстрактов являются моно- и сесквитерпеновые соединения с преобладанием монотерпеноидов. Доминирующими компонентами нелетучей части являются дитерпеновые соединения (главным образом, смоляные кислоты) и различные фенольные соединения – фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды (в свободной и гликозилированной форме) и лигнаны. В стандартных условиях получены хроматографические профили летучих и нелетучих низкомолекулярных вторичных метаболитов 5-хвойных сосен Евразии и Северной Америки с использованием образцов, предоставленных ИМКЭС СО РАН.

## **Лаборатория физических методов исследования**

Заведующая лабораторией - проф., д.ф.-м.н. Е.Г. Багрянская

**Проект V.44.1.13.** «Механизмы ионных, ион-радикальных и радикальных органических реакций. Экспериментальное и теоретическое исследование строения и реакционной способности интермедиатов»

**Пункт 3.** «Изучение природы анионных интермедиатов восстановления замещенных дициандифенилов»

Расшифрованы спектры ЭПР анион-радикалов, генерированных ранее электрохимическим восстановлением исходных соединений в диметилформамиде: 3-цианобифенил, 2-цианобифенил.

Зарегистрированы спектры ЭПР анион-радикалов, генерированных электрохимическим восстановлением в диметилформамиде 4'-метил-2-цианобифенила, 4,4'-дициано-2-фторбифенила, 4,4'-дициано-2-метоксибифенила, 4,4'-дициано-3-фторбифенила, 4,4'-дициано-3-метоксибифенила. Спектры ЭПР анион-радикалов 4'-метил-2-цианобифенила, 4,4'-дициано-2-фторбифенила и 4,4'-дициано-3-фторбифенила расшифрованы, определены величины изотропных КСТВ.

Спектры ЭПР анион-радикалов 4,4'-дициано-2-метоксибифенила и 4,4'-дициано-3-метоксибифенила не поддаются моделированию из-за плохого разрешения.

**Пункт 6.** «Изучение реакции циклизации и перегруппировок долгоживущих карбокатионов фенантренового ряда»

Путем прямого наблюдения методом ЯМР (с применением DNMR и NOESY/EXSY) впервые обнаружена такая миграция на примере вырожденного 1,2-сдвига метилэтинильного фрагмента в долгоживущем 9,10-диметил-9-метилэтинилфенантрениевом катионе. Экспериментально оценены кинетические параметры этой миграции:  $\Delta G^\ddagger < 75$  кДж/моль.

В ходе изучения процесса миграции фрагментов с *sp*-гибридным атомом углерода обнаружена циклизация долгоживущего 9,9-диметил-10-фенилэтинилфенантрениевого катиона, направление которой контролируется кислотностью среды. Кроме того, неожиданно обнаружен легко и селективно протекающий процесс сульфирования фенантрениевого остова; природа этого процесса является предметом текущего изучения. Строение всех продуктов реакции циклизации установлено методами 2D ЯМР; ее кинетика согласуется с данными квантово-химических расчетов.

В сотрудничестве с лабораторией физиологически активных веществ установлено однозначное отнесение сигналов в спектрах ЯМР стереоизомеров (1R,2R,6S)-6-[1-((1R(S))-1-(1-адамантил)этил)амино]метил]винил]-3-метилциклогекс-3-ен-1,2-диола, отличающихся конфигурацией у атома C<sup>11</sup>.

**Пункт 8.** «Изучение физико-химических свойств новых нитроксильных, тритильных радикалов и гидроксилминов различного строения, а также исследование их функциональных свойств в модельных системах и *in vivo* методами ЭПР спектроскопии и ЭПР-томографии»

Создана установка, позволяющая производить перфузию изолированных крысиных сердец расположенных непосредственно в резонаторе ЭПР спектрометра/томографа L-диапазона (Elexsys E540, Bruker). С использованием этой установки была изучена возможность использования спиновых зондов на основе триарилметильных радикалов и нитроксильных радикалов для визуализации параметров микроокружения миокардиальной ткани методом томографии ЭПР в спектрально-пространственных координатах. Дейтерированный

аналог финского триарилметильного радикала, dTAM, использовали для визуализации оксигенации миокардиальной ткани. Однако при низкой концентрации радикала ЭПР томограммы получались неудовлетворительного качества, не позволяющего достоверно определить концентрацию кислорода. В тоже время, повышение концентрации радикала привело к быстрому подавлению сократительной функции и гибели сердца. Сделан вывод, что кардиотоксичность dTAM обусловлена его липофильностью. В связи с этим в дальнейшем для измерения кислорода планируется использовать более гидрофильные триарилметильные радикалы, либо дейтерированные нитроксильные радикалы.

Для визуализации миокардиального pH в качестве спинового зонда был применен pH-чувствительный нитроксильный радикал, ковалентно связанный с молекулой глутатиона. Являясь неспособным проникать в клетку нитроксильным радикалом, данный спиновый зонд не является токсичным. **С использованием данного радикала методом ЭПР томографии впервые в мире была получена карта pH перфузируемого крысиного сердца при локальной ишемии.** Данные ЭПР томограммы хорошо согласуются с данными, полученными другими исследователями с использованием pH-электродов и спектроскопии  $^{31}\text{P}$ -ЯМР. Однако последние методы позволяют измерять лишь локальное значение pH в одной точке. Несомненным преимуществом разработанного нами метода измерения pH на основе ЭПР томографии является возможность получения карты pH биологических объектов неинвазивным способом.

Методами стационарного и импульсного ЭПР исследованы свойства гидрофильного спироциклогесан замещенного нитроксильного радикала (S-TEMPO) (рис.1) и продемонстрирована возможность применения новых спироциклогексан-замещенных нитроксильных радикалов для измерения расстояний в биополимерах (сотрудничество с МТЦ СО РАН и ИХБиФМ СО РАН). Для S-TEMPO измерена константа восстановления аскорбиновой кислотой в водном растворе  $k=2.5 \pm 0.2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ . Методом импульсного ЭПР измерены времена электронной фазовой релаксации в X- и Q-диапазонах для радикалов S-TEMPO и TEMPO в растворах  $\text{H}_2\text{O}$ /глицерин и  $\text{D}_2\text{O}$ /глицерин-d8. Обнаружено, что для спироциклогесан-замещенных нитроксильных радикалов время фазовой релаксации при  $T=80 \text{ K}$  не зависит от частоты спектрометра (X- или Q-диапазон). Спад спинового эха при  $T=80 \text{ K}$  для S-TEMPO, определяется электронной фазовой релаксацией за счет флип-флоп переходов спинов протонов растворителя. Флип-флоп переходы в системе ядерных спинов изменяют величину сверхтонкого взаимодействия с электроном, что приводит к спектральной диффузии. Введение громоздких спироциклических фрагментов вместо метильных групп приводит к увеличению времени фазовой релаксации в 1.3 и 1.6 раз для протонированного и дейтерированного растворителей соответственно. Таким образом, новые спироциклогесан замещенные нитроксильные радикалы являются перспективными спиновыми зондами для изучения биомолекул благодаря высокой стабильности к восстановлению и улучшенным релаксационным свойствам.

Для тестирования возможности применения новых спироциклогексан-замещенных нитроксильных радикалов для измерения расстояний в биополимерах в лаборатории Г.Г.Карповой в ИХБиФМ СО РАН был проведен синтез модельных дуплексов РНК, спин-меченных 2,5-спироциклогексан-замещенным нитроксильным радикалом. На рис.1 показаны временные зависимости ДЭЭР и соответствующие распределения по расстояниям для дуплекса РНК, спин-меченного спироциклогексан-замещенным нитроксильным радикалом (дуплекс 1) и его тетраметил-замещенным аналогом (дуплекс 2). Для дуплексов 1 и 2 были получены близкие функции распределения по расстояниям между радикалами. Хорошее согласие между расстояниями, полученными с применением двух разных меток, демонстрирует применимость новых спироциклогексан-замещенных меток для структурных исследований методом ДЭЭР.

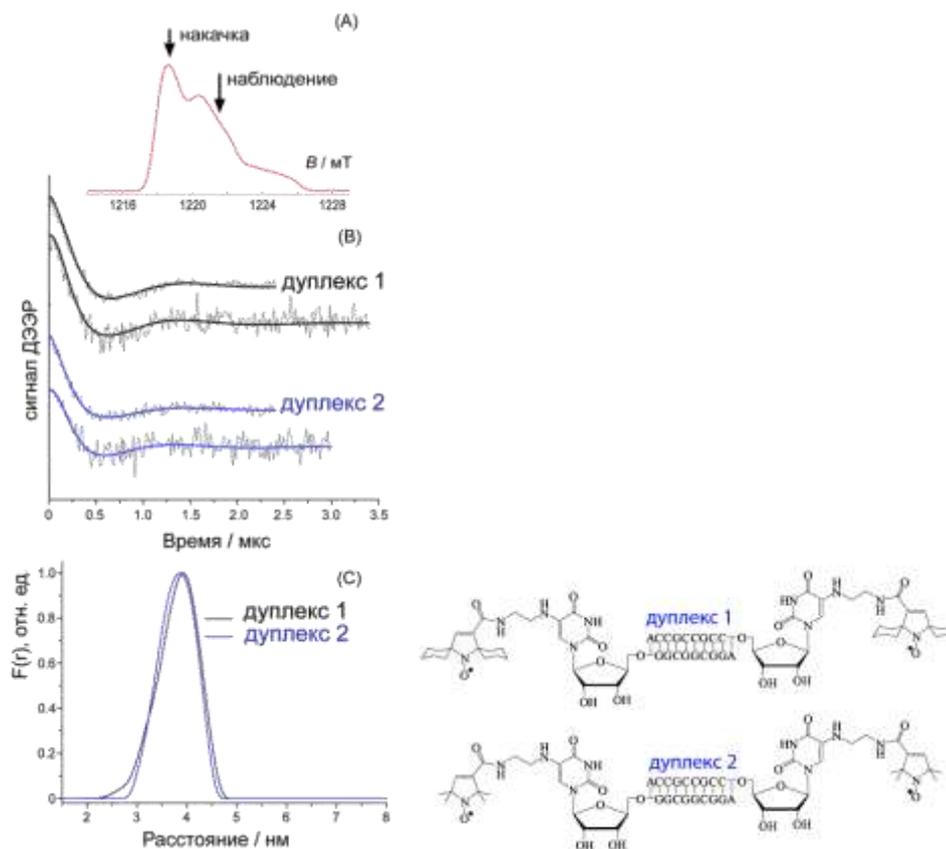


Рис. 1. Структура исследованных спиновых меток и спин-меченого дуплекса РНК

Измерение расстояний в дуплексах, спин-меченных спироциклогексан-замещенным нитроксильным радикалом (дуплекс 1) и его тетраметил-замещенным аналогом (дуплекс 2) в Q-диапазоне методом ДЭЭР. (А) характерный Эхо-детектируемый спектр ЭПР и позиции импульсов накачки и наблюдения. (В) Временные зависимости ДЭЭР после вычитания базовой линии (нормированная интенсивность). Линия без шума - результат моделирования экспериментальной зависимости в программе DeerAnalysis2011. (С) Полученные распределения по расстояниям (нормированные на единицу) для исследуемых дуплексов 1 и 2 РНК.

Методами стационарного и импульсного ЭПР изучена серия тритильных радикалов (рис. 2) (сотрудничество с МТЦ СО РАН и группой металлокомплексного катализа).

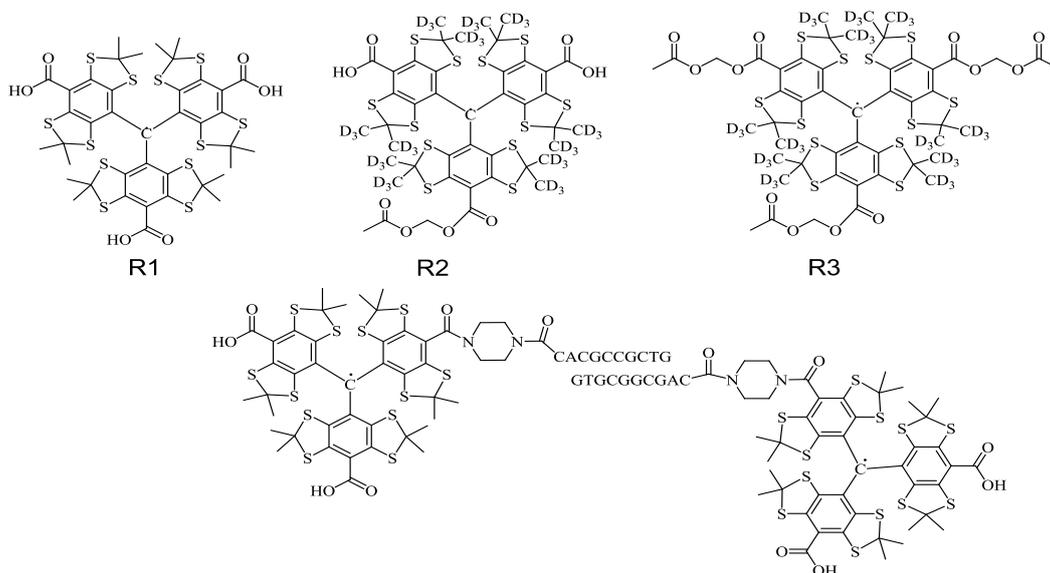


Рис.2. Структура исследованных тритильных радикалов (вверху) и спин-меченого дуплекса ДНК (внизу)

Показано, что структура R1 обладает наиболее оптимальными свойствами для оксиметрии и применения дипольной ЭПР спектроскопии: узкая ширина линии в спектре ЭПР ( $\cong 0.11$  Гс в  $H_2O$ ) и длительное время фазовой релаксации ( $T_2=3.3\pm 0.1$  мкс и  $T_2=6\pm 0.1$  мкс при 80 К и 300 К, соответственно, в растворе  $D_2O$ /глицерин- $d_8$ ). Ковалентное присоединение радикала R1 к олигонуклеотиду через амидную группу (сотрудничество с ИХБиФМ СО РАН) приводит к появлению дополнительной константы СТВ на азоте  $a_N \cong 0.2$  Гс и к уменьшению времени продольной релаксации при  $T=300$  К ( $T_2=1.8$  мкс в растворе  $D_2O$ /глицерин- $d_8$ ). В замороженном растворе при  $T=80$  К появление дополнительной константы СТВ не оказывает влияния на время фазовой релаксации.

Для ДНК дуплекса, спин-меченного с использованием тритильного радикала, методом ДЭЭР было измерено расстояние между спиновыми метками (Рис.3). Использование короткого и жесткого линкера позволяет наблюдать несколько осцилляций во временных зависимостях ДЭЭР, и, как результат, уменьшить ширину функции распределения по расстояниям и точность измерения расстояния между спиновыми метками:  $\sigma_{ДЭЭР} = 4.50$  нм,  $\sigma = 0.17$  нм.

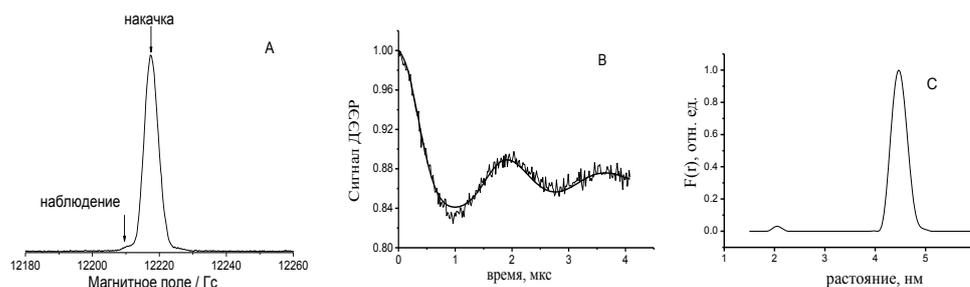


Рис.3. Измерение расстояний в ДНК дуплексе, спин-меченном тритильным радикалом в Q-диапазоне методом ДЭЭР при  $T=80$  К.

(А) Характерный Эхо-детектируемый спектр ЭПР, где показаны позиции импульсов накачки и наблюдения. (В) Временная зависимость ДЭЭР после вычитания базовой линии (нормированная интенсивность). Линия без шума - результат моделирования экспериментальной зависимости в программе DeerAnalysis2011. (С) Полученное распределение по расстояниям.

**Пункт 9.** «Функциональная модификация и электрохимические исследования ряда новых органических соединений, потенциальных электрохимически активных репортерных групп в составе ДНК, способных к обратимому одноэлектронному переносу в  $H_2O$ »

Исследовано электрохимическое восстановление (ЭХВ) и электрохимическое окисление (ЭХО) ряда 2-замещенных тиоксантен-9-онов и некоторых S-оксидных производных в ацетонитриле (MeCN). Установлено, что ЭХВ тиоксантен-9-онов представляет собой одноэлектронный обратимый процесс с образованием соответствующих долгоживущих анион-радикалов, в структуре которых тиоксантеновый цикл плоский в соответствии с данными ЭПР измерений и UB3LYP/6-31+G\* расчетов. ЭХВ сульфоксида 2-метилтиоксантен-9-она и соответствующего сульфона представляют собой ЕЕС и ЕЕ процессы соответственно, их анион-радикалы не являются плоскими. ЭХО исследованных соединений в MeCN необратимо и характеризуется последовательным окислением атома серы, исключая сульфон, окисления которого не наблюдалось при развертке анодного потенциала до +2,5 В относительно н.к.э. Для ЭХО сульфоксида 2-метилтиоксантен-9-она рассмотрены два механизма ЭХО, один из которых представляет собой последовательный необратимый двухэлектронный перенос, другой – диспропорционирование. Прямое численное моделирование циклических вольтамперограмм с учетом гетерофазной кинетики электронного переноса и кинетики гомофазных химических реакций, ответственных за необратимость ЭХО, указывает на предпочтение первого механизма ЭХО по кинетическим причинам.

**Пункт 10.** «Исследование процессов полимеризации, контролируемой нитроксильными радикалами с протонируемыми группами, с целью их применения для направленного синтеза полимеров методом «живой» радикальной полимеризации и синтеза амфифильных блок-сополимеров и сополимеров с полифункциональными заместителями»

Проведены исследования ключевых реакций при «живой» радикальной полимеризации с целью оптимизации свойств получаемых полимеров. Исследована полимеризация стирола, инициированная пероксидом бензоила, в присутствии нитронов различной структуры, содержащих стерически незатрудненные и затрудненные заместители. Измерены константы присоединения мономерных радикалов к нитрону с образованием нитроксильного радикала, содержащего высокомолекулярный заместитель.

Исследована полимеризация стирола и метилметакрилата, инициированная алкоксиамином со стерически затрудненным нитроксильным фрагментом. Показано, что исследуемый алкоксиамин является эффективным медиатором полимеризации как стирола, так и метилметакрилата, что позволило приготовить блок-сополимер состава пММА-б-пСт с использованием одного контролирующего агента.

Методом теории функционала плотности (DFT) было исследовано протекание реакции внутримолекулярного переноса атома водорода при термолитическом разложении алкоксиаминов на основе нитроксильных радикалах имидазолинового, имидазолидинового и пирролидинового рядов (рис.4)

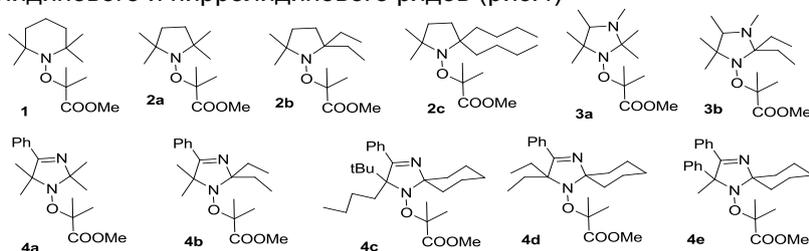


Рис. 4. Структуры исследованных соединений

Было определено, что внутримолекулярный перенос атома водорода протекает в 2 степени, с лимитирующей первой стадией.

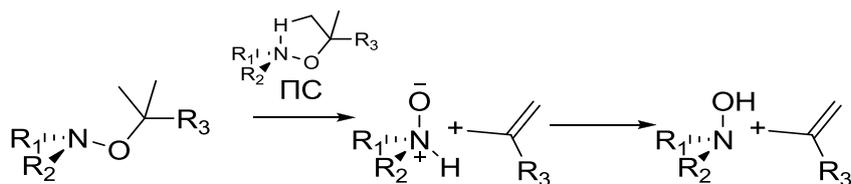


Рис. 5

Рассчитанные величины энергетического барьера реакции переноса атома водорода по внутримолекулярному механизму для исследованных соединений лежат в диапазоне  $145 \pm 5$  кДж/моль. Увеличение размеров заместителей при нитроксильной группе в алкоксиамине приводит к увеличению барьера реакции переноса атома водорода на 2-3 кДж/моль, а также к уменьшению энергии гомолитического разрыва связи C-ON. Это в совокупности приводит к снижению вклада реакции переноса атома водорода при термоллизе алкоксиаминов.

Влияние протонирования на скорость гомолиза алкоксиаминов исследовалось квантово-химическими методами теории функционала плотности (DFT) на примере ряда алкоксиаминов. Показано, что протонирование нитроксильного фрагмента алкоксиамина приводит к дестабилизации образующегося при гомолизе алкоксиамина нитроксильного радикала. Это приводит к увеличению барьера реакции гомолиза алкоксиамина и, как следствие, к уменьшению константы скорости реакции.

**Пункт 11.** «Неэмпирическое исследование потенциальных поверхностей и фрагментации анион-радикалов октафторнафталина и его 2,6-ди-*H* производного в полярных растворителях»

Впервые проведено квантовохимическое исследование потенциальных поверхностей и распада анион-радикалов полифторароматических молекул, включающее анализ региоселективности реакции. Методами ROHF/6-31G\* и V3LYP/6-31+G\* выполнены расчеты анион-радикалов нафталина и его гекса-, гепта- и октафторзамещенных в газовой фазе и с учетом полярного растворителя. Оптимизированы структуры, соответствующие глобальным минимумам ППЭ анион-радикалов, построены сечения ППЭ вдоль координат растяжения связей C-F, найдены переходные состояния отщепления фторид-иона из разных положений. Полученные результаты позволяют объяснить полученные в ЛИНИРП НИОХ СО РАН экспериментальные данные о региоселективности восстановительного дефторирования нейтральных предшественников.

**Пункт 12.** «Экспериментальное и теоретическое исследование спектров ЯМР <sup>19</sup>F- и <sup>13</sup>C-фторзамещенных нафтальных катионов»

Полифторированные 1- и 2-нафтилметильные карбокатионы являются хорошими модельными соединениями для исследования механизмов передачи спин-спинового взаимодействия между атомами фтора через четыре и пять связей. В этих соединениях реализованы различные вариации исследуемых связей, встречаемых в полифторированных π-сопряженных карбокатионах, таких как, например, гептафторбензильный катион, что позволяет устанавливать корреляции между наблюдаемыми константами спин-спинового взаимодействия (КССВ) и структурными особенностями подобных систем.

Проведено квантово-химическое исследование КССВ <sup>19</sup>F-<sup>19</sup>F на уровне теории поляризационного пропагатора второго порядка (SOPPA) с использованием

валентно-расщепленного базиса aug-cc-pVDZ-J, рассчитанные значения сопоставлены с имеющимися экспериментальными данными.

Проведено квантово-химическое исследование химических сдвигов (ХС) на ядрах  $^{19}\text{F}$  и  $^{13}\text{C}$  в полифторированных 1- и 2-нафтилметильных карбокатионах. Обнаружено, что расчетные значения имеют зависимость от учета влияния среды. Показано, что точность расчета ХС значительно выше при исследовании не изолированного катиона, а системы «катион — анион». Причем, было установлено, что из соотношения затрат вычислительных ресурсов к приросту точности оптимальным является расчет ХС карбокатиона в системе с полианионом  $\text{Sb}_2\text{F}_{11}^-$ . Таким образом, полученные расчетные величины ЯМР-параметров полифторированных 1- и 2-нафтилметильных карбокатионов могут быть использованы для теоретического обоснования наблюдаемых экспериментальных значений как КССВ  $^{19}\text{F} - ^{19}\text{F}$ , так и ХС  $^{19}\text{F}$  и  $^{13}\text{C}$ . Найденные закономерности величин ЯМР-параметров в зависимости от структурных особенностей полифторированных 1- и 2-нафтилметильных карбокатионов могут быть распространены на другие полифторированные π-сопряженные карбокатионы.

**Проект V.45.3.10.** «Разработка методов синтеза органических и гибридных соединений для создания новых функциональных наноструктурированных материалов»

**Пункт 3.** «Разработка методов синтеза новых флуорофоров и фотохимически активных соединений для сенсорных, оптоэлектронных и биохимических приложений»

Проанализированы спектры ЯМР  $^{19}\text{F}$  и  $^1\text{H}$  впервые синтезированных полифторированных N-арил-1,4-нафтохинон-4-иминов при различных температурах. Установлено, что 2,3,5,6,7,8-гексафтор-N-арил-1,4-нафтохинон-4-имины существуют в растворах в виде равновесной смеси E- и Z- изомеров. Взаимодействие этих соединений с первичными аминами дает 3-амино-производные, которые, в соответствии со спектрами ЯМР, практически полностью существуют в виде E-изомеров. Тем не менее, образование Z- изомеров в незначительном количестве все же происходит, о чем свидетельствует реакция циклизации этих соединений с образованием 7-алкил(арил) - 1, 2, 3, 4, 6 – пентафтор - 5Н-бензо[а]феназин-5-онов. Наблюдаемые превращения изомеров подтверждены результатами квантово-химических расчетов.

Проанализированы спектры ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $^{19}\text{F}$  и  $^{13}\text{C}$  18 полифторированных индолов, на основании КССВ произведено отнесение сигналов в этих спектрах.

**Проект V.46.5.4.** «Развитие методологии комплексных исследований органических веществ и материалов синтетического, природного и антропогенного происхождения, реакций и процессов, протекающих в живых системах и объектах окружающей среды»

**Пункт 8.** «Аналитическое сопровождение сложных синтезов новых перспективных органических соединений с использованием двумерных и гибридных масс-спектрометрических методов»

Подбор оптимальных условий ВЭЖХ-МС анализа продуктов органического синтеза и адекватная интерпретация всего набора получаемых экспериментальных данных позволил во многих случаях оперативно скорректировать пути синтеза целевых продуктов, подтвердить успешное получение ожидаемых соединений и обнаружить неожиданные продукты реакций. В частности:

был синтезирован с хорошими выходами ряд асимметричных монозамещенных стабильных триарилметильных радикалов через взаимодействие C-, N-, P- и S-нуклеофилов с симметричными три(2,3,5,6-тетратиаарил) метильными катионами.

**Пункт 9.** «Выявление закономерностей МС/МС-фрагментации природных флавоноидов»

По литературным данным и экспериментам, проведенным с использованием 17 стандартных образцов фенилпропаноидов, изучены закономерности фрагментации фенолкарбоновых кислот и флавоноидов; выявлены потери различных молекул и фрагментные ионы, характеристичные для разных групп фенилпропаноидов – флавонов, гликозидов флавонолов и др. Предложен алгоритм идентификации фенолкарбоновых кислот и флавоноидов с применением комплекса спектральных данных и закономерностей фрагментации. Использование этого алгоритма позволило идентифицировать 37 основных компонентов экстрактов листьев березы повислой, верхних частей зверобоя продырявленного, верхних частей пустырника пятилопастного и листьев жимолости синей.

**Пункт 10.** «Исследование возможностей газовой хромато-масс-спектрометрии в химии низкомолекулярных растительных метаболитов и биodeградации нефтей культурами микроорганизмов. Изучение новополученных материалов с заданными функциональными свойствами. Пополнение баз данных, используемых при обработке экспериментальных результатов хромато-масс-спектрометрических исследований»

Совместно с лабораторией терпеновых соединений проводились анализы экстрактов растений, в том числе и с целью установления энантиомерного состава ряда соединений. Также проводились исследования энантиомеров 5-нитро-4-фенилпентан-2-она и его производных.

Совместно с НИУ НГУ изучался процесс биodeградации полиароматических углеводов (ПАУ) на примере фенантрена и антрацена. Показано, что ряд культур микроорганизмов способен последовательно окислять фенантрен и антрацен, через образование гидроксильных производных, затем с разрывом сначала одного ароматического кольца, затем второго. Определение производных происходит методом газовой хромато-масс-спектрометрии. Основным направлением работы в целом является подбор такой культуры микроорганизмов, которая биodeградировала ПАУ с наибольшей эффективностью.

Совместно с Институтом цитологии и генетики СО РАН проводится работа по хромато-масс-спектрометрическому исследованию строения лигнинов в стеблях некоторых видов ржи и пшеницы, а также этих же видов, подвергнутых генетическим изменениям. Исследования заключаются в определении соотношения гидроксифенильных, гваяцильных и сирингильных звеньев в лигнина. Показано, что для ржи соотношение гидроксифенильных, гваяцильных и сирингильных звеньев в лигнинах составило 0,14 : 1,00 : 0,64 для генетически измененной ржи и 0,14 : 1,00 : 0,86 для обычной ржи; для пшеницы 0,21 : 1,00 : 1,17 для обычной пшеницы и 0,17 : 1,00 : 1,29 для мутанта. Другими словами, изменяется соотношение между карбоксильными и карбонильными группами в лигнине, что влияет на толщину клеточных стенок и, как следствие, изменение механических свойств стеблей злаков.

Получено и начато освоение нового оборудования – газового хромато-масс-спектрометра высокого разрешения Agilent 7200 Q-TOF Accurate Mass GC/MS с приставкой для пиролитических анализов Pyroprobe 1500.

На указанном оборудовании совместно с лабораторией физиологически активных веществ была проведена работа по исследованию метаболизма 3-(трифторметил)-5,6,7,8,9-пентагидробензоциклопентен-1-иламина, перспективного лекарственного препарата. При введении в организм подопытных животных вещество претерпевает трансформацию, показанную на схеме. Исследование трансформации проводилось методом МС-МС масс-спектрометрии и позволило, на основании данных масс-спектрометрического распада, определить структуру соединений, образующихся при метаболизме введенного препарата.

Для информационного обеспечения хромато-масс-спектрометрических работ, т.е. для идентификации соединений по масс-спектральным и хроматографическим

характеристикам или для отбора в поисковые ответы спектров структурно-родственных соединений созданы хромато-масс-спектрометрические базы данных с временами выхода соединений из колонки и их структурами:

L001 содержит 1036 спектров ранее описанных соединений с временами их выхода из колонки. В 2013 году введено 18 спектров.

L002 и L0002 содержат 2539 спектров соединений, синтезированных или выделенных в нашем институте соединений, с временами их выхода из колонки. В 2013 году введены в каталог 74 спектра, включая фторсодержащие ароматические и гетероциклические соединения.

AVT содержит 585 спектров природных соединений с временами их выхода из колонки. В 2013 году введен в каталог 21 спектр, в том числе сесквитерпеновых лактонов, пирано- и фуранокумаринов.

Учитывая большое количество в институте лабораторий, изучающих природные соединения, большое количество спектров природных соединений в каталоге Wiley, отсутствие в этом каталоге многих структур для соединений со специфическими названиями, например, retusine, reframine, reframidine, panurensine, norpanursine, domesticine, microcarpine, glaucephine, latifine, kuraramine, isokuraramine, ibophyllidine и т.д. для этого каталога создан дополнительный каталог, содержащий 47772 структуры, что составляет 19,5% от регистрационных номеров CAS в каталоге Wiley. В 2013 году в этот каталог введена 1134 структуры, в основном природных соединений. Это облегчает масс-спектрометристам обработку хромато-масс-спектрограм широкого круга органических соединений и позволяет оказывать существенную помощь химикам-синтетикам при исследовании их смесей.

**Пункт 11.** «Исследование процессов термодеструкции органических веществ и материалов методами масс-спектрометрии»

Совместно с Красноярским государственным педагогическим университетом им. В.П. Астафьева масс-спектрометрически изучено термическое разложение нескольких представителей 1-S,S-диалкил-N-(9,10-антрахинон-1-ил)сульфоксиминов с целью выяснения механизмов гетероциклизации указанных соединений в нафто-[1,2,3-сд]индолб(2H)-оны. Проведенные масс-спектрометрические эксперименты на приборе высокого разрешения позволили охарактеризовать состав газовой и конденсированной фаз и позволили доказать, что гетероциклизация происходит с образованием соответствующих меркаптанов (метилмеркаптана, этилмеркаптана и т.д.).

**Пункт 12.** «Усовершенствование методов анализа структуры лигнина и лигно-углеводного комплекса стеблей диплоидных видов злаков, имеющих полиморфизм по ферментам ароматического обмена. Определение влияния этих ферментов на степень лигнификации растительных тканей и структуру лигнина, определяющих прочность стеблей злаковых культур».

Изучались растения с различиями в подвижности и активности фермента CAD у диплоидных видов злаков: ржи *Secale cereale* L. и пшеницы-однозернянки *Triticum topocossium* L. Были определены физико-механические свойства 3-4 междоузлий стеблей, содержание лигнина, целлюлозы, гемицеллюлоз. Определены параметры клеточной стенки склеренхимы нормальных растений и мутантной формы со стекловидной соломиной (с отличающейся от нормы активностью CAD).

Диаметры стеблей нормальной и мутантной ржи равны 1,8 мм и достоверно не различаются. Толщина клеточной стенки склеренхимы нормальной соломины составила  $4,4 \pm 0,8$  мкм, стекловидной соломины –  $0,76 \pm 0,09$  мкм. Предел упругой деформации  $F_{упр}$  и предел прочности  $F_p$  для соломин ржи нормы составляют 0,56 Н и 0,92 Н соответственно, а для мутантной формы 0,17 Н и 0,29 Н. Содержание лигнина Класона в стеблях сравниваемых растений ржи составило 21,2% для нормы и 30,9% для мутантной формы. Содержание целлюлозы в стекловидной ржи аномально низкое — 18,8%, для нормальной ржи составило 47,9%. В стеблях ржи-нормы лигнин в основном сосредоточен в межклеточном

веществе, первичной и третичной клеточных стенках, в мутантной форме значительная часть лигнина находится во вторичной клеточной стенке. Морфологические особенности внедрения лигнина в полисахаридный каркас клеточной стенки в нормальных и мутантных растениях могут быть связаны с различиями в процессах биосинтеза самого лигнина и целлюлозы.

Соотношение гидроксифенильных, гваяцильных и сирингильных звеньев в лигнинах составило 0,14 : 1,00 : 0,64 для мутантной ржи и 0,14 : 1,00 : 0,86 для ржи нормы. Анализ спектров ПМР и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР показал следующие различия в структуре их диоксанлигнинов (ДЛ). Общая ароматичность ( $f_a$ , %, доля атомов углерода, входящих в ароматические фрагменты макромолекулы) для ДЛ мутантной ржи составляет ~50%, у нормальной ~23%. Свой вклад в уменьшение общей ароматичности ДЛ ржи нормы вносит высокое содержание связанных углеводов – 36% (в мутантной ~3,4%) в пересчете на ксиланы, что говорит о более прочных и многочисленных лигноуглеводных связях в соломе ржи-нормы. В макромолекуле ДЛ нормальной ржи высокое содержание карбонильных, карбоксильных и сложноэфирных групп, (примерно в 10 раз выше, чем в ДЛ у мутантной ржи). Нормальные растения содержат больше альдегид-содержащих фрагментов в структуре лигнина. Атом углерода в  $\gamma$ -положении к ароматическому кольцу в ДЛ мутантной формы ржи не окислен, т.е. находится преимущественно в форме  $\text{CH}$ -,  $\text{CH}_2$ -групп. Меньшее количество фрагментов  $\text{C}\alpha, \beta$ -ОН,  $\text{C}\alpha, \beta$  при  $\alpha$ -O-4-,  $\beta$ -O-4-связывании,  $\text{C}\beta$  в  $\beta$ - $\beta$ - и в  $\beta$ -5-связывании в ДЛ мутантной формы говорит о том, что в этом лигнине углеродные атомы в  $\alpha$ - и  $\beta$ -положениях к ароматическому кольцу находятся в составе кето-групп или  $\text{CH}_2$ -групп.

Различия в свойствах нормальной и мутантной форм диплоидной пшеницы не так ярко выражены. Содержание лигнина Класона и целлюлозы Кюршнера-Хоффера составили 18,5% и 45,1% для соломы пшеницы нормы и 19,3% и 46,7% для соломы пшеницы с отличающейся от нормы активностью САД. Средняя толщина стенок клеток склеренхимы пшеницы-нормы 1,6 мкм, пшеницы-мутанта 1,0 мкм. Распределение лигнина в клеточной стенке близко — основная масса сосредоточена в срединной пластинке и третичной клеточной стенке, сравнимое количество лигнина находится во вторичной клеточной стенке (согласно пробе Визнера).

Соотношение гидроксифенильных, гваяцильных и сирингильных звеньев в лигнине — 0,21 : 1,00 : 1,17 для нормы и 0,17 : 1,00 : 1,29 для мутанта. ИК-спектры препаратов купроксамлигнина, выделенного из стеблей пшениц, близки между собой - основное отличие вызвано различным содержанием метоксильных групп.

Таким образом, изменение активности дегидрогеназы коричневого спирта оказывает влияние на строение лигнина — в первую очередь на содержание карбонильных и карбоксильных групп, которые в свою очередь обеспечивают связывание лигнина и углеводов в лигно-углеводном комплексе. Существенное влияние оказывается на толщину клеточной стенки и распределение в ней лигнина. Все это в сумме с повышенным содержанием лигнина в клеточной стенке приводит к ухудшению механических свойств стеблей растений.

**Пункт 13.** «Исследование структуры и свойств полимерных и композиционных материалов термическими методами анализа»

СВМПЭ – полиэтилен с молекулярной массой более  $1.5 \cdot 10^6$  г/моль и уникальными физико-механическими свойствами для разнообразных областей применения, в том числе в экстремальных условиях, где обычные марки полиэтилена низкого давления (ПЭНД) и многих других полимеров не выдерживают жестких условий эксплуатации. СВМПЭ, как и все полиолефины, является горючим соединением, поэтому одной из важных задач является снижение его горючести. Одним из известных методов повышения термической стойкости и снижения горючести полимеров является добавление антипиренов в их состав. Однако работ по снижению горючести СВМПЭ и механизмам действия антипиренов в составе

СВМПЭ в литературе нет. В качестве антипирена был выбран трифенилфосфат (ТФФ,  $(C_6H_5)_3PO_4$ ).

Одной из стадий процесса горения полимеров является их термическое разложение. Поэтому для определения механизма действия антипиренов были исследованы кинетика и механизм термического разложения СВМПЭ без добавок и с добавками ТФФ при разных темпах нагрева. Было показано, что молекулярный вес СВМПЭ не влияет на термическое разложение полиэтилена. Найдены скорости и константы скорости термического разложения СВМПЭ без добавки и с добавкой ТФФ. Установлено, что скорость и константы скорости разложения СВМПЭ без добавки и с добавкой ТФФ изменяются при переходе от низких к высоким скоростям нагрева, близким к условиям в волне горения полимера. Поэтому для моделирования процессов горения полимеров необходимо использовать кинетические параметры, полученные в условиях высоких скоростей нагрева.

В таблице 1 представлены кинетические параметры термического разложения СВМПЭ и СВМПЭ+ТФФ при медленном темпе нагрева (0.17 К/с), полученные путем обработки термогравиметрических кривых.  $E_a$  и  $k_0$  для СВМПЭ с добавкой 10%ТФФ и без неё имеют близкие значения, т.е. добавление 10% ТФФ не повлияло на кинетику распада СВМПЭ в условиях низкого темпа нагрева. Было установлено, что при низких скоростях нагрева ТФФ полностью выходит в газовую фазу до начала разложения СВМПЭ (рис.6). Полученное значение  $E_a$  при низком темпе нагрева СВМПЭ близко к литературным данным для других типов полиэтилена (ПЭНД, ПЭВД).

Таблица 1. Кинетические параметры реакции термического разложения СВМПЭ и СВМПЭ+10%ТФФ при различных темпах нагрева

	Порядок реакции разложения, n	Скорость нагрева dT/dt, К/с	lg(k <sub>0</sub> ), 1/с	E <sub>a</sub> , кДж/моль
СВМПЭ <sup>1</sup>	1	0.17	13.2±0.2	223±5
СВМПЭ/ТФФ (90/10) <sup>1</sup>	1	0.17	12.5±0.3	213±5
СВМПЭ <sup>2</sup>	2	150	16.8±0.2	249±5
СВМПЭ/ТФФ <sup>2</sup> (90/10)	2	150	20.5±0.3	340±5

<sup>1</sup> – ТГА, <sup>2</sup> – ДМСТА

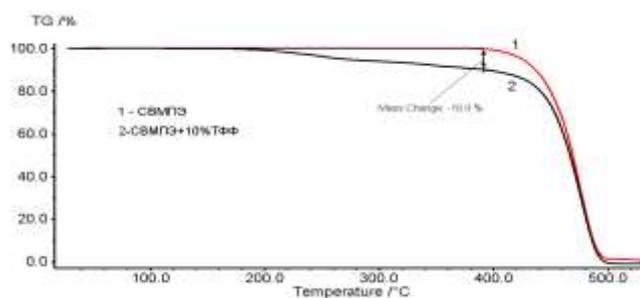


Рис.6. ТГА диаграммы при темпе нагрева 10 К/мин (0.17 К/с)

При высоком темпе нагрева смеси были получены различные значения константы скорости для СВМПЭ и СВМПЭ/ТФФ (Таблица 1, строки 3 и 4), что в отличие от низкого темпа нагрева свидетельствует о влиянии ТФФ на процесс термического разложения СВМПЭ. Различие в значениях константы скорости при существенно

отличающихся темпах нагрева свидетельствует об изменении процесса термического разложения СВМПЭ.

Добавление ТФФ увеличило энергию активации реакции термического разложения на ~90 кДж/моль, а также уменьшило в 15÷30 раз значение константы скорости термического разложения СВМПЭ. Установлено, что при увеличении темпа нагрева ТФФ может действовать и газовой и конденсированных фазах (рис.7) .

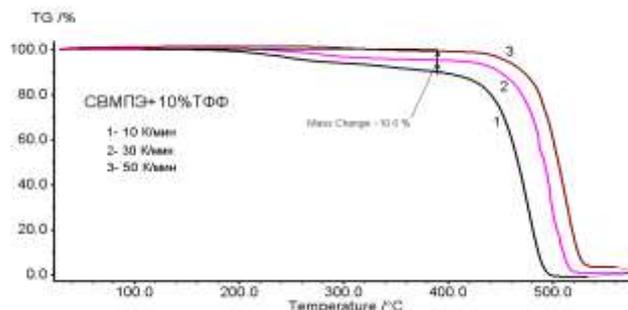


Рис.7. ТГА диаграммы при разных темпах нагрева.

Таким образом, при высоком темпе нагрева (условия горения) ТФФ работает как антипирен в газовой и конденсированной фазах, понижает скорость разложения СВМПЭ и уменьшает горючесть полимера.

**Пункт 14.** «Развитие методов и подходов анализа молекулярной структуры и супрамолекулярной архитектуры кристаллов органических соединений веществ - перспективных материалов, биологически активных и диагностических веществ на основании метода рентгеноструктурного анализа»

Работа базировалась на экспериментальном изучении методом РСА молекулярно-кристаллических структур: нового иминофосфорана  $\text{Ph}_3\text{P}=\text{N}-\text{Het}$ , где Het - фторированный 1,2,3-бензодитиазил-2-ил, солей 1,2,3-бензодитиазолия, 2,1,3-бензотиаселеназолия и 1,2,3-бензодиселеназолия (катионы Херца), 2-(1-нафтил)-2-нитро-5-оксопентаннитрила, 3,3-диметил-5-[(E)-2(1-нафтил)винил]-3,4-дигидро-2Н-пиррол 1-оксида и 3-[(E)-2-(3,3-диметил-1-оксидо-3,4-дигидро-2Н-пиррол-5-ил)винил]-1-метил-2-фенил-1Н-индола, новых производных гексагидродибензо[*b,d*]фурана, а также этил-(4'-гидрокси-3-метокси-[1,1'-бифенил]-2-ил)-карбоната. В ряде случаев эти исследования были дополнены квантовохимическими расчетами, анализом литературных данных родственных соединений. Проводился анализ пространственного строения соединений, супрамолекулярной архитектуры кристалла, геометрии межмолекулярных взаимодействий.

**Проект V.48.1.4.** «Разработка методов направленной трансформации растительных метаболитов с целью создания соединений-лидеров в наиболее социально значимых терапевтических областях. Создание научных основ развития сырьевой базы растительных метаболитов»

**Пункт 1.** «Синтез иминов и дииминов на основе камфоры»

Установлено строение ряда симметричных и несимметричных производных камфоры, содержащих четвертичные атомы азота в своей структуре. В виду недостаточной растворимости части соединений в  $\text{CDCl}_3$ , спектры регистрировались в  $\text{CD}_3\text{OD}$ , при этом наблюдали замещение протона на дейтерий во 2-ом экзо положении борнанового остова и уширение сигналов в спектрах ЯМР. Для сужения сигналов использовали добавку эквимольного количества  $\text{NEt}_3$  в образцы, что позволило однозначно доказать строение производных.

**Пункт 2.** «Получение производных усниновой кислоты, содержащих фармакофорные группы в кольце А»

Изучено строение ряда производных природных соединений усниновой кислоты.

**Пункт 3.** «Синтез производных каркасных соединений (на примере адамантана) с монотерпеноидами»

Методом ЯМР установлено строение соединений с диоксиновым и хроменовым остовами, полученных в качестве основных при взаимодействии эпоксида вербенола и диола пара-ментанового ряда с ароматическими альдегидами, содержащими атомы галогенов или окси- и метокси-группы в различных положениях кольца; для некоторых соединений выявлена высокая анальгетическая активность. Установлено строение большого набора новых производных диола пара-ментанового ряда по метильной группе в положении 9, в том числе перспективного ремантадинового производного, а также впервые синтезированных азотсодержащих соединений, сочетающих адамантановый и монотерпеновый остовы, для изучения противопаркинсонической и противовирусной активности. Во всех случаях надежно установлено стереохимическое строение соединений.

### **Проект ОХНМ 5.1.2.**

«Квантово-химическое исследование возможности существования анион-радикалов димеров полифторароматических молекул»

В результате квантово-химического (ДФТ) исследования показана возможность образования анион-радикальных димеров октафторнафталина и декафторбифенила, имеющих сэндвичевую структуру и существующих за счет взаимодействия пи-систем, в отличие от AP димера 4-амино-нонафторбифенилов (структура «голова-хвост»), фрагменты которого связаны водородными связями N-H...F. Рассчитанные на уровне UB3LYP/6-31+G\*\*/PBE/3z константы СТВ AP димера 4-амино-нонафторбифенила, 28 (4F<sub>o</sub>), 44 (4F<sub>m</sub>) и 76 (2F<sub>p</sub>) Гс, удовлетворительно согласуются с экспериментальными 21 (4F), 39 (4F) и 95 (2F).

**Грант РФФИ № 13-03-000427а** «Квантово-химическое исследование структурно нежестких органических систем. Анион-радикалы полициклических ароматических молекул и их перфторированных аналогов»

На Хартри-Фоковском (ХФ) уровне расчетов рассмотрена принципиальная возможность пересечения термов пи-электронных состояний в анион-радикалах низкосимметричных полициклических ненасыщенных молекул с конденсированными кольцами. В качестве объектов исследования использовали анион-радикалы нафталина, антрацена, фенантрена, пирена и пирена, а также перфторированных аналогов молекул этого ряда с двумя и тремя кольцами. Обнаруженное для анион-радикалов перфторнафталина, фенантрена и пирена пересечение пи-термов указывает на структурную нежесткость этих анион-радикалов по отношению к псевдображению.

Для AP перфторнафталина в рамках ХФ и ДФТ расчетов выполнено детальное исследование адиабатической ППЭ показано, что ее сложное многоямное строение есть результат сочетания обхода пересечения термов пи-состояний и внеплоскостных отклонений атомов F, имеющих псевдо-ян-теллеровскую природу. Обнаружено, что для AP 2-хлор-пиримидина в полярном растворителе существуют два канала распада с отщеплением Cl(-), различающиеся способом обхода пи-сигма-пересечения.

**Грант РФФИ № 12-04-01435** «Разработка и применение новых спиновых зондов для ЭПР томографии *in vivo* и ЭПР спектроскопии спин-меченных белков»

Синтезирован и исследован ряд новых функциональных спиновых зондов на основе нитроксильных и тритильных радикалов с улучшенными функциональными свойствами. Изучены релаксационные свойства (времена релаксации T1 и T2 при

различных температурах в органических и водно-глицериновых растворах) тритильных радикалов с различными заместителями и показана перспективность их применения в качестве спиновых меток для изучения структуры и функций белков. Проводилась отработка методология введения в рибосомные белки и РНК-транскрипты спиновых меток двух типов (традиционная спиновая метка MTSL и вновь синтезированная спиновая метка на основе нитроксильного радикала пирролидинового типа со (спиро)циклическими фрагментами в алфа положениях). Проведены эксперименты по измерению расстояния в модельных биологических системах методом импульсной ЭПР спектроскопии PELDOR. Были исследованы свойства новых CF<sub>3</sub>-замещенных 2-имидазолиновых нитроксильных радикалов и соответствующих гидроксилминов. Проведены исследования ЭПР томографии на мышцах с использованием новых нитронил-нитроксильных радикалов, исследована их фармакокинетика, локализация в теле животных при воздействии нитроглицерина и LPS.

Отработана методика введения спиновой метки на основе синтезированных авторами проекта pH-чувствительных нитроксильных радикалов во внешнюю поверхность липосом. Обнаружено, что в присутствии липосом понижение pH раствора приводит к ограничению подвижности спиновой метки и, как следствие, к изменению формы спектра ЭПР. Ограничение мобильности для протонированной формы спин-меченного фосфолипида предположительно связано с наличием кулоновское взаимодействие между положительно заряженным протонированным азотом (-NH<sup>+</sup>) нитроксильного радикала и отрицательно заряженными фосфатными группами липидов. Проведено сравнение в сетчатке крыс OXYS и Вистар (контроль) транскрипционной активности генов NOSs: нейрональной (nNOS), индуцибельной (iNOS) и эндотелиальной (eNOS) методом ПЦР в реальном времени. Показано, что и у крыс Вистар, и у крыс OXYS уровень мРНК всех NOSs от возраста не зависел.

**Грант РФФИ 13-06-12026 офи\_м «Древние технологии на Шелковом пути» (по итогам междисциплинарных исследований материалов I в. до н. э. - I в. н. э. из погребальных комплексов хунну)»**

Проведен анализ красителей и волокон для ряда образцов текстильных изделий из 22-го и 31-го курганов. Анализ красителей проводился по отработанной методике. Тип волокна определяли двумя методами ИК-спектроскопией и микроскопически. Метод ИК-спектроскопии использовался для определения животного и растительно происхождения волокна, т.е. белковой и целлюлозной природы макромолекул. Спектры регистрировались на приборе Tensor 27 (Bruker) в режиме пропускания виде запрессовок в бромиде калия (1 мг образца в 150 мг бромида калия) и для некоторых образцов в режиме однократного НРВО на кристалле селенида цинка. Для определения типа волокон животного происхождения (шерсти и шелка) и целлюлозных волокон (хлопка, льна) образцы рассматривались под электронным микроскопом TM-1000 (Hitachi). Для каждого образца измерялись диаметры нескольких волокон, изучалось их морфологическое строение. В качестве образцов сравнения использовались образцы волокон шелка, хлопка, льна, шерсти меринуса и кашемира.

Определены следующие красители природного происхождения — индигодин, ализарин, пурпурин, лаккаиновые кислоты, кermесовая кислота, карминовая кислота. Образцы изготовлены из шерсти (овечьей, козьей, верблюжьей) и шелка.

#### **Интеграционный проект СО РАН №97**

«Исследование физико-химических механизмов управления механическими, термопроводящими и электроизоляционными свойствами композитных полимерных материалов с нанодобавками»

Исследованы термические и механические свойства 133 различных образцов композитных материалов. Определены значения динамических модулей упругости E' в режиме трехточечного изгиба методом ДМА (при комнатной температуре). Получены температурные зависимости модуля упругости, модуля потерь, тангенса

угла механических потерь в режиме трехточечного изгиба при частоте 1 Гц (метод ДМА) в диапазоне температур 20-250<sup>0</sup>С. Изучена кинетика отверждения по изменению модуля упругости и тангенса угла механических потерь. Исследованы процессы отверждения эпоксидных компаундов методом ДСК, а также определены температуры стеклования методом ДСК. Исследована устойчивость к термическому разложению эпоксидных компаундов в окислительной атмосфере.

#### **Интеграционный проект СО РАН №60**

«Многоядерная магнитно-резонансная спектроскопия и томография - основа комплексного подхода к разработке»

Разработана и получена мультифункциональная конструкция для тераностики, представляющая конъюгат противоопухолевого антиметаболита пиримидинового нуклеотидполифосфата (5-трифторметил-2'-деоксиуридин-5'-трифосфат) с полиэтиленимином, несущим остатки витамина Н. Разработаны подходы к декорированию молекул-транспортеров поликатионного типа остатками «маскирующих агентов» (полиэтиленгликоли, отличающиеся по размеру), снабженных адресными группировками (остатки биотина, фолиевой кислоты, тамоксифена). (ИХБФМ СО РАН и НИОХ СО РАН).

#### **Интеграционный проект СО РАН №3**

«Разработка научных основ энергосберегающей технологии получения гуматов и ценных химических продуктов из бурых углей для восстановления плодородного слоя земель в борьбе против опустынивания в Монголии и в качестве стимуляторов роста сельскохозяйственных культур»

Совместно с Кемеровским Институтом углехимии и химического материаловедения СО РАН проводилась работа по проекту «Разработка научных основ энергосберегающей технологии получения гуматов и ценных химических продуктов из бурых углей для восстановления плодородного слоя земель в борьбе против опустынивания в Монголии и в качестве стимуляторов роста сельскохозяйственных культур». Был подготовлен отчет для Второй отчетной конференции по результатам совместных научных проектов СО РАН с Академией наук Монголии и Министерством образования, культуры и науки Монголии (первый цикл проектов 2011 – 2013 гг.). Основные результаты работы за период: исходные угли и полученные из них гуматы обладают различным структурно-групповым составом. Естественно-окисленная форма угля и полученные из нее гуматы имеют более ароматический характер и большее содержание фенольных гидроксиллов. Проведено сравнительное испытание препаратов на основе гуминовых кислот и изучено влияние их на всхожесть, накопление вегетативной массы, прирост массы зерен и урожайность ряда сельскохозяйственных культур. Урожайность овса повышается на 35-40%, пшеницы – на 20-25%. Были выявлены наиболее эффективные препараты, которые способствуют улучшению калийного питания растений.

#### **Программа V 44. Фундаментальные основы химии. Инициативный проект**

«Пирамидальное искажение группы по2 в анион-радикале 2,4,6-триметоксинитробензола»

На примере анион-радикала 2,4,6-триметоксинитробензола, в спектре ЭПР которого наблюдались сверхтонкие расщепления от ядер <sup>15</sup>N нитрогруппы и <sup>13</sup>С бензольного кольца при природном содержании изотопов (рис.8.) подтверждена ранее предложенная нами концепция о пирамидальном строении нитрогруппы в анион-радикалах ряда нитробензола при некомпланарном расположении нитрогруппы и бензольного кольца в равновесной конформации.

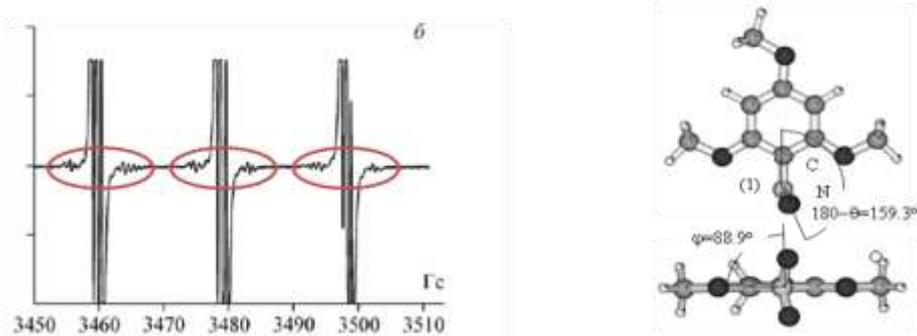


Рис. 8. Спектр ЭПР 2,4,6-триметоксинитробензола при большом усилении (а) и результаты UB3LYP/6-31+G\* расчетов его равновесной конформации (б)

**Программа V 44. Фундаментальные основы химии. Инициативный проект.**  
 «Определение термодинамических и кинетических параметров азидо-тетразольной таутомерии в ряду 2-азидопиримидина методом ЯМР»

Азидо-тетразольная таутомерия 2-азидопиримидинов представляет собой медленный процесс в шкале времени ЯМР вплоть до температур порядка 100°C, так что определение констант скоростей по уширениям сигналов в рамках метода DNMR было практически невозможно. Напротив, интегрирование обменных сигналов в двумерных спектрах NOESY оказалось эффективным методом при изучении механизма этого процесса и позволило получить его кинетические параметры. Установлено, что введение фенильных заместителей приводит к ускорению таутомерии.

Определены в широком температурном диапазоне константы азидо-тетразольного равновесия для 4,6-производных-2-азидопиримидинов. Получены термодинамические характеристики таутомерии в ряду изученных соединений. Показано, что энтальпия процесса перехода тетразола в азид уменьшается при введении фенильных заместителей в 4 и 6 положения. Процесс таутомерии характеризуется высоким энтропийным фактором, что объясняет сильную зависимость констант равновесия от температуры. При циклизации в сторону фенильного заместителя энтропийный фактор превышает энтальпийный, что приводит к преобладанию азида, хотя процесс перехода тетразол-азид эндотермический.

**Федеральная Целевая Программа 1.2.1 Проект № 8456**

«Проведение научных исследований научными группами под руководством докторов наук» 2009-2013 годы. «Физико-химические исследования функциональных свойств новых нитроксильных радикалов и высокотехнологичных материалов на их основе»

Синтезированы новые растворимые в воде и низкотоксичные нитронил-нитроксильные (ННР) и иминонитроксильные (ИНР) радикалы и измерены скорости их восстановления в модельных условиях. Обнаружено, что экспрессия оксида азота *in vivo* приводит к увеличению скорости восстановления ННР, однако при этом не удается зарегистрировать ИНР — продуктов реакции ННР с NO. Исследованы особенности новых дейтерированных триарил-метильных радикалов (ТАМ). Показано, что в нейтральной и щелочной средах происходит агрегация ТАМ с морфолиновой группой, сопровождающаяся уширением спектральных линий, а ТАМ с ацетоксиметоксильными группами могут гидролизироваться в водной среде и метаноле, что делает этот радикал непригодными для измерений *in vivo*. Синтезированы нитроксильные спиновые зонды (СЗ) — производные карбоновых и дикарбоновых кислот пирролинового и пирролидинового рядов, обогащённых изотопами <sup>2</sup>H и <sup>15</sup>N. С помощью ЭПР-томографа на подопытных мышах показано,

что эти нитроксильные радикалы (НР) обладают достаточно большим временем жизни *in vivo* и достаточно узкими линиями, чтобы использовать их для оксиметрии. Исследованы реакции НР пиперидинового, имидазолидинового и пирролидинового рядов с в различной степени затруднённой нитроксильной группой с супероксидным и гидроксильным радикалами в присутствии и в отсутствии биогенных антиоксидантов. Установлено, что в отсутствие антиоксидантов скорости гибели различных радикалов различаются мало, а при их добавлении интенсивность сигнала НР пиперидинового ряда падает гораздо быстрее других НР. НР имидазолидинового ряда обладают в разы большей реакционной способностью по отношению к гидроксильному радикалу по сравнению с другими НР, но в присутствии антиоксидантов различия сглаживаются. Исследовано влияние карбоксилатных фрагментов на рК нитроксильных рН-чувствительных СЗ. Установлено, что если спейсер позволяет прямое взаимодействие карбоксилатной функции и протонирующегося фрагмента, рК СЗ может существенно повышаться. Разработаны методы синтеза нитроксильных радикалов ряда 7-азадиспиро[5.1.5.2]пентадекана и 7-азадиспиро[5.1.5.2]пентадецена-14, в том числе тиол-специфичной спиновой метки для адресного введения нитроксильной метки в белковые молекулы. Полученные температурные зависимости параметров электронной спиновой релаксации показывают, что такие нитроксильные радикалы пригодны для определения межспиновых расстояний методом ПЭЛДОР при температурах 80–120 К.

Показано, что протонирование функциональных групп в нитроксильной части алкоксиаминов приводит к уменьшению константы скорости гомолиза связи С-О, а протонирование алкильного фрагмента – к увеличению. Данный эффект был успешно использован для достижения контролируемого режима полимеризации гидрофильных и липофильных мономеров. Методом ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{31}\text{P}$  были исследованы механизмы термолиза четырех алкоксиаминов на основе нитроксильного радикала N-(2-метил пропил)-N-(1-диэтилфосфоно-2,2-диметил пропил)-N-оксил (SG1) - (SG1-C(Me) $_2$ C(O)-OR, R = Me, tBu, Et, H). Показано, что при термолизе производных с R=Alk в анаэробных условиях происходит перенос атома водорода, причём повышение кислотности реакционной смеси существенно подавляет перенос атома водорода, а при термолизе алкоксиамина R=H перенос атома водорода нет. В присутствии кислорода основным продуктом термолиза является продукт реакции с кислородом.

Установлено, что протонирование алкоксиамина SG1-CH(Me)(4-Py) по пиридиньному фрагменту (р К а = 4.7) приводит к 64-кратному увеличению константы скорости термолиза  $k_d$ . Синтезирован ряд алкоксиаминов на основе имидазолиновых радикалов, имеющих протонируемые функциональные группы, однако скорости их гомолиза слишком малы для их использования при температурах 37°C и физиологических рН.

Синтезирована серия нитроксильных радикалов имидазолинового ряда с двумя различными мезогенными заместителями в положениях 2 и 4. Исследование полученных образцов методом дифференциальной сканирующей калориметрии показали наличие множественных фазовых переходов в диапазоне 30-120°C, причём наблюдаемые изменения полностью обратимы и происходят без потери массы. Полученные данные указывают, что эти образцы могут переходить в жидкокристаллические состояния.

Впервые проведены исследования фотоиндуцированной спиновой динамики в молекулярных магнетиках  $\text{Cu}(\text{hfac})_2\text{L}^{\text{R}}$  на наносекундной временной шкале. С этой целью использовался высокочастотный ЭПР с временным разрешением (ВР ЭПР) W-диапазона (94 ГГц), позволяющий также достичь высокого спектрального разрешения. Проведен детальный анализ кинетики возбужденного спинового состояния  $\text{Cu}(\text{hfac})_2\text{L}^{\text{R}}$  и показано, что фотоиндуцированное состояние формируется на временах, меньших 100 нс.

## Лаборатория экологических исследований и хроматографического анализа

Заведующий лабораторией - к.х.н. С.В. Морозов

**Проект V.44.5.8.** «Создание новых эффективных методов синтеза соединений с заданными функциональными свойствами на основе ароматических и гетероциклических соединений, включая полифторированные производные»

**Пункт 18.** «Разработка методов получения различных конъюгатов биологически активных природных соединений»

### Синтез спин-меченых производных природного флавоноида дигидрокверцетина

С целью получения новых гибридных полифункциональных фармакологически активных веществ был синтезирован ряд производных дигидрокверцетина (ДКВ) – природного флавоноида, выделяемого из древесины лиственницы сибирской *Larix Sibirica* (рис.1).

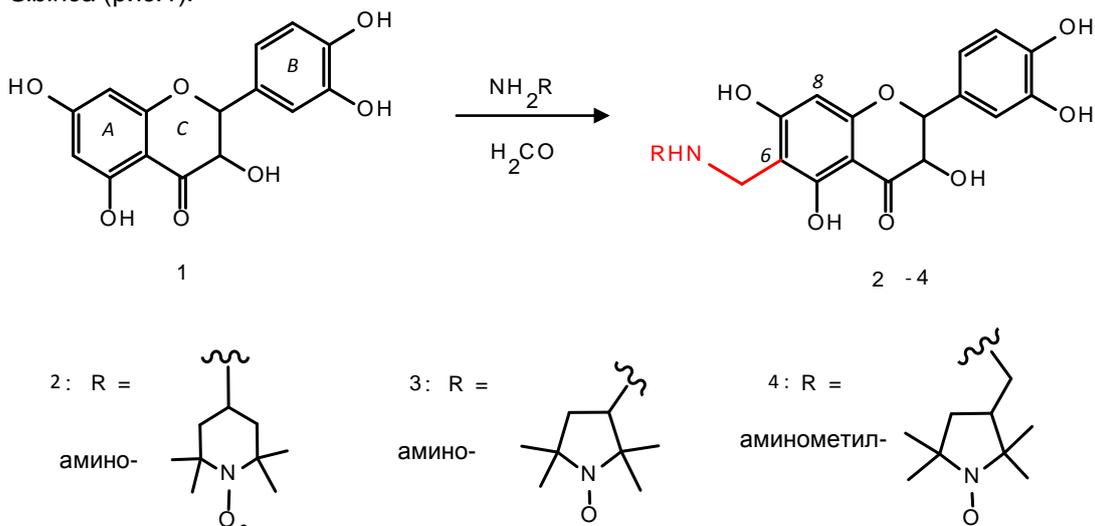


Рис. 1. Схема синтеза спин-меченых производных дигидрокверцетина

Соединения 2-4 были восстановлены до соответствующих производных гидросиламина **2a-4a** (рис. 2)

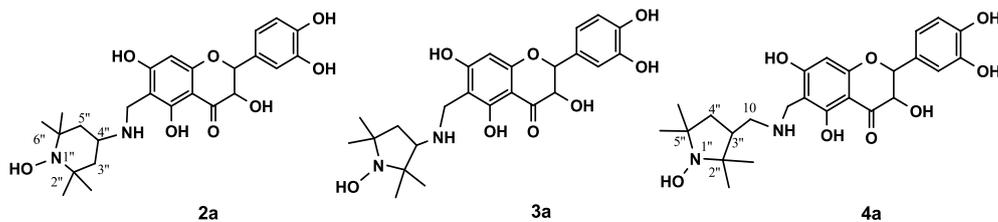


Рис.2. Структуры гидросиламинов спин-меченых производных дигидрокверцетина

Предварительные исследования показали, что синтезированные соединения **2-4** проявляют более высокую антиоксидантную активность по сравнению с исходным дигидрокверцетином, обладают избирательной цитотоксичностью по отношению к различным опухолевым клеткам, сохраняют спиновую метку в организме подопытного животного при пероральном введении более двух часов и являются нетоксичными для него.

Были получены спин-меченые соединения **5-7** (рис. 3) и соответствующие продукты их восстановления **5a-7a** (рис. 4):

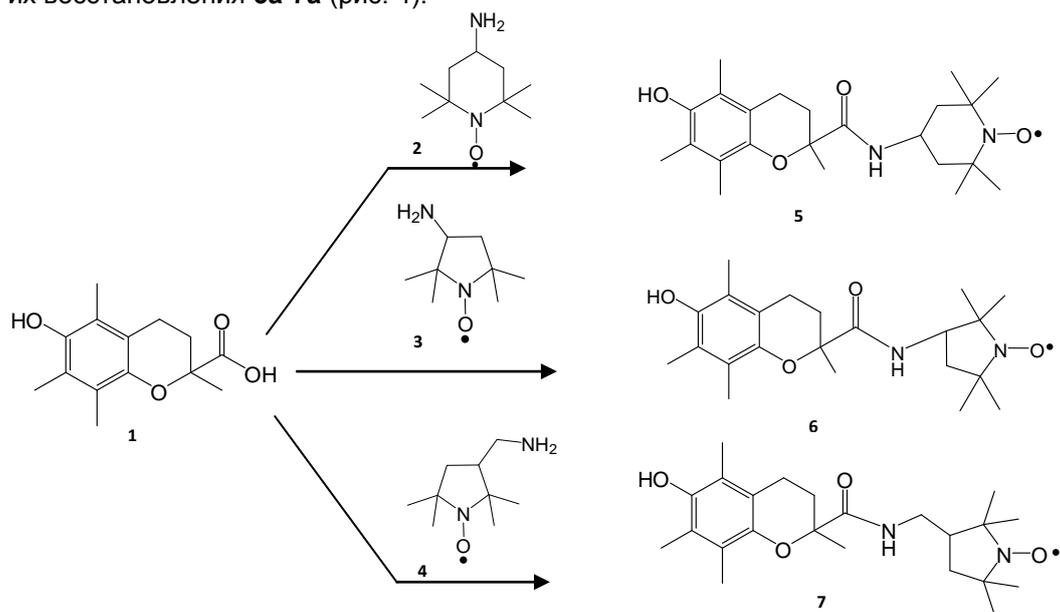


Рис. 3. Схема синтеза спин-меченых производных тролокса

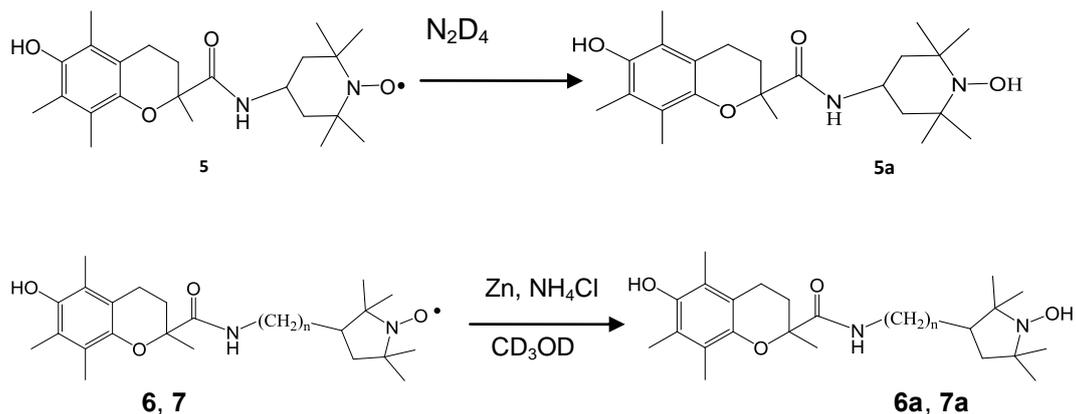


Рис. 4. Схемы синтеза гидросиламинов спин-меченых производных тролокса

Предварительные исследования методом ЭПР-томографии показали, что спин-меченое соединение **6** при внутривенном введении лабораторному животному (мышь) сохраняет спиновую метку достаточно долго, локализуется в желудке и не приводит к гибели животного.

Синтезированные спин-меченые производные тролокса **5-7** являются перспективными конъюгатами для создания новых полифункциональных средств лечения социально-значимых заболеваний и диагностики методами ЭПР и МРТ.

**Пункт 19.** «Обобщение данных по использованию целлюлозы в современных химических технологиях»

Обобщены литературные данные по химической и физической модификации целлюлозы с целью создания широкого спектра новых инновационных материалов

для высокотехнологичных и приоритетных направлений развития науки и техники. Отражены результаты исследований по химической модификации целлюлозы путем нуклеофильного замещения, региоселективного введения функциональных групп, привитой сополимеризации, окисления, получения эфиров. Отмечена важность исследований по поиску новых растворителей для целлюлозы с целью расширения возможностей ее модификации и переработки, а также исследований по созданию материалов на основе наноцеллюлозы. На основе анализа литературных данных показаны возможности создания новых функциональных материалов для биомедицинских исследований, медицины и электроники.

**Проект V.46.5.4.** «Развитие методологии комплексных исследований органических веществ и материалов синтетического, природного и антропогенного происхождения, реакций и процессов, протекающих в живых системах и объектах окружающей среды»

**Пункт 1.** «Исследование процессов хемодинамики стойких органических загрязнителей в водных экосистемах Байкальской природной территории»

Река Селенга является самым крупным притоком озера Байкал. Для оценки состояния загрязнения бассейна реки Селенги стойкими органическими загрязнителями, установления источников поступления, изучения механизмов хемодинамики нами выделено для исследования три основные зоны бассейна реки Селенги (рис. 5). I зона - бассейн реки Селенги на территории Монголии, II зона - бассейн реки Селенги на территории России; III зона – дельта реки Селенги.

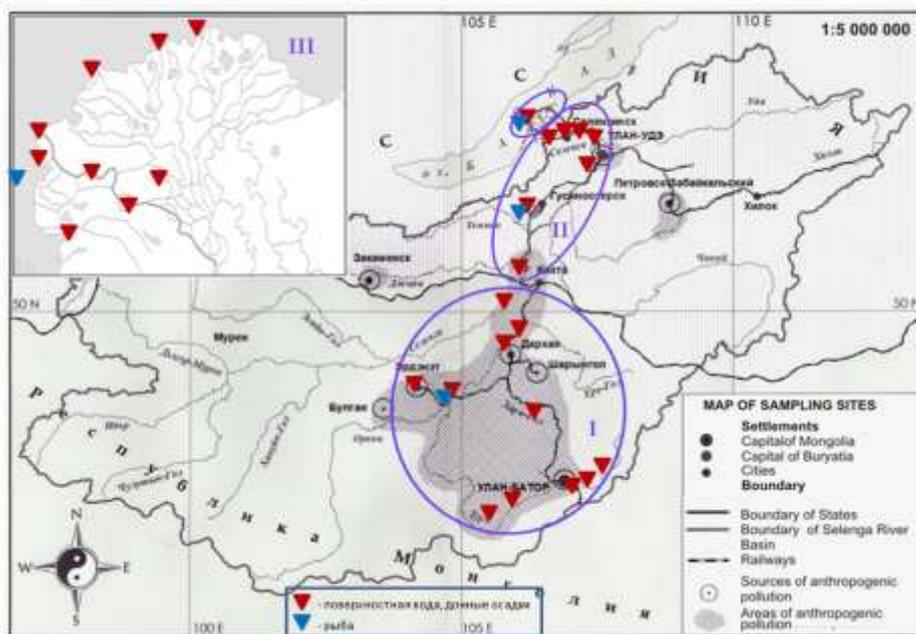


Рис. 5. Карта расположения станций отбора проб

Дельта реки Селенги является естественным биогеохимическим биофильтром и индикатором современного экологического состояния озера Байкал. Нами впервые проведено исследование дельты как естественного биогеохимического фильтра по отношению к стойким органическим загрязнителям на примере хлорорганических пестицидов, полихлорированных бифенилов и полициклических ароматических углеводородов и выявлено ее значение для состояния экосистемы озера Байкал. Для исследования механизмов хемодинамики СОЗ в бассейне реки Селенги, в качестве объектов исследования нами выбраны поверхностная вода, донные осадки и, в качестве биоиндикаторов, рыбы. Распределение ΣХОП, ΣПХБ и ΣПАУ в

поверхностной воде, донных осадках и биоте бассейна реки Селенги приведены на рис. 6, 7 и 8 соответственно.

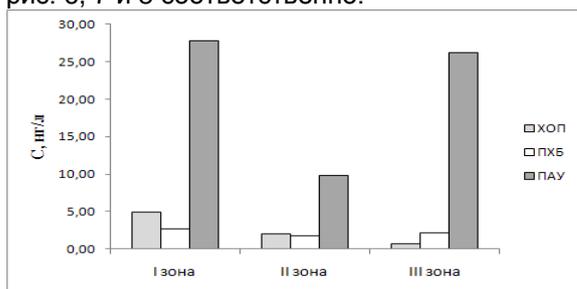


Рис.6. Распределение  $\Sigma$ ХОП,  $\Sigma$ ПХБ и  $\Sigma$ ПАУ в поверхностной воде бассейна реки Селенги

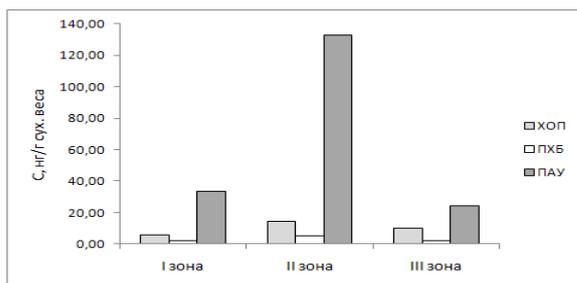


Рис.7. Распределение  $\Sigma$ ХОП,  $\Sigma$ ПХБ и  $\Sigma$ ПАУ в донных осадках бассейна реки Селенги

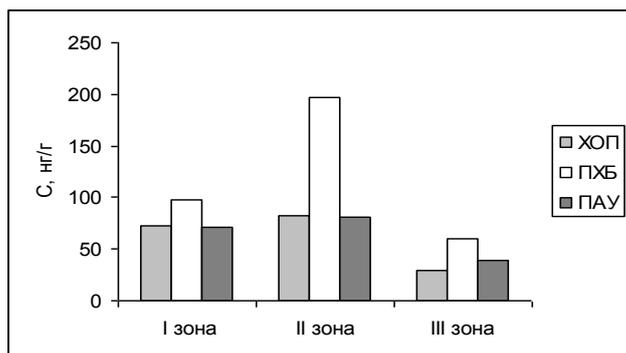


Рис. 8. Распределение  $\Sigma$ ХОП,  $\Sigma$ ПХБ и  $\Sigma$ ПАУ в биоте бассейна реки Селенги

Полученные данные свидетельствуют об относительно небольшом загрязнении хлорорганическими пестицидами бассейна реки Селенги, средние максимальные концентрации которых на уровне 4,9 нг/л получены для территории Монголии. Уровни содержания ПХБ также невысоки и свидетельствуют о фоновом поступлении в экосистему. Для ПАУ максимальные значения характерны для монгольской части бассейна реки Селенги и дельты. В первом случае это объясняется широким использованием низкосортного топлива юрточным населением Монголии. Как известно, Байкальский регион характеризуется развитым промышленным производством и топливно-энергетическим комплексом. В Иркутской области расположены многочисленные источники эмиссии ПАУ: заводы по производству алюминия, крупные ТЭЦ, предприятия нефтяной и химической промышленности. Поскольку преобладающие ветры в Байкальском регионе имеют направление юго-восток, газовые выбросы загрязняют поверхность озера Байкал и его бассейн, в первую очередь дельту реки Селенги. Локальные

теплоэнергетические установки в бассейне озера также выбрасывают в атмосферу значительное количество ПАУ.

Рыбы повсеместно распространены в водных экосистемах и играют ведущую роль в трофических цепях, поскольку выполняют роль переноса энергии с нижнего к верхнему трофическому уровню. Поэтому исследования поступления, распределения и биоаккумуляции СОЗ в различных тканях и органах рыб наиболее информативны с точки зрения биоиндикационных исследований.

Стойкие органические загрязнители (ХОП, ПХБ и ПАУ) были обнаружены во всех образцах печени рыб, исследованных в данной работе. Соединения группы ПХБ были обнаружены в наивысших концентрациях, которые изменялась в интервале от 3,1 до 405,6 нг/г сырого веса, затем следовали ХОП (12,1-174,5нг/г) и ПАУ (1,5-184,8 нг/г). Таким образом, обнаружен следующий характер распределения стойких органических загрязнителей (ПХБ>ХОП>ПАУ) в печени рыб.

Рассчитанные коэффициенты биоконцентрации  $BCF_w$  (табл. 1)  $\Sigma$ ХОП и  $\Sigma$ ПХБ для зоны I (сом) составили 110000 и 54000, для зоны II (щука) - 43000 и 35000, для III зоны (щука) 128000 и 71000 соответственно (согласно критериям US EPA вещество отвечает критерию биоаккумуляции, если  $BCF_w$  выше 1000 и повышенной биоаккумуляции, если  $BCF_w$  выше 5000).

Таблица 1. Коэффициенты биоконцентрации ( $BCF_w$ ) для рыб-биоиндикаторов.

Зона	Биоиндикатор (биота)	$BCF_w$ *	
		$\Sigma$ ХОП	$\Sigma$ ПХБ
I	Сом <i>Silurus glanis</i>	110000	54000
II	Щука <i>Esox lucius</i>	43000	35000
III	Щука <i>Esox lucius</i>	128000	71000

ВМФ (ПХБ): плотва→щука 3.6

$BCF_w > 1$ , передача вещества по трофической цепи

$BCF_w > 1000$ , вещество отвечает критерию биоаккумуляции

$BCF_w > 5000$ , вещество отвечает критерию повышенной биоаккумуляции

Полученные результаты несомненно указывают на чрезвычайно большой потенциал бионакопления СОЗ в живых организмах. Полученные в настоящей работе данные свидетельствуют о значительном вкладе дельты реки Селенги как биогеохимического барьера в процессе самоочищения экосистемы бассейна реки Селенги и озера Байкал по химическим, физическим и биологическим механизмам в отношении стойких органических загрязнителей на примере ХОП, ПХБ и ПАУ.

**Пункт 2. «Исследование состава основных фенолпропаноидов древесины лиственницы сибирской (*Larix Sibirica*) и древесной зелени пихты сибирской (*Abies Sibirica*)»**

Лигнаны и гидроксикоричные кислоты, большие группы природных фенолпропаноидов, проявляющих различные виды биологической активности широкого спектра действия. При исследовании биологической активности большой группы лигнанов растительного происхождения выявлена их высокая противоопухолевая, противомитотическая, противомикробная, противовирусная, а также антидепрессантная и гепатопротекторная активности. Установлено влияние лигнанов на метаболизм нуклеиновых кислот и процессов в живой природе, катализируемых ферментами. На примере диглюкозида пинорезинола, оказывающего противогипертензивное действие, выявлено действие лигнанов на сердечно-сосудистую систему. Антиоксидантная активность установлена для группы лигнанов, а именно для нортрахелогенина, секоизоларицирезинола, ларицирезинола, матаирезинола и гидроксиматаирезинола, выделенных из деревьев хвойных пород, в том числе пихты и лиственницы. Показано, что лигнаны

участвуют в механизмах защиты растений от болезней и вредителей и проявляют росторегулирующие свойства.

Методами хроматомасс-спектрометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии исследованы биологически активные композиции лиственницы сибирской и пихты сибирской: CO<sub>2</sub>-экстракт древесины лиственницы и водно-этанольный экстракт древесной зелени пихты сибирской. С использованием детектирования по полному ионному току и индивидуальным характеристичным ионам, а также сопоставлением относительных времен удерживания, получены хроматографические профили («отпечатки пальцев») и масс-спектральные характеристики фенолпропаноидов: лигнанов [(C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] и гидроксикоричных кислот [C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>], проведена идентификация основных компонентов лигнанового комплекса углекислотного экстракта древесины лиственницы.

При анализе хроматомасс-спектрометрических данных наблюдается характерная для лигнанов фрагментация, т.е. основными осколочными ионами являются ионы с m/z137 и m/z151, для гидроксикоричных кислот – основными и характеристичными являются молекулярные ионы.

Методом ВЭЖХ также получен хроматографический профиль лигнанов CO<sub>2</sub>-экстракта древесины лиственницы. Все пики на хроматограмме имеют характерный для лигнанов УФ-спектр.

Таким образом, по результатам исследования установлено, что основными лигнанами CO<sub>2</sub>-экстракта лиственницы являются матаирезинол, кетоматаирезинол, гидроксиматаирезинол, секоизоларицирезинол, пинорезинол, кетопинорезинол, конидендрин; водно-этанольного экстракта пихты - 3,4-диванилилтетрагидрофуран, матаирезинол, оксиматаирезинол, секоизоларицирезинол, ларицирезинол; основными гидроксикоричными кислотами CO<sub>2</sub>-экстракта лиственницы - феруловая и цис- и транс-3,4-диметоксикоричные кислоты, водно-этанольного экстракта пихты - п-гидроксикоричная (кумаровая), цис-феруловая, транс-феруловая и 3,4-диметоксикоричная кислота.

Проведенные испытания на физиологическую активность биологически активных композиций пихты сибирской и лиственницы показали высокую эффективность на зерновых и овощных культурах как стимуляторы роста и индукторы иммунитета растений к грибковым, бактериальным и вирусным болезням. Выявлено существенное повышение урожайности и качества испытанных зерновых и овощных культур, высокая эффективность при предпосевной обработке. Концентрации используемых композиций из лиственницы и пихты сибирской, проявивших физиологическую активность составляла ~0,05%, что существенно ниже традиционно используемых препаратов в сельском хозяйстве.

***Пункт 3. Изучение фармакокинетических характеристик антипирина методом ВЭЖХ для выявления особенностей метаболизирующей функции печени при сердечно-сосудистых заболеваниях.***

Основой одного из непрямых методов оценки активности печеночных могооксигеназ, возникающей под влиянием факторов операционной агрессии, а также при изменении фармакокинетики и фармакодинамики лекарственных препаратов у пациентов в критических состояниях, является получение и исследование фармакокинетических параметров некоторых лекарств, используемых в качестве маркеров. Одним из таких препаратов является антипирин. В условиях послеоперационной агрессии целью фармакокинетических исследований является изучение активности микросомальных оксигеназ печени посредством антипиринового теста, т.е. определение содержания антипирина в крови и других биологических жидкостях и тканях.

По разработанной нами методике исследованы 92 образца плазмы крови 23 пациентов НИИ патологии и кровоснабжения им. Е.Н. Мешалкина до и после операции аорто-коронарного шунтирования и получены данные о содержании антипирина.

Для каждого пациента по программе Borgia рассчитаны фармакокинетические параметры антипирина, основные среди которых: *клиренс* (Cl) — объем плазмы или

крови, полностью освобождающийся от лекарственного средства в единицу времени, показатель количественно характеризует выведение препарата и выражается в мл/мин или л/ч; *период полувыведения* ( $T_{1/2}$ ) —показывает за какое время концентрация препарата в организме уменьшается вдвое; *объём распределения* ( $V_d$ ) — условный показатель, отражающий степень захвата препарата тканями из плазмы или сыворотки крови.  $V_d$  - объём, в котором надо растворить всю попавшую в организм дозу препарата, чтобы получить концентрацию, равную его концентрации в плазме.

На рис. 9 и 10 приведены диаграммы изменения клиренса и периода полувыведения антипирина у некоторых больных НИИ патологии и кровоснабжения им. Е.Н. Мешалкина до и после операции аорто-коронарного шунтирования.

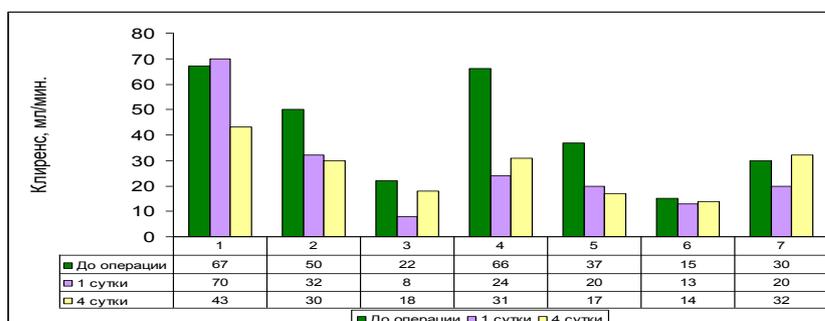


Рис. 9. Клиренс антипирина у больных до и после операции аорто-коронарного шунтирования

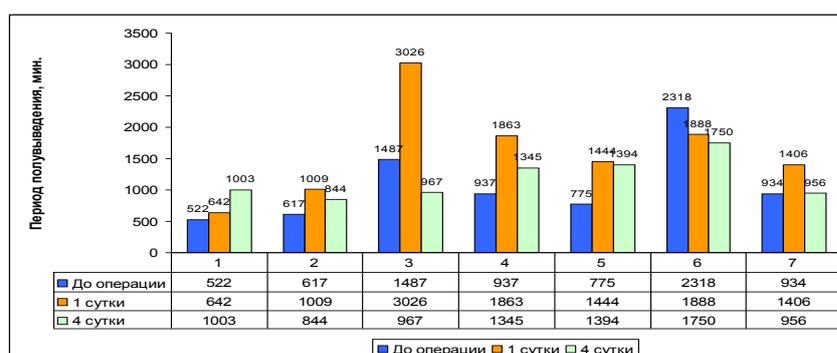


Рис. 10. Период полувыведения антипирина у больных до и после операции аорто-коронарного шунтирования

При анализе полученных данных выявлено, что диапазон варьирования клиренса у дооперационных больных шире аналогичного диапазона для послеоперационных пациентов. Аналогичные изменения выявлены и для периода полувыведения антипирина (табл. 2).

Таблица 2. Диапазоны изменения клиренса и периода полувыведения до и после операции аорто-коронарного шунтирования

	Диапазон изменения клиренса *, мл/мин	Диапазон периода полувыведения, мин.
До операции	11 - 67	1336 - 3220
После операции	14 - 56	1179 - 1800

\* Норма 55-64 мл/мин.

Низкие значения клиренса антипирина (11 - 15 мл/мин) и высокие периода полувыведения (>2000 мин.) у больных до операции являются, по-видимому, отражением низкой метаболизирующей функции печени и необходимостью существенной коррекции до- и послеоперационной терапии. Полученные фармакокинетические характеристики позволяют разрабатывать индивидуализированные схемы лечения пациентов, в частности, для расчёта назначаемых доз препаратов и их лекарственных форм с прогнозируемым временем высвобождением активного вещества.

#### **Проект ПРБ-17**

#### **«Разработка научно-технологической базы для формирования фармацевтического кластера в Республике Бурятия»**

*«Исследование извлечений из фитосредств «Тиреотон» и «Панкреофит» на количественное и качественное содержание терпенов, фенолов, фенологликозидов, фенилпропаноидов и флавоноидов с использованием современных спектрально-аналитических методов»*

Проведено исследование 11-ти экстрактов из растительного сырья Бурятии, традиционно используемого в тибетской медицине, на основе которых разработаны фитосредства «Панкреофит» и «Тиреотон». Состав фенольных соединений экстрактов цветков календулы лекарственной, надземных части череды трехраздельной, сушеницы топяной, пятилистника кустарникового, зверобоя продырявленного, лапчатки белой, сухой крапивы, горца птичьего, черники; корней девясила высокого и коры ивы козьей изучены методом ВЭЖХ. Анализ проводили одновременно на характеристичных для фенольных соединений длинах волн: 254 нм (производные бензойных кислот), 280 нм (катехины), 320 нм (гидроксикоричные кислоты и флавононы), 360 нм (флавонолы).

Установлено, что основными группами фенольных соединений в экстрактах являются фенолоксиолы типа С<sub>6</sub>-С<sub>1</sub> и фенилпропаноиды типа С<sub>6</sub>-С<sub>3</sub> и С<sub>6</sub>-С<sub>3</sub>-С<sub>6</sub>, содержание которых составляет 1-63, 1-70 и 10-175 мг/г соответственно. Практически во всех экстрактах идентифицирована хлорогеновая кислота и гликозилированные флавоноиды типа рутина.

На основе анализа хроматографического профиля фитосредства «Панкреофит» установлено, что основными группами фенольных соединений являются гидроксикоричные кислоты, флавонолы, катехины и производные бензойной и салициловой кислот с содержанием 34.1, 7.0, 1.5, 1.9 и 1.5 мг/г соответственно.

#### **Междисциплинарный интеграционный проект СО РАН №88**

*«Биохимические и молекулярно-биологические основы взаимоотношений в системе «дерево-насекомое-патоген»*

**Пункт** *«Сравнительное изучение состава флавоноидов кормовых растений (береза, ива) в районах размножения непарного шелкопряда Зауралья»*

Для выявления возможного участия фенилпропаноидов в индуцированных и конституционных защитных реакциях кормового растения против гусениц непарного шелкопряда в районах его размножения Зауралья было проведено сравнительное исследование состава фенилпропаноидов листьев березы повислой (*Betula pendula*) и ивы козьей (*Salix caprea*).

Известно, что эти растения вырабатывают широкий спектр вторичных метаболитов, проявляющих широкий спектр биологической активности, влияющих на состояние насекомых-вредителей. Одной из основных групп таких соединений являются фенилпропаноиды (С<sub>6</sub>-С<sub>3</sub>)<sub>n</sub>. Входящие в эту группу вещества проявляют антиоксидантную, иммуномодулирующую, противовирусную, фунгицидную активности и др. Целью настоящего исследования было сравнительное исследование группового состава фенилпропаноидов листьев березы повислой

(*Betula pendula*) и ивы козьей (*Salix caprea*) – кормовых растений гусениц непарного шелкопряда в районах его размножения Зауралья.

Для получения данных о составе фенолпропаноидов листьев березы и ивы нами были получены экстракты воздушно-сухого измельченного сырья 70%-ным этанолом с их последующей очисткой на обращено-фазовых патронах Диапак-С16. Анализ состава фенолпропаноидов выполнен методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на жидкостном хроматографе Agilent 1100 с диодно-матричным детектором. Детектирование проводили одновременно на четырех полосах поглощения: 254, 280, 320 и 360 нм (254 нм – базовая длина волны, 280 нм – аналитическая длина волны для регистрации катехинов, 320 нм – гидроксикоричных кислот и флавононов, 360 нм – флавонолов).

В результате проведенных ранее исследований на примере образцов листьев березы повислой (*Betula pendula*) с территории Новосибирской области установлено, что основными группами фенольных соединений водно-этанольного экстракта листьев березы являются гликозиды флавонолов, флавононы, гидроксикоричные кислоты и маркерное соединение 3,4'-дигидроксипропиофенон-3-β-D-глюкопиранозид.

В настоящей работе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектированием исследованы составы водно-этанольных экстрактов листьев березы повислой (44 образца) и ивы козьей (18 образцов), собранных в 2012г в Зауралье.

При анализе УФ-спектров установлено, что основными группами фенолпропаноидов являются флавоноиды и гидроксикоричные кислоты в свободном и гликозилированном виде. Методом ВЭЖХ с использованием градуировочных характеристик хлорогеновой кислоты, рутина, дигидрокверцетина и катехола проведена оценка содержания основных групп фенолпропаноидов в листьях ивы.

Таким образом, в результате проведенных исследований по сравнительному изучению состава фенолпропаноидов листьев ивы и березы выявлено (табл. 3), что содержание суммы гидроксикоричных кислот в экстрактах близко и составляет ~3мг/г; суммарное содержание флавоноидов в листьях березы ~ 1,5 раза выше, чем в листьях ивы; основными флавоноидами в листьях березы и ивы являются гликозилированные флавононолы.

Таблица 3. Содержание основных групп фенолпропаноидов водно-этанольного экстракта ивы козьей и березы повислой, сбор 2012г., Зауралье

сновные группы фенолпропаноидов	Содержание, мг/г а.с.с.	
	Ива козья	Береза повислая
Сумма гидроксикоричных кислот	2,8	3,2
Сумма флаванов (катехинов)	3,2	-
Сумма гликозидов флавононолов	9,7	21,9
Сумма флавононов	-	0,7
Сумма флаванонолов	1,8	-
<b>Сумма флавоноидов</b>	<b>14,7</b>	<b>22,6</b>
Неидентифицированное соединение экстракта ивы (пик 15)	0,9	-
3,4'-дигидроксипропиофенон-3-β-D-глюкопиранозид	-	5,6

#### Экспедиционный грант СО РАН

«Оценка масштабов и степени загрязнения территории Сибири диоксинами и их аналогами»

Проект был поддержан на весеннем конкурсе экспедиционных работ СО РАН в составе проекта «Мониторинг динамики и трансформации диоксинов, их аналогов и предшественников в акватории озера Байкал» от БИП СО РАН.

В рамках экспедиционных работ совместно с сотрудниками БИП СО РАН проведено детальное обследование поверхностных вод и донных осадков дельты р. Селенга, оз. Хубсугул. Целью экспедиционных работ являлось оценка уровня и ареалов техногенного загрязнения экосистемы бассейна р. Селенга стойкими органическими загрязнителями (СОЗ). Отобрано 25 образцов воды и 25 образцов донных осадков. Маршрут экспедиции включал г. Улан-Удэ – дельта р. Селенга – оз. Хубсугул – г. Улан-Удэ. Методом хроматомасс-спектрометрии с использованием детектирования по индивидуальному характеристичным ионам и по полному ионному току определено содержание хлорорганических пестицидов (ХОП), полихлорированных бифенилов (ПХБ), полициклических ароматических соединений (ПАУ) в образцах поверхностных вод и донных осадков, отобранных на территории Монголии и России.

Интервалы содержания и средние значения  $\Sigma$ ХОП,  $\Sigma$ ПХБ и  $\Sigma$ ПАУ в поверхностных водах для правой части дельты реки Селенги составили (6,6-16,1) 11,1, (4,9-18,6) 11,1 и (20,6-35,3) 26,0 нг/л соответственно. Аналогичные данные для северной части оз. Хубсугул составили (6,1-11,3) 8,7, (1,5-2,7) 2,0 и (11,7-16,4) 13,6 нг/л. Предварительный анализ данных показывает, что средние значения содержания  $\Sigma$ ХОП в поверхностной воде для дельты р. Селенги и оз. Хубсугул близки, в то время как для промышленных загрязнителей  $\Sigma$ ПХБ и  $\Sigma$ ПАУ они различаются в 5,5 и 1,9 раза соответственно. Можно полагать, что уровни содержания  $\Sigma$ ХОП соответствуют уровню глобального загрязнения, а уровни содержания  $\Sigma$ ПХБ и  $\Sigma$ ПАУ для дельты р. Селенги соответствуют антропогенному загрязнению локального и регионального происхождения.

Результаты настоящих и предыдущих исследований показывают эффективность использования данных по качественному и количественному составу ПАУ, ПХБ и ХОП в объектах окружающей среды, для региональных эколого-геохимических и эколого-гигиенических оценок состояния природной среды, эффективного выявления источников и зон усиления и ослабления антропогенного воздействия на природную среду и построения биоаккумулятивных моделей СОЗ для водных экосистем БГТ и оценки риска для экосистем и населения.

**Грант РФФИ № 12-05-98058 р\_сибирь\_а «Исследование механизмов поступления и трансформации полиароматических углеводородов природного и антропогенного происхождения в экосистемах озера Байкал и его притоков»**

Для исследования механизмов поступления и трансформации полиароматических углеводородов природного и антропогенного происхождения в экосистеме озера Байкал были выбраны следующие станции: река Хаим, правый приток реки Кика, которая впадает в озеро Байкал (отобрана в качестве точки, отражающей региональный общий фон); район мыса Горевой Утес, одного из трех известных и основных районов выходов нефти на озере Байкал; Баргузинский залив.

В зимний и летний периоды 2012-2013 г.г. для исследования биodeградации нефти и техногенных нефтепродуктов отобраны образцы поверхностной воды, донных отложений и природной нефти в двух районах естественных нефтепроявлений на озере Байкал – в районе устья р. Большая Зеленовская и м. Горевой Утес.

Показано, что природные сообщества микроорганизмов озера Байкал в районе выхода природной нефти осуществляют эффективную биodeградацию как n-алканов, так и полиароматических углеводородов и могут быть использованы для биомедиации.

Разработана методика биodeградации нефтепродуктов на примере микробной культуры биопрепарата, выпускаемого ПО «Сиббиофарм», г. Бердск (НСО), который содержит выделенную из природы культуру *Acinetobacter* sp., избирательно воздействующую на углеводороды. Рассчитаны степени биохимического окисления дизельного топлива после 72-120 часов экспозиции по соотношению нормальных и изопреноидных алканов.

**Грант РФФИ № 1№12-04-01228-а «Сопряженность онтогенеза непарного шелкопряда с фенологическим развитием листьев кормового растения: ее**

*значение для взаимодействия в трофической цепи растение – фитофаг – паразит»*

Для выявления возможного влияния асинхронности развития кормового растения гусениц непарного шелкопряда – березы повислой *Betula pendula* – на выживаемость насекомых проведено исследование фенолпропаноидного состава листьев березы в зависимости от зрелости листа.

Известно, что в листьях березы продуцируется широкий спектр низкомолекулярных вторичных метаболитов, относящихся к группе фенолпропаноидов (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>)<sub>n</sub> и проявляющих широкий спектр биологической активности и влияющих на насекомых-вредителей. Фенольные комплексы листьев березы получены путем мацерации воздушно-сухого сырья 70%-ным этанолом. Анализ состава фенолпропаноидов выполнен методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на жидкостном хроматографе Agilent 1100 с диодно-матричным детектором. Детектирование проводили одновременно на четырех полосах поглощения: 254, 280, 320 и 360 нм (254 нм – базовая длина волны, 280 нм – аналитическая длина волны для регистрации катехинов, 320 нм – гидроксикоричных кислот и флавононов, 360 нм – флавонолов).

В результате исследования фенольного комплекса листьев березы получен его хроматографический профиль и установлен его детальный состав. В группе гидроксикоричных кислот идентифицированы кофеилхинная (хлорогеновая), ферулоилхинная, 2 изомера кумароилхинной и 3 изомера гексозидов коричной кислоты; в группе гликозидов флавоноидов – арабинозид, рамнозид и глюкуронид мирицетина, арабинозиды (в пиранозной и фуранозной формах), рамнозид и глюкуронид кверцетина, арабинозид и рамнозид кемпферола; в группе свободных флавоноидов – кверцетин, кемпферол, апигенин, моно- и диметилэфир тетрагидроксилированного флавона, триметилэфир пентагидроксилированного флавона. Кроме того, идентифицировано маркерное соединение листьев березы - 3,4'-дигидроксипропиофенон-3-β-D-глюкопиранозид, обладающее токсичными свойствами как по отношению к чешуекрылым, так и непарному шелкопряду. Показано, что с развитием листьев в течении 20 дней содержание всех фенольных соединений снижается. Коэффициент корреляции между их содержанием в листьях и возрастом листьев варьируется в пределах от -0,95 до -0,99. Полученные данные по динамике содержания фенольных соединений в листьях березы повислой хорошо согласуются с наблюдаемым увеличением чувствительности гусениц непарного шелкопряда к экзогенному вирусному инфицированию.

**Грант № 13-00-14196\_ир** «Доступ к электронным научным информационным ресурсам зарубежных издательств»

По итогам конкурса «ИР» 2012 г. на получение доступа к электронным научным информационным ресурсам зарубежных издательств НИОХ СО РАН был получен доступ к научным информационным ресурсам следующих издательств: Wiley, Royal Society of Chemistry, Institute of Physics Publishing, Chemical Abstract Service.

Возможность получения быстрого и эффективного доступа к зарубежной научной информации обеспечила выполнение научных исследований, проводимых в рамках проектов РФФИ:

- по изучению реакционной способности химических соединений и механизмов органических реакций;
- по химии стабильных радикалов;
- исследованию вторичных метаболитов и их направленной модификации с целью создания новых физиологически активных соединений, их анализу и идентификации.

С использованием доступа к электронным научным ресурсам подготовлено 45 статей, из них опубликовано - 28 статей (в российских журналах – 15, в зарубежных журналах – 13), принято в печать – 12 статей (в российские журналы – 2 статьи, в зарубежные журналы – 10 статей), отправлено в печать – 5 статей (в российские

журналы – 1 статья, в зарубежные журналы – 4 статьи). Список журналов, индексируемых в международной системе цитирования Web of Science и в которых опубликованы (приняты к опубликованию или отправлены) **43** статьи, представлен 20 наименованиями. Кроме того, результаты исследований были представлены в материалах международных и российских конференций (13 докладов).

Доступ к электронным научным информационным ресурсам ведущих зарубежных издательств является важным элементом системы информационного обеспечения научных исследований, проводимых в Новосибирском институте органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук.

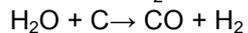
### **Лаборатория микроанализа**

Заведующая лабораторией - к.х.н. В.Д. Тихова

**Проект V.46.5.4.** «Развитие методологии комплексных исследований органических веществ и материалов синтетического, природного и антропогенного происхождения, реакций и процессов, протекающих в живых системах и объектах окружающей среды»:

**Пункт 16.** «Оптимизация метода автоматического определения кислорода в органических веществах и материалах»

1. Определение кислорода проводилось на кислородном высокотемпературном НТ (High Temperature) блоке автоматического СНН-анализатора Euro 3028. Принцип определения кислорода в автоматических анализаторах основан на количественном восстановительном превращении кислорода исследуемого вещества в монооксид углерода на угольном контакте в инертной атмосфере при температуре 950-1100°C, согласно уравнениям:



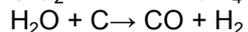
Далее отделяют оксид углерода (или CO<sub>2</sub> после окисления CO) на хроматографической колонке и определяют по теплопроводности с помощью катарометра.

Как в случае определения углерода, водорода, азота, так и при определении кислорода, такие элементы как галогены, особенно фтор, сера, фосфор, металлы, присутствующие в веществе, мешают определению кислорода. Например, при пиролизе серусодержащих соединений в инертной атмосфере могут образоваться H<sub>2</sub>S, CS<sub>2</sub>, COS. Эти соединения должны быть удалены из газов пиролиза, так как они способны исказить результаты анализа. Один из наиболее рациональных способов удаления по эффективности и выполнению – удерживание металлами (Zn, Cu, Ni), мы использовали слой (2 см) никелевой ваты.

При анализе кислорода в галогенсодержащих соединениях, кроме фторорганических, удаление мешающих продуктов производят с использованием серебра или аскарита.

Для фосфорсодержащих соединений при определении кислорода также необходимы добавки при проведении пиролиза, так как могут образовываться стойкие оксиды фосфора, что занижает результат. Для улучшения пиролиза в наполнение трубки добавляют восстановленный никель или смесь никеля с AgCl.

Образующиеся же при разложении фторорганических соединений продукты могут реагировать с материалом аппаратуры (кварцем), в результате чего завышаются результаты анализа на кислород:



Особенностью высокотемпературного блока анализатора Евро, используемого для определения кислорода, является двойная вертикальная трубка (реактор) и ее наполнение нешняя трубка изготовлена из жаропрочной керамики, что позволяет увеличивать температуру печи для сжигания веществ до 1500°C. Внутренняя

трубка изготовлена из стеклоглерода, что исключает возможность реакции агрессивных, особенно фторсодержащих, продуктов, образующихся при сжигании веществ, с ее стенками. Наполнение трубки, кроме угольного контакта Ni/C, содержит металлический никель (никелевую вату), удерживающий мешающие элементы – серу, галогены, фосфор. Были проанализировано 11 веществ, содержащие серу, хлор, бром и кислород в различных формах, с разным содержанием (от 4 до 60 %), погрешность определения не превышала 0,3 % абс.

2. Изучены специфические особенности гуминовых и гиматомелановых кислот торфов Среднего Приобья, проявляющиеся в различных соотношениях элементов, теплотах сгорания и степени окисленности. Гуминовые и гиматомелановые кислоты имеют близкую «скелетную» структуру макромолекул, а обнаруженные различия указывают на меньшую «зрелость» гиматомелановых кислот по сравнению с гуминовыми кислотами.

3. Исследованы термические характеристики некоторых производных о-изоборнилфенолов (ИБФ), относящихся по своему строению к классу пространственно-затрудненных фенолов и обладающих антиоксидантной, антитромбогенной, нейропротекторной и ретинопротекторной активностью. Получение кинетических характеристик при повышенных температурах имеет немаловажное значение в выборе методов применения таких соединений.

Полученные результаты свидетельствуют об универсальности выбранного метода для исследования термолиза лекарственных препаратов, биоантиоксидантов и промышленных стабилизаторов, относящихся к одному классу пространственно-затрудненных фенолов. Кроме того позволяют сделать вывод о возможности применения такого типа нетоксичных стабилизирующих антиоксидантных добавок для изготовления капсул и пленок с целью увеличения сроков хранения лекарственных препаратов и их защиты от последствий внешнего воздействия. Установленная нами способность соединений 1 и 2 испаряться при повышенных температурах открывает для них новую перспективу применения – ингаляций и аэробного использования.

Лаборатория (в составе Испытательного аналитического центра) прошла аккредитацию в области анализа органических химических продуктов и сточных вод в системе Росаккредитации.

В течение года выполнялись определения углерода, водорода, азота, галогенов, серы, фосфора, молекулярной массы, температуры плавления, анализ сточных вод, анализ воздуха рабочей зоны для подразделений Института, для других институтов СО РАН и для других сторонних организаций. Выполнено **5400** анализов, а именно: **3800** анализов элементного состава, **528** анализов сточных вод, **1074** анализа воздушной среды.

По центру коллективного пользования Лаборатория выполняла анализы для лабораторий институтов СО РАН, работающих по следующим проектам и программам:

**Институт катализа** – Приоритетное направление V.44 Фундаментальные основы химии. (Проекты V.44.2.4, V.44.2.1). Приоритетное направление V.49 Фундаментальные исследования в области химии и материаловедения в интересах обороны и безопасности страны. ( Проект V.49.1.6)

**Институт химической кинетики и горения** – Приоритетное направление V.36 Теоретическая химия и развитие методологии органического и неорганического синтеза, новые методы физико-химических исследований, ИП СО РАН №№ 41,51, Грант РФФИ № 13-03-00129, Грант ОХНМ РАН 5:9.3

**Институт химии твердого тела** - Приоритетное направление V.45 Научные основы создания новых материалов с заданными свойствами и функциями, в том числе высокочистых и наноматериалов (Проект V.45.2.7, V.45.2.6). Приоритетное направление V.44 Фундаментальные основы химии (Проект V.44.3.3).

**Институт геологии и минералогии** – ИП СО РАН «Условия формирования, закономерности размещения и рациональное природоиспользование сапропелей Сибири».

### Группа металлокомплексного катализа

Руководитель группы - к.х.н. В.М. Тормышев

**Проект V.44.5.8.** «Создание новых эффективных методов синтеза соединений с заданными функциональными свойствами на основе ароматических и гетероциклических соединений, включая полифторированные производные». Раздел 20. «Получение и характеристика первых представителей нового поколения тритильных радикалов, несущих функциональные группы различного типа»

**Пункт 20.** «Создание препаративных методов получения новых тритильных радикалов различного типа с целью обеспечения селективного синтеза материалов для медицинской диагностики, биологических и спектроскопических приложений»

Описана новая реакция с участием симметричных триарилметильных катионов, несущих объемные 2,3,5,6-тетратиаарильные заместители, с С-, N-, Р- и S-нуклеофилами. Реакция приводит к получению стабильных триарилметильных радикалов (ТАМ), в которых нуклеофил внедрен в пара-положение одного из трех ароматических колец. Ди- или тризамещение не наблюдается. В ряде случаев регистрируется образование симметричного ТАМ качестве минорного дополнительного продукта. Интерпретация этого необычного превращения предполагает образование промежуточного циклогексадиена (схему 1) с последующим окислением последнего карбокатионом или атмосферным кислородом. Этот эффект, формально относящийся к группе реакций ароматического нуклеофильного замещения, может рассматриваться в качестве универсального метода получения разнообразных монофункциональных производных стабильных триарилметильных радикалов.

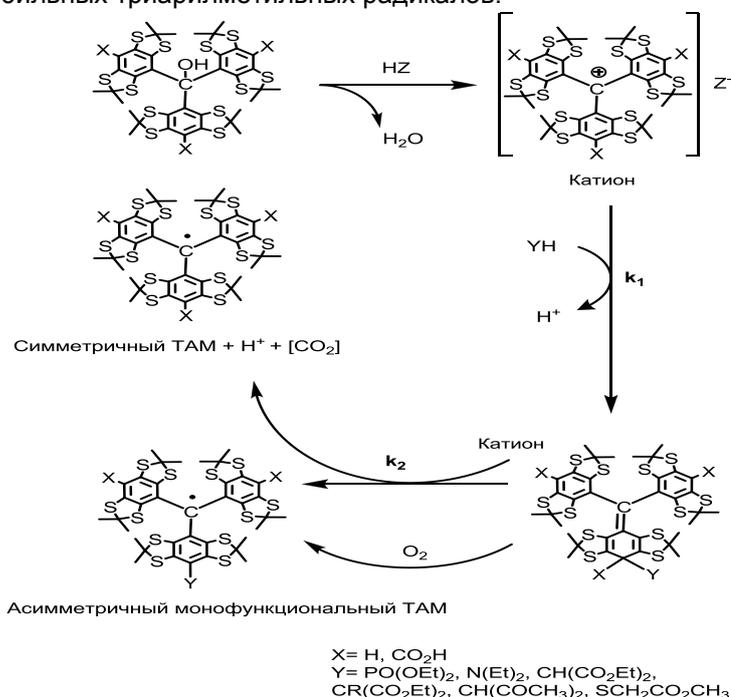


Схема 1

Указанные производные получены в препаративном масштабе 0.050-0.050 г с выходами 41-82 %. С учетом обнаруженного эффекта предложен удобный препаративный метод получения наиболее часто применяемого ТАМ – трис(8-карбокситетраметилбензо[1,2-*d*:4,5-*d'*]бис[1,3]дитиол-4-ил)метила (Finland TAM).

**Грант РФФИ 13-04-00680 А (2013-2016)** «Разработка спиновых меток с оптимизированными свойствами и их применение в структурных исследованиях биомолекул методами дипольной ЭПР спектроскопии»

Найден подход (схема 2) к получению базового тритильного радикала типа 1 (Finland trityl), отличающийся воспроизводимостью, селективностью и высокими выходами на каждой стадии многостадийного процесса, а также возможностью масштабирования до уровня, характерного для препаративных процедур (5-50 г):

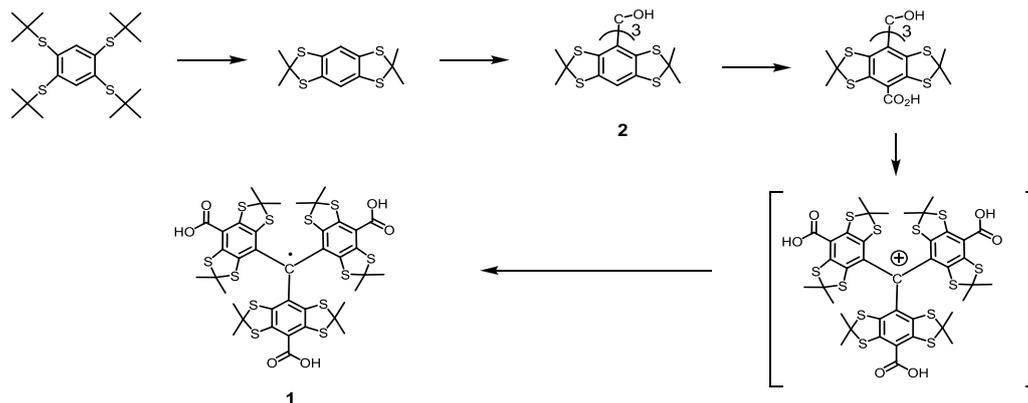


Схема 2

В основе предложенного подхода заложен метод прямого карбоксилирования триарилкарбинола 2 и обнаруженный эффект генерации трис(2,3,5,6-тетратиаарил)метильных катионов, демонстрирующих способность к взаимодействию с разнообразными нуклеофилами. Показано, что в отсутствие нуклеофилов карбокатионы количественно переводятся в тритильные радикалами под действием восстановителя  $\text{SnCl}_2$ . Синтезированы спин-меченые реагенты, предназначенные для введения в структуру нуклеотидных дуплексов. Изучены их релаксационные характеристики.

### **Группа определения состава и строения органических веществ**

Руководитель группы - к.х.н., И.Ф. Михайлова

**Проект V.46.5.4.** «Развитие методологии комплексных исследований органических веществ и материалов синтетического, природного и антропогенного происхождения, реакций и процессов, протекающих в живых системах и объектах окружающей среды»

**Пункт 15.** «Оптимизация условий разделения и идентификации компонент композиционных материалов – связующих паст и составов для интумесцентных огнезащитных покрытий»

Установлено, что огнезащитные интумесцентные краски Nullifier S 707-60 и Firetex FX 4002, предназначенные для повышения предела огнестойкости металлических конструкций и сооружений (на водной и органической основе), содержат одинаковый набор компонентов, обеспечивающих образование вспученного защитного слоя: полифосфат аммония, меламин и пентаэритрит (при примерно

равном соотношении). Краски отличаются связующим полимером: в краске Nullifier это водная эмульсия сополимера винилацетата с винилверсататом, в краске Firetex - винилтолуол-акрилатный сополимер в ароматическом растворителе. Обе краски содержат хлорсодержащие замедлители горения (трис-(2-хлор-1-метилэтил)фосфат) и хлорпарафин) и наполнитель - двуокись титана. В небольших количествах в краске Nullifier обнаружен неионогенный ПАВ и кремнесодержащий пеногаситель, в краске Firetex-борат цинка.

**Договор №38-12** «Исследование органических связующих трёх токопроводящих паст для металлизации кремниевых солнечных элементов на основе порошка алюминия»

Исследованы органические связующие трёх токопроводящих паст для металлизации кремниевых солнечных элементов на основе порошка алюминия. Установлено, что все органические связующие паст состоят из композиционного растворителя (20%), этилцеллюлозы (1,5-2,0%), олеиновой кислоты или её сложного эфира (0,5-1,0%) и различных функциональных добавок. В качестве растворителей использованы: монобутиловый эфир диэтиленгликоля (паста ПАСЭ-12Д), терпинеол (паста В-18) и сложная смесь терпинеола, монобутилового эфира диэтиленгликоля, ацетата бутилового эфира диэтиленгликоля, тексанола (2,2,4-триметил-1,3-пентандиол моноизобутирата) и бензилового спирта (паста К-19).

**Договор № 55-12** «Исследование композиционных добавок, используемых для модификации свойств строительных бетонов»

Исследованные добавки к бетонам разнообразны по составу и модифицирующему действию. Бесщелочной ускоритель схватывания MEYCO SA 176 является водной дисперсией сульфата алюминия с добавлением диэтаноламина. Многофункциональный ускоритель X-SEED 100-водная эмульсия гидросиликата кальция, нитратов кальция и натрия, загущенная полиэтиленгликолем; по выявленной информации фирмы BASF ускоритель является «суспензией активных частиц наноразмера». Полимерной основой пластификатора F-1 является сульфатированная ацетон-формальдегидная смола с добавлением сахарозы; основа гидроизоляционной добавки №224-В – сополимер этилена с винилацетатом (VAE) с содержанием последнего 75%; добавка содержит 80% формиата кальция. Пеногаситель DEFOAMER №21 является смесью высокомолекулярных неионогенных ПАВ – эфира полипропиленгликоля и высших алифатических кислот (пальмитиновой и стеариновой) и сополимера окиси этилена и окиси пропилена (90%) и низкомолекулярных гликолей и их метиловых эфиров (10%).

**Договор о сотрудничестве** «Определение состава для промывки систем автоматических биохимических анализаторов и реагентов для определения креатинина в плазме крови и моче по методу Jaffe».

Определён состав для промывки систем автоматических биохимических анализаторов и реагентов для определения креатинина в плазме крови и моче по методу Jaffe. Показано, что добавление в промывочный раствор неионогенного ПАВ (Triton X 100) значительно улучшает качество промывки автоматических анализаторов; введение комплексона (EDTA) увеличивает стабильность реагентов и точность определения креатинина.

Выполнено исследование скоростей и механизма охлаждения штамповок из алюминиевого ковочного сплава в водно-полимерной среде AQUA-QUENCH 260. Проведен анализ патентной и научно-технической литературы и составлен обзор современного состояния проблемы закалки алюминиевых сплавов в водно-полимерных средах. Исследован состав закалочной среды AQ-260, установлено, что она является ~54%-ным раствором сополимера окиси этилена (ОЭ) и окиси пропилена (ОП) с добавлением ~2.5% нитрита натрия. По спектрам ЯМР <sup>1</sup>H

молярное соотношение ОЭ:ОП составляет ~4:1, что соответствует весовому соотношению ~73:27%, фрагмент ОЭ – конечный.

В результате проведенной работы с помощью автоматизированной установки, разработанной в НИОХ, зарегистрированы и исследованы кривые охлаждения и кривые зависимости скорости охлаждения от температуры цилиндрических образцов из алюминиевого ковочного сплава В95 пч/оч в растворах полимерной закалочной среды AQ-260 с разным содержанием полиалкиленгликоля и при разных температурах охлаждающей среды. На основе анализа полученных кривых определены основные характеристики закалочной среды AQ-260 (максимальная скорость охлаждения, положение максимума скорости охлаждения по температуре, длительность охлаждения до 100°C, средняя скорость охлаждения в критическом интервале 400-260°C).

Проведено сравнение основных характеристик закалочной среды AQ-260 с требованиями спецификации AMS 3025. Показано, что по перечисленным в спецификации AMS 3025 свойствам закалочная среда AQ-260 соответствует требованиям спецификации AMS 3025 к закалочным средам на основе полиалкиленгликолей ТУР I.

Проведено сравнение основных характеристик охлаждающей способности закалочной среды AQ-260 с основными характеристиками малоконцентрированной двухкомпонентной закалочной среды, разработанной в НИОХ.

## Отдел медицинской химии

Руководитель - проф., д.х.н. Н.Ф. Салахутдинов

### Лаборатория физиологически активных веществ

Заведующий лабораторией - проф., д.х.н. Н.Ф. Салахутдинов

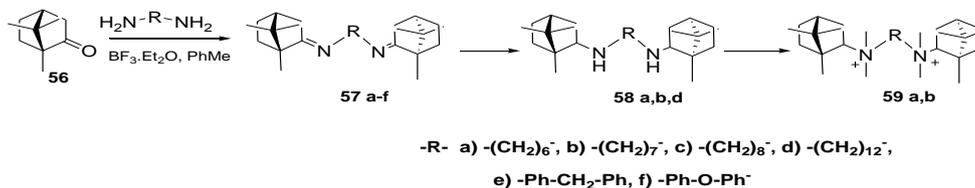
#### **Проект V.48.1.4.**

«Разработка методов направленной трансформации растительных метаболитов с целью создания соединений-лидеров в наиболее социально значимых терапевтических областях. Создание научных основ развития сырьевой базы растительных метаболитов»

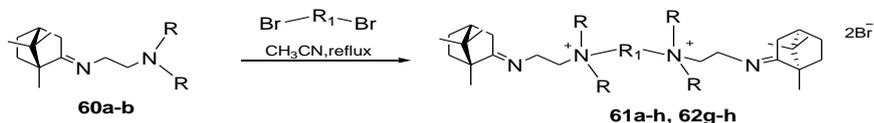
#### **Пункт 1. «Синтез иминов и дииминов на основе камфоры.**

Разработаны методы синтеза симметричных дикватернизованных производных камфоры. Первый метод основан на взаимодействии диаминов различного строения с карбонильными терпеноидами с получением соответствующих дииминов. Восстановление последних с последующим метилированием вторичных или третичных диаминов приводит к симметричным соединениям, содержащим четвертичные атомы азота. Второй подход основан на взаимодействии производных природных веществ, содержащих третичные амины, с дигалогенами различного строения.

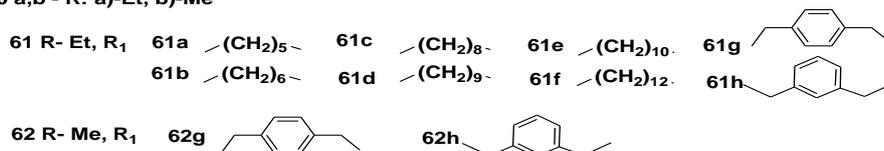
Используя первый подход, нами на основе природной (+)-камфоры **56** были получены симметричные соединения, имеющие в своем остове иминные **57a-f**, аминные **58 a,b,d** и четвертичные атомы азота **59a,b** :



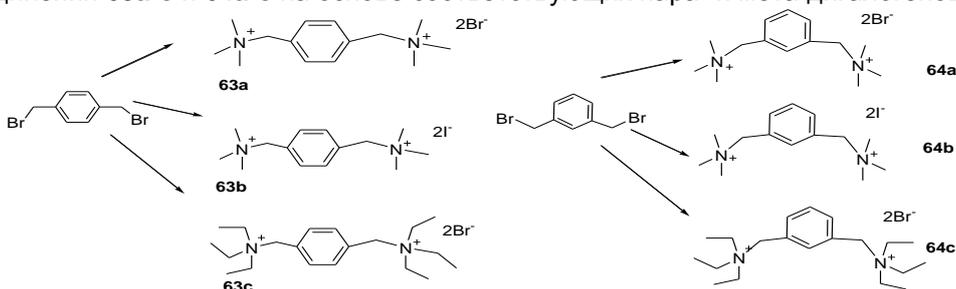
Иминоамины **60 a,b** являлись стартовым в синтезе библиотеки дикватернизованных соединений общей формулы **61** и **62**. Все вещества ранее в литературе описаны не были:



60 a,b - R: a)-Et, b)-Me



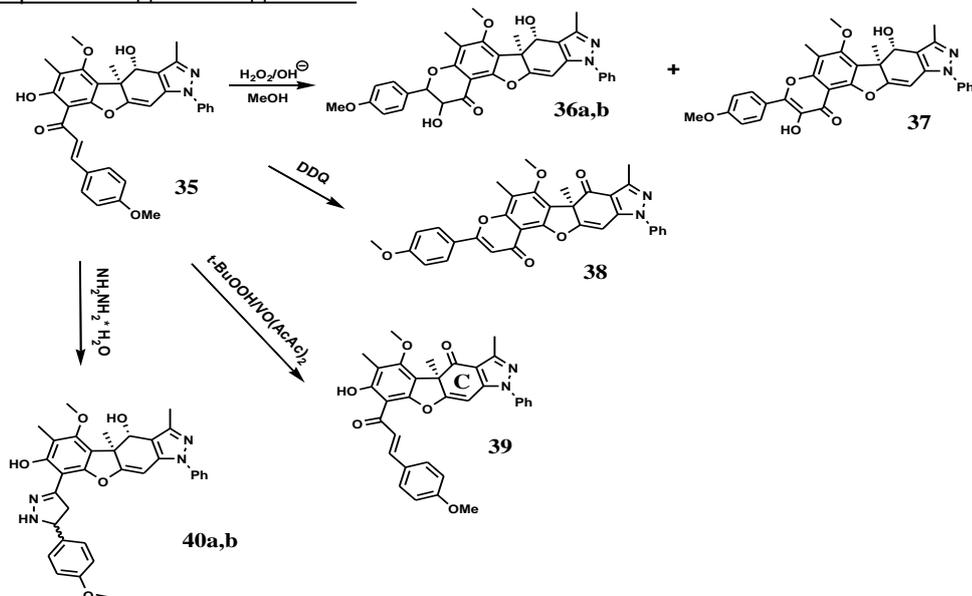
Соединения **59a,b**, **61 a-h** и **62g-h**, содержащие в своем остоуе два терпеновых остатка и два четвертичных атома азота проверены на миорелаксантную активность. Работа проводилась совместно с Лабораторией фармакологии НИОХ СО РАН. Было показано, что только соединения **61g,h** и **62g,h** проявляют миорелаксантный эффект. Для проведения сравнения влияния наличия терпенового остоуа на биологическую активность, нами были синтезированы набор дикватернизованных соединений **63a-c** и **64a-c** на основе соответствующих пара- и мета-дигалогенов:



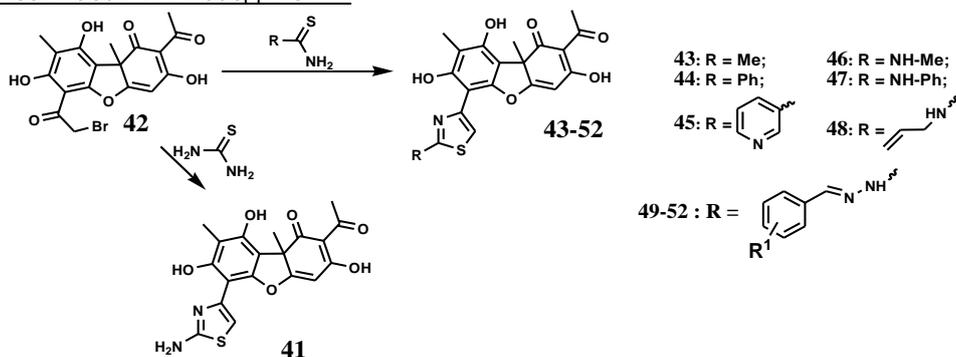
## Пункт 2. «Получение производных усниновой кислоты, содержащих фармакофорные группы в кольце А»

Разработаны способы получения и синтезированы некоторые производные усниновой кислоты – халконы, пиразолины, тиазолы, сульфиды - потенциальные противовирусные, противогрибковые препараты:

### Синтез флавоноидных соединений

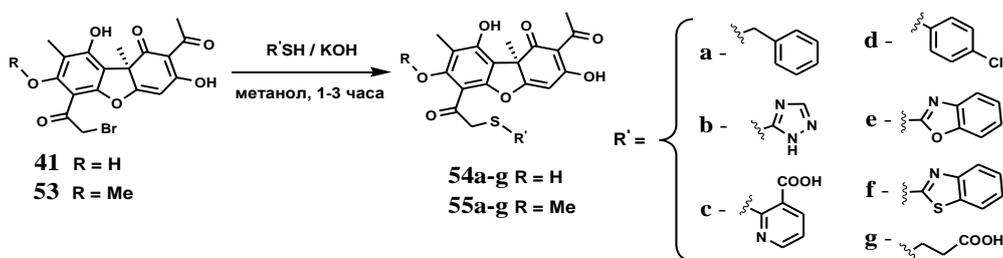


### Синтез тиазольных соединений



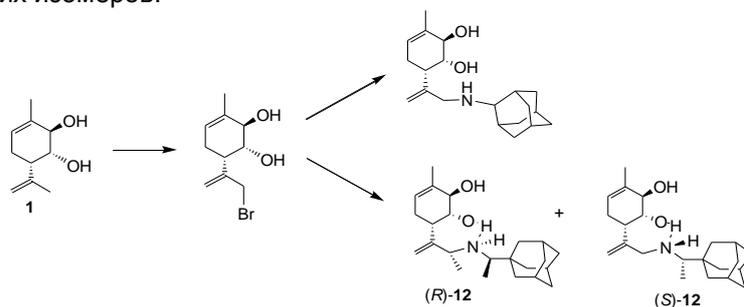
В Институте общей генетики был проведен скрининг веществ в тест-системе *M. smegmatis*. По результатам тестирования все вновь полученные производные оказались менее активны, чем аминотиазолы **41**. Однако выявлена определенная зависимость активности соединения от природы заместителя в тиазольном цикле. Большие жестко закрепленные заместители (фенил, пиридил и семикарбазидные заместители) резко снижают биологическую активность соединения. Остальные соединения с заместителями небольшого объема проявили примерно одинаковую умеренную активность в тест-системе *M. Smegmatis*.

### Синтез сульфидов



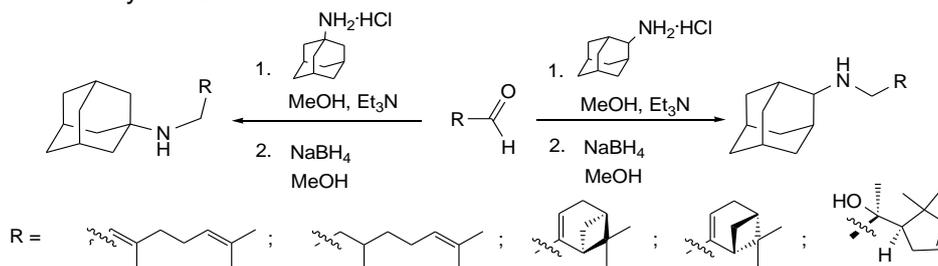
### Пункт 3. «Синтез производных каркасных соединений (на примере адамантана) с монотерпеноидами»

На основе диола **1** получены соединения, содержащие амантадиновый или римантадиновый фрагменты. В последнем случае проведено разделение эпимеров, с использованием расчетных методов и NOESY определено стереохимическое строение обоих изомеров.



Синтезирован набор новых азотсодержащих соединений, сочетающих адамантановый и монотерпеновый остовы. Изучена противовирусная активность полученных аминов в отношении пандемического вируса гриппа A/California/07/09 (H1N1)v. Обнаружено, что введение монотерпеноидного фрагмента приводит к

реанимации противовирусных свойств производных адамантана. Индекс селективности для большинства полученных аминов существенно превышает таковой для римантадина и амантадина. Соединения, содержащие остаток цитронеллала с 1- или 2-аминоадамантаном, показали наилучшие результаты среди всех полученных аминов.



### Междисциплинарный интеграционный проект СО РАН № 41

«Поиск и создание новых гепатопротекторных препаратов на основе природных тритерпеноидов для коррекции токсического и лекарственного поражения печени»

**Блок 2.** «Углубленное исследование механизмов гепатопротекторного действия тритерпеноидов на специфических патологических моделях» (2013-2014 г.г.).

**Пункт 1.** «Исследование гепатопротекторного действия пиперидинового и морфолинового производного дигидробетулоновой кислоты на модели хронического токсического гепатита»

Продолжались исследования механизма гепатопротекторного эффекта производных дигидробетулоновой кислоты (ДБК), которые ранее показали гепатопротекторные свойства на модели цитотоксического поражения печени, вызванного противоопухолевыми препаратами. В качестве иной экспериментальной модели была выбрана модель хронического гепатита, индуцируемого  $\text{CCl}_4$  и этанолом. Хронический гепатит является распространенным осложнением медикаментозной терапии, вызывающей метаболические и цитолитические повреждения гепатоцитов.

В опыт брали 100 самок беспородных крыс массой 150-180 г. Хронический гепатит вызывали внутрижелудочным введением четыреххлористого углерода в подсолнечном масле (0,01 мл  $\text{CCl}_4$  на 100 г массы тела) в течение шести недель. Действие  $\text{CCl}_4$  потенцировали добавлением в питьевую воду этанола (5%). Изучаемые агенты вводили в воде с твином внутрижелудочно в дозе 30 мг/кг со второй по шестую неделю на фоне введения гепатотоксинов. Референтный агент – тиоктовую кислоту – вводили аналогично группе сравнения. Контрольным животным вводили через рот водно-твиновую смесь. Через 6 недель животных умерщвляли мгновенной декапитацией и брали для исследования сыворотку крови и ткань печени.

В качестве биохимических критериев функции печени использовали показатели экскреторной функции печени (билирубин общий и прямой), цитолиза и холестаза (трансаминазы АЛТ и АСТ, щелочная фосфатаза), антиоксидантного статуса (малоновый диальдегид, активность каталазы), синтетической функции печени (общий белок, холестерин, триглицериды, мочевины), тканевого дыхания (лактатдегидрогеназа, глюкоза). Биохимические показатели определяли через 3 и 6 недель опыта с помощью фотометрических методов с использованием стандартных наборов реактивов. Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета программ «STATISTIKA-8»

По данным биохимического анализа, на фоне трехнедельного введения  $\text{CCl}_4$  и этанола пиперидиновое производное ДБК, также как и тиоктовая кислота, оказали стимулирующее влияние на активность каталазы, а также достоверно снизили активность АЛТ (в 1,5 и 1,7 раз соответственно), что свидетельствует об их антиоксидантной и мембраностабилизирующей активности (табл. 1). Кроме того,

пиперидин-ДБК существенно уменьшила концентрацию конъюгированного билирубина, что может свидетельствовать как об усилении синтетических процессов в гепатоцитах (глюкуронизация билирубина), так и о повышении транспорта связанного билирубина из гепатоцитов в желчные капилляры. Морфолин-ДБК и тиоктовая кислота не оказали в этот период положительного влияния на обмен билирубина.

Таблица 1. Биохимические показатели сыворотки крыс через 3 недели после индукции хронического гепатита

Группа	Бил-О	Бил-Пр	АЛТ	АСТ	ЩФ	МДА	КАТ
Контроль	1,37±0,33	1,42±0,20	2,44±2,20 ##	120,90± 8,77	579,70 ± 47,04	4,85±0,14	37,24±2,71 #
Морфолин-ДБК	0,82±0,32 ##	1,57±0,38	37,56±2,14 ###	141,10± 11,16	501,20 ± 46,07	5,14±0,10	39,83±2,22
Пиперидин-ДБК	1,66±0,36	0,88±0,24 ##	29,00±2,35 ***	121,00± 5,13	468,56 ± 11,60* #	4,61±0,09	43,54±1,16*
Тиоктовая к-та	2,56±0,47 (*0,055)	2,18±0,36 *	25,29±1,34 ***	128,80± 9,68	549,90 ± 33,81	4,99±0,21	45,26±1,59*

\*P<0,05; \*\*P<0,001; \*\*\*P<0,0001 различия с контролем достоверны  
# P<0,05, ##P<0,001; ###P<0,0001 различия с группой сравнения (тиоктовая кислота) достоверны

Оба производных ДБК, а также референс-соединение, увеличили концентрацию свободного белка в крови, а пиперидиновое производное, кроме того, повысило глюкозу (табл. 2). Эти данные можно рассматривать как дополнительное свидетельство стимуляции производными ДБК синтетических процессов в печени, которое может быть связано с активизацией внутриклеточного метаболизма или специфической активностью данных соединений. Повышение уровня глюкозы указывает на снижение ее утилизации тканями, однако в отсутствии изменений в активности ЛДГ эти данные можно связать с небольшим угнетением гликолиза (табл. 2).

Таблица 2. Биохимические показатели сыворотки крыс через 3 недели после индукции хронического гепатита

Группа	ЛДГ	Хол	ТГ	ОБ	Мочев	Креа
Контроль	330,11±27,82	2,22±0,14	1,47±0,01	79,06±2,20 ##	26,36±1,09	69,89±1,28
Морфолин-ДБК	314,70±19,85	2,60±0,25	1,48±0,01	93,80±4,70* *	23,15±1,95 #	70,30±1,01
Пиперидин-ДБК	318,30±18,84#	2,64±0,15	1,49±0,01	93,01±2,71* **	30,80±0,70 **	74,50±0,68 ***
Тиоктовая к-та	245,60±28,62	2,44±0,16	1,49±0,02	88,90±2,11* *	28,93±0,88	69,33±1,19

\*P<0,05; \*\*P<0,001; \*\*\*P<0,0001 различия с контролем достоверны  
# P<0,05, ##P<0,001; ###P<0,0001 различия с группой сравнения (тиоктовая кислота) достоверны

Через 6 недель от начала эксперимента отмечалась положительная динамика в экскреции связанного билирубина во всех группах кроме животных с введением пиперидин-ДБК (табл. 3). Вместе с тем обнаружено, что оба производных ДБК и, в меньшей степени тиоктовая кислота, достоверно снижают активность ЛДГ - гликолитического фермента, участвующего в одном из конечных этапов превращения глюкозы (катализ взаимопревращения пирувата и лактата) (табл. 4). Эти данные, вместе с тенденцией снижения глюкозы, свидетельствуют об угнетении аэробного дыхания, что является характерным признаком развития гипоксических процессов в тканях. Оба производных ДБК в меньшей степени, чем референс-соединение, повышают уровень триглицеридов, увеличение которых считается признаком нарушения липидного обмена в печени (табл. 4).

Таблица 3. Биохимические показатели сыворотки крыс через 6 недель после индукции хронического гепатита

Группа	Бил-О	Бил-Пр	АЛТ	АСТ	ЩФ	МДА	КАТ
Контроль	1,79±0,52	0,71±0,16	52,00±3,15	149,70±8,10	386,70±26,15	4,40±0,23	40,64±5,02
Морфолин-ДБК	1,48±0,36	1,11±0,18	44,25±1,80	127,87±6,96	413,30±36,12#	4,04±0,10	48,77±4,47
Пиперидин-ДБК	0,74±0,26#	1,01±0,31	51,20±3,72	120,55±4,73**	440,60±38,60#	5,55±0,72#	43,95±6,04
Тиоктовая к-та	1,96±0,24	0,93±0,10	50,55±3,05	129,67±7,83	328,30±16,69	4,46±0,09	47,26±4,32

\*\*P<0,001 различия с контролем достоверны

# P<0,05 различия с группой сравнения (тиоктовая кислота) достоверны

Таблица 4. Биохимические показатели сыворотки крыс через 6 недель после индукции хронического гепатита

Группа	ЛДГ	Глю	Хол	ТГ	ОБ	Мочев	Креа
Контроль	254,55±15,72	7,30±0,44	2,11±0,10	3,26±0,44#	71,35±2,45	27,97±1,06	56,10±1,83
Морфолин-ДБК	183,44±11,95**#	7,64±0,25	2,16±0,16	3,20±0,44#	64,14±2,21*###	25,00±1,28	58,55±2,99
Пиперидин-ДБК	160,55±9,62***#	7,130,42	2,24±0,18	4,00±0,31	72,22±4,38	28,48±1,50	59,75±2,73
Тиоктовая к-та	203,80±13,41*	6,90±0,29	2,36±0,14	4,42±0,21*	79,15±2,68	26,78±1,05	58,40±1,98

\*P<0,05; \*\*P<0,001; \*\*\*P<0,0001 различия с контролем достоверны

# P<0,05, ###P<0,0001 различия с группой сравнения (тиоктовая кислота) достоверны

Не отмечено влияния изучаемых соединений на динамику весовых индексов печени в эксперименте (масса органа/100 г массы тела) (табл. 5). Вместе с тем, обнаружено значительное повышение массы селезенки под действием морфолин-ДБК в конце опыта. Кроме того, под влиянием этого же агента выявлено достоверное повышение массы тимуса.

Таблица 5. Весовые индексы внутренних органов крыс в опыте с индуцированным хроническим гепатитом (г/100 г массы тела)

Группа	печень		селезенка	тимус
	3 нед.	6 нед.	6 нед.	6 нед.
Контроль	4,40±0,13	3,86±0,19	0,242±0,006	0,141±0,008
Морфолин-ДБК	4,90±0,23	4,08±0,13	0,410±0,057**#	0,154±0,007#
Пиперидин-ДБК	4,37±0,20	4,07±0,15	0,266±0,010	0,120±0,007
Тиоктовая к-та	4,56±0,11	4,45±0,23	0,254±0,005	0,126±0,009

\*\*P<0,001 различия с контролем достоверны

# P<0,05 различия с группой сравнения (тиоктовая кислота) достоверны

Таким образом, в условиях хронического поражения печени четыреххлористым углеродом с этанолом отмечены признаки положительного влияния производных ДБК на экскреторную и синтетическую функцию печени, поддержание ее антиоксидантного статуса, уменьшение выраженности нарушения липидного обмена. Вместе с тем, под действием соединений выявлено снижение утилизации глюкозы в метаболических циклах, что может вести к тканевой гипоксии. Установлена выраженная стимуляция селезенки и тимуса под действием морфолин-ДБК, свидетельствующая об иммуногенном характере действия этого соединения. Окончательный вывод об эффектах производных ДБК в условиях данной модели можно сделать после морфологического анализа тканевого региона печени.

**Пункт 2.** «Исследование иммуотоксических свойств морфолинового и пиперидинового производного дигидробетулоновой кислоты (ДБК) на модели клеточного типа иммунной реакции - гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) на эритроциты барана (ЭБ)»

Оценку влияния агентов на клеточный иммунный ответ проводили в соответствии с «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств» 2005г, утвержденных Фармакологическим комитетом с использованием в качестве модели реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) к эритроцитам барана (ЭБ). Активность изучаемых соединений сравнивались с контролем, а также с их структурным аналогом (ДБК).

Изучаемые вещества вводили до иммунизации мышам самкам линии С57BL/6J однократно внутрижелудочно в дозе 50 мг/кг. Контрольным животным в те же сроки вводили физиологический раствор. Через сутки после введения агентов индуцировали реакцию ГЗТ внутрибрюшинным введением суспензии эритроцитов барана ( $10^7$  ЭБ). Для оценки величины реакции мышам на пятые сутки после иммунизации в подушечку одной из лап вводили разрешающую дозу антигена ( $10^8$  ЭБ), в контрольную лапу - физиологический раствор. Через 24 часа после инъекции определяли массу опытной и контрольной лап и по разнице их масс, выраженной в процентах, рассчитывали индекс реакции (ИР).

Через сутки после введения агентов всем мышам ввели внутрибрюшинно суспензию эритроцитов барана ( $10^7$  ЭБ). На 5-е сутки после введения иммунизации подушечку одной из лап вводили разрешающую дозу антигена ( $10^8$  ЭБ), в контрольную лапу - физиологический раствор. Через 24 часа после субпланарной инъекции ЭБ мышам забивали и определяли массу опытной и контрольной лап.

Установлено (табл. 6), что дигидробетулоновая кислота (ДБК) и ее пиперидиновое производное оказывают выраженный иммунодепрессивный эффект (около 40 %). Морфолиновое производное ДБК, напротив, не оказывает влияния на развитие клеточного иммунного ответа. Таким образом, введение морфолинового заместителя в молекулу ДБК отменяет ее иммунодепрессивный эффект.

Таблица 6. Влияние исследованных агентов на степень развития реакции ГЗТ при однократном введении мышам линии С57BL/6

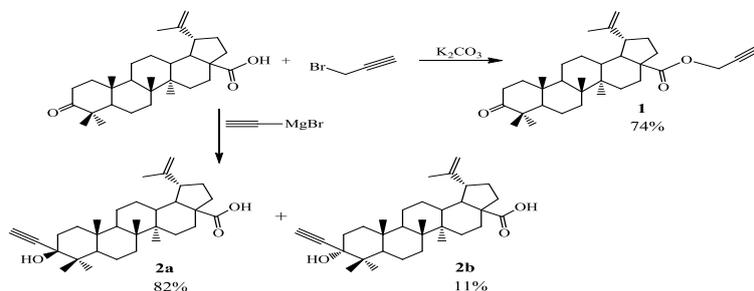
Агент	Доза	Индекс реакции ГЗТ, %	Индекс реакции ГЗТ, относительно контроля, %	Эффект, %
Контроль		14,6±0,6	100	0%
морфолин-ДБК	50 мг/кг	14,7±0,7	100	0%
пиперидин-ДБК	50 мг/кг	8,5±1,2***	58,2	42%
ДБК	50 мг/кг	8,9±1,6***	60,1	40%

\*P<0,001 относительно контроля, ###P<0,001 относительно ДБК.

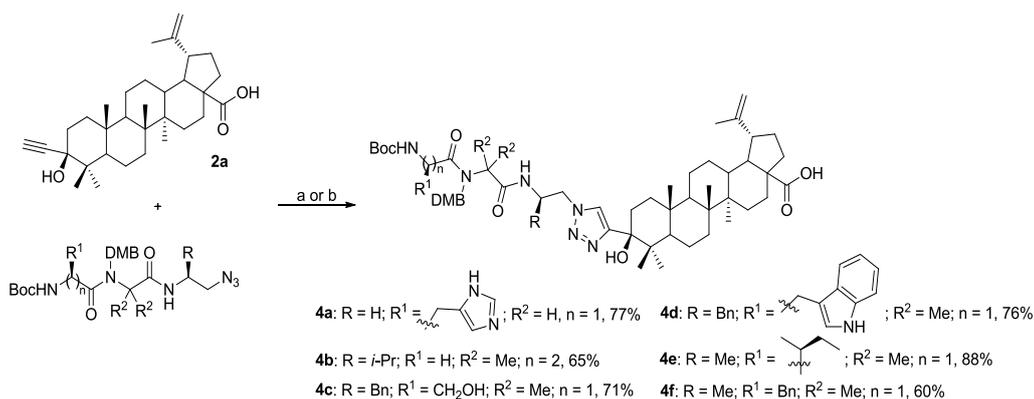
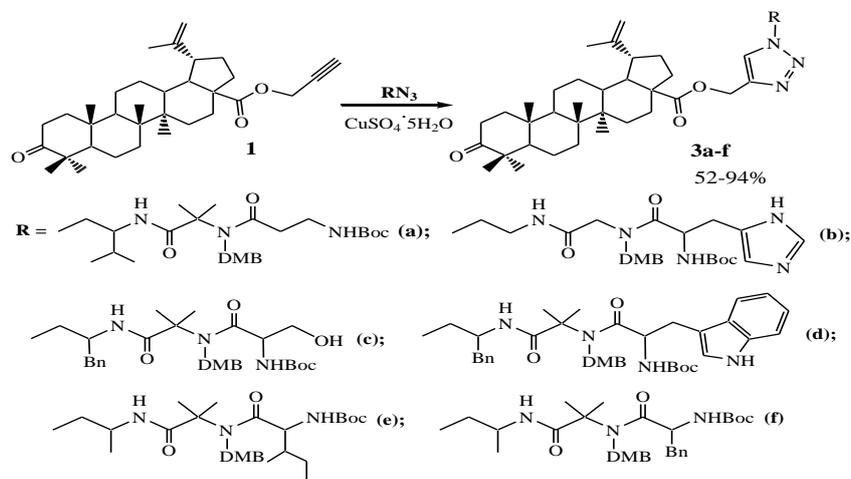
**Блок 1. «Разработка методов синтеза 1,2,3-триазолилпептидных производных бетулоновой кислоты и изучение их фармакологических свойств»**

**Синтетические исследования**

Осуществлен синтез ацетиленовых производных бетулоновой кислоты – *O*-(3-оксо-20(29)-лупен-28-оил)-оксипроп-2-ина и 3-этинил-3-гидрокси-20(29)-лупен-28-овой кислоты, а также осуществлена их модификация:

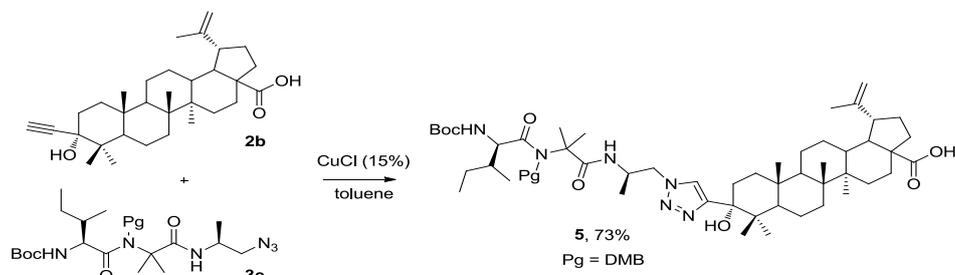


На основе представленных на схеме ацетиленов была получена новая серия тритерпеновых производных **3a-f** и **4a-f**, **5**, содержащих фрагменты 1,2,3-триазолопептидов.



(a) sodium ascorbate (40%), CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (10%), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O (10:1) or THF-H<sub>2</sub>O (1:1); (b) CuCl (15%), toluene or butan-1-ol.

Минорный продукт этинирования **2b** также был введен в реакцию с пептидом с образованием соединения **5** с выходом 73%.



### Фармакологические исследования

Противовоспалительную активность соединений оценивали по снижению воспалительного отека лапы неинбредных мышей самцов, вызванного субпланарным введением 0,05 мл 0,1% раствора гистамина. Агенты в виде водно-твиновой взвеси вводили внутривентрально в дозе 50 мг/кг за 1 час до флоггена. Контрольным животным вводили тем же способом водно-твиновую взвесь.

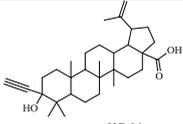
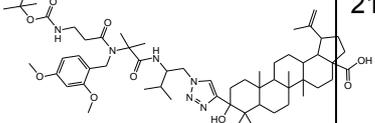
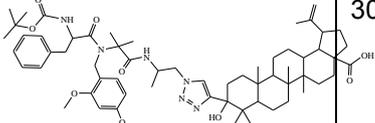
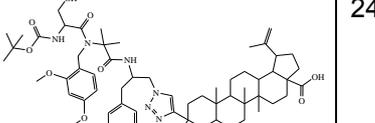
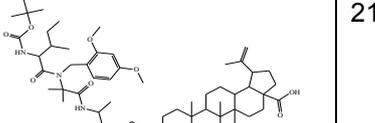
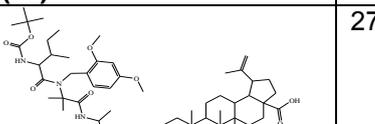
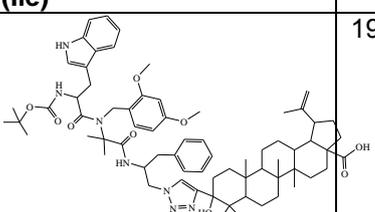
Референсным препаратом являлся индометацин (Fluka), который вводили двум группам мышей: (1) – аналогично изучаемым соединениям (50 мг/кг, внутривентрально), (2) – традиционным внутривентральным способом введения в среднеэффективной дозе 20 мг/кг для мышей. Величину отека определяли через 6 час. после введения агентов по разности масс воспаленной и здоровой лап. Для каждого животного рассчитывали индивидуальный индекс воспаления как отношение этой разности к массе здоровой лапы. В каждой опытной группе определяли относительную величину отека против контрольной группы, отек в который принимали за 100%. Противовоспалительную активность рассчитывали как разность между 100% и относительной величиной отека в соответствующей опытной группе. Дополнительно рассчитывали противовоспалительный эффект относительно эффекта индометацина в дозе 50 мг/кг при внутривентральном введении.

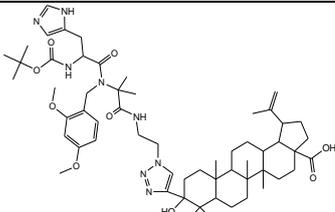
Результаты обрабатывали статистически с помощью пакета программ «STATISTIKA 6». Различия считали достоверными с вероятностью  $P < 0.05$ .

Согласно данным таблицы 7, производные бетулоновой кислоты с аланиновым, сериновым, триптофановым и гистидиновым остатками при внутривентральном введении мышам оказывают достоверный противовоспалительный эффект, снижая гистаминовый отек соответственно на 31,5, 23,0, 38,8 и 33,4% относительно контроля. Изолейциновый стереоизомер HG-25 уменьшает воспаление в лапе на 31,2%, в то время как его аналог не оказывает достоверного противовоспалительного действия (эффект 14, 5%). Фенилаланиновое производное не проявляет соответствующей активности.

По выраженности эффекта производное триптофана практически не отличается, а производные гистидина, аланина и изолейцина (HG-25) недостоверно (в 1,2- 1,3 раза) уступают индометацину, вводимому внутривентрально в той же дозе. При этом активность трех последних агентов сопоставима с индометацином при его внутривентральном введении в среднеэффективной дозе для мышей (20 мг/кг). Активность серинового производного в 1,5 раз ниже референсного препарата при внутривентральном введении.

Таблица 7. Исследование противовоспалительного соединений на гистаминовой модели воспаления

Агент	Индекс воспалительного отека %	Противовоспалительная активность, %	Противовоспалительный эффект агентов относительно индометацина (50 мг/кг, в/бр) %
Контроль	31,7±2,1 <sup>####</sup>	0	-
 <p style="text-align: center;">HG-16</p>	23,7±2,1*	25,2	60
 <p style="text-align: center;"><b>(Ala)</b></p>	21,7±2,0 <sup>**</sup>	31,5	75
 <p style="text-align: center;"><b>(Phe)</b></p>	30,9±2,3 <sup>####</sup>	2,5	6
 <p style="text-align: center;"><b>(Ser)</b></p>	24,4±2,3* <sup>#</sup>	23,0	55
 <p style="text-align: center;"><b>(Ile)</b></p>	21,8±3,2*	31,2	74,3
 <p style="text-align: center;"><b>(Ile)</b></p>	27,1±1,6 <sup>###</sup>	14,5	34,5
 <p style="text-align: center;"><b>(Trp)</b></p>	19,4±1,2 <sup>***</sup>	38,8	92

 <b>(His)</b>	21,1±1,2***	33,4	79
Индометацин в/бр 50 мг/кг	18,4±1,3***	42,0	100
Индометацин в/жел 20 мг/кг	21,3±1,7**	32,8	78

\*P<0,05, \*\*P<0,01, \*\*\*P<0,001 относительно контрольной группы;

#P<0,05, ##P<0,01, ###P<0,001 относительно группы с внутрибрюшинным введением индометацина (50 мг/кг);

\*\*P<0,01 относительно группы с внутрибрюшинным введением HG-16

Следует отметить заметный (25,2%) достоверный противовоспалительный эффект исходного продукта в синтезе (структурного аналога) аминокислотных производных - HG-16. Исходя из представленных данных, можно условно оценить вклад каждого из аминокислотных остатков в противовоспалительную активность синтезированного соединения. Если учесть, что активность исходного продукта составляет 60% от активности индометацина (при в/бр введении), то наличие триптофанового, гистидинового, аланинового и изолейцинового (HG-25) фрагмента усиливает его активность на 32,4, 19,5, 15,0 и 14,3% соответственно.

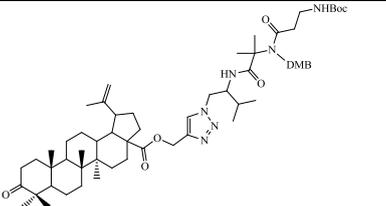
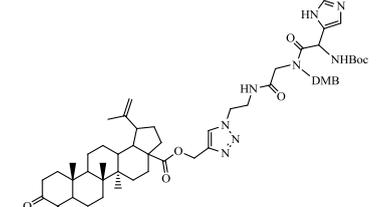
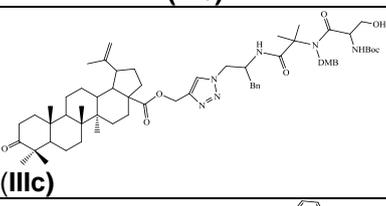
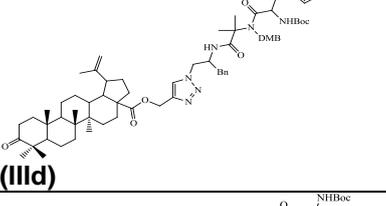
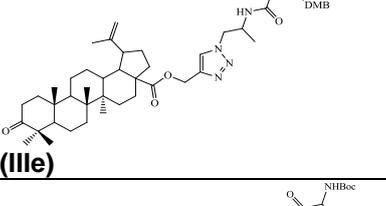
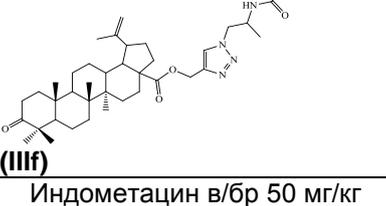
Введение серина практически не влияет, а изолейцинового изомера (HG-25) - уменьшает активность базовой молекулы на 25,5%. Необходимо отметить, что повышение активности исходного продукта в результате введения некоторых аминокислотных фрагментов следует рассматривать как тенденцию, так как различия в активности базового соединения и соответствующих аминокислотных производных статистически недостоверны (лишь у фенилаланинового производного они имеют значимый характер).

Таким образом, установлена высокая противовоспалительная активность у производных бетулоновой кислоты с триптофановым (HG-26), гистидиновым (HG-33), аланиновым (HG-19) и изолейциновым (HG-25) фрагментами в боковом заместителе, сопоставимая по выраженности с индометацином. Введение данных аминокислотных остатков усиливает противовоспалительные свойства исходной тритерпеноидной платформы на 32,4, 19,5, 15,0 и 14,3% соответственно. Введение серина не приводит к повышению активности базового соединения, а изолейциновый (HG-28) и фенилаланиновый заместители снижают его противовоспалительную активность.

В результате исследования эфиров бетулоновой кислоты и триазолов с аминокислотными фрагментами (по 28 положению) показано, что они обладают слабой противовоспалительной активностью. Лишь производные с изолейциновым (**IIIe**) и сериновым (**IIIc**) остатками проявили небольшой достоверный эффект. Активность соединений (**IIIa,b,d**) не имела статистически значимой величины, а агент (**IIIf**) не оказал противовоспалительного действия.

Все изученные соединения существенно уступают индометацину, вводимому парентерально в дозе 50 мг/кг, а (**IIIa**) также и перорально вводимому препарату в дозе 20 мг/кг.

Таблица 8. Исследование противовоспалительного эффекта 1,2,3-триазолов (IIIa-f) на гистаминовой модели воспаления

Агент	Индекс воспалительного отека %	Размер отека относительно контроля %	Противовоспалительная активность, %
Контроль	22.7±1.1 <sup>#####</sup>	100	0 <sup>###+++</sup>
 <b>(IIIa)</b>	19.7±1.1 <sup>##+</sup>	86.8	13.2 <sup>##+</sup>
 <b>(IIIb)</b>	17.6±2.5	77.5	22.5
 <b>(IIIc)</b>	18.1±1.6 <sup>*#</sup>	79.7	20.3 <sup>*#</sup>
 <b>(IIIld)</b>	20.1±1.6 <sup>##</sup>	88.5	11.5 <sup>##</sup>
 <b>(IIIle)</b>	17.4±1.5 <sup>*</sup>	76.6	23.4 <sup>*</sup>
 <b>(IIIlf)</b>	23.0±1.0 <sup>#####</sup>	101.3	0.0 <sup>###+</sup>
Индометацин в/бр 50 мг/кг	13.3±1.3 <sup>***</sup>	58.6	41.4 <sup>***</sup>
Индометацин в/жел 20 мг/кг	15.3±1.2 <sup>***</sup>	67.4	32.6 <sup>***</sup>

\*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001 относительно контрольной группы;

#P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001 относительно группы с внутрибрюшинным введением индометацина (50 мг/кг);

\*\*P<0.01 относительно группы с внутривенным введением индометацина (20 мг/кг)

### **Интеграционный проект СО РАН № 30**

«Разработка пролонгированных форм нейротоксинов для купирования аритмии на *in vivo* модели фибрилляции предсердий»

**Пункт 2.** «Поиск оптимального биосовместимого агента для увеличения и пролонгации денервирующего действия токсина ботулина типа А».

Рассмотрены различные агенты для изменения терапевтических свойств ботулотоксина типа А с целью денервации сердечной мышцы и последующего использования в лечении нарушений ритма. Оказалось, что низкомолекулярный клатрирующий агент глицирризиновая кислота, относящаяся к классу тритерпеноидных гликозидов и успешно применяемая в качестве комплексообразователя для ряда низкомолекулярных лекарственных средств, не проявляет выраженного эффекта на денервацию ботулотоксином типа А. Напротив, агенты из класса гликоаминогликанов (мукополисахаридов) проявляли различные эффекты. При первом этапе исследования было обнаружено, что в малых группах экспериментальных животных наблюдается существенный разброс в значениях порога внутримышечной электростимуляции (служащего индикатором денервирующего действия) как между разными животными, так и во времени. Второе обстоятельство можно объяснить различиями в локализации места инъекции между разными животными. Действительно, введение комплекса медленного высвобождения на различном расстоянии от кровеносных сосудов будет приводить к разной динамике высвобождения действующего вещества. Поэтому нами были как увеличены экспериментальные группы животных, так и уделено особое внимание однотипности и точности проведения инъекций. В продолжающихся исследованиях далее использовались только гликоаминогликаны.

Несмотря на то, что надропарин и гепарин показали себя на поисковом этапе как не совсем оптимальные агенты мы продолжили их исследование по двум причинам:

они широко применяются в клинической практике и немаловажным является вопрос возможного их побочного действия на разрабатываемый новый препарат ботулотоксина типа А, в частности важно исключить чрезвычайно опасный «эффект взрыва»;

они являются удачными препаратами сравнения той же химической природы что и агент-лидер.

Дополнительно в исследование был введен ещё один мукополисахарид – гиалуроновую кислоту, которая сейчас широко внедряется в клиническую практику.

Для приготовления раствора ботулотоксина типа А во всех экспериментах использовали препарат «Ксеомин» производства MERZ PHARMA GmbH & Co., KGaA (Германия), регистрационный номер ЛСР-004746/08, вспомогательные вещества сахароза и сывороточный альбумин человека, или препарат «Лантокс» производства Lanzhou Institute of Biological Products, (Китай), регистрационный номер ЛСР-001587/08, вспомогательные вещества желатин, декстран и сахароза.

В исследовании использовались следующие гликоаминогликаны: хитозан-гель и хитозан-золь (препараты «Хитогель» и «Хитозоль» производства ООО "Биоаванта", наукоград Кольцово, Новосибирская область. Степень деацетилирования не менее 90%, мол. вес ~500kDa), фраксипарин ((надропарин) производства Санофи Винтроп Индустрия, Франция, регистрационный номер П N012486/01 с концентрацией 9500 МЕ в мл. Одна единица действия низкомолекулярного гепарина - надропарина (средняя молекулярная масса 4000-7000 Дальтон) была принята нами равной одной единице действия гепарина, т.е. 0,0077 мг), гепарин (раствор гепарина с концентрацией 5000 МЕ/мл производства ОАО «Синтез» г. Курган, регистрационный номер Р N000116/01. Одна единица действия гепарина равна 0,0077 мг международного стандарта гепарина, т.е. в 1 мг препарата содержится 130 МЕ (Першин Г.Н., Гвоздева Е.И. Учебник фармакологии - Москва: Медгиз , 1961 - с.405)); гиалуроновая кислота (производства DSM Nutritional

Products Europe Ltd., Basel, Switzerland) получена ферментативным путём, 1%-ный готовый к употреблению раствор полимера с молекулярным весом 1.45 – 1.77 MDa стабилизированный 1% феноксиэтанола.

Нами приготавливались экспериментальные препараты в виде составов, содержащих ботулотоксин типа А и мукополисахарид, взятые в соотношении 1: ( $10^3$ -  $10^9$ ), предпочтительно 1:( $10^6$ - $10^8$ ) по массе соответственно и физраствор при следующем содержании компонентов:

ботулотоксин типа А	1 - 200 ЕД/мл
мукополисахарид	0,1- 50 мг/мл
физиологический раствор	0,1 - 50 мл

В качестве мукополисахарида использованы хитозан, гепарин, надропарин, гиалуроновая кислота. Состав готовят путем смешивания водных растворов компонентов состава в заданных пропорциях. Дополнительным преимуществом состава является возможность его приготовления непосредственно в клинике из коммерчески доступных препаратов ботулотоксина и мукополисахарида, что даёт возможность тонкой настройки необходимых свойств.

При увеличении соотношения активных компонентов в составе (ботулотоксин типа А/ мукополисахарид) выше  $1:10^9$  по массе возникают сложности с приготовлением терапевтически приемлемых инъекций. Например, при соотношении ботулотоксин типа А/хитозан, равном  $1:10^9$  и активности ботулотоксина 40 ЕД (соответствует 1 нг), необходимое количество хитозана составляет 1 г, что для клинически приемлемых концентраций хитозана в инъекции 2% приводит к объёму инъекции порядка 50 мл. Такой объём является избыточным для терапии. При уменьшении соотношения активных компонентов в составе (ботулотоксин типа А/ мукополисахарид) ниже  $1:10^3$  по массе, эффективность состава значительно снижается, приближаясь к таковой для обычных препаратов ботулотоксина типа А.

#### **Биологические испытания полученных фармацевтических составов**

Оценка эффективности и безопасности применения ботулотоксина тип А в фармацевтических составах производилась по сравнению с растворами коммерческих препаратов ботулотоксина типа А в физрастворе в той же дозе, выраженной в ЕД.

Исследование проводилось в рамках «Good Laboratory Practice», в соответствии с правовыми и этическими нормами обращения с животными, и одобрением локального этического комитета. Для каждого эксперимента использовали две группы экспериментальных животных по 10 крыс Вистар в каждой. Каждой группе в правое бедро вводился ботулотоксин типа А, разведенный в 0,9% растворе натрия хлорида (физ. раствор); в левое бедро вводился фармацевтический состав (№1-6).

Наркоз: эфир

Объем инъекции: 0,5 мл в каждое бедро.

Метод введения: в/м, в три инъекционные точки (задняя, медиальная, латеральная поверхности бедра) по 0,16 мл в каждую.

Сравнение результатов проводили методом оценки сокращения мышц бедра в ответ на электростимуляции. Сравнялось изменение минимального порога внутримышечной электростимуляции с течением времени. Измерение порога электростимуляции проводилось внутримышечно при помощи двух стерильных стальных микроэлектродов и аппарата ERA 300 (Biotronic, США). Данные микроэлектроды временно, на период измерения, вводились внутримышечно на глубину около 4 мм в область наружной поверхности бедра мышцы, на расстоянии 10 мм друг от друга. Увеличение минимального порога внутримышечной электростимуляции, выраженное в Вольтах, свидетельствует о наступлении денервации мышц. Степень денервации, а следовательно и физиологическое действие ботулотоксина и составов на его основе, оценивалось численно по соотношению полученного значения к сравнительному. Были приготовлены следующие фармацевтические составы:

Состав №1: содержит ботулотоксин типа А (20 ЕД/мл) и хитозан в соотношении 1 к  $4,4 \times 10^7$  по массе.

Состав №2: содержит ботулотоксин типа А (50 ЕД/мл) и хитозан в соотношении 1 к  $1,76 \times 10^7$  по массе.

Состав №3: содержит ботулотоксин типа А (20 ЕД/мл) и гепарин в соотношении 1 к  $1,6 \times 10^7$  по массе.

Состав №4: содержит ботулотоксин типа А (60 ЕД/мл) и гепарин в соотношении 1 к  $5,3 \times 10^6$  по массе.

Состав №5: содержит ботулотоксин типа А (20 ЕД/мл) и надропарин в соотношении 1 к  $8 \times 10^6$  по массе.

Состав №6: содержит ботулотоксин типа А (60 ЕД/мл) и надропарин в соотношении 1 к  $2,67 \times 10^6$  по массе.

Если минимальный порог внутримышечной электростимуляции составлял для состава №1:  $4,0 \pm 0,2$  В, а у контроля  $2,0 \pm 0,12$  В, то физиологическое действие состава №1 в данный момент измерений повышено в 2 раза по сравнению с коммерческим препаратом ботулотоксина.

Перед инъекциями в разных группах наблюдалась общая высокая активность экспериментальных животных. В первый день после инъекций наблюдалась наркотическая седация. Через неделю после инъекций объективно паралич всех нижних конечностей, передвижение за счет верхних конечностей у всех крыс. Крысы после инъекций 10 ЕД ботулотоксина типа А умеренно заторможены, крысы после инъекций 30 ЕД ботулотоксина типа А выражено заторможены. Минимальные пороги внутримышечной электростимуляции составляли для состава: №1  $4,0 \pm 0,1$  В (контроль  $2,5 \pm 0,1$  В, исходно  $1,5 \pm 0,1$  В), состава №2  $10,0 \pm 0,4$  В (контроль  $3,0 \pm 0,1$  В, исходно  $1,0 \pm 0,1$  В).

Через 2 недели после инъекций объективно паралич всех нижних конечностей, передвижение за счет верхних конечностей у всех крыс. Крысы после инъекций 10 ЕД ботулотоксина типа А умеренно заторможены, крысы после инъекций 25 ЕД ботулотоксина типа А выражено заторможены. Крысы потеряли в весе, отказ от пищи и воды. Минимальные пороги внутримышечной электростимуляции составляли для состава №1:  $6,0 \pm 0,3$  В (контроль  $2,5 \pm 0,2$  В), состава №2:  $10,0 \pm 0,5$  В (контроль  $2,3 \pm 0,1$  В).

Через 3 недели после инъекций объективно паралич всех нижних конечностей, передвижение за счет верхних конечностей у всех крыс. В динамике активность крыс выросла. Активно пьют, едят. Минимальные пороги внутримышечной электростимуляции составляли для состава №1:  $4,0 \pm 0,1$  В (контроль  $2,0 \pm 0,1$  В), состава №2:  $5,0 \pm 0,2$  В (контроль  $1,8 \pm 0,1$  В).

Через 4 недели после инъекций объективно, крысы активны, парез нижних конечностей. Минимальные пороги внутримышечной электростимуляции составляли для состава №1:  $4,0 \pm 0,2$  В (контроль  $2,0 \pm 0,12$  В), состава №2:  $5,0 \pm 0,3$  В (контроль  $2,0 \pm 0,2$  В).

Для составов №№3-6 обнаружилось влияние на высвобождение ботулотоксина – максимум эффекта наблюдался не на первой неделе после инъекции, а на второй неделе, но абсолютное значение отличий от контроля было не столь велико, как в случае хитозана. Так, для состава №3 минимальные пороги внутримышечной электростимуляции на второй неделе составляли  $1,8 \pm 0,1$  В (контроль  $2,3 \pm 0,1$  В, исходно  $1,0 \pm 0,1$  В), а для состава №5  $2,2 \pm 0,1$  В (контроль  $1,5 \pm 0,1$  В, исходно  $1,2 \pm 0,1$  В). Аналогичные результаты были получены и для составов №4 и №6. Вероятно, гепарин довольно прочно удерживает ботулотоксин типа А, препятствуя его биологическому действию, по сравнению с коммерческими препаратами, тогда как низкомолекулярный надропарин напротив – усиливает действие ботулотоксина.

Токсическое действие новых составов оценивалось по гисто-морфологическому исследованию. Для оценки общетоксического действия ботулотоксина и его комплексов было проведено гистологическое исследование внутренних органов экспериментальных животных, крыс Вистар. При микроскопическом анализе формалин-фиксированных и заключенных в парафин образцов тканей печени, почек, селезенки, сердца, скелетной мускулатуры и головного мозга не было обнаружено никаких морфологических признаков патологических изменений. Поэтому было сделано заключение об отсутствии поражающего воздействия

препаратов ботулотоксина типа А и заявляемых фармацевтических составов на его основе в исследуемых дозировках на ткани и органы экспериментальных животных. Исследование подавления индукции фибрилляции предсердий путем инъекции фармацевтического состава, содержащего ботулотоксин типа А в эпикардиальные жировые подушки.

Испытание проводили на группе из 10 собак с использованием фармацевтического состава № 2. Эпикардиальные жировые подушки, содержащие правые центры ганглионарных сплетений левого предсердия были выделены через правую боковую торакотомию. В группе опыта (5 собак) в каждую из двух правых жировых подушек вводилось по 1 мл раствора 50 ЕД ботулотоксина типа А + хитозан (в общей сложности 100 ЕД ботулотоксина типа А - 2 мл, фармсостав № 2). В группе контроля (5 собак) в каждую из двух жировых подушек вводилось по 1 мл раствора 50 ЕД ботулотоксина типа А + 0,9% раствор натрия хлорида (в общей сложности 100 ЕД ботулотоксина типа А - 2 мл).

Электрофизиологические эффекты были оценены через 1, 2, 3 и 4 недели с и без шейной стимуляцией блуждающего нерва. Эффект повышения степени индукции фибрилляции предсердий за счет шейной стимуляции блуждающего нерва был достигнут в обеих группах собак. Данный эффект был блокирован введением опытного и контрольного раствора ботулотоксина в целевых дозах, в вышеописанные зоны, в обеих группах. В группе контроля блок вагусного эффекта исчез на 8-й день периода наблюдения. В группе опыта блок вагусного эффекта сохранялся **более 30 дней** периода наблюдения. Таким образом, временное подавление эффекта снижения степени индукции фибрилляции предсердий инъекцией ботулотоксина в эпикардиальные жировые подушки левого предсердия было продлено более чем до 30 дней (не менее чем в 4 раза) применением фармсостава № 2.

Использование предлагаемого фармацевтического состава, содержащего ботулотоксин типа А, позволит повысить фармакологическую активность последнего, уменьшить необходимую разовую дозу для достижения необходимого терапевтического эффекта, обеспечить пролонгацию действия ботулотоксина, уменьшить побочные эффекты ботулотоксина.

В дальнейших повторных экспериментах нами использовались составы с концентрацией ботулотоксина типа А 20 ЕД/мл, что обеспечивает с одной стороны надёжную детекцию вызываемых эффектов, а с другой стороны приемлемый уровень расхода дорогостоящего ботулотоксина типа А. Также в исследование была вовлечена гиалуроновая кислота в виде состава содержащего ботулотоксин типа А (20 ЕД/мл) и гиалуроновую кислоту в соотношении 1 к  $2 \times 10^7$  по массе, а также проведено сравнительное исследование препаратов хитозан-гель и хитозан-золь в идентичных концентрациях по гликоаминогликану.

Преимущество предлагаемых составов ботулотоксина с мукополисахаридом состоит в том, что одновременно достигаются два значимых фактора – уменьшение необходимой терапевтической дозы с увеличением продолжительности действия препарата, а также уменьшение побочных действий в виде нежелательной денервации не задействованных в эксперименте мышц и развития системных эффектов.

Полученные данные свидетельствуют о том, что составы на основе хитозан-золя обладают как наибольшим по длительности действием так и максимальным терапевтическим эффектом при той же дозе по сравнению с другими исследованными гликоаминогликанами.

**Программа фундаментальных исследований Президиума РАН № 5.**  
«Фундаментальные науки – медицине»

**Проект ФНМ-10.** «Новые противоопухолевые агенты на основе природных соединений, подвергнутых направленной химической модификации»

Синтезирован ряд производных дезоксиголевой кислоты комбинированной модификацией кольца С (12-оксо-9(11)-енового фрагмент) и кольца А ( $\alpha, \beta$ -

ненасыщенные карбонильные и 2-циано-3-оксо-1(2)-еновые фрагмент), а также поиск зависимости «структура – биологическая активность» (схема 1).

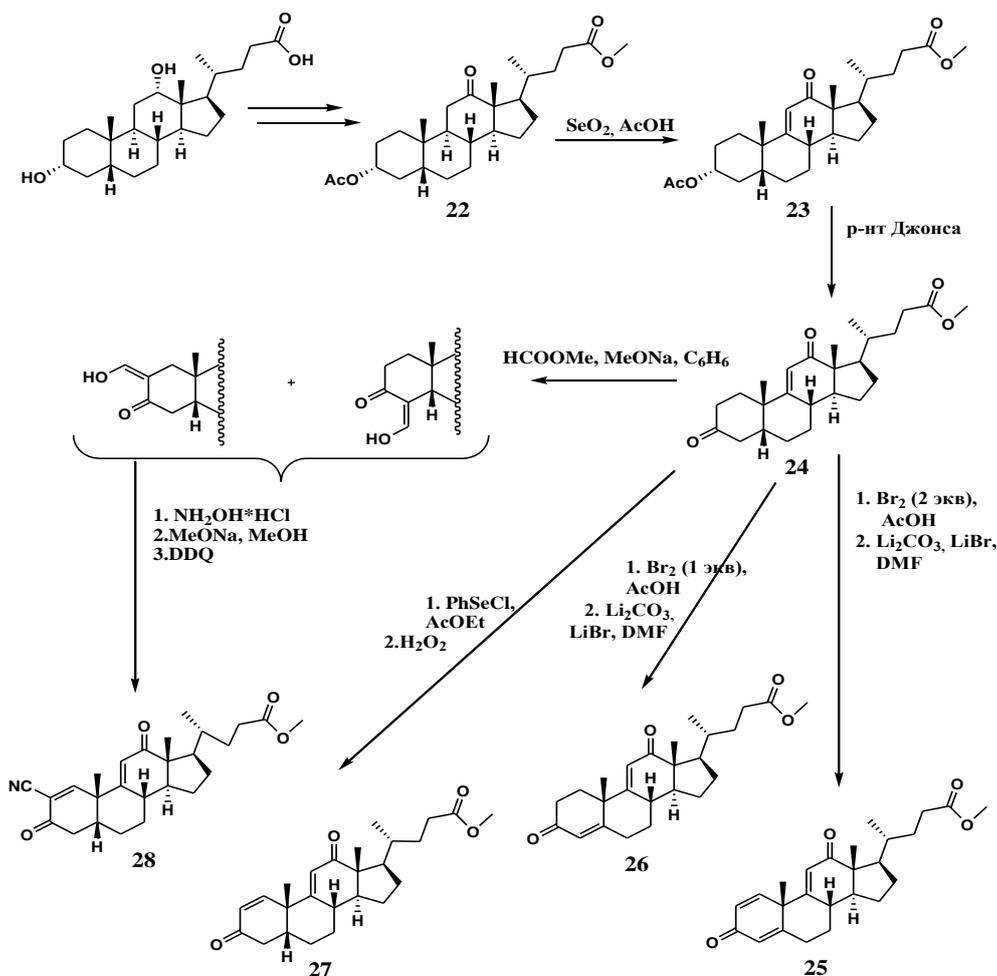


Схема 1

Все полученные соединения, а также полупродукты были выделены в индивидуальном виде и охарактеризованы с помощью методов ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  и масс-спектрометрии.

### Проект ФНМ-17

«Участие биогенных аминов мозга в молекулярном механизме действия на центральную нервную систему новой группы биологически активных соединений – бензопентатиепинов»

Основной задачей 2013 г. было установление способности соединения TX-2153 (и/или его метаболитов) проникать в мозг.

Для анализа наличия соединения TX-2153 нами разработана методика его обнаружения с помощью ВЭЖХ, позволяющая фиксировать нанogramмовые концентрации агента.

Проведенные предварительные эксперименты по извлечению соединения TX-2153 из плазмы крови и препаратов мозга позволили разработать достаточно эффективную систему выделения TX-2153 из биологических тканей.

При введении соединения TX-2153 животным зафиксировать его наличие в каких-либо образцах (плазма крови, мозг, печень) нам не удалось (см. рис. 1-4).

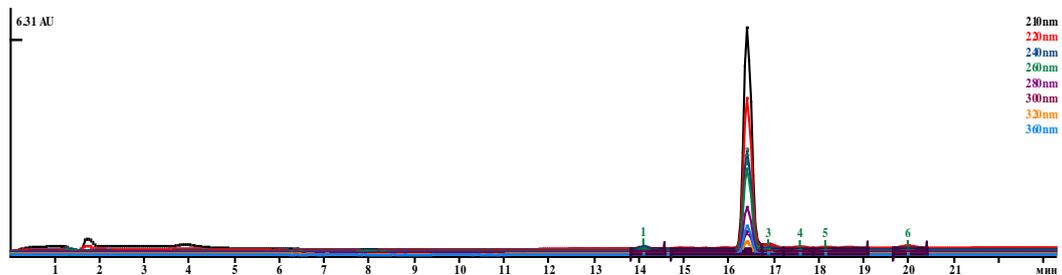


Рис. 1. Хроматограмма препарата TX-2153

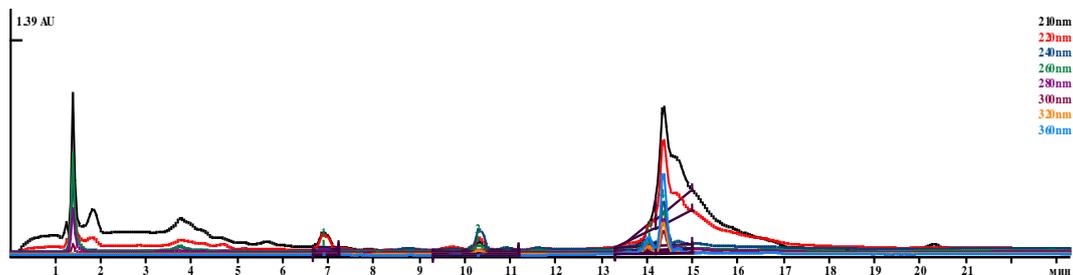


Рис. 2. Хроматограмма извлечения из плазмы крови

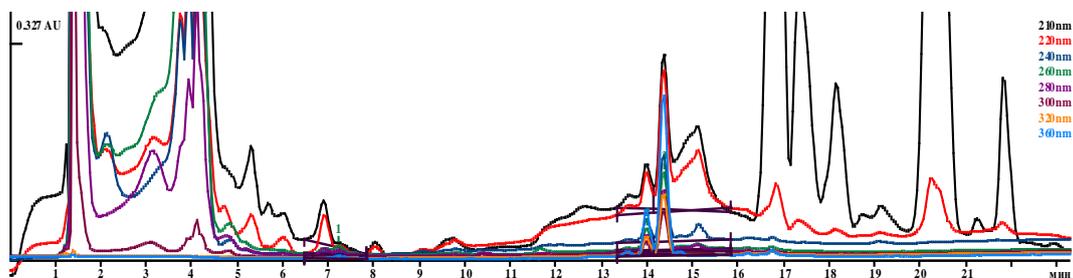


Рис. 3. Хроматограмма извлечения из препарата мозга

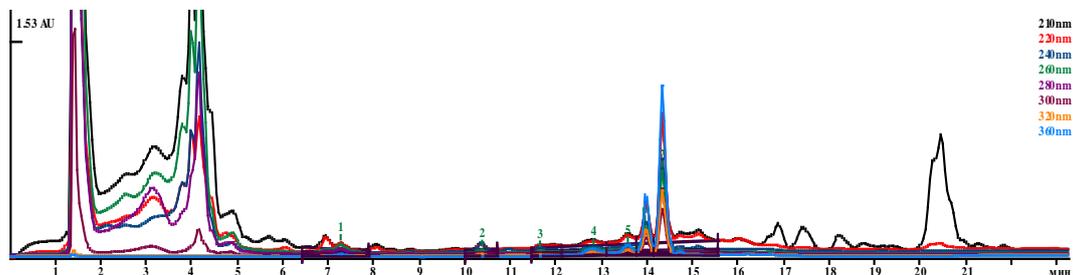


Рис. 4. Хроматограмма извлечения из препарата печени

В то же время, во всех экстрактах были зафиксированы два новых соединения (время удержания 13.5-14.5 мин.), отсутствующих в контрольных холостых пробах, взятых у животных, которым не вводили агента TX-2153. Наибольшая концентрация веществ наблюдалась в печени, несколько меньше в крови и ~ в 5 раз меньше в мозге.

Таким образом, при внутрибрюшинном и пероральном введении агент TX-2153 быстро подвергается метаболизму, давая два основных соединения, которые способны преодолеть ГЭБ и проникать в мозг.

Исходя из полученных результатов, следующей задачей стала разработка подходов к установлению строения обнаруженных метаболитов.

#### *Хроматографическое выделение метаболитов TX-2153 из экстракта печени*

Очистку экстракта печени (MeOH, 20 мл) проводили на картридже, заполненном сорбентами для хроматографии – верхний слой: мелкая фаза Agilent Prep-C<sub>18</sub> 10 мкм (USA) 200 мл и нижний слой: крупная фаза. Диасорб-100-C<sub>16</sub> 63-200 мкм (БиоХимМак, Россия) 50 мл.

Картридж промыли MeOH (600 мл), затем 0.1% водным раствором ТФУ (750 мл). Нанесли 20 мл метанольного раствора экстракта печени. Элюировали последовательно 0.1% водным раствором ТФУ (600 мл), 10% раствором MeOH в 0.1% водном растворе ТФУ (600 мл), 30% раствором MeOH в 0.1% водном растворе ТФУ (600 мл), 50% раствором MeOH в 0.1% водном растворе ТФУ (600 мл), 70% раствором MeOH в 0.1% водном растворе ТФУ (600 мл), 90% раствором MeOH в 0.1% растворе (ТФУ 300 мл), MeOH (300 мл).

Все фракции были проанализированы методом ВЭЖХ. Целевые вещества были обнаружены в элюате 90% раствора MeOH и 0.1% раствора ТФУ. Упарили досуха данную фракцию, получили 0.026 г TX-2361, состав которой анализировали методом ХМС, ПМР, ВЭЖХ.

Анализ хроматографических фракций методом ВЭЖХ:

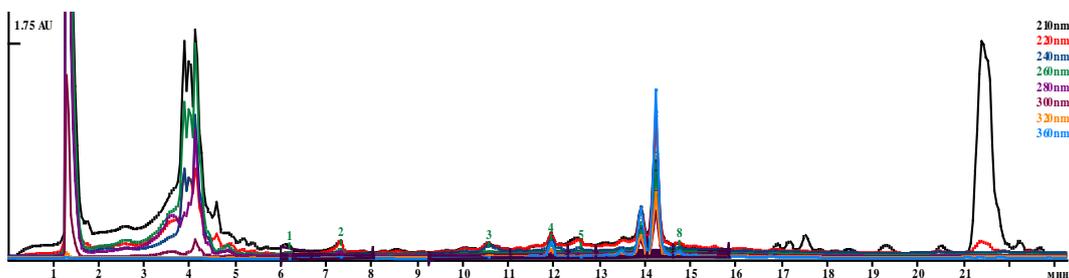


Рис.5. Исходный экстракт печени

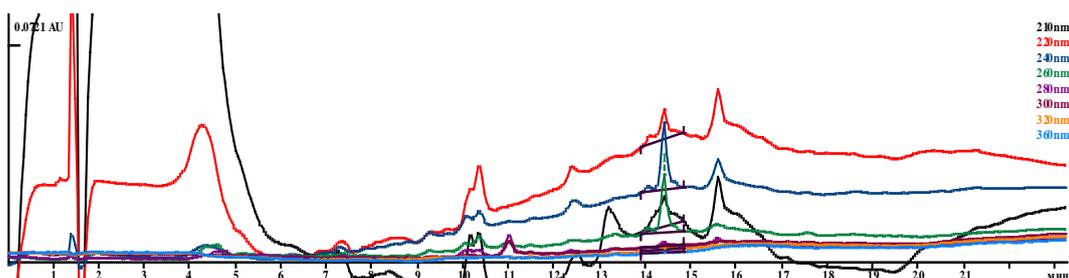


Рис.6. 30% MeOH-0.1% ТФУ

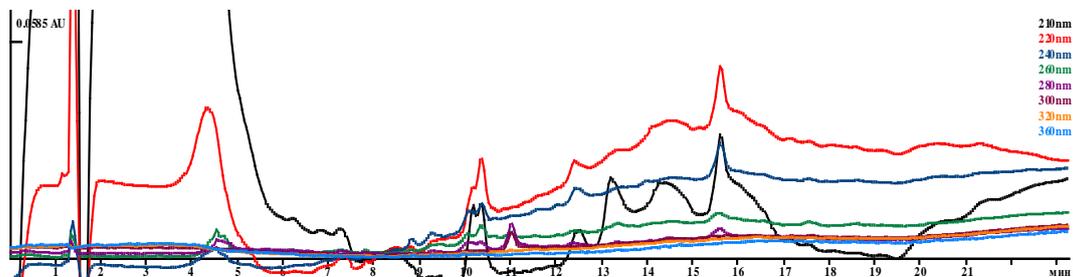


Рис.7. 50% MeOH-0.1% ТФУ

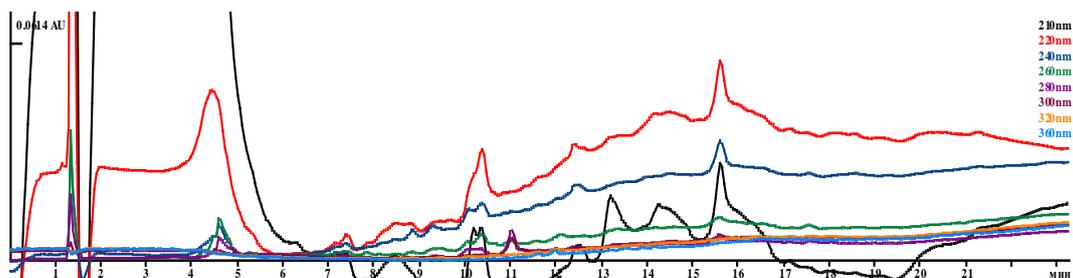


Рис.8. 70% MeOH-0.1% ТФУ

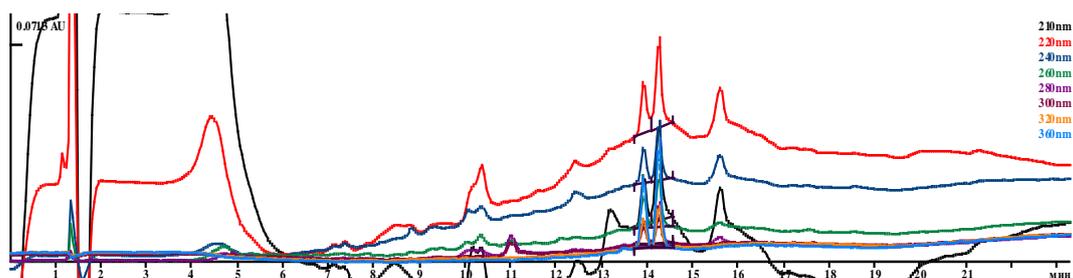


Рис.9. 90% MeOH-0.1% ТФУ

#### Методы ЯМР для установления структуры TX-2361

По данным спектра ЯМР  $^1\text{H}$  в структурах соединений TX-2361 присутствуют ароматические протоны (7.11, 6.79 м.д. и 7.69, 7.51 м.д., ~5:2). Наличие  $\text{CF}_3$ -группы в TX-2361 подтверждают данные спектра ЯМР  $^{19}\text{F}$  (86.75 и 86.74 м.д., ~2.5:1). Метаболиты в смеси находятся в соотношении ~2:5:1.

#### Метод ХМС для установления структуры TX-2361

Для анализа использовался газовый хромато-масс-спектрометр высокого разрешения Agilent 7200 Accurate Mass Q-TOF GC/MS, позволяющий сочетать газо-жидкостное хроматографическое разделение с определением точной массы ионов и изучением особенностей их распада.

По данным ХМС образец TX-2361 является смесью двух веществ в соотношении ~2:1. Основной компонент имеет  $[\text{M}]^+$  266,96, что отвечает химической формуле  $\text{C}_8\text{H}_4\text{F}_3\text{NO}_2\text{S}_2$ . Возможная структура метаболита представлена на схеме 1. Наличие карбоаматной группы подтверждается характерной потерей  $\text{CO}_2$  (44) в масс-спектре.

Минорный компонент TX-2361 имеет  $[M]^+$  236,99, что отвечает химической формуле  $C_8H_4F_3NO_2S_2$ . Две возможных структуры метаболита представлены на схеме 2.

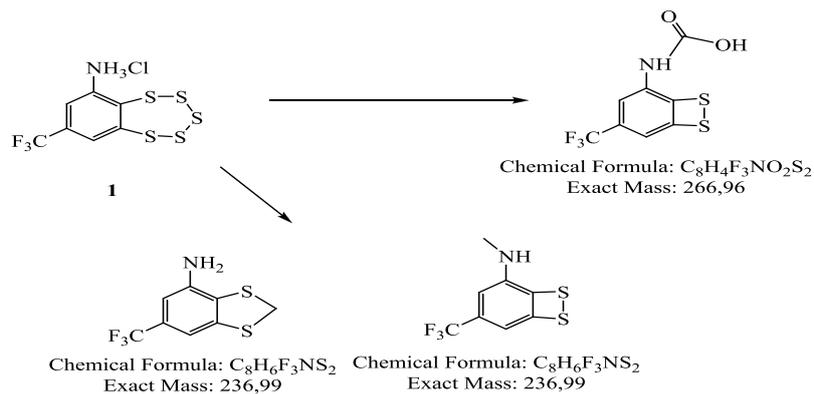
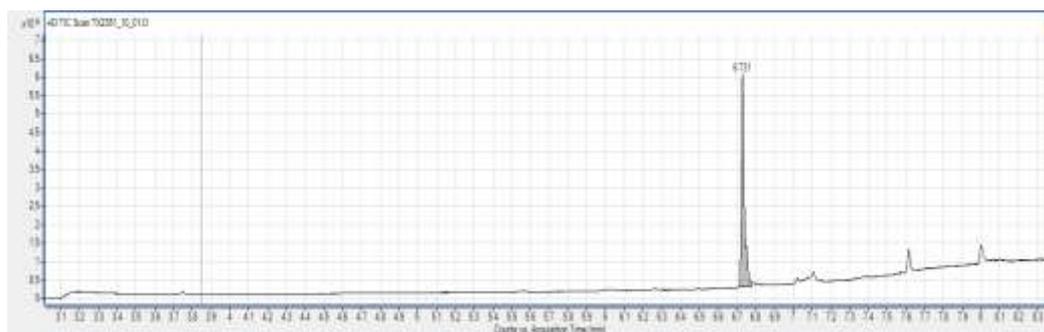


Схема 2

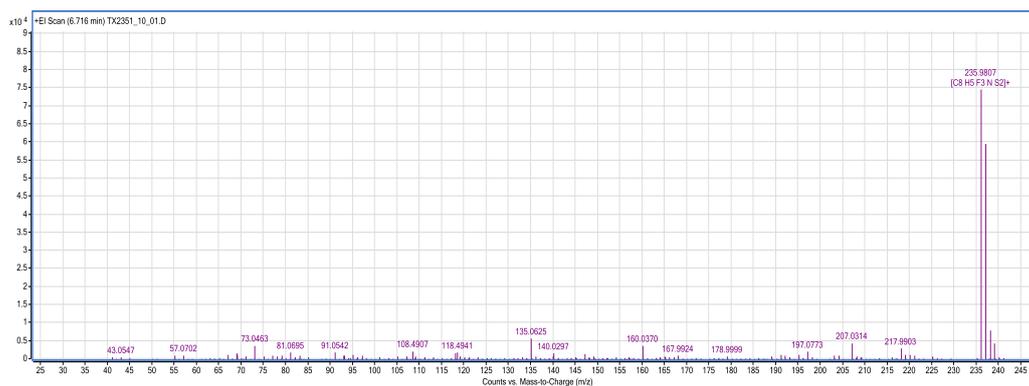
Пример определения молекулярной формулы минорного метаболита:



Хроматограмма образца:



Масс-спектр образца



Брутто-формула: Определялась по интенсивному пику  $(M-1)^+$  (т.е.  $(M-H)^+$ ).  
Измеренная масса пика: 235.9807.

№ п/п	Брутто-формула	Ион, тип:	Масса пика	Ошибка, м.д. (ppm)
1	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> F <sub>3</sub> O <sub>6</sub> S	M <sup>+</sup>	238.9852	-10.81
2	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> F <sub>3</sub> OS <sub>3</sub>	M <sup>+</sup>	238.9852	-7.48
3	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> F <sub>3</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S	M <sup>+</sup>	237.0274	-4.14
4	C <sub>7</sub> HF <sub>3</sub> NO <sub>5</sub>	M <sup>+</sup>	235.9807	-2.41
5	C <sub>11</sub> H <sub>4</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O	M <sup>+</sup>	237.0274	-1.39
6	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> F <sub>3</sub> NS <sub>2</sub>	M <sup>+</sup>	235.9807	1.27
7	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> F <sub>3</sub> O <sub>8</sub>	M <sup>+</sup>	236.9878	-5.67
8	C <sub>5</sub> H <sub>2</sub> F <sub>3</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	M <sup>+</sup>	238.9852	5.73
9	C <sub>5</sub> F <sub>3</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	M <sup>+</sup>	236.9878	-0.78
10	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> F <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S <sub>2</sub>	M <sup>+</sup>	236.9878	-4.72

Итак, брутто-формула, экспериментально определенная - C<sub>8</sub>H<sub>5</sub>F<sub>3</sub>NS<sub>2</sub>

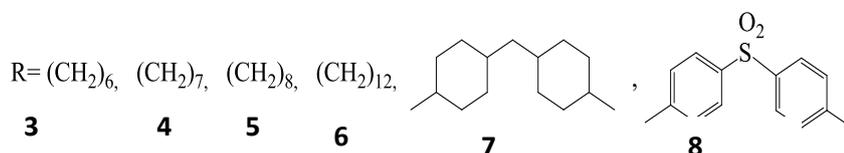
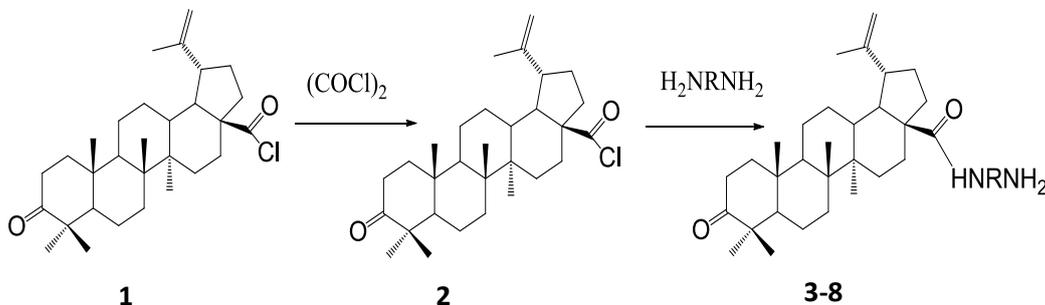
Таким образом, показано, что агент TX-2153 быстро подвергается метаболизму, давая два основных соединения, которые способны преодолевать ГЭБ и проникать в мозг. Осуществлено препаративное выделение метаболитов, сделаны первые эксперименты по установлению их строения. Для окончательного установления структуры метаболитов необходимы дальнейшие исследования.

**Программа фундаментальных исследований Президиума РАН № 8. «Разработка методов получения химических веществ и создание новых материалов»**

**Проект 8.7 «Разработка методов химической трансформации бетулина – возобновляемого растительного сырья, с целью получения новых биологически активных соединений»**

Синтез амидов бетулоновой кислоты с α,ω-диаминами

Синтезирован ряд амидоаминов – производных бетулоновой кислоты:



Синтез производных бетулина с модифицированным кольцом А и изопропилиденовой группой

Путем направленной модификации соединения (1) получены новые соединения: амидные производные по карбоксильной группе (3-6) и производные по

альдегидной (С-30 – группе) (7-8) (Схема 3). Предварительные исследования *in vitro* полученных полусинтетических производных бетулоновой кислоты позволяет рассматривать их в качестве перспективных противовоспалительных и противоопухолевых агентов.

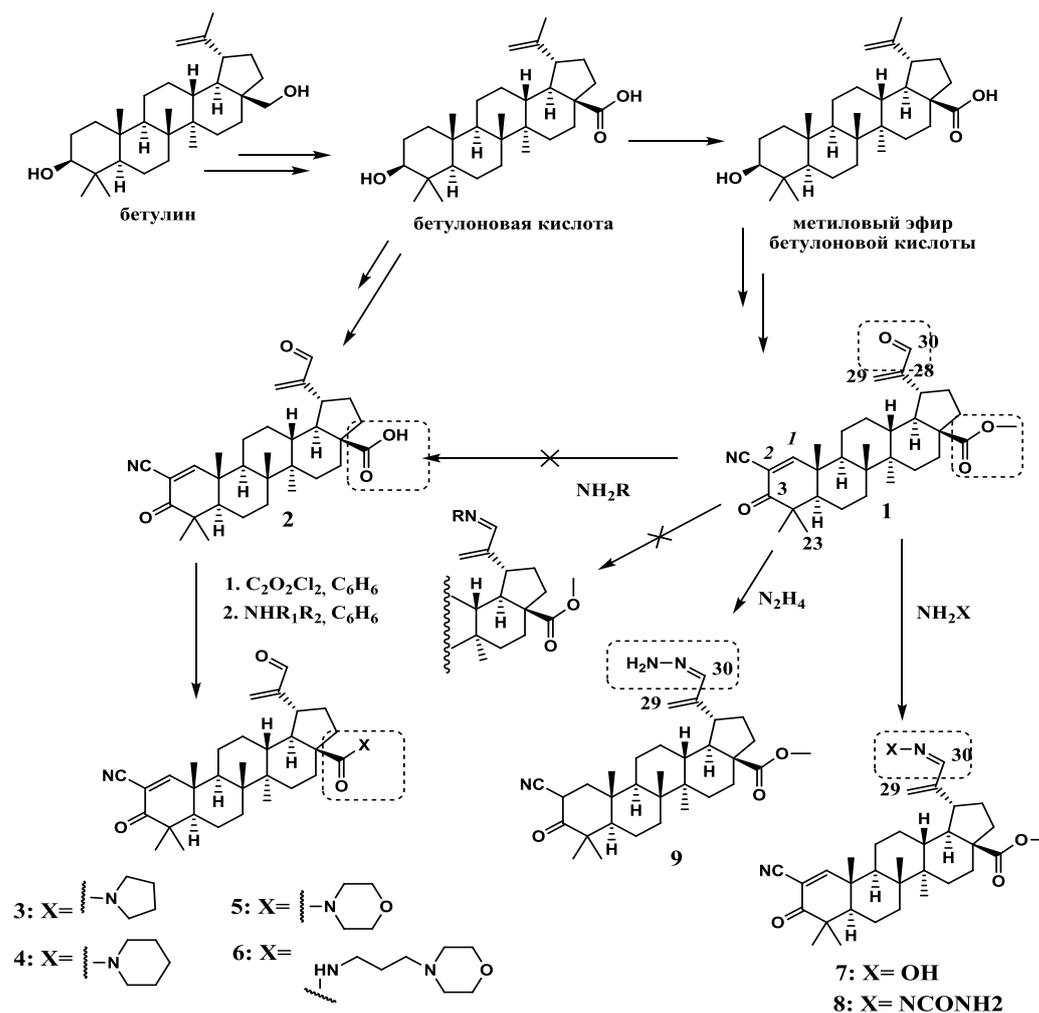


Схема 3

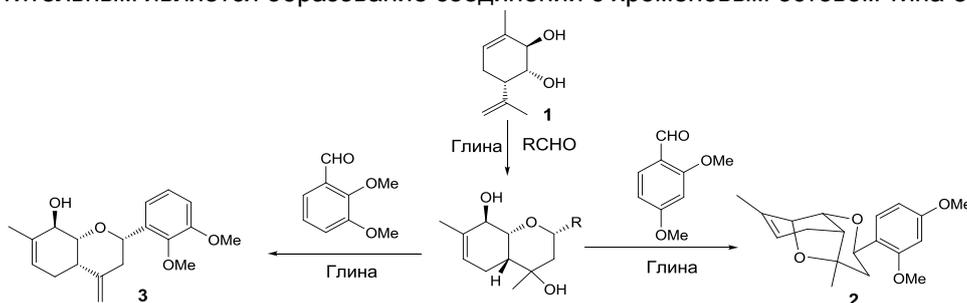
Разработаны методики синтеза различных амидных и амидоаминных производных бетулина, в том числе с модифицированным циклом А и модифицированной изопропилиденовой группой в цикле Е.

### Программа фундаментальных исследований Президиума РАН № 28. «Проблемы происхождения жизни и становления биосферы»

#### Проект 28.5 «Самосборка сложных органических соединений и возникновение хиральности на химических этапах эволюции»

Обнаружено необычное превращение, протекающее при взаимодействии монотерпеноидного диола 1 с 2,4,5-триметоксибензальдегидом в присутствии монтмориллонитовой глины и приводящее к образованию хирального продукта с крайне необычным и не описанным ранее в литературе эпоксихроменовым остовом. Несмотря на появление двух новых асимметрических центров, продукт образовывался в виде единственного стереоизомера. При использовании альдегидов, содержащих три метокси-группы в других положениях ароматического кольца, соединения с эпоксихроменовым остовом не выделялись.

Образование соединений с эпоксихроменовым остовом типа **2** при взаимодействии монотерпеноида **1** с ароматическими альдегидами в присутствии монтмориллоновой глины K10 происходит только при наличии алкокси-заместителей во 2-ом и 4-ом положении ароматического кольца, тогда как во всех остальных случаях предпочтительным является образование соединений с хроменовым остовом типа **3**.



Таким образом, было показано, что оптически активный монотерпеноид парамentanового ряда, содержащий две гидроксильные группы, легко вступает в реакции с ароматическими альдегидами, в том числе и природного происхождения, в присутствии монтмориллоновых глин, рассматривающихся как абиотические аналоги ферментов. Реакции протекают с высокой стереоселективностью и приводят к образованию различных хиральных гетероциклических соединений. Количество и расположение заместителей в альдегиде оказывает решающее влияние на строение образующихся продуктов.

#### Программа фундаментальных исследований ОХНМ РАН № 5.9. «Медицинская химия»

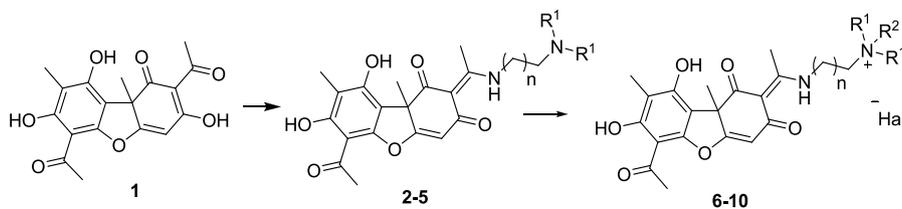
**Проект 5.9.4.** «Разработка высокоэффективных противотуберкулезных агентов нового поколения путем направленной модификации растительных метаболитов»

*1. Синтез производных усниновой кислоты, обладающих противотуберкулезной активностью*

Разработан ряд методик по химической трансформации усниновой кислоты **1**, позволившие получить соединения, обладающие противотуберкулезной активностью, большей, чем нативные усниновые кислоты.

#### Синтез енаминов и кватернизованных соединений на их основе

Реакция усниновой кислоты с первичными аминами протекает с внутримолекулярной перегруппировкой первоначально образующегося имина в енамин. Нами были получены производные (+)- и (-)-усниновых кислот с рядом доступных диаминов. Соединения **2-5** выделены с хорошими выходами. На их основе реакцией с галогеналкилами получены четвертичные аммониевые основания **6-10**, содержащие в структуре кватернизованный атом азота. С целью установления зависимости «структура – свойства» получены соединения, отличающиеся длиной алкильного линкера, объемом и структурой заместителей у атома азота, атомом противоиона.



Полученные соединения протестированы в тест-системе *Mycobacterium smegmatis*. *Mycobacterium smegmatis* – модельная тест-система, используемая на первой стадии скрининга потенциальных противотуберкулезных средств (К.Е.А. Loughheed, S. A. Osborne, B. Saxty, *et al.* Effective inhibitors of the essential kinase PknB and their potential as anti-mycobacterial agents. *Tuberculosis* (Edinb). 2011; 91(4): 277–286). Метаболизм непатогенной микобактерии *smegmatis* во многом сходен с метаболизмом *M. tuberculosis*, однако скорость роста значительно выше. Тест-система *Mycobacterium smegmatis* мс<sup>2</sup> 155 позволяет отбирать вещества с потенциальной противотуберкулезной активностью. Критерием отбора служит концентрация вещества, она должна быть <10 нмоль/диск.

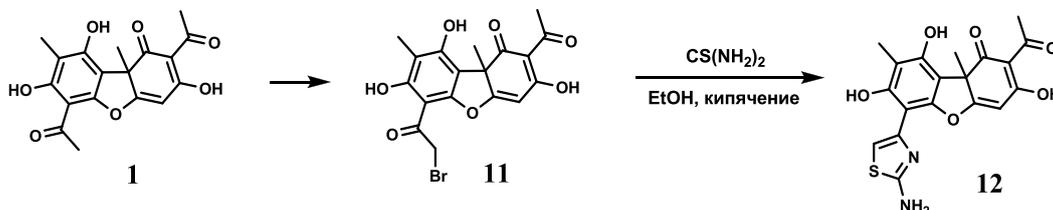
Определение активности вещества проводилось методом бумажных дисков. Метод заключается в определении величины зоны подавления роста штамма, засеянного газонем на агаризованной среде, вокруг бумажных дисков, содержащих вещество в различных концентрациях.

Обнаружено, что четвертичные аммониевые соли являются более активными, чем нативные усниновые кислоты.

В результате проведенной работы синтезирована библиотека производных (+)- и (-)-усниновых кислот, содержащих кватернизованный атом азота. Проведён скрининг веществ в тест-системе для выявления перспективных противотуберкулезных соединений, выявлена зависимость ингибирующей активности от структуры кватернизованного фрагмента и типа энантиомера исходного соединения. Все синтезированные производные проявляют заметную антимикобактериальную активность в отношении *Mycobacterium smegmatis* и являются перспективными противотуберкулезными агентами.

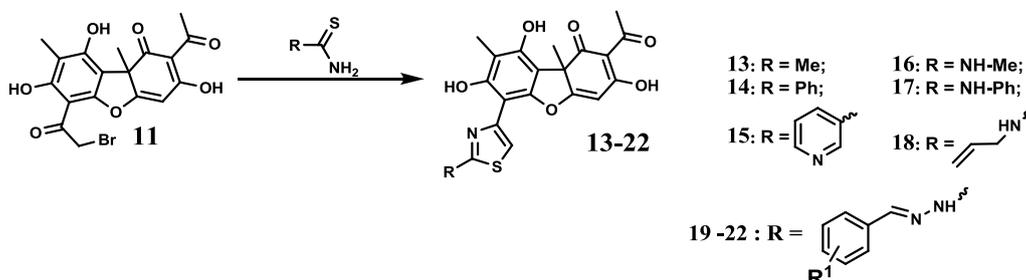
#### Синтез тиазольных производных усниновой кислоты

Получены производные (+)- и (-)-усниновых кислот, содержащие тиазольный цикл **12**, взаимодействием тиомочевины с соответствующими монобромпроизводными **11**.



Показано, что они проявляют ингибирующее действие на рост штамма *Mycobacterium smegmatis* (модельный объект по отношению к *Mycobacterium tuberculosis*) на порядок более высокое, чем исходные усниновые кислоты.

С целью поиска активных антимикобактериальных производных энантиомеров усниновой кислоты синтезированы другие тиазолсодержащие соединения **9-18** по реакции монобромпроизводных усниновых кислот с тиамидами, тиосемикарбазонами и замещенными тиомочевинами.



Выходы тиазолов **13-22** от 43 до 69%. Структуры соединений **(+)-12**, **(-)-12** и **(+)-14** были подтверждены рентгеноструктурным анализом (Рис. 10).

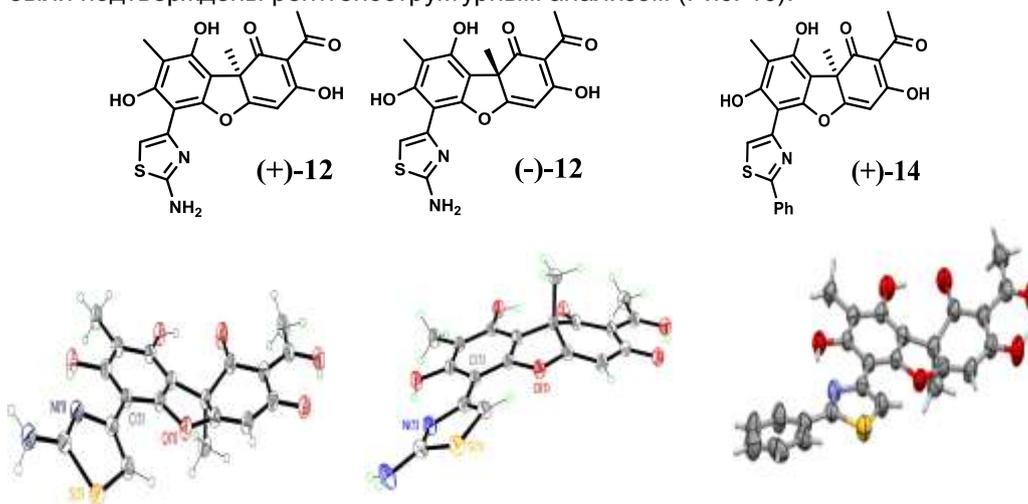


Рис. 10

В Институте общей генетики (г. Москва) был проведен скрининг веществ в тест-системе *M. smegmatis*. По результатам тестирования все вновь полученные производные оказались менее активны, чем аминотиазолы **12**. Однако выявлена определенная зависимость активности соединения от природы заместителя в тиазольном цикле. Большие жестко закрепленные заместители (фенил, пиридил и семикарбазидные заместители) резко снижают биологическую активность соединения. Остальные соединения с заместителями небольшого объема проявили примерно одинаковую умеренную активность в тест-системе *M. Smegmatis*.

С целью оценки *in vitro* бактериостатической активности соединений **(+)-12** и **(-)-12** в отношении микобактерий туберкулеза было проведено исследование динамики роста лабораторного чувствительного ко всем противотуберкулезным препаратам штамма *M.tuberculosis* H37Rv.

Проведенные исследования показали, что соединения **(+)-12** и **(-)-12** обладают бактериостатической активностью в отношении штамма *M.tuberculosis* H37Rv. Параметры роста культуры *M.tuberculosis* H37Rv, экспонировавшейся с **(+)-12** и **(-)-12** в концентрации до 12.5  $\mu\text{M}$  не отличались от контроля без препарата. При экспозиции *M.tuberculosis* с **(+)-12** в концентрации 62  $\mu\text{M}$  наблюдалась задержка начала роста культуры по сравнению с контролем: начало роста фиксировалось на 17 сутки. При экспозиции *M.tuberculosis* с **(-)-12** в концентрации 62  $\mu\text{M}$  наблюдалась более существенная задержка роста культуры: начало роста зафиксировано на 21 сутки. Таким образом, производные усниновой кислоты обладают бактериостатической активностью в отношении лабораторного чувствительного штамма *M.tuberculosis* H37Rv. Минимальная ингибирующая рост *M.tuberculosis* концентрация соединений **(+)-12** и **(-)-12** составила 125  $\mu\text{M}$ .

Исследование цитотоксического действия соединений **(+)-12** и **(-)-12** на эукариотические клетки, проведенное на интактных макрофагах, показало, что правовращающий энантиомер существенно менее активен, чем левовращающий. В концентрации 25  $\mu\text{M}$  лизис интактных макрофагов под воздействием **(+)-12** незначительно превышал спонтанный (на 9%). В минимальной ингибирующей концентрации 125  $\mu\text{M}$  лизис макрофагов составлял 53% в случае **(+)-12** и наблюдалась практически полная их гибель в случае **(-)-12**.

Таким образом, нами синтезирована библиотека производных (+)- и (-)-усниновых кислот, содержащих тиазольный цикл. Проведён скрининг веществ в тест-системе для выявления перспективных противотуберкулезных соединений, выявлена зависимость ингибирующей активности от структуры тиазольного фрагмента. В отношении наиболее активных производных было проведено исследование

динамики роста штамма микобактерий туберкулеза *M.tuberculosis* H37Rv. На основании комплекса исследований выявлен более активный энантиомер, рекомендованный для дальнейших испытаний в отношении штаммов микобактерий туберкулёза, обладающих множественной или широкой лекарственной устойчивостью и выявления механизма антимикобактериального действия.

## 2. Модификация противотуберкулезных препаратов природными монотерпенами для повышения противотуберкулезной активности

На основе доступных монотерпеноидов синтезирован ряд новых оптически активных продуктов с различными типами остовов (схмы 1-4). Часть соединений получена в виде двух энантиомеров с высокой оптической чистотой, что позволит изучить влияние абсолютной конфигурации этих соединений на их биологическую активность:

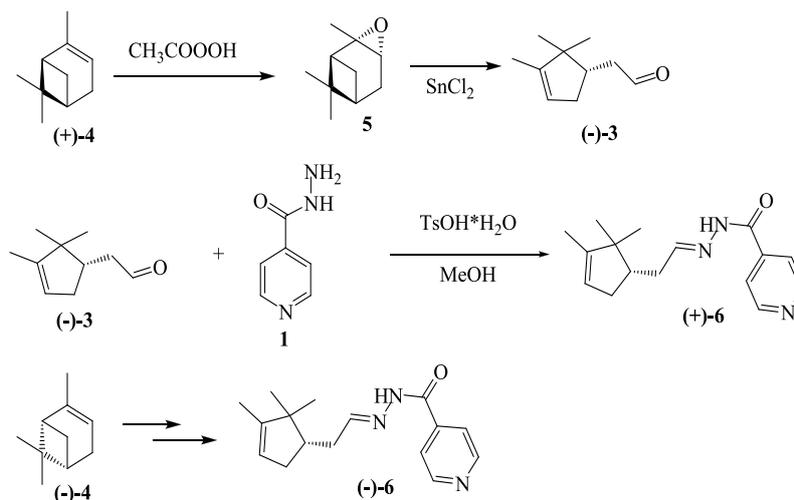


Схема 1

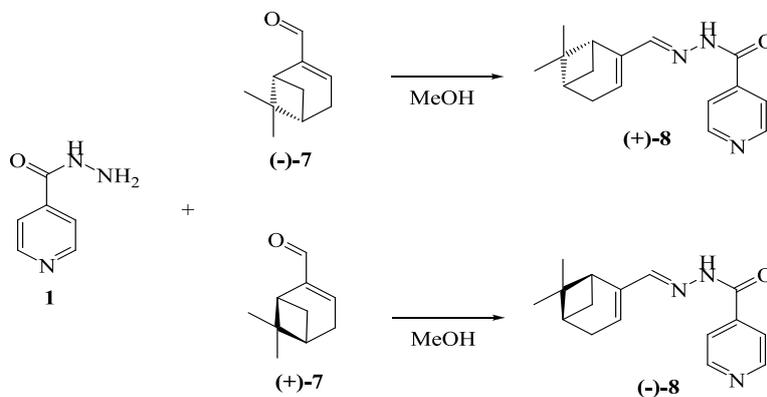


Схема 2

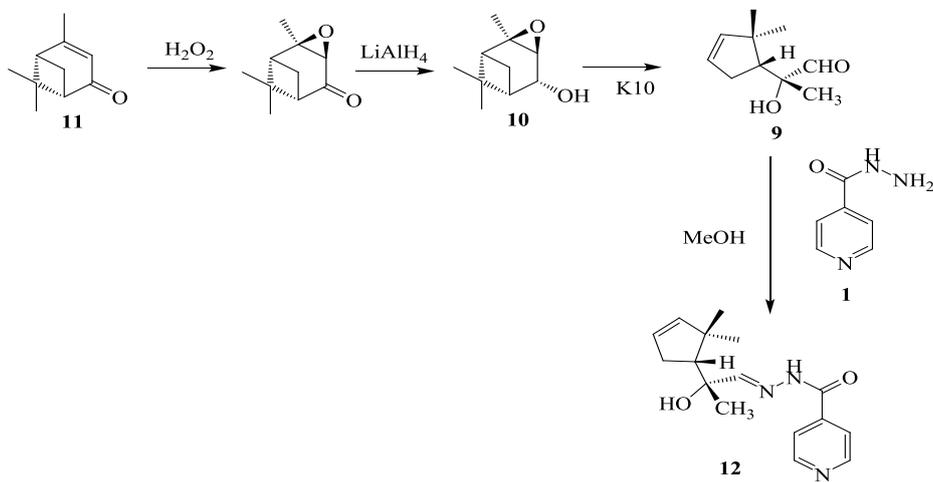


Схема 3

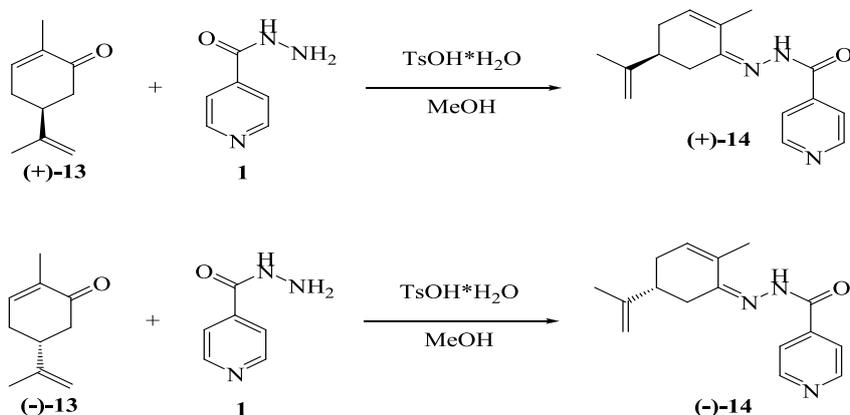


Схема 4

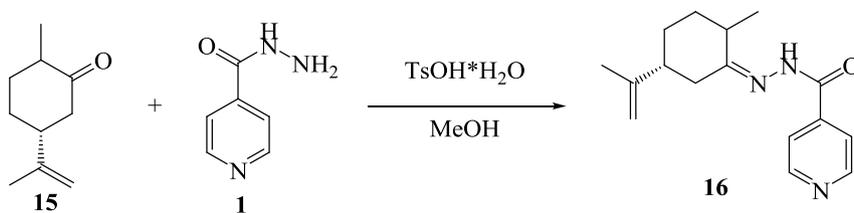


Схема 5

Изучение растворимости полученных соединений показало, что все они не растворимы в воде; растворимость соединений (+)- и (-)-**6** и (+)- и (-)-**14** в ДМСО составила ~260 мг/мл, а соединения **16** –70 мг/мл.

#### Грант РФФИ №13-03-00206

*«Получение новых хиральных гетероциклических соединений на основе монотерпеноидов пара-ментанового ряда. Фундаментальные закономерности и синтетический потенциал»*

Обнаружено значительное влияние природы и силы используемых кислотных катализаторов на выход и распределение продуктов реакции 3-метил-6-(проп-1-ен-2-ил)циклогекс-3-ен-1,2-диола **1**, получаемого из распространенного монотерпеноида вербенона, с 3,4,5-триметоксбензальдегидом. На основании полученных данных

в качестве основного катализатора для дальнейших превращений выбрана монтмориллонитовая глина. В результате систематического изучения влияния количества и расположения метокси групп в ароматическом кольце альдегида на направление реакций диола 1 с альдегидами в присутствии глины показано, что необходимым и достаточным условием для образования соединений с необычным эпосихроменным остовом является наличие алкокси-заместителей во 2-ом и 4-ом положении ароматического кольца альдегида. Продемонстрирована возможность эффективного получения хиральных полициклических продуктов взаимодействием диола 1 или изоопулегола с альдегидами, содержащими гетероциклический заместитель, в присутствии монтмориллонитовой глины. Среди синтезированных соединений обнаружен эффективный анальгетик нового структурного типа.

#### **Грант РФФИ №11-08-00171-а**

*«Создание фундаментальных основ для разработки технологичных методов синтеза физиологически активных соединений из доступных монотерпеноидов с использованием сверхкритических растворителей»*

Впервые изучена реакционная способность ряда эпоксидов монотерпеноидов в многокомпонентных сверхкритических флюидах (СКФ), включающих в себя CO<sub>2</sub>, низшие спирты и воду, в реакторе проточного типа. Найдены условия, позволяющие селективно получать те или иные целевые продукты. Разработана система, позволяющая проводить превращения в многокомпонентных СКФ, включающих в себя CO<sub>2</sub>, в присутствии гетерогенных катализаторов в реакторе проточного типа за короткие времена контакта. Показано, что применение этой системы, в зависимости от использующихся катализаторов, реагентов и растворителей, позволяет проводить различные превращения терпеноидов - изомеризацию, окисление, восстановление, в том числе и многостадийные реакции. Полученные результаты создают фундаментальную основу для получения в экологически приемлемых условиях на основе доступных монотерпеноидов целого ряда веществ, являющихся ключевыми промежуточными продуктами в синтезе биологически активных и душистых соединений.

#### **Грант РФФИ №13-03-00810**

*«Изучение фундаментальных закономерностей реакционной способности природных фенолов на примере усниновой кислоты. Получение новых хиральных производных»*

Изучены особенности реакционной способности усниновой кислоты. Показана роль водородных связей в реакционной способности отдельных фрагментов этой молекулы. Разработаны методы селективной функционализации усниновой кислоты, в том числе избирательного метилирования её гидроксильных групп и селективного бромирования. На основе производных усниновой кислоты, метилированных по 9-ому положению, получены соединения флавоноидного строения с аннелированными циклу А усниновой кислоты кислородными гетероциклами. На основе бромпроизводного усниновой кислоты было впервые получено серусодержащее гетероциклическое соединение с высокой антимикобактериальной активностью. Синтезированы библиотеки новых хиральных гетероциклических серусодержащих соединений различных структурных типов и соединений, содержащих фенацильсульфидные фрагменты. Синтезирована библиотека производных усниновой кислоты, содержащих четвертичный атом азота. Изучена антимикобактериальная активность тиазольных и кватернизованных производных. Показано влияние абсолютной конфигурации этих соединений на их антибактериальную активность. Изучена зависимость "структура-активность", идентифицированы соединения, проявляющие высокую ингибирующую активность в отношении штаммов *M. Smegmatis* и *M.tuberculosis*.

## Лаборатория медицинской химии

Заведующая лабораторией - проф., д.х.н. Э.Э. Шульц

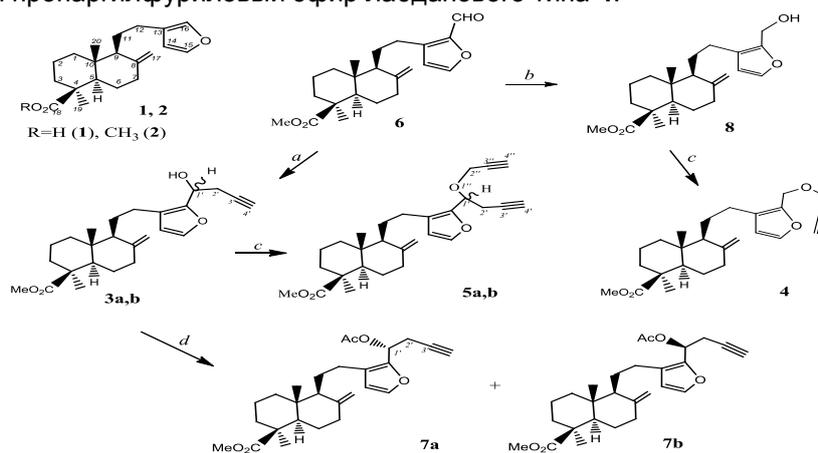
**Проект № V.48.1.6.** «Разработка научных основ направленного синтеза биологически активных агентов с селективностью действия на базе растительных алкалоидов, высших терпеноидов, сесквитерпеновых лактонов и кумаринов»

**Пункт 1.** «Разработка методов синтеза производных растительных лабданоидов, содержащих ацетиленовые заместители в положениях C(7), C(16) и C(18) и исследование катализируемой солями меди реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения указанных алкинов с азидами и диазидами»

Ламбертиановая кислота (**1**) – доступный метаболит длиннохвойной сибиркой сосны, обладает антидепрессантными и антиаллергенными свойствами и представляет интерес для получения на её основе новых биологически активных соединений. Осуществленные ранее модификации ламбертиановой кислоты **1** и её метилового эфира (**2**) по фурановому циклу с введением азотсодержащих гетероциклических фрагментов (5-оксо-2-фенилоксазолильный, 1,2,4-оксадиазолильный), позволили синтезировать соединения, обладающие цитотоксической активностью в микромолярных концентрациях, а также перспективные корректоры цитостатической полихимиотерапии.

В связи с этими данными представляет интерес синтез и исследование новых производных фурановых лабданоидов, содержащих разнообразные азотистые заместители в фурановом цикле молекулы, в частности, 1,2,3-триазольный фрагмент. Указанный гетероциклический заместитель содержится в соединениях, обладающих антибактериальной, антиэпилептической и противоопухолевой активностью.

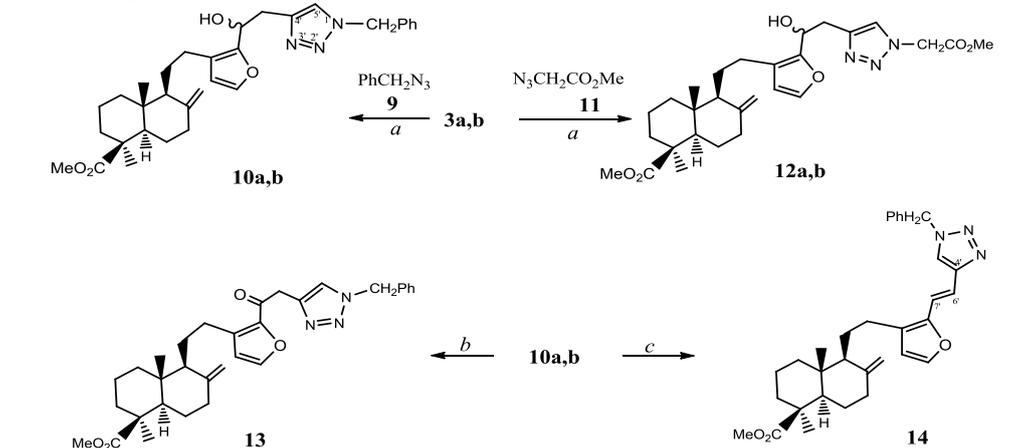
Синтез новых гетероциклических производных метилового эфира ламбертиановой кислоты проводили с помощью катализируемой соединениями меди реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения алкинсодержащих лабданоидов (**3a,b**), (**4**), (**5a,b**) с различными азидами (CuAAC реакция). В качестве исходного соединения для синтеза указанных алкинов использован метил-16-формилламбертианат (**6**) (схема 1). Взаимодействие альдегида **6** с пропаргиллом бромистым в присутствии активированной цинковой пыли приводит к смеси (1:1) диастереоизомерных гомопропаргильных спиртов **3a,b** [12]. Соотношение спиртов **3a,b**, установлено из данных спектра ЯМР  $^1\text{H}$  [по соотношению интегральных интенсивностей сигналов протонов  $\text{H}^{17}$  в спектрах ацетатов (**7a,b**)]. Восстановление альдегида **6** боргидридом натрия в метаноле дает соответствующее 16-гидроксиметилпроизводное (**8**), реакцией которого с пропаргиллом бромистым в присутствии гидрида натрия получали пропаргилфуриловый эфир лабданового типа **4**.



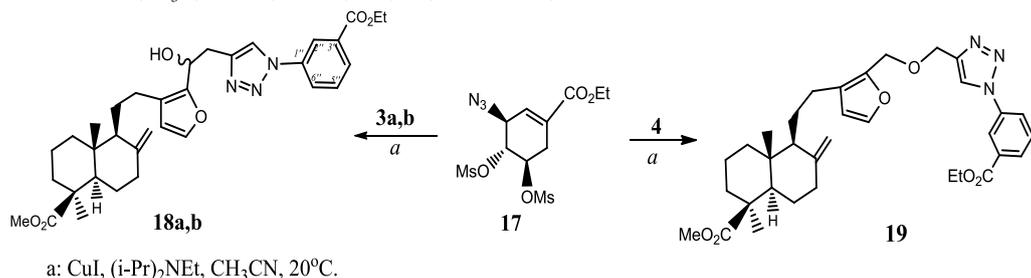
Реагенты и условия: a.  $\text{BrCH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ , Zn, aq.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ; b.  $\text{NaBH}_4$ , MeOH; c.  $\text{BrCH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ , NaH; d.  $\text{Ac}_2\text{O}$ , Py.

Схема 1. Синтез алкиниллабданоидов

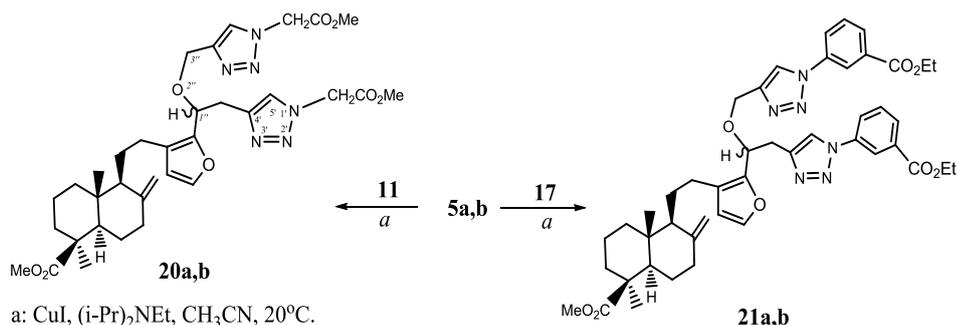
Взаимодействие алкинлабданоидов **3a,b** с бензилазидом (**9**) в ацетонитриле в присутствии диизопропилэтиламина и каталитического количества CuI дает с выходом 80% смесь 1(*R*)-, 1(*S*)-16-[2-(1-бензил-1,2,3-триазол-4-ил)-1-гидроксиэтил]-лабдатриенов (**10a,b**). В аналогичных условиях из **3a,b** и метил-2-азидоацетата (**11**) образуется смесь 1(*R*)-, 1(*S*)-16-[1-гидроксиэтил-2-[1-(2-метокси-2-оксоэтил)-1,2,3-триазол-4-ил]этил]лабда-триенов (**12a,b**), выход 82% после колоночной хроматографии на силикагеле (схема 2). При окислении стереоизомерных спиртов **10a,b** реагентом Десс-Мартина образуется 1'-кетопроизводное (**13**), выделенное с выходом 65%. Дегидратация стереоизомерных спиртов **10a,b** при действии метансульфонилхлорида в присутствии триэтиламина и каталитического количества 4-диметиламинопиридина приводит к индивидуальному (*E*)-триазолилвиниллабданоиду (**14**) (выход 49%).



Реагенты и условия: *a.* CuI, (i-Pr)<sub>2</sub>NEt, CH<sub>3</sub>CN, 20°C; *b.* Dess-Martin periodinate, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 20°C; *c.* MsCl, Et<sub>3</sub>N, DMAP, EtOAc, 0°C, 1 ч, затем 20°C, 1 ч.



*a.* CuI, (i-Pr)<sub>2</sub>NEt, CH<sub>3</sub>CN, 20°C.



*a.* CuI, (i-Pr)<sub>2</sub>NEt, CH<sub>3</sub>CN, 20°C.

Схема 2. Синтез производных лабдатриенов, содержащих 1,2,3-триазольный линкер.

Взаимодействие алкинов **3a,b** с (3*S*,4*R*,5*R*)-3-азидо-4,5-бис[(метансульфонил)окси]-1-(этоксикарбонил)циклогексеном (**17**) в присутствии CuI и диизопропилэтиламина протекает с образованием смеси стереоизомерных 16-(2-[1-(3-этоксикарбонилфенил)-1,2,3-триазол-4-ил]-1-гидроксиэтил)лабдатриенов (**18a,b**) (выход 85%) (схема 4). 1,3-Диполярное циклоприсоединение азиды **17** к

терпеноидному алкину **4** гладко приводит к 16-[[3-этоксикарбонилфенил]-1*H*-триазол-4-ил]метоксиметил]лабдатриену (**19**) (выход 87%). Как видно, в условиях реакции протекает элиминирование сульфоилоксизаместителя и ароматизация. В связи с ценными фармакологическими свойствами несимметричных бис-1,2,3-триазолов нами синтезированы лабданоидные бис-триазолы, на основе диалкинов **5a,b**. Взаимодействие смеси стереоизомерных метил 16-[[*(R)*,*(S)*] –диалкинил-лаббертианатов **5a,b** с метил-2-азидоацетатом **11** (2 экв.) приводит к соответствующим бис-триазолсодержащим лабданоидам (**20a,b**) (выход 86%) (схема 5). При взаимодействии диалкинов **5a,b** с азидом **17** получена смесь 1'*(R)* и 1'*(S)* -бис(1-арилтриазол-4-ил), содержащих лабданоидов (**21a,b**) (выход 78%). Цитотоксическую активность синтезированных соединений устанавливали путём определения концентрации активного вещества, ингибирующей жизнеспособность опухолевых клеток на 50% (CCID<sub>50</sub>). Для определения CCID<sub>50</sub> использовали стандартный МТТ тест, который позволяет спектрофотометрически оценивать количество живых клеток, (J. K. Wilson, J. M. Sargent, A. W. Elgie, J.G. Hill, C. G. Taylor, *Br. J. Cancer*. **1990**, 62, 189). Наибольшую цитотоксичность на трех видах опухолевых клеток проявляют соединения **10a,b**, **18a,b**, содержащие 2-[арил(бензил)-1,2,3-триазол-4-ил]-1-гидроксиэтильные заместители в положении С(16), а также соединение **12**, лабдановый остов которого соединен с триазольным фрагментом с помощью этанонового линкера. Цитотоксичность указанных производных по отношению к опухолевым клеткам человека превышает в 5-6 раз умеренную цитотоксичность лаббертиановой кислоты **1**. Соединения **18a,b** проявляют бóльшую цитотоксичность, чем соответствующий триазололабданоид **19** с оксабисметиленовым линкером. Обращает внимание избирательная цитотоксичность ацетиленовых производных **3a,b**, **5a,b**, **7a,b**, по отношению к лимфоидным опухолевым клеткам МТ-4 и СЕМ-13.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности модификации лабданоидов путем введения 2-[арил(бензил)-1,2,3-триазол-4-ил]-1-гидроксиэтильных заместителей в положение С(16) молекулы, поскольку такое превращение позволяет получить соединения, обладающие значительно большей цитотоксичностью к опухолевым клеткам, чем исходное соединение.

Таким образом, нами впервые осуществлен синтез производных метилового эфира лаббертиановой кислоты, содержащих 1,2,3-триазольные и бис(1,2,3-триазольные) заместители. Соединения обладают значительной цитотоксической активностью по отношению к опухолевым клеткам человека.

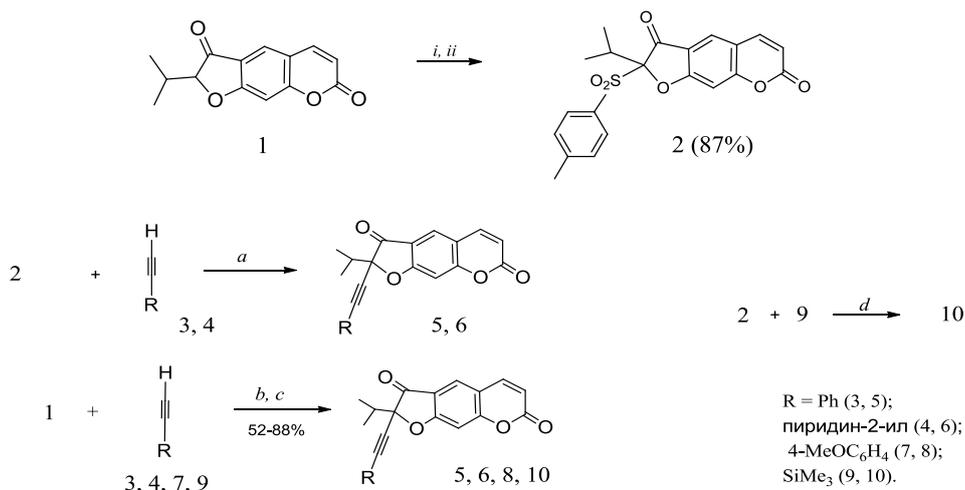
#### **Пункты: 2-6**

2. Синтез и исследование превращений нитрилов ди- и тритерпеноидов.
3. Исследование Pd-катализируемых реакций кросс-сочетания с участием 2-(тозил)ореозелона с терминальными алкинами или арил(гетарил)-борными кислотами.
4. Исследование каталитической реакции Хьюсгена 2-азидоореозелона с различными терминальными алкинами.
5. Изучение реакции Соногаширы трифлата ореозелона с алкинами.
6. Исследование катализируемых соединениями палладия реакций производных 7-гидроксикумаринов.

Установлено, что при взаимодействии фурукумарина ореозелона **1** с хлористым тозиллом образуется 2-тозилореозелон **2**, показавший высокую активность в реакциях образования С-С-связи, катализируемых соединениями палладия.

Взаимодействие соединения (**2**) с фенилацетиленом (**3**) или 2-пиридинацетиленом (**4**) в ТГФ в присутствии Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 мол%) и Et<sub>3</sub>N (1.3 экв.) (условия а) протекало с образованием 2-арил(гетарил)фурукумаринов **5**, **6** (выход 62-70%). Наше внимание привлекла возможность проведения прямого Pd-катализируемого кросс-сочетания ореозелона **1** с терминальными ацетиленами с использованием п-толуолсульфохлорида в качестве активатора. Мы показали, что при

взаимодействии ореозелона **1**, *n*-толуолсульфохлорида (1.2 экв.) и арил(гетарил)ацетиленов **3**, **4** или **7** в присутствии Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 мол%) и Et<sub>3</sub>N (1.3 экв.) (условия *b*) в ТГФ образуются ацетиленовые кетоны кумаринового типа **5**, **6**, **8** (выход 72-88%). Использование основания Хёнига в реакции ореозелона (**1**) с *n*-толуолсульфохлоридом и 4-метоксифенилацетиленом **7** (условия *c*) приводит к образованию соединения **8** с выходом до 75%. Как видно, прямая реакция кросс-сочетания ореозелона **1**, *n*-толуолсульфохлорида и арил(гетарил)ацетиленов протекает в мягких условиях и представляет удобный метод получения 2-арилэтинилфурукумаринов **5**, **6**, **8**. Следует отметить, что реакция кросс-сочетания алкинов с 2-тозилореозелоном **2** протекает в отсутствие иодида меди – компонента реакции Соногаширы. При взаимодействии ореозелона **1** с триметилсилил-ацетиленом **9** в присутствии тозила хлористого (условия *b*) продукт этинилирования **10** был получен с низким выходом (22%), в качестве основного продукта выделяли 2-тозилореозелон **2**. При проведении реакции 2-тозилореозелона **2** с алкином **9** в присутствии CuI (условия *d*) соединение **10** выделили с выходом 52% (схема 3).



*i* - TsCl, Et<sub>3</sub>N, THF, 60°C, 4 ч; *ii* - TsCl, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, THF, 60°C, 5 ч;

*a* - Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Et<sub>3</sub>N, THF, 60°C, 7 ч;

*b* - TsCl, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, THF, 60°C, 5 ч, затем Et<sub>3</sub>N, (X) или (XI), THF, 60°C, 5-7 ч;

*c* - TsCl, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, *i*-Pr<sub>2</sub>NEt, THF, 60°C, 5 ч;

*d* - Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, CuI, Et<sub>3</sub>N, THF, 60°C, 7 ч.

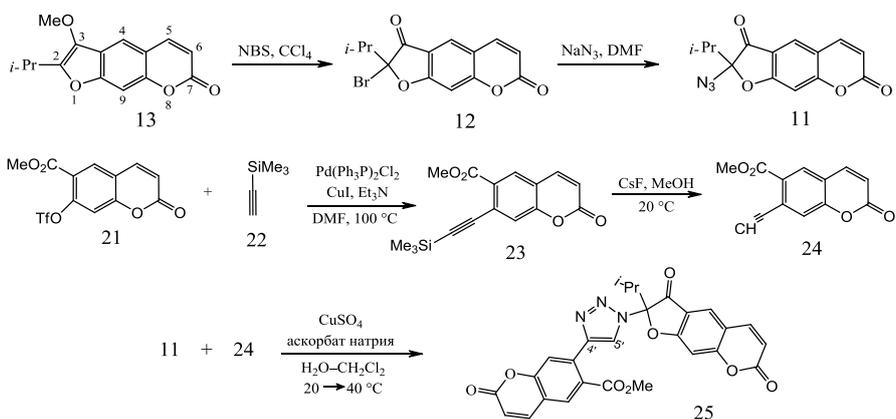


Схема 3. 2-Замещенные псоралены на основе псеудана. Синтез бикумаринов

Таким образом нами предложен метод прямого этинилирования по положению С(2)-фурукумарина ореозелона. Синтетический потенциал β-кетоацетиленовых веществ позволяет рассматривать синтезированные соединения в качестве предшественников для получения разнообразных гетерополицикланов.

Для получения 2-(триазол-1-ил)фурукумаринов нами разработан способ синтеза 2-азидоорезелона **11**. Азид **11** получали при взаимодействии 2-броморезелона **12** с азидом натрия (схема 3). Броморезелон **12** образуется в качестве единственного продукта при бромировании растительного фурукумарина пеucedанина **13** – основного метаболита горичника Морисона *Peucedanum morisonii*. Эксперименты показали, что реакция 2-азидоорезелона **11** с арилацетиленами **3**, **7**, **14**, **18** (1 экв.) в присутствии аскорбата натрия (15 моль. %) и  $\text{CuSO}_4$  (5 моль. %) в системе  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ –вода (1:1) приводит к образованию 2-(4-арил-1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)орезелонов **15–19** (выход 63–76%). Взаимодействие азида **11** с 2-этинилпиридином **4** дает фурукумарин **20**, содержащий пиридилтриазольный заместитель, с выходом 68%.

Учитывая ценные фармакологические свойства бикумаринов, а также значительный интерес, проявляемый к 7-триазолилзамещённым кумаринам, мы осуществили синтез бикумарина, содержащего в структуре фрагменты кумарина, линейного фурукумарина и 1,2,3-триазольный цикл в качестве линкера. 7-Алкинилкумарин **24** получали последовательностью реакции Соногаширы трифлата пеурутеницина **21** с триметилсилилацетиленом **22** и десилилирования полученного 7-триметилсилилалкинилкумарина **23**. Реакцию Соногаширы проводили при нагревании смеси реагентов в присутствии  $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{Cl}_2$  (4–10 моль. %),  $\text{CuI}$  (2–5 моль. %) и  $\text{Et}_3\text{N}$  (1.3–1.4 экв.) бензоле или ДМФА в интервале температур 80–140 °С (выходы 27–56%). Взаимодействие трифлата **21** с алкином **22** при кипячении в бензоле протекало медленно; полной конверсии соединения **21** достичь не удалось. При использовании ДМФА в качестве растворителя и повышении температуры до 135–140 °С наблюдалось сильное осмоление реакционной смеси. Более успешным оказалось проведение реакции в ДМФА при 100 °С в течение 10 ч в присутствии  $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{Cl}_2$  (10 моль. %),  $\text{CuI}$  (5 моль. %) и  $\text{Et}_3\text{N}$  (1.3 экв.). Выход соединения **23** после колоночной хроматографии составил 56%. Десилилирование **23** фторидом цезия в  $\text{MeOH}$  привело к алкину **24** (выход 64%). Взаимодействие азида орезелона **11** с 7-алкинилкумарином **24** в присутствии аскорбата натрия (15 моль. %) и  $\text{CuSO}_4$  (7 моль. %) в системе  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ –вода (1:1) приводит к бис(кумарино)триазолу **25** (выход 68%, схема 3).

Таким образом,  $\text{Cu}$ -катализируемой реакцией 1,3-диполярного циклоприсоединения азида орезелона с различными алкинами синтезированы разнообразные 2-(1,2,3-триазолил)-фурукумарины, представляющие интерес в качестве потенциальных биологически активных соединений. Реакция с несимметричными алкинами протекает региоселективно.

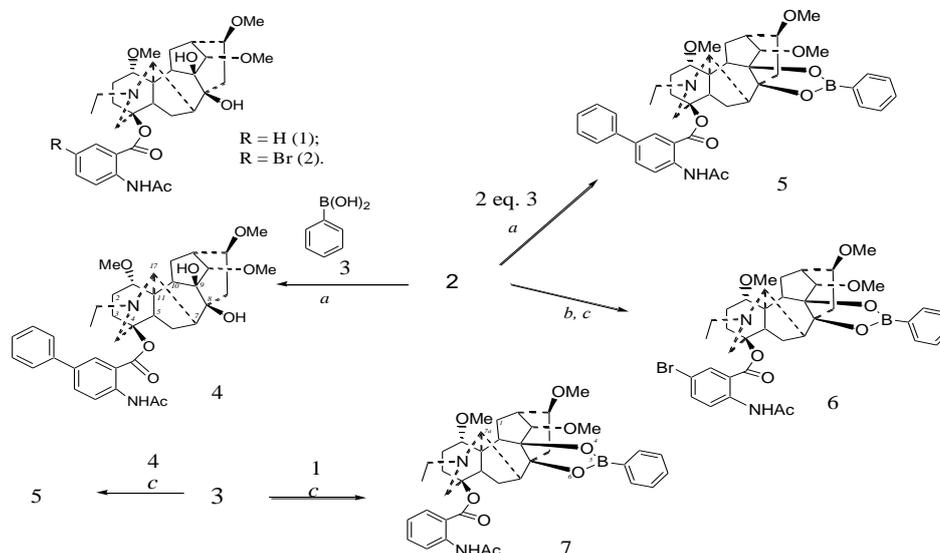
**Пункт 7. Модификация дитерпеновых алкалоидов по антранилатному фрагменту с помощью реакции Сузуки их галогензамещённых производных с арил(гетарил)-борными кислотами.**

Результатом работы является создание подхода к синтезу производных лапаконитина, содержащих арильный (гетарильный) заместитель в ароматическом цикле.

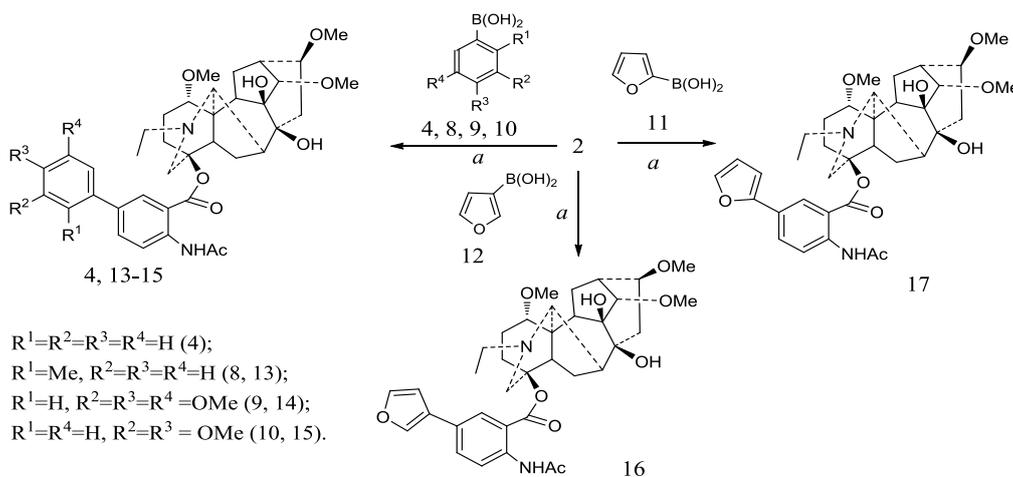
Ранее нами проведены модификации дитерпенового алкалоида лапаконитина **1** по ароматическому фрагменту, позволившие снизить токсичность и увеличить его антиаритмическую активность. Целью данной работы является синтез 5'-арил(гетарил)производных лапаконитина с помощью  $\text{Pd}$ -катализируемых реакций кросс-сочетания 5'-бромлапаконитина **2**, с арил(гетарил)борными кислотами.

При взаимодействии 5'-бромлапаконитина **2** с фенолборной кислотой **3** (соотношение 1:1) в присутствии  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$  и  $\text{N}(\text{Bu})_4\text{Br}$  (условия а) в течение 10 ч гладко образуется 5'-фениллапаконитин **4** (содержание 75% по данным ЯМР  $^1\text{H}$ ). Использование 2-кратного избытка фенолборной кислоты **3** обеспечило полную конверсию бромида **2** и образование - 8,9-(2-фенил-1,3-диоксабороло)-5'-фениллапаконитина **5**. Как видно, реакция кросс-сочетания сопровождается образованием эфира борной кислоты по положениям  $\text{C}^{8,9}$  дитерпенового остова молекулы (87% по данным ЯМР  $^1\text{H}$ ). Соединение **5** получили встречным синтезом

при взаимодействии 5'-фениллаппаконитина **4** с фенилборной кислотой **3** в присутствии безводного сульфата натрия. Взаимодействие 5'-бромлаппаконитина **2** с фенилборной кислотой **4** в отсутствие катализатора Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> приводило к 8,9-(2-фенил-1,3-диоксабороло)-5'-бромлаппаконитину **6** (89% по данным ЯМР <sup>1</sup>H). Таким образом, нами выявлена легкость образования эфиров фенилборной кислоты по цис-гидроксигруппам атомов С<sup>8,9</sup> производных дитерпенового алкалоида лаппаконитина. Лаппаконитин **1** также дает соответствующий эфир борной кислоты **7** при реакции с фенилборной кислотой **3** (схема 4).



a) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Bu<sub>4</sub>NBr, толуол/вода, 100°C, b) Et<sub>2</sub>O, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 20°C, 24 ч, c) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Bu<sub>4</sub>NBr, толуол/вода, 100°C.



a) Pd(OAc)<sub>2</sub>, P(o-Tol)<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Bu<sub>4</sub>NBr, толуол/вода, 100°C.

Схема 4. Модификация алкалоида лаппаконитина по ароматическому фрагменту

Взаимодействие 5'-бромлаппаконитина **2** с фенилборными **3**, **8**, **9**, **10** и фурилборными кислотами **11**, **12** проводили в присутствии каталитической системы Pd(OAc)<sub>2</sub>/P(o-Tol)<sub>3</sub> (схема 5). В результате получили соединения (**4**, **13**-), выделенные с выходом 45-83%. Следует отметить, что наибольшие выходы продуктов арилирования лаппаконитина получены при введении в реакцию кросс-сочетания метоксизамещенных фенилборных кислот **9**, **10**. Выход соединения **4** составил 65%, что сопоставимо с результатом реакции кросс-сочетания в присутствии Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (выход 68%). Как видно, 5'-бромлаппаконитин (**2**) проявил

высокую активность в реакции кросс-сочетания с арилборными и фурилборными кислотами.

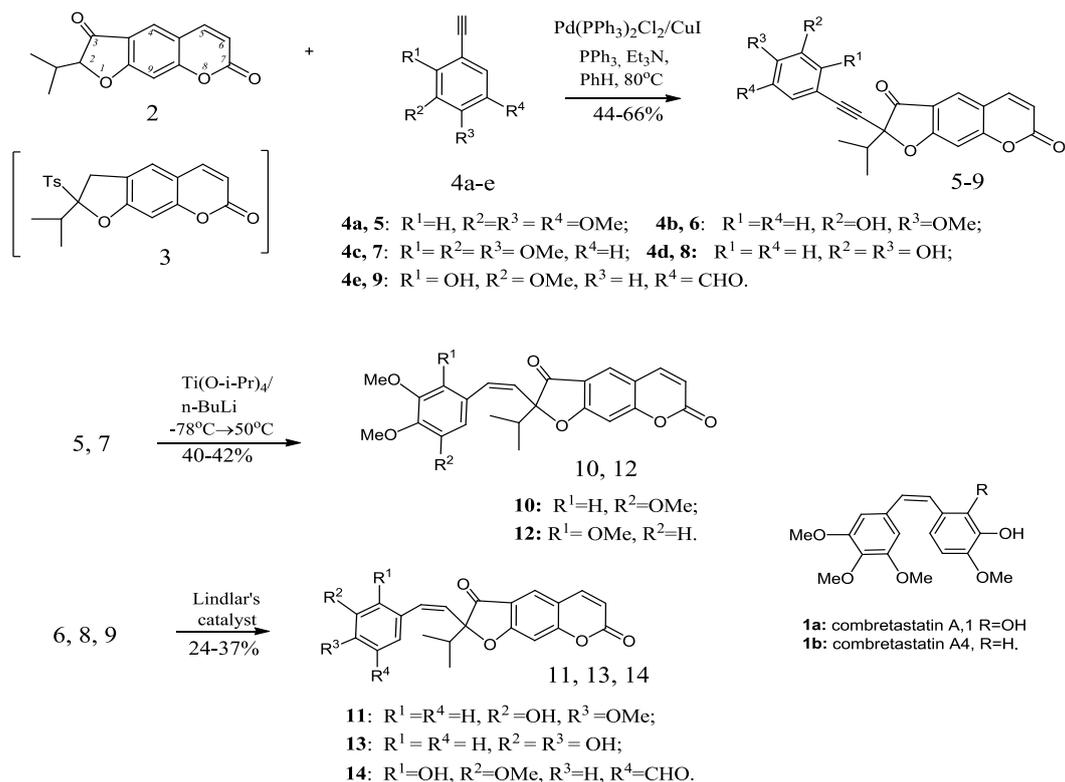


Схема 5. Фурокумарин ореозелон в синтезе аналогов комбретастатинов

Таким образом, на основе доступного соединения 5'-бромлаппаконитина **2** синтезированы разнообразные арил(гетарил)производные антраниловой кислоты и лаппаконитина. Обнаружена легкость образования продуктов этерификации по  $C^{8,9}$  гидроксигруппам при взаимодействии алкалоида лаппаконитина **1** и его производных **2,4** с избытком фенолборной кислоты **3**.

Как видно, превращения растительных метаболитов в условиях металлокомплексного катализа является весьма перспективным направлением, позволяющим получать полизамещенные и многофункциональные производные хиральных исходных соединений. Варьирование каталитических систем и различные способы активации дают возможность эффективно контролировать хемоселективность процессов. Такие процессы, способные обеспечивать введение фармакофорных группировок и полифункциональных групп, оказываются весьма полезными при поиске и дизайне новых биологически активных агентов.

**Проект СО РАН № 51** «Исследование метаболитов морского и растительного происхождения – научная основа разработки важных лекарственных препаратов»

**Пункт № 3.** «Превращения фурокумарина пеucedанина. Получение, химическое и фармакологическое изучение аналогов комбретастатинона А на основе 2-тозилореозелона. Получение данных о цитотоксичности соединений»

Комбретастатины – природные *цис*-стильбены, выделенные из коры африканского кустарника *Combretum caffrum*, проявляют значительную антимитотическую активность и привлекают внимание в качестве противораковых агентов.

В качестве исходного соединения для получения гетерокомбретастатинов, содержащих фурокумариновый фрагмент, нами использован растительный фурокумарин ореозелон **2** (схема 5). Реакцией Соногаширы 2-тозилореозелона **3**

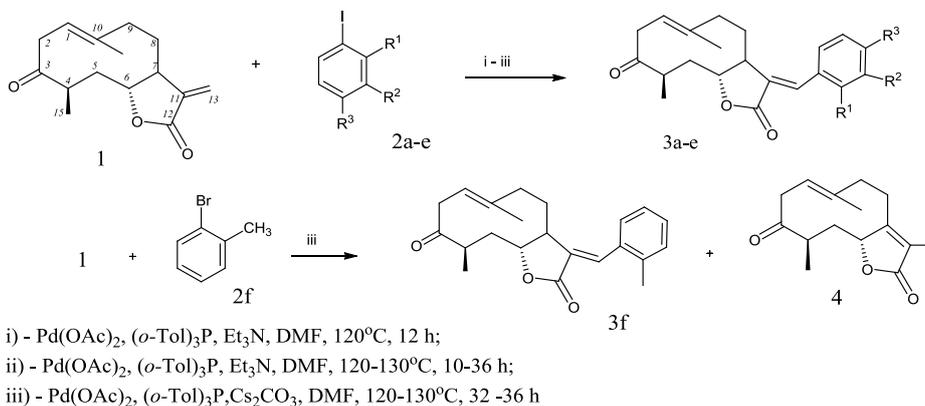
(образуется *in situ* из ореозелона **2** в присутствии хлористого тозила в качестве активатора) с арилалкинами **4a-e** получали 2-арилэтинилфурокумарины **5-9**. Соединения **5,9** также получали при введении в реакцию кросс-сочетания 2-тозилореозелона **3** (выход 59-62%). Характерно, что реакция кросс-сочетания успешно протекает в отсутствие иодида меди. Восстановление алкинов **5, 7** проводили путем гидролиза устойчивых титан(II)-алкиновых комплексов. В результате получали (*Z*)-(3,4,5- или 2,3,4-триметоксистирил)фурокумарины **10,12**. Селективное восстановление алкинов **6,8,9** с помощью катализатора Линдлара в спирте приводило к (*Z*)-(стирил)фурокумаринам **11, 13, 14**. Получены данные о цитотоксической активности 2-(*Z*)-стирилфурокумаринов **10-14**. Обращает внимание значительная цитотоксичность соединений по отношению к лимфоидным опухолевым клеткам МТ-4 и СЕМ-13 (CCID<sub>50</sub> = 4.9- 10.1 мкМ). Как видно, указанная модификация приводит к получению активных цитостатиков.

### Интеграционный проект СО РАН № 108

«Исследование химических превращений растительных метаболитов флоры Республики Казахстан и регионов Сибири Российской Федерации с целью разработки лекарственных препаратов»

**Пункт 1.** «Разработка методов функционализации сесквитерпеновых лактонов эдесманового и гермакранового типов на основе реакций кросс-сочетания с галогенаренами и 5-галогенурацилами. Исследование биологической активности новых производных метиленлактонов»

Осуществлен синтез производных сесквитерпенового лактона гермакранового типа аргоида, содержащих ароматический заместитель в положении С-13, и проведен анализ анальгетической активности некоторых синтезированных соединений в тесте «укусные корчи». Взаимодействие соединения **1** с 4-йоданизолом **2a**, катализируемое системой Pd(OAc)<sub>2</sub>-(*o*-толил)<sub>3</sub>P, в ДМФА в присутствии триэтиламина приводит к образованию 13-(4-метоксифенил)-3-оксогермакра-1(10),11(13)-диен-6,12-олида **3a** в следовых количествах, колоночной хроматографией выделили (≈90%) исходного аргоида **1**. Увеличение времени реакции лактона **1** с 1-йод-3-(трифторметил)бензолом **2b** до 30 ч привело к незначительному увеличению выхода 13-[3-(трифторметил)фенил]-3-оксогермакра-1(10),11(13)-диен-6,12-олида **3b** (соотношение **1:3b**, 3:1 по данным <sup>1</sup>H ЯМР реакционной смеси) (схема 6).



**2a,3a:** R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=H, R<sup>3</sup>=OCH<sub>3</sub>; **2b,3b:** R<sup>1</sup>=R<sup>3</sup>=H, R<sup>2</sup>=CF<sub>3</sub>; **2c,3c:** R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=H, R<sup>3</sup>=F;  
**2d,3d:** R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=H, R<sup>3</sup>=Cl; **2e,3e:** R<sup>1</sup>=SCH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H.

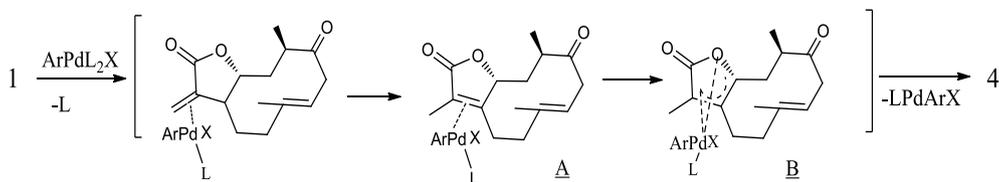


Схема 6. Синтетические превращения сесквитерпенового лактона арголид

Взаимодействие арголида **1** с арилиодидами **2a,2b** в присутствии тетрабутиламмоний бромида (ТВАВ) (условия *ii*) приводит к образованию соответствующих 13-(*E*)-арил-3-оксогермакра-1(10),11(13)-диен-6,12-олидов **3a,b**, выделенных с выходом 22 и 26% после колоночной хроматографии на силикагеле (дополнительно выделяли 11 и 48% арголида **1** соответственно). Взаимодействие арголида **1** с 4-йодфторбензолом **2c**, 4-йодхлорбензолом **2d** или 2-йодтиоанизолом **2e** приводит к образованию 13-(*E*)-арил-3-оксогермакра-1(10),11(13)-диен-6,12-олидов (**3c,d,e**), выделенных с выходом 32, 28 и 37% соответственно. При одинаковых условиях эксперимента соотношение арголид **1** : **3c**, **1** : **3d**, **1** : **3e** составило 1 : 1, 1 : 2 или 1 : 3 соответственно. Как видно, выход продуктов реакции зависит от природы арилгалогенида. Проведение реакции метиленлактона **1** с арилиодидом **2a** в присутствии карбоната цезия приводит к полной конверсии исходного лактона **1**. Колоночной хроматографией продуктов реакции выделяли соединение **3a** (выход 33%) и (10*R,E*)-3-оксогермакра-1(10),7(11)-диен-6,12-олид **4** (выход 1.6%). Взаимодействие лактона **1** с 2-бромтолуолом **2f** в указанных условиях протекает с полной конверсией исходного соединения **1**. Колоночной хроматографией на силикагеле выделяли 13-(*E*)-(о-толил)-3-оксогермакра-1(10),11(13)-диен-6,12-олид **3f** (выход 37%) и соединение **4** (выход 2.6 %). Состав и строение полученных соединений **3a-f**, **4** подтвердили данные элементного анализа, масс-, ИК-, УФ-, ЯМР-  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  спектров. Структура 13-арилзамещенного арголида **3a** подтверждена данными РСА. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  соединения **4** содержит синглетный сигнал протонов метильной группы при атоме С-13 ( $\delta$  1.96 м.д), что подтверждает изомеризацию двойной связи. Анализ КССВ между протонами Н-(4,5,6) и двумерных спектров Н-Н-корреляции NOESY (отсутствие NOE-эффекта между протонами Н-(4) и Н(6), а также хироптических свойств, свидетельствует о сохранении конфигурации хиральных центров в молекуле лактона **4**. На основании основных положений палладиевого катализа можно предположить, что соединение **4** образуется в результате координации палладиевого комплекса с экзо-метиленовой связью лактонного цикла соединения **1** с превращением через промежуточные  $\sigma$ - $\pi$  комплексы **A–B** (схема 6).

Для анализа анальгетической активности соединений синтетических производных гермакранолидов **3a** и **3f** использовали тест «уксусные корчи». Анальгезирующий эффект веществ **1**, **3a** и **3f** определяли по способности уменьшать количество «корчей», подсчитанных в течение 10, 15, 20 и 30 минут, по сравнению с соответствующими показателями у животных в контрольной группе. Установлено, что соединения **3a** и **3f** обладают выраженным анальгетическим действием, причем изменения носят достоверный характер по сравнению с соответствующими показателями у животных в контрольной группе, сопоставимо с анальгетической активностью препарата сравнения «Диклофенак». При этом, арголид **1** не проявил анальгетическую активность.

Таким образом, реакция Хека метиленлактона арголида с арилгалогенидами представляет эффективный способ модификации гермакранолидов с введением ароматических заместителей в положение С-13. Для 13-(*E*)-арилзамещенных производных арголида выявлена анальгетическая активность сравнимая с действием препарата «Диклофенак» в тесте «уксусные корчи».

**Пункт 2.** «Разработка методов синтеза производных фуранолабданоидов, содержащих 5-арил-1,3,4-оксадиазольный заместитель в фурановом цикле. Изучение условий циклизации 16(ацетил-*N,N*-диацилгидразидов)-15,16-

**эпоксилабдатриенов. Получение данных о противотуберкулезной активности терпеноидных 1,3,4-оксадиазолов»**

Был осуществлен синтез дитерпеновых 1,3,4-оксадиазолов – потенциально высоко биологически активных соединений (схема 7):.

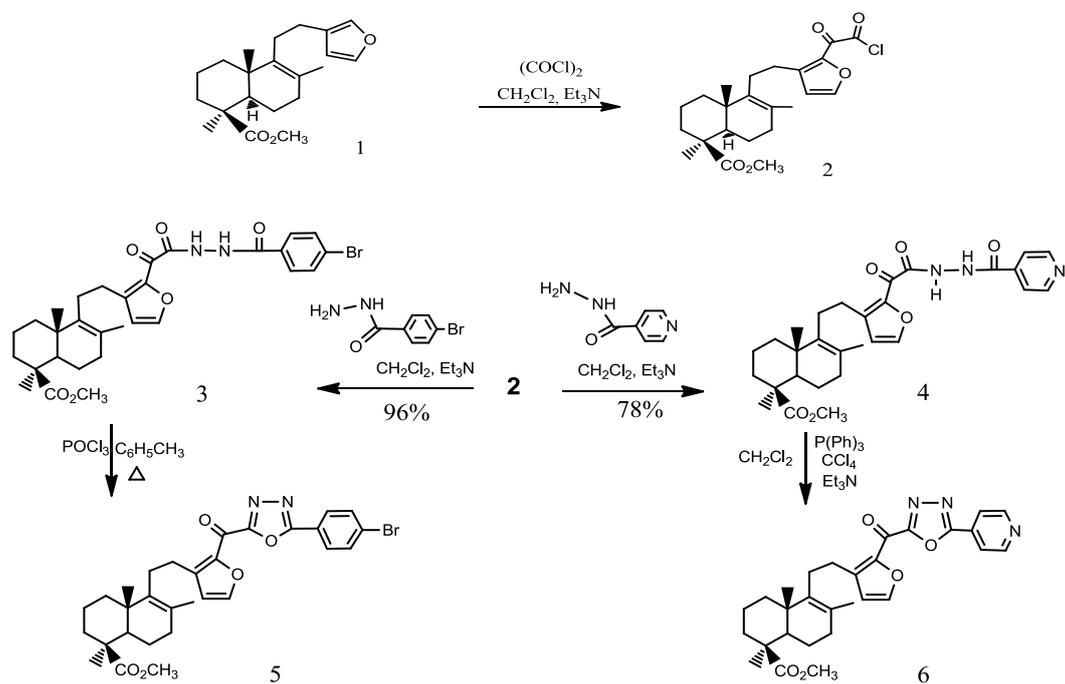


Схема 7. Синтез дитерпеновых 1,3,4-оксадиазолов

Установлено, что ацилирование метилового эфира фломизоиковой кислоты при действии хлористого оксалила гладко приводит к метил 16-(2-хлор-2-оксоацетил)-15,16-эпокси-8(9),13(16),14-лабдатриеноату 2. Взаимодействие соединения 2 с гидразидами пара-бромбензойной и изоникотиновой кислот приводит к образованию терпеноидных гидразидов 3, 4. При кипячении гидразида 3 в толуоле в присутствии хлорокиси фосфора получили лабданоидный 1,3,4-оксадиазол 5 с выходом 75%. Соединение 4 в этих условиях значительно осмолось, получить продукт 6 этим путем не удалось. Гидразид 4 успешно подвергается циклизации при использовании дегидратирующей системы трифенилфосфин-триэтиламин в кипящем хлористом метиле.

В исследовательской лаборатории кафедры «Фтизиатрия» Карагандинского государственного медицинского университета выполнены испытания соединений 5, 6 на противотуберкулезную активность в сравнении с активностью препарата «Изониазид». В результате установлено, что лекарственные субстанции 5, 6 обладают противотуберкулезной активностью. Большая противотуберкулезная активность установлена у соединения 6 и изониазида. Соединения активны в концентрации 0.2 мг/л. Соединение 6 рекомендовано для дальнейшего совместного изучения на ряде штаммов. Активность субстанций возрастала по мере увеличения их концентрации.

**Пункт 3. «Модификация доступных растительных алкалоидов - эхинопсина, анабазина и гармина с целью получения новых анальгетических, противовирусных и противосудорожных агентов»**

Развиты методы модификации алкалоида гармина, включающие: изучение взаимодействия 8-ацетилгармина 1 с ароматическими и гетероциклическими альдегидами и реакции образующихся халконов с гидразидами. Установлено, что

8-ацетилгармин легко реагирует с ароматическими альдегидами **2a-e** в спирте в присутствии основания. В результате реакции выделяли халконы **3a-e** (выход 48-78%) (схема 8). При кипячении халконов в уксусной кислоте в присутствии избытка гидразингидрата получали 8-(4,5-дигидропиразолино)гармины **4a-e** (выход 82-88%). При взаимодействии 8-ацетилгармина **1** с 8-формилгармином **5** синтезировали димерный алкалоид, содержащий халконовый линкер **6**.

Цитотоксичность соединений **3a-в,4,5a-в** изучали в тесте выживаемости личинок морских рачков *Artemia salina* (Leach). Эксперименты проводились на личинках 2-х дневного возраста в условиях культивирования *in vitro*. Препаратом сравнения служил гидрохлорид 13-диметиламино-1,10β-эпокси-5,7α,11β(H)-гвай-3,4-ен-6,12-олид (субстанция препарата «Арглабин»), обладающий активностью.

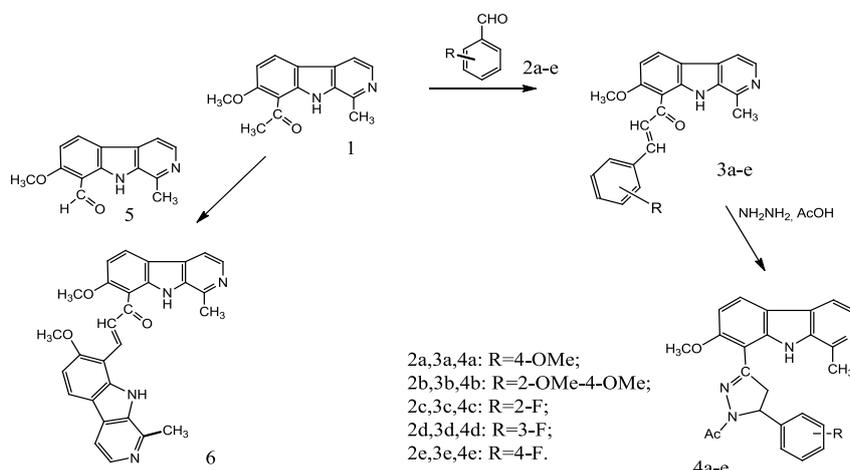


Схема 8. Синтез новых производных алкалоида гармина

В результате исследования выявлены соединения **3c-e**, проявляющие выраженную цитотоксическую активность в отношении личинок морских рачков *Artemia salina* (Leach).

Установлено, что соединение **6** и 8-(4,5-дигидропиразолино)гармин, содержащий 4-фторфенильный заместитель **4e**, проявляют антихолинэстеразную активность в большей степени (0.466 мкА и 0.358 мкА соответственно) по сравнению с модельным ингибитором прозеринном (0.115 мкА). Это свидетельствует о том, что синтезированные производные могут рассматриваться в качестве обратимых конкурентных ингибиторов ацетилхолинэстеразы.

#### Грант РФФИ № 12-03-92200-Монг-а

«Возобновляемое сырье как источник агентов для лечения особо опасных заболеваний. Направленные синтетические трансформации растительных алкалоидов, сесквитерпеноидов и фенольных соединений флоры Сибири и Монголии»

Найдены новые источники кумаринов среди растений семейства зонтичных (Apiaceae=Umbelliferae) (сапожниковия, горичники и вздутоплодники) Сибири и Монголии, пригодные для проведения превращений и получены новые данные по взаимосвязи «структура-активность» в ряду природных фуру- и пиранокумаринов. Показано, что *Peucedanum baicalense* (Redow.) Koch являются ценным источником линейных фурукумаринов – изоимператорина, феллоптерина, 8-(1,1-диметилаллилокси)бергаптена, дельтоина и мармезина. Получены данные о цитотоксической активности указанных соединений на моделях опухолевых клеток человека SEM-13, MT-4 и U-937. Концентрация, ингибирующая жизнеспособность опухолевых клеток MT-4 и U-937 на 50%, для наиболее активного соединения – 8-(1,1-диметилаллилокси)бергаптена (CCID<sub>50</sub>) составляет 1.8-11.8 мкМ. Реакцией

колумбианетина – доступного метаболита *Ferulopsis hystrix*, с кислотой Мельдрума получали соответствующий (2-(2-карбоксо)ацетоксипропиловый эфир колумбианетина, конденсацией Дёбнера-Кновенагеля с различными ароматическими альдегидами синтезированы аналоги ангулярного фурукумарина ангелмарина – противоопухолевого агента – ингибитора ангиогенеза.

Взаимодействие пеucedанина с аминометилирующими реагентами, полученными *in situ* из диметиламина, N-метилпиперазина или N-Вос-пиперазина и формальдегида при кипячении в метаноле, гладко приводит к образованию 9-аминометилзамещенных производных пеucedанина, гидролизом которых получены соответствующие ореозелоны. Взаимодействием трифлатов 9-замещенных ореозелонов с арилборными кислотами в условиях реакции Сузуки-Мияура синтезированы 2,3,9-тризамещенные фурукумарины. При взаимодействии трифлата ореозелона с терминальными арилалкинами в условиях реакции Соногаширы синтезированы первые представители 3-алкинилфурукумаринов. Селективным восстановлением алкинов синтезированы гетерокомбретастатины, содержащие ароматические циклы А или В комбретастатина и фрагменты фурукумарина.

Взаимодействие линейного фурукумарина ореозелона с п-толуолсульфохлоридом приводило к 2-тозилореозелону, показавшему высокую активность в Pd-катализируемых реакциях кросс-сочетания. Предложен способ получения 2-азидореозелона, и выявлена его высокая активность в каталитической реакции Хьюзена с терминальными алкинами. В результате реакции синтезировали 2-(4-R-триазол-1-ил)фурукумарины. При взаимодействии указанного 2-азидореозелона с 6-метоксикарбонил-7-этинилкумарином синтезирован 1,4-дикумаринозамещенный 1,2,3-триазол.

#### **Грант РФФИ № 11-03-00242-а**

*«Катализируемые соединениями переходных металлов направленные превращения изохинолиновых алкалоидов, лабданоидов, сесквитерпеноидов и фурукумаринов. Новые соединения-лидеры на основе растительных метаболитов»*

Осуществлены направленные модификации растительных алкалоидов, терпеноидов и кумаринов с использованием катализируемых соединениями палладия реакций кросс-сочетания. На примере реакции Хека эвдесманолоидов (алантолактона, изоалантолактона, аллоалантолактона, 4,15-нордихлорциклопропилизоалантолактона, 4,15-эпоксизоалантолактона, турнефорина) и гермакранолида аргонида с арилбромидами и арилиодидами показана возможность модификации сесквитерпеновых лактонов по «альфа-метиленовому» фрагменту с сохранением олефиновой природы лактонов и образованием биологически активных производных. Исследована зависимость выхода продуктов реакции Хека метиленлактонов от условий реакции и структуры арилгалогенида и лактона. Природа фосфинового лиганда оказывает существенное влияние на состав продуктов. Использование триалкилфосфинов приводит к увеличению выхода продуктов изомеризации и сдвига двойной связи. Установлено, что в ряду исследованных метиленлактонов наиболее высокой активностью в реакции кросс-сочетания обладает изоалантолактон. Получены продукты реакции кросс-сочетания последнего с 5'-иодлапаконитином и 6-бромдезоксивазициноном – соответствующие терпенилалкалоиды. Катализируемой соединениями палладия реакцией кросс-сочетания изоалантолактона с N<sup>1</sup>-замещенными или N<sup>1</sup>,N<sup>3</sup>-дизамещенными 5-галогенурацилами синтезированы производные эвдесманолоидов, содержащие 2,4-диоксопиримидиновые заместители в положениях С<sup>13</sup> и (или) С<sup>15</sup>. Варьирование состава каталитической системы, добавки и основания позволяет изменить селективность реакции кросс-сочетания с увеличением выхода 13-(E)-(1R,3R-2,4-диоксотетрагидропиримидин-5-ил)эвдесма-4(15),11(13)-диен-8β,12-олидов, 13-(E),15-(E)-бис-(1R,3R-2,4-диоксотетрагидропиримидин-5-ил)эвдесма-4(15),11(13)-диен-8β,12-олидов или 13-нор-11-(1R,3R-2,4-диоксотетрагидропиримидин-5-илметил)эвдесма-4(15),7(11)-диен-8α,12-олидов.

Реакцией Хека гермакранолида арголида с арилгалогенидами синтезированы 13-арилзамещенные производные. Структура (E)-13-(4-метоксифенил)-3-оксогермакранолида подтверждена данными РСА. Для 13-арилгермакранолидов выявлена значительная анальгетическая активность в тесте “уксусные корчи”.

Реакцией Хека дитерпенового алкалоида лаппаконитина с различными олефинами впервые получены производные, содержащие ацетильный, стирильный 3-оксобутенильный и 2-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)этильный заместители в положении С(5) антранилатного фрагмента алкалоида. Разработаны методы синтеза 5-замещенных производных антраниловой кислоты и лаппаконитина на основе реакции Сузуки соответствующих бромидов и арилборных или гетарилборных кислот. Найдено, что каталитическая система Pd(dba)<sub>2</sub>/AsPh<sub>3</sub> эффективна в реакции кросс-сочетания метил N-ацетил-5-бромантранилата с фуранборными и пиридинборными кислотами, а система Pd(OAc)<sub>2</sub>/(o-Tol)<sub>3</sub>P – в реакции 5'-бромлаппаконитина с гетарилборными кислотами. Обнаружена легкость образования продуктов этерификации по С<sup>8</sup> и С<sup>9</sup> гидроксигруппам аконитанового остова при взаимодействии 5'-бромлаппаконитина или 5'-фениллаппаконитина с фенилборной кислотой.

Исследована катализируемая палладием реакция кислотного сочетания метилового эфира фломизоиквой кислоты с терминальными олефинами, найдены условия селективного образования 16-(E)-алкенилфуродитерпеноидов.

Предложены способы получения трифлатов природных кумаринов – ореозелона и пеурутеницина. Исследовано их поведение в реакции Хека с различными алкенами, а также в реакции каталитического аминирования. Получены модифицированные по атому С(3) производные фурукумаринов и С(7)-винилзамещенные кумарины.

#### **Грант РФФИ № 12-03-00535-а**

*«Поиск фармакологически перспективных агентов на основе синтетических трансформаций доступных растительных метаболитов»*

Проведены направленные синтетические трансформации растительных фуранолабданоидов ламбертиановой и фломизоиквой кислот. Разработаны методы получения замещенных производных лабданоидов, содержащих разнообразные гетероциклические заместители в положении С-16. Показана эффективность приложения органокатализа к превращениям лабданоидов. Осуществлен синтез разнообразных алкинилзамещенных фуранолабданоидов и исследованы их CuAAC-реакции. Предложены методы окислительных превращений изопимаровой и дигидроизопимаровой кислот и осуществлена перегруппировка 7-кетоксима трициклического дитерпеноида в соединения тетрадекагидродибензо[*b,d*]азепинового ряда. Разработан подход к синтезу оптически активных аминов фенантренового типа и алкалоидов амидинового типа из малеопимаровой кислоты. Разработан метод получения 2-азидоореозелона и исследованы CuAAC реакции с различными терминальными алкенами. Предложены способы получения трифлата ореозелона и трифлата пеурутеницина из фурукумарина пеucedанина – основного метаболита горичника морисона *Peucedanum Morissonii*. Показаны новые возможности получения 7-замещенных бис-кумаринов с использованием реакций кросс-сочетания указанных трифлатов. Получены данные о цитотоксичности синтезированных производных. Выявлены новые фармакологически перспективные агенты – антиаритмики и цитостатики в ряду би- и трициклических дитерпеноидов.

## **Лаборатория фармакологических исследований**

Заведующая лабораторией - проф., д.б.н. Т.Г. Толстикова

**Проект V.48.1.5.** «Развитие современных подходов к фармакологическим исследованиям перспективных для медицины агентов, полученных на основе целенаправленного органического синтеза»

**Пункт 1.** «Проведение виртуального скрининга структура – активность с использованием специальных программ (PASS, AutoDock Vina, MGL Tools), позволяющих определить предполагаемую биоактивность, механизм действия, подобрать и рассчитать сайт связывания искомой структуры с белковой молекулой рецептор».

Целью проведения компьютерного исследования был поиск среди 80 производных пирролидиноморфина агонистов рецептора AchR  $\alpha 7$ , которые могут быть использованы для направленного фармакологического скрининга *in vivo* на стандартных моделях, а также изучение особенностей взаимодействия наиболее активных соединений с сайтом связывания рецепторной модели.

Данное исследование было проведено с помощью программы AutoDock Vina – это свободное программное обеспечение для проведения молекулярного докинга, разработанная Oleg Trott в лаборатории молекулярной графики Института Скриппса, которая отличается высокой точностью прогноза конформаций и энергии связывания, сравнимая с наиболее распространенными коммерческими программными продуктами для проведения молекулярного докинга.

Использована модель [Nemecz, A., Taylor, P. Creating an  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine recognition domain from the acetylcholine-binding protein: crystallographic and ligand selectivity analyses. (2011) J.Biol.Chem. 286: 42555-42565] на основе модифицированных ацетилхолин-связывающих белков гомологичного пентамерного внеклеточного домена никотинового ацетилхолинового рецептора (PDB ID 3SIO), с сайтом связывания, который идентичен сайту связывания субъединицы  $\alpha 7$ . Для модели 3SIO существует нативный лиганд метилликаконитин (MLK), скоординированный в активный центр с рассчитанной топологией и координатами. MLA (метиллапаконитин) – это дитерпеноидный алкалоид растительного происхождения с кураре-подобным действием, является селективным антагонистом ацетилхолина в никотиновых ацетилхолиновых рецепторах и обладает выраженной аффинностью в отношении сайтов связывания  $\alpha 7$  субъединиц.

Исходными данными для AutoDock Vina являются файлы в формате PDB для макромолекул и любые, поддерживаемые Open Babel форматы для лигандов. Программа рассчитывает 9 конфигураций лиганда, которые ранжируются по минимальной энергии связывания. Для 8 конфигураций указывается их среднеквадратичное отклонение от лучшей конфигурации с минимальной энергией (RMSD). Чем меньше RMSD между лучшей и остальными конфигурациями, тем менее случайной является конформация лиганда в сайте связывания рецептора, что свидетельствует о высокой аффинности лиганда.

Показано, что важным элементом сайта связывания является аминокислотный остаток Trp147 цепи F, который взаимодействует как с лигандом MLA, так и с соединениями N24, N11, N9, а также аминокислотный остаток Trp55 цепи J, который участвует в связывании соединений BV-13, N25, N24. Активно участвует во взаимодействии с лигандами гидроксильная группа и  $\pi$ -система фенильного радикала остатка аминокислоты Tyr93 цепи F. Её связь обнаруживается со всеми рассмотренными соединениями, в случае MLK и N9 Tyr93 формирует гидрофобную поверхность (табл. 1)

таблица 1. Взаимодействие аминокислотных остатков с лигандами в сайте связывания 3SIO

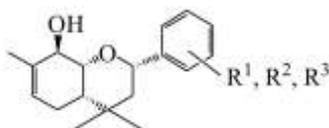
	Tyr93F	Trp147F	Trp55J	Tyr188F	Tyr195F	Leu118J	Ser167J
MLK	+	+				+	+
N24	+	+	+				
N11	+	+		+			
N9	+	+		+	+		
N25	+		+				
BV-13	+		+		+		

В результате исследования были выявлены активные производные, которые с высокой степенью вероятности связываются с активным центром модели никотинового ацетилхолинового рецептора. Установлено, что эти соединения чаще всего взаимодействуют с остатками аминокислот Tyr93F, Trp147F и Trp55J, что характерно для нативного лиганда MLK. Эти данные могут послужить формированию плана фармакологического скрининга *in vivo*.

**Пункт 2. «Изучение влияния новых агентов на центральную нервную, ноцицептивную и миорелаксирующую системы»**

**2.1. Изучение анальгетической активности новых производных вербенона**

Ранее, исходя из монотерпеноида вербенона был осуществлен синтез новых соединений с гексахроменным остовом, для которых был проведен фармакологический скрининг на анальгетическую активность. В результате проведенных экспериментов было обнаружено перспективное соединение, обладающее выраженной анальгетической активностью в тестах «горячая пластинка» и «укусные корчи». На его основе были синтезированы 12 стереоизомеров, для которых провели исследование анальгетической активности.



В результате исследований было обнаружено, что 10 из 12 новых соединений проявили достоверную анальгетическую активность только в тесте «укусные корчи», одно соединение достоверно снижало количество корчей и увеличивало латентное время на горячей пластинке и одно соединение не проявило анальгетической активности ни в одном тесте. Таким образом, мы показали, что расположение заместителей в пространстве не влияет на проявление анальгетической активности новыми соединениями. Также была определена острая токсичность для всех новых соединений, которая составила более 1000 мг/кг при внутрижелудочном введении.

**2.2. Изучение миорелаксирующей активности новых производных камфоры**

Для 13 новых производных камфоры была исследована миорелаксирующая активность (структуры представлены ниже). Данные соединения были исследованы в дозах от 5 до 20 мг/кг с использованием стандартных тестов, позволяющих оценить нарушение моторной координации – «крутящийся стержень» и «наклонная пластина», а также способность животных сохранять боковое положение. Результаты в таблице 2

Таблица 2. Миорелаксантная активность производных камфоры

	Кол-во животных, демонстрирующих неспособность удерживаться на «крутящемся стержне», % от общего кол-ва животных (кол-во животных)				Кол-во погибших животных, % от общего кол-ва животных (кол-во животных)			
	5 мг/кг	10 мг/кг	15 мг/кг	20 мг/кг	5 мг/кг	10 мг/кг	15 мг/кг	20 мг/кг
AS-70	0 (3)	56 (16)	75 (8)		0 (3)	6,3 (16)	62,5 (8)	
YA-255	0 (2)	100 (10)	100 (8)		0 (2)	10 (10)	75 (8)	87,5 (8)
AS-140	0 (6)	50 (12)	80 (10)	100 (8)	0 (6)	0 (12)	40 (10)	87,5 (8)
AS-148		33,3 (6)	100 (8)	100 (4)		0 (6)	12,5 (8)	25 (4)
Ya-256		75 (4)	100 (4)	100 (2)		0 (4)	25 (4)	50 (2)
AS-142		50 (4)	100 (4)			0 (4)	100 (4)	
AS-151		75 (4)	75 (8)			0 (4)	25 (8)	
Ya-257		75 (4)	100 (4)	100 (2)		0 (4)	0 (4)	50 (2)
YA-258		--			100 (4)	75 (4)		

Было показано, что соединения (YA-256, 255, AS -70) проявили миорелаксантную активность, хотя и менее выраженную, чем эталон сравнения дитилин. Однако, достаточно высокая токсичность этих соединений и, как следствие, низкая широта терапевтического индекса, не позволяют считать эти соединения перспективными для дальнейшего исследования

Выявленное нарушение координации движений животных под действием исследованных соединений, может быть обусловлен их нейротоксическим эффектом, который проявлялся в появлении тремора после физической нагрузки, а в некоторых случаях судорог и даже гибели животных.

**Пункт 3. «Поиск перспективных гипохолестеринимических, гипогликемических, антитромботических и антиагрегационных средств среди производных растительного происхождения и их синтетических аналогов»**

С целью уменьшения нежелательных побочных эффектов антикоагулянтов - производных кумарина, таких как, варфарин, были синтезированы новые производные кумарина, обладающие большим терапевтическим окном и более предсказуемым метаболизмом. Это производные 3-замещенные 2-изопропилпсоралены **1-3**, 3,3-димер псоралена **4**, 7-(индол-6-ил)-6-метокси-карбонилкумарин **5**, 2-изопропил-2-(4-(бензо[*b*][1,4]диоксин-5-ил)-1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)орезелон **6**, а также два бискумарина **7** и **8**, содержащие в структуре фрагменты 6-замещенного кумарина, ореозелона и 1,2,3-триазольный цикл в качестве линкера. Всего было исследовано 8 новых соединений. Основным фармакологическим критерием оценки эффективности служило протромбиновое время через 24 часа у крыс после однократного внутрижелудочного введения агентов. Для скрининга искомой активности все вещества вводили в диапазоне доз от 2 мг/кг до 40 мг/кг. По результатам эксперимента было обнаружено, что минимально эффективной дозой является 40 мг/кг, этому критерию соответствовало 2 новых соединения **7** и **8**. Максимально введенная доза составила 200 мг/кг, в которой два отобранных вещества по своей силе эффекта полностью соответствовали варфарину, вводимого в дозе 2 мг/кг, при этом гибели

животных отмечено не было. Таким образом, вновь синтезированные димерные кумарины представляют интерес для более детального изучения.

**Пункт 4.** «Оценка ЭПР-контрастных и фармакологических свойств новых групп нитроксильных радикалов *in vivo* и *ex vivo*»

Для оценки влияния эффекта комплексования с арабиногалактаном на биодоступность мало растворимых в воде веществ, было исследовано два комплекса арабиногалактана с плохо растворимыми в воде нитроксильными ЭПР-контрастными радикалами. Все агенты вводили крысам однократно внутрижелудочно. Исследования проводили на ЭПР-томографе Bruker Biospin.

В результате установлено, что в крови животных индивидуальные радикалы на всех контрольных точках не определялись. Только один из радикалов, спустя 3 часа был обнаружен в моче. После введения радикала в составе комплекса, не был обнаружен в крови, но в моче, его концентрация была в 7 раз выше по сравнению с чистым радикалом. Изменение его спектра свидетельствовало о сниженной подвижности радикала, что, возможно, связано с его сохранившейся связью с остатками арабиногалактана. В случае с чистым радикалом, изменения спектра обнаружено не было.

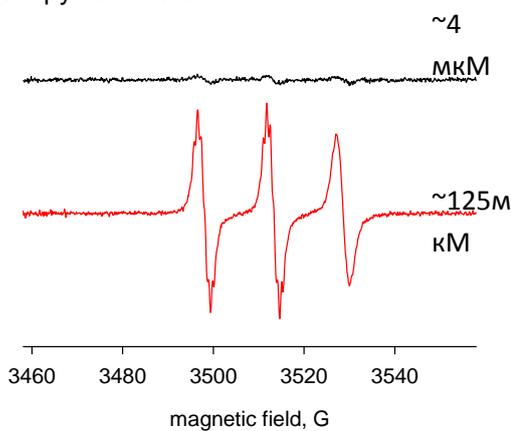


Рис. 1. Спектр содержимого мочевого пузыря через 3 часа после введения комплекса АГ с радикалом.

+ 2.5 мМ  $K_3[Fe(CN)_6]$ .

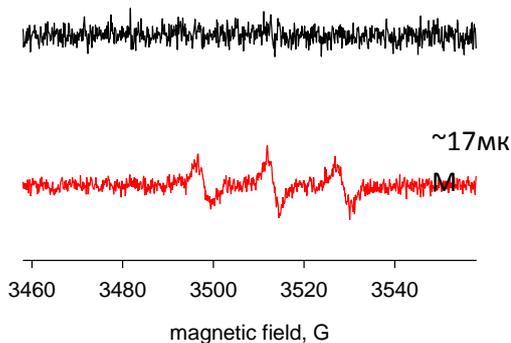


Рис. 2. Спектр содержимого мочевого пузыря через 3 часа после введения чистого радикала.

+ 2.5 мМ  $K_3[Fe(CN)_6]$ .

**Пункт 5.** «Токсико-фармакологические исследования новых соединений, полученных в результате целенаправленного органического синтеза»

Были продолжены исследования по изучению фармакологических свойств производного ламбертиановой кислоты (амида ЛК). Показано, что длительное

введение (21 день в дозе 15 мг/кг) Т-90 самкам, находящимся в условиях социального дискомфорта, повышает их коммуникативную и двигательную активность, активизирует эндогенную антиоксидантную систему организма, увеличивая уровень каталазы, и предотвращает развитие гипертрофии надпочечников. Кроме того, следует подчеркнуть, что Т-90 оказывал заметное положительное влияние даже на фоне сохраняющегося стрессорного воздействия на самок, несмотря на то, что терапевтическое действие многих психотропных препаратов в клинике становится ощутимым только в условиях исключения факторов, обуславливающих развитие патологии. Полученные данные свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований амида ламбертиановой кислоты (Т-90) в качестве стресс-протекторного препарата и возможного корректора состояний, вызываемых хроническим стрессом, в том числе депрессивных и тревожных расстройств.

**Пункт 6.** «Патоморфологический анализ (морфометрическая, гистохимическая оценка) структуры органов-мишеней на фоне воздействия вновь синтезированных агентов различных фармакологических групп»

Проведен патоморфологический анализ, морфометрическая оценка тканей печени крыс, подтверждающий воспроизведение 3-х недельного алкогольного фиброза печени, воспаления легких, вызванного введением липополисахарида. Проведен патоморфологический анализ степени ульцерогенности слизистой оболочки желудка крыс 30 дневного введения комплексов арабиногалактана с ацетил-салициловой кислотой и салициловой кислотой.

Дана морфометрическая оценка состояния структур мозга и миокарда крыс линии Охус в возрастной динамике.

Сделано патоморфологическое заключение о протекторных свойствах бетамида на процесс демиелинизации, вызванной купризоном.

**Пункт 7.** «Изучение влияния новых производных на рецепторном уровне в экспериментах *ex vivo* в применении методов и приборов, позволяющих проводить исследования на изолированных органах животных»

Скрининг галогенсодержащих производных лаппаконитина на изолированном предсердии крыс показал, что введение 5'-dichlorolappaconitine в дозах  $10^{-6}$  и  $10^{-5}$  М в ячейку с сокращающимся предсердием не изменяет сократительную функцию. В дозе  $10^{-4}$  М наблюдалась брадикардия с последующей блокадой сокращений (рис.3).



Рис.3. Блокада сокращений предсердия крысы при добавлении 5'-dichlorolappaconitine в дозе  $10^{-4}$ М

При добавлении в ячейку 5'-chlorolappaconitine в дозе  $10^{-4}$ М наблюдались веретенообразные сокращения. При этом полная блокада сокращений наблюдалась при введении агента в дозе  $10^{-3}$ М (рис.4).



Рис.4. Изменения в сокращении предсердия крысы при добавлении 5'-chlorolappaconitine в дозах  $10^{-4}$  и  $10^{-3}$ М

Добавление 5`-Br-lappaconitine и 5`-J-lappaconitine в ячейку с предсердием в дозе  $10^{-4}$ М вызвало сильную брадикардию, с последующей блокадой сокращений. В меньших дозах изменений сокращений не наблюдалось.

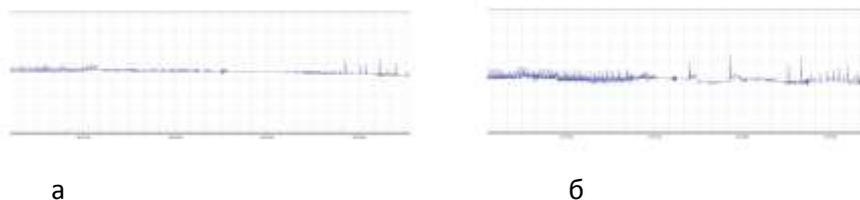


Рис. 5. Изменения в сокращении предсердия крысы при добавлении 5`-Br-lappaconitine (а) и 5`-J-lappaconitine (б) в дозах  $10^{-4}$ М

Полученные результаты показывают, что все галогенсодержащие производные лаппаконитина в дозе  $10^{-4}$ М блокируют сокращения предсердий крыс, что, вероятно, связано с их блокадой Na каналов. Наибольшую активность в экспериментах *ex vivo* проявили производные Br и J. Эти данные коррелируют с данными, полученными в экспериментах *in vivo*.

Проведены токсико-фармакологические исследования для 60 новых природных и синтетических соединений с целью отбора агентов для дальнейшего углубленного исследования

### Программа ОХиНМ РАН Проект 5.9. Медицинская и биомолекулярная химия

**Пункт 5.9.3.** «Химическая модификация природных биологически активных соединений, анализ взаимосвязи структура-активность и отбор потенциально значимых для медицины агентов»

#### «Исследование фармакологических свойств 2-R-7H-добензо[de,h]хинолин-7-онов»

Для исследования были предоставлены 7 производных хинолинонов, обладающих, предположительно, противоопухолевой и иммуномодулирующей активностью согласно данным SAR анализа в программе PASS. Эксперимент проводили согласно методическим рекомендациям (Гольдберг Е.Д., Зуева Е.П., 2002).

Установлено, что ни один из агентов в изученной дозе не оказал достоверного противоопухолевого действия. Агенты 464 и 466 проявили тенденцию к задержке роста опухоли, а агенты 475 и 479 к слабому стимулирующему действию на опухоль, при этом под влиянием соединений 475 и 479 продолжительность жизни мышей-опухоленосителей несколько увеличилась. Остальные соединения не оказывают влияния на рост опухоли.

На уровне контроля остались показатели выживаемости в группах с введением агентов 464 и 482, тогда как агент 472 увеличил смертность мышей относительно контроля. Условно все агенты можно расположить в ряды по убыванию:

- противоопухолевой активности – 464> 466> 482> 473> 472> 475> 479;
- продолжительности жизни – 479> 475> 466> 473> 482> 464 > 472.

Таким образом, у изученных соединений, вводимых внутрь в курсовом режиме в дозе 15 мг/кг в течение 8 дней не выявлено достоверной противоопухолевой активности.

### Программа фундаментальных исследований Президиума РАН

**Проект 8.9.** «Разработка научных основ получения биологически активных веществ на основе нитропроизводных мочевины и природных соединений различных классов»

Было проведено определение токсических свойств на крысах и мышах при однократном внутрижелудочном введении по методу Кербера, а также местного

действия при накожных аппликациях и нанесении на слизистую глаза ниже представленных соединений:

НСКНФ LD<sub>50</sub> > 2г/кг  
НСКФ LD<sub>50</sub> > 3г/кг

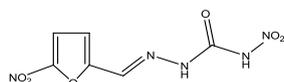
КНСКФ LD<sub>50</sub> > 2г/кг  
НСКСА LD<sub>50</sub> > 3г/кг

Установлено, что среднесмертельная доза (LD<sub>50</sub>) для всех соединений составляет 2-3 г/кг, что позволяет их отнести к 3 классу умереннотоксичных веществ. А при изучении влияния местного действия при накожных аппликациях на депиллированной боковой поверхности крыс и на слизистую глаза крыс местно-раздражающего действия не выявлено.

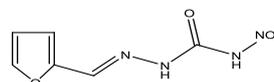
На основании вышесказанного можно заключить об умеренной токсичности данных соединений.

С целью планирования синтеза новых производных нитросемикарбазона был выполнен прогноз с помощью программы PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances, 2007, V. Poroikov, D. Filimonov and associates), которая позволяет прогнозировать большое число вероятных видов биологической активности вещества на основе его структурной формулы с использованием единого описания химической структуры и универсального математического алгоритма установления зависимостей "структура-активность".

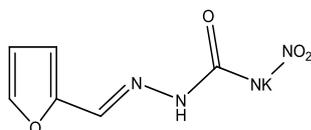
На основании этого прогноза сделано заключение о том, что преобладающей активностью для 4 производных – это антипротозойная, антиинфекционная, антитуберкулёзная.



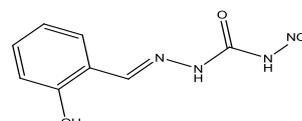
**НСКНФ** нитросемикарбазон нитрофурфурола



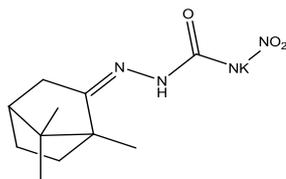
**НСКФ**- нитросемикарбазон  
фурфурола



**КНСКФ** - калиевая соль нитросемикарбазон  
салицилового альдегида;



**НСКСА** - нитросемикарбазон  
фурфурола



**КНСККа** -калиевая соль нитросемикарбазон камфанона;

Для бис(2-N,N-диметиламиноэтил) карбоната было проведено биотестирование на антацидные свойства, анальгетическую и антигипоксантную активности согласно также программы PASS.

Исследования *антацидных свойств* проводили на крысах массой 220-250г, анальгетическую и антигипоксантную – на мышах массой 25-30г.

Показано, что данное производное бис (2-N,N-диметиламиноэтил) карбонат, антацидными и противоязвенными свойствами не обладает т.к. не защищает слизистую оболочку желудка от характерного для НПВС ульцерогенного действия индометацина.

Для изучения *анальгетического действия* использовали стандартные модели: «горячая пластина», «уксусные горчи».

На основании полученных данных по анальгетической активности, Бис(2-N,N-диаминоэтил) карбонат в дозе 50 мг/кг не проявляет анальгетическую активность. Антигипоксическую активность изучали на модели нормобарической гипоксии, вызванной нахождением животных в емкостях без доступа воздуха. За час до помещения животных в емкости, вводили внутривенно исследуемое соединение в дозе 50 мг/кг. Критерием оценки активности время пребывания в емкости животных без доступа воздуха.

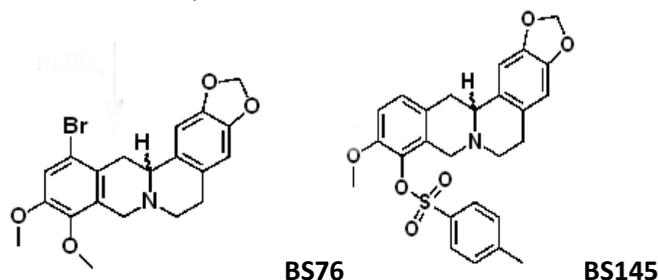
На основании проведенных исследований для данного соединения не было обнаружено в дозе 50 мг/кг антигипоксической активности.

Кроме того, для Бис(2-N,N-диметил-аминоэтил)карбоната, введенного крысам внутривенно в дозах от 0.35 мг/кг до 7, 0 мг/кг было показано отсутствие кардиотоксичности при регистрации ЭКГ и артериальное давление, а также исследуемые соединения не потенцировали действия аритмогенов.

**Проект ФНМ-39.** «Химически модифицированные индивидуальные природные метаболиты – перспективные фармацевтические платформы для создания отечественных препаратов для комплексного лечения метаболического синдрома»

**Пункт 1.** «Углублённое фармакологическое исследование выбранных перспективных производных берберина»

Для исследования были взяты два соединения, синтезированы в Лаборатории физиологически активных веществ НИОХ СО РАН.



В эксперименте использовали самцов белых беспородных мышей массой 25-35 гр. Все исследуемые вещества растворяли в дистиллированной воде и вводили внутривенно в дозе 100 мг/кг натошак, предварительно смешивали с каплей Твина 80. В качестве контроля использовали симвастатин (СВ) в дозе 20 мг/кг.

В эксперименте использовали следующие модели:

1. *Диет-индуцированная гиперлипидемия.* Животные на протяжении трех недель находились на диете с повышенным содержанием холестерина и жира. Состав диеты: холестерин 1%, холевая кислота 0,5%, пропилтиоурацил 0,12%, животный жир 20% + стандартный гранулированный корм. Вода в свободном доступе. Начиная с четвертой недели, животные были разделены на группы: 1. «жирная» диета; 2. «жирная» диета + симвастатин 20 мг/кг (контроль); 3. «жирная» диета + BS-145, 100 мг/кг; 4. «жирная» диета + BS-76, 100 мг/кг; 5. стандартный гранулированный корм. Исследуемые вещества смешивали с несколькими каплями твина 80, затем добавляли дистиллированную воду и получившуюся суспензию вводили внутривенно из расчета 0,2 мл/10 гр. на протяжении трех недель. В конце эксперимента животные были забиты после 12 часового голодания, кровь собрана из сосудов шеи для получения сыворотки.

#### **Биохимические исследования**

Сыворотку крови получали центрифугированием цельной крови в течение 15 минут при 3000 оборотах в минуту. Определяли общий холестерин и триглицериды.

Определение проводили на спектрофотометре StatFax (США) с использованием стандартных диагностических наборов фирмы "Ольвекс-диагностикум".  
Данные по гипохолестеринемическому действию соединений BS-76 и BS-145 представлены в таблице 3.

Таблица 3. Гиполипидемическая активность производных берберина на модели диет-индуцированной гиперлипидемии

	<b>Холестерин ммоль/л</b>	<b>ТГ ммоль/л</b>	<b>ЛПВП мг/dl</b>	<b>ЛПНП мг/dl</b>
Интактный контроль	2,79±0,19	2,16±0,06	102,70±7,91	19,15±2,04
Контроль, диета	<b>4,04±0,30*</b>	<b>1,42±0,09*</b>	<b>167,15±10,42*</b>	<b>75,16±7,48*</b>
СВ, 20 мг/кг	3,59±0,37	1,18±0,13	<b>124,03±9,74<sup>#</sup></b>	<b>53,84±5,91<sup>#</sup></b>
BS-76	3,69±0,29*	1,17±0,08	153,88±16,54	71,32±8,01
BS-145	4,19±0,31*	1,14±0,16	151,00±13,26	69,57±8,58

\*p<0,05 по отношению к интактному контролю

#p<0,05 по отношению к контролю, диета

Ранее на модели Triton-индуцированной гиперхолестеринемии нами были обнаружены два соединения BS-76 и BS-145, проявившие наиболее значимы гиполипидемический эффект.

Целью настоящей работы было протестировать эти соединения на диет-индуцированной модели гиперхолестеринемии. В результате эксперимента было установлено, что внутрижелудочное введение указанных соединений в течение 3 недель в дозе 100 мг/кг не вызывает достоверного гиполипидемического действия. Мы полагаем, что наблюдаемые отличия в действии веществ на разных моделях могут быть связаны, прежде всего, с особенностью самих моделей. Triton-индуцированная модель основана на значительном повышении биосинтеза холестерина и триглицеридов в клетках печени крыс в первые 24 часа после введения тритона [Sei-Jung Lee, Phil-Sun Oh, Kye-Taek Lim Hepatoprotective and hypolipidaemic effects of glycoprotein isolated from Gardenia jasminoides ellis in mice // Clin Exp Pharmacol Physiol. 2006 Oct;33(10):925-33], в результате этого концентрация общего холестерина в плазме значительно (в 4 раза) увеличивается, что дает возможность обнаружить гиполипидемическое действие изучаемого вещества, пускай и не сильно выраженное. При использовании диеты, увеличение общего холестерина происходит не столь выражено (1,4 раза), поскольку оно основано на его накоплении в организме за счет снижения интенсивности метаболизма и уменьшению выведения из организма. В этом случае уже большее значение играют другие факторы, как например биодоступность, доза, длительность введения. Вероятно, вследствие указанных факторов нам не удалось обнаружить достоверного гиполипидемического действия исследуемых соединений на модели гиперхолестеринемической диеты.

В виду более стабильного развития метаболического синдрома целесообразнее проведения дальнейших исследований на животных специальных линий с генетически обусловленными гиперлипидемией и гипергликемией.

**Пункт.2.** «Проведение фармакокинетических и фармакодинамических исследований комплексов арабина галактана с фармаконами дигидропиримидинового ряда (нисолдипин, нифедипин и др.)»

Оценка фармакокинетических параметров проводилась после однократного внутрижелудочного введения комплекса нифедипина (НФ) с арабиногалактаном (АГ) с соотношением НФ:АГ = 1:10. Нифедипин (Sigma, N7634).

Комплексы синтезированы механохимическим способом в Институте химии твердого тела и механохимии СО РАН.

В эксперименте использовали самцов крыс линии Вистар массой 200-220 гр. Животные были получены из Лаборатории по разведению экспериментальных животных ИЦИГ СО РАН. Все манипуляции проводили согласно Конвенции о гуманном обращении с животными.

Все исследуемые вещества растворяли в дистиллированной воде, НФ предварительно смешивали с каплей Твина 80. Комплекс вводили в дозе 35 мг/кг, что в пересчете на НФ = 3,5 мг/кг (на рис.1 К35). НФ вводили в дозе 3,5 мг/кг. Агенты вводили натошак однократно внутривентрикулярно. Для оценки фармакокинетических параметров, кровь забирали из хвоста через 1, 2, 3, 4 и 5 часов. Концентрацию агентов измеряли на масс-спектрометре Agilent 6410 QQQ (Agilent Technologies, USA).

В каждой опытной группе было по 2 животных. Данный эксперимент был проведен с целью отработки детекции масс-спектрометром нифедипина в комплексе и в чистом виде. Основной задачей было выяснить, возможно ли определение концентрации НФ в малом объеме крови – 150-200 мкл и сравнить параметры комплекса НФ и АГ с НФ.

Полученные результаты представлены на Рис. 6-8 и в таблице 4.

Рис. 6. Концентрационная кривая после введения комплекса в дозе 35 мг/кг

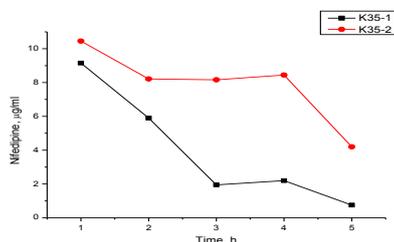


Рис. 7. Концентрационная кривая после введения нифедипина в дозе 3,5 мг/кг

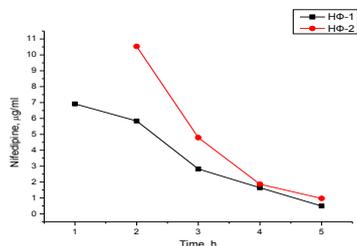


Рис.8. Концентрационная кривая после введения комплекса в дозе 35 мг/кг и НФ в дозе 3,5 мг/кг

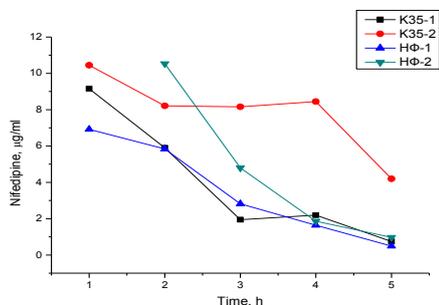


Таблица 4. Фармакокинетические параметры.

Параметр	Единицы	К35-1	К35-2	НФ-1	НФ-2
Lambda <sub>z</sub>	1/h	0.600714182	0.179662385	0.796159944	0.810323766
t <sub>1/2</sub>	h	1.153871844	3.858053976	0.870612979	0.855395349
T <sub>max</sub>	h	1	1	1	2
C <sub>max</sub>	µg/ml	9.15132	10.45168	6.91619	10.5322
T <sub>lag</sub>	h	0	0	0	0
C <sub>last_obs</sub> / C <sub>max</sub>		0.081346735	0.4015077	0.071219848	0.091983631
AUC 0-t	µg/ml*h	19.554045	37.365955	17.465125	22.940835
AUC 0- inf_obs	µg/ml*h	20.79328659	60.72326482	18.08380722	24.13639416
AUC 0- t/0- inf_obs		0.940401841	0.615348254	0.965788055	0.950466538
AUMC 0- inf_obs	µg/ml*h <sup>2</sup>	45.66018009	342.4209617	38.72520892	63.31002002
MRT 0- inf_obs	h	2.195909718	5.639040698	2.14143009	2.623010695
V <sub>z</sub> /F <sub>obs</sub>	(mg)/(µg/ ml)	0.056041147	0.064163163	0.048619204	0.035790443
Cl/F <sub>obs</sub>	(mg)/(µg/ ml)/h	0.033664712	0.011527707	0.038708663	0.029001847

Полученные данные свидетельствуют о возможности измерения концентрации НФ в малых объемах, как в комплексе, так и в чистом виде. Кроме этого, есть отличия в фармакокинетических параметрах: у комплекса  $t_{1/2}$  больше, чем у чистого нифедипина, через 1 час концентрация нифедипина, введенного в виде комплекса с АГ, также превышает таковую у чистого НФ. Статистический анализ в данном случае проводить не корректно, однако полученные данные позволяют продолжить исследования в данном направлении.

Результаты, полученные на основании скрининга данных производных берберина, позволят в дальнейшем использовать данный остов для химической модификации новых агентов, перспективных в качестве гиполипидемических средств.

Оценка фармакокинетических параметров комплекса арабиногалактана с нифедипином, позволит объяснить пролонгированный эффект нифедипина по сравнению с чистым нифедипином, но в дозе в 10 раз меньшей.

## Программа фундаментальных исследований Президиума РАН

**Проект 24.63.** «Углевосодержащие растительные метаболиты как платформа для создания наноструктурированных лекарственных препаратов»

Было установлено, что комплексообразование арабиногалактана с ацетилсалициловой кислотой повышает на 10% ее растворимость. Изучение *in vivo* антиагрегационного действия комплексов АСК:АГ 1:10/20 в дозах 250 мг/кг и 500 мг/кг (доза АСК в обоих случаях 25 мг/кг), соответственно, выявило достоверное уменьшение степени и скорости агрегации тромбоцитов через три часа после внутривенного введения агентов. При этом, увеличение количества АГ в комплексе в два раза достоверно не влияет на проявление АСК антиагрегантного действия и не отличается от такового у комплекса с соотношением 1:10.

Таким образом, наиболее эффективным является комплекс АСК:АГ = 1:10 по массе. Кроме этого, было установлено, что эффективная доза чистой АСК составляет 50 мг/кг, тогда как аналогичный эффект в комплексе АСК:АГ 1:10 был обнаружен в дозе 250 мг/кг, что в пересчете на АСК составляет 25 мг/кг.

## Программа фундаментальных исследований с НАН Белоруси

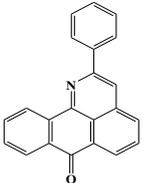
**Проект 23.** «Синтетические трансформации высших терпеноидов как путь создания перспективных препаратов»

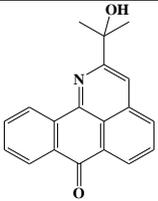
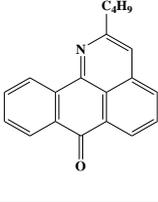
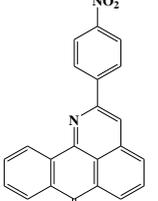
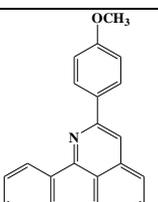
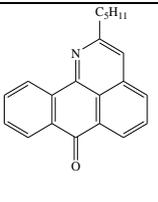
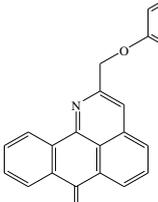
### Исследование противоопухолевой активности 2-R-7H-дibenзо[de,h]хинолин-7-онов

Для исследования были предоставлены 7 производных хинолинонов, обладающих, предположительно, противоопухолевой и иммуномодулирующей активностью согласно данным SAR анализа в программе PASS (табл.5).

Целью исследования являлось экспериментальное обоснование результатов компьютерного предсказания вероятной противоопухолевой активности соединений на модели перевиваемой опухоли у мышей.

Таблица 5. Вероятная активность 2-R-7H-дibenзо[de,h]хинолин-7-онов

Agent		Pharmacological activity					
		drug likeness	Antineoplastic	Immuno-modulator	Vascular disease treatment	Antihe-matotoxic	Cardio-protectant
BD-464		0,638	0,702	0,768	0,601	0,524	

BD-466		0,876		0,673	0,535		0,609
BD-472		0,853		0,613	0,568	0,526	0,547
BD-473		0,205	0,617	0,642	0,578		
BD-475		0,608	0,701	0,680	0,579	0,512	
BD-479		0,855		0,631	0,578	0,538	0,528
BD-482		0,823	0,577	0,647	0,510	0,528	0,605

Согласно полученным данным ни один из агентов в изученной дозе не оказал достоверного противоопухолевого действия. Лишь агенты 464 и 466 проявили тенденцию к задержке роста опухоли. Агенты 475 и 479 возможно оказывают стимулирующее действие на опухоль, при этом они также повышают продолжительность жизни мышей-опухоленосителей. Остальные соединения не оказывают влияния на рост опухоли.

На уровне контроля остались показатели выживаемости в группах с введением агентов 464 и 482, тогда как агент 472 увеличил смертность мышей относительно контроля. Референтный препарат винкристин в изученной дозе также не оказал

противоопухолевого эффекта и не проявил влияния на продолжительность жизни мышей.

Очень условно все агенты можно расположить в ряды по убыванию:

- противоопухолевой активности – 464 > 466 > 482 > 473 > 472 > 475 > 479;
- продолжительности жизни – 479 > 475 > 466 > 473 > 482 > 464 > 472.

У изученных соединений, вводимых внутрь в курсовом режиме в дозе 15 мг/кг в течение 8 дней не выявлена противоопухолевая активность. На основании полученных данных можно сделать предположение, что:

- агенты 464 и 466 обладают небольшим противоопухолевым эффектом, при этом 466 повышает выживаемость опухолевых животных;
- агенты 482, 473 и 472 не влияют на скорость роста опухоли (не стимулируют ее рост), при этом 473 незначительно повышает, а 472 снижает выживаемость опухолевых животных;
- агенты 475 и 479 стимулируют как рост опухоли, так и противоопухолевую резистентность организма, увеличивая продолжительность жизни мышей.

### Отдел химии материалов

Руководитель - д.х.н. В.В. Шелковников

### Лаборатории органических светочувствительных материалов

Заведующий лабораторией д.х.н. В.В. Шелковников

**Проект № V.45.3.10.** «Разработка методов синтеза органических и гибридных соединений для создания новых функциональных наноструктурированных материалов»

**Пункт 3.** «Разработка методов синтеза новых флуорофоров и фотохимически активных соединений для сенсорных, оптоэлектронных и биохимических приложений»

#### «Синтез пирилоцианиновых красителей - потенциальных сенсоров на ароматические амины»

С целью разработки методов детектирования ВВ исследовано взаимодействие пирилоцианиновых красителей, синтезированных из перхлората 2,4,6-триметилпирилия, с аминотолуолом и 2,4-диаминотолуолом в растворе и в адсорбированном состоянии на силикагеле в виде пластин для ТСХ «Sorbfil». В качестве исходных пирилоцианиновых красителей использовались два ранее описанных в литературе стироловых красителя и новый краситель, полученный нами конденсацией перхлората 2,4,6-триметилпирилия с 4-(N,N-дифениламино)бензальдегидом. Для идентификации продуктов реакции пирилоцианинов **1a-c** ароматическими аминами по спектрам люминесценции в тестовых системах нами синтезированы соответствующие пиридоцианины **2a-f** (схема 1).

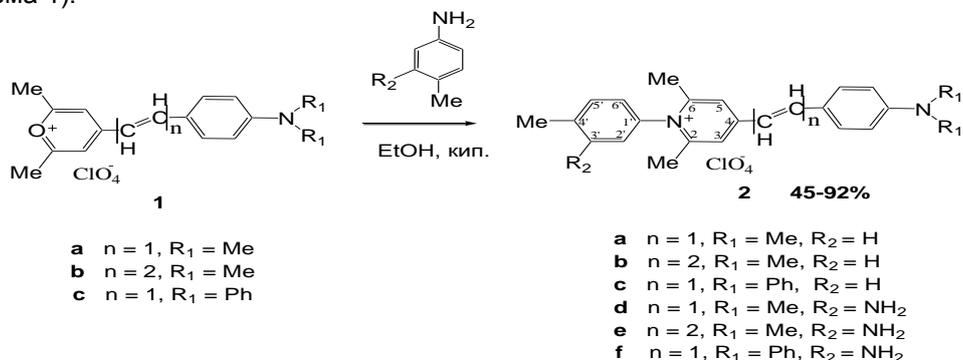


Схема 1

Записаны спектры люминесценции пирило- и пиридоцианинов **1a-c** и **2a-f** в ацетонитриле и на SiO<sub>2</sub> (пластины Sorbfil). Для всех соединений наблюдается гипсохромный сдвиг спектра люминесценции красителя на сорбенте относительно его люминесценции в ацетонитриле.

Показано, что пирилоцианины в растворе могут быть использованы как аналитические реагенты на ароматические амины, но применение их в качестве сенсоров затруднительно из-за длительного времени развития люминесцентного отклика пиридоцианина. В адсорбированном состоянии на силикагеле исследованные пирилоцианины пригодны для использования в качестве сенсорных реагентов на ароматические амины с эффективным временем образования люминесцентного продукта порядка нескольких секунд.

«Разработка методов синтеза фотохимически активных соединений на основе аминозамещенных полифторхалконов для фоторезистивных и электролюминесцентных материалов»

Осуществлен синтез пиперазинозамещенных полифторхалконов и их последующее акрилоилирование по аминогруппам пиперазинового остатка. В качестве исходных соединений использовали три полифторзамещенных халкона - пентафторбензальацетофенон **1a**, бензальпентафторацетофенон **1b** и декафторхалкон **1c** (схема 2).

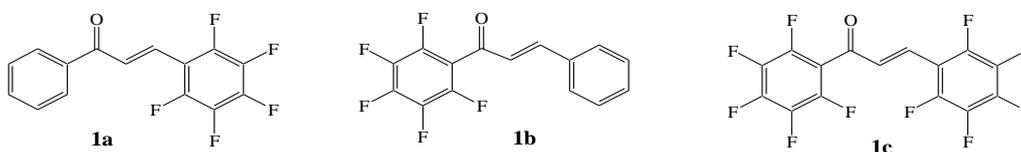
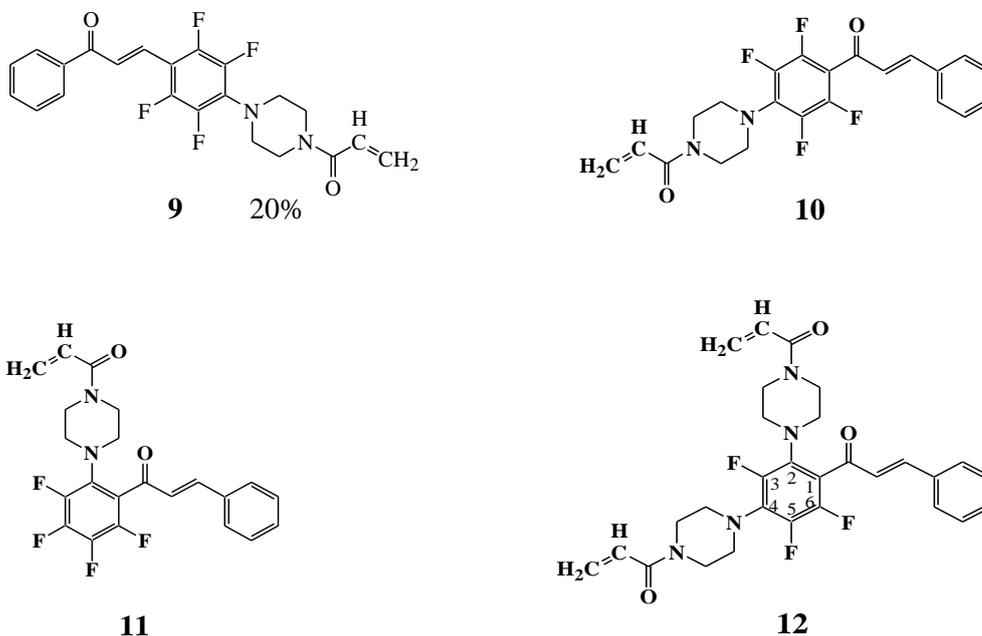


Схема 2

Получено шесть новых соединений с одной, двумя или тремя акрилоиламидными группами в молекуле халкона (рис. 1) на основе полифторхалконов путем замещения фтора в полифторфенильных кольцах на остатки пиперазина с последующим акрилоилированием свободных аминогрупп.



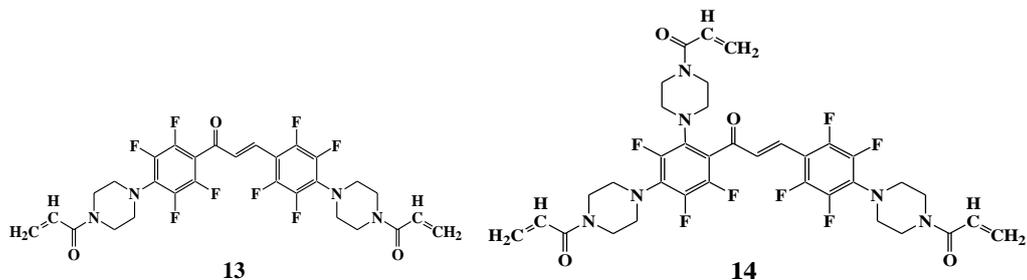
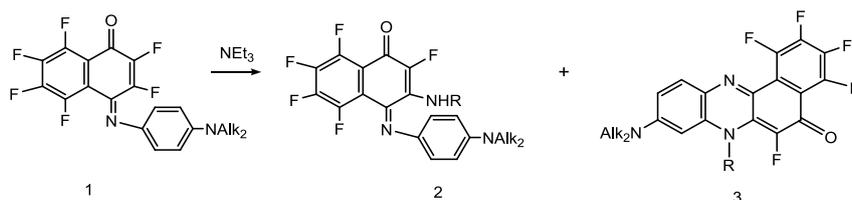


Рис. 1

«Получение новых люминофоров ряда полифторированных бензофеназинонов взаимодействием фторированных нафтохинонимининов с аминами»

Синтезированы новые фторсодержащие красители ряда феноксазинона (схема 3).



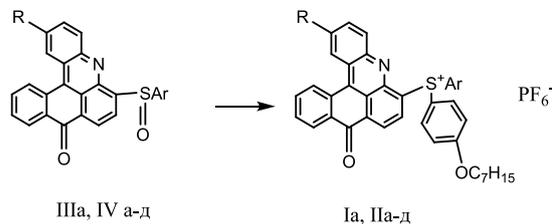
Alk=CH<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>; R=C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-p, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>N(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>-p, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OCH<sub>3</sub>-p

Схема 3

Исследование спектральных свойств полученных соединений показано, что пентафторбензофеназиноны люминесцируют в растворах органических растворителей, максимум люминесценции лежит в области 598-603 нм, значения Стоксова сдвига составляют 20-28 нм. Полученные соединения представляют потенциальный интерес в качестве флуоресцентных зондов при исследовании биологических молекул.

«Разработка методов синтеза органических фотогенераторов кислот, чувствительных в видимой области спектра, на основе сульфониевых солей гетероциклических производных антраона»

Синтезированы гексафторфосфаты (керамидонил)(арил)(4-гептоксифенил)-сульфония (I, II) с использованием в качестве исходных соединений соответствующих (керамидонил)(арил)сульфоксидов (III, IV) и гептилфенилового эфира (схема 4).



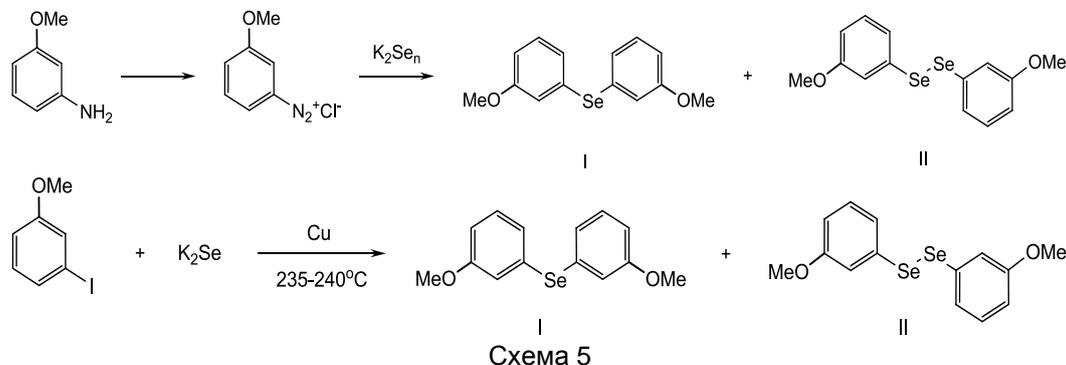
I - IV: R = CH<sub>3</sub> (а), H (б), Br (в), OMe (г), NMe<sub>2</sub> (д); I, III: Ar = Ph; II, IV: Ar = 4-Bu<sup>t</sup>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>

Схема 4

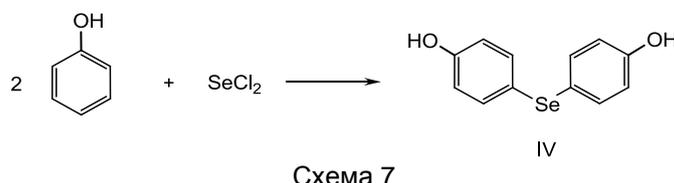
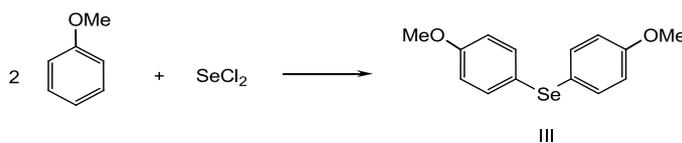
Разработан метод получения солей сульфония на основе производных керамидонина для использования в качестве инициаторов фотополимеризации в видимой области спектра.

«Разработка методов синтеза замещенных дифенилселенидов предшественников селеносодержащих люминофоров и сенсibilизаторо»

Разработаны два метода синтеза бис(3-метоксифенил)селенида (I). Методы позволили наработать необходимое количество соединения (I), но осложнены образованием диселенида (II) (схема 5).



Освоены одностадийные синтезы бис(4-метоксифенил)селенида (III) действием  $\text{SeCl}_2$  на 4-метоксифенол (схема 6) и бис(4-гидроксифенил)селенида (IV) действием  $\text{SeCl}_2$  на фенол (схема 7).



Полученные *мета*- и *пара*-замещённых дифенилселенидов являются исходными соединениями для получения селенофлуоресцеинов и мономеров для фоточувствительных полимерных композиций.

«Синтез новых фотогенераторов синглетного кислорода для фотодинамической терапии на основе красителей ксантенового и тиоксантенового ряда, активируемых при возбуждении разрешенных и запрещенных переходов»

Алкилирование эритрозина *n*-бутилйодидом позволило получить ксантеновые красители с простыми и сложноэфирными группами, обладающие необходимыми оптическими свойствами для применения в качестве фотогенераторов синглетного кислорода (схема 8).

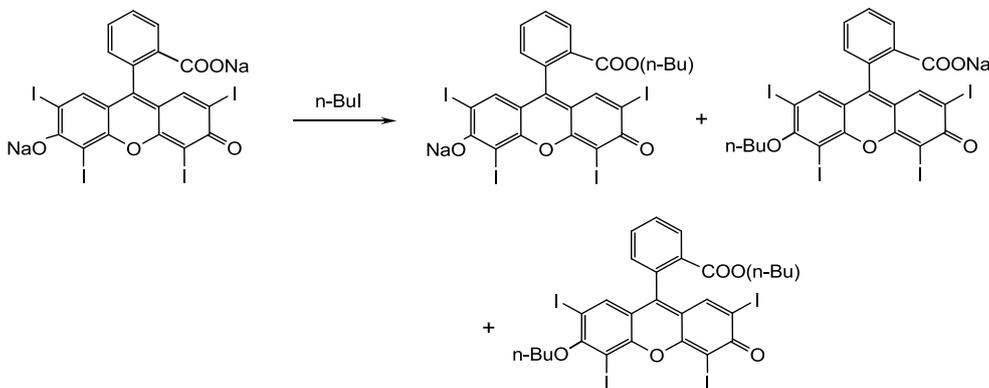


Схема 8

«Разработка методов синтеза силоксансодержащих тиол-акрилатных мономеров для получения гибридных фотополимерных пленок на их основ»

Продолжена разработка и оптимизация методов получения органическо-неорганических гибридных фотополимерных материалов с использованием синтезированных в лаборатории компонентов гибридных композиций. Были исследованы возможности оптимизации описанных процессов для повышения чистоты продуктов на отдельных стадиях и улучшения качества фотополимерных пленок. Так, для оптимизации синтеза тетраакрилата снижена температура реакции на стадии взаимодействия бис(*p*-гидроксифенил)сульфида с эпихлоргидрином с 105<sup>0</sup>С до 80<sup>0</sup>С, что позволило избежать образования трудно отделяемых примесей и получить в чистом виде конечный продукт - тетраакрилат. Найдено оптимальное молярное соотношение реагентов при получении фотополимерных композиций из органической и неорганической частей (тетраакрилат дифенилсульфида + димеркаптосилан), которое составило 1:2 (схема 9).

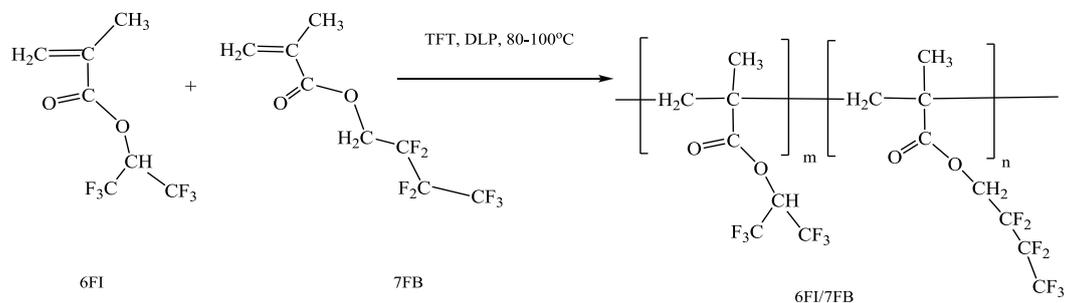


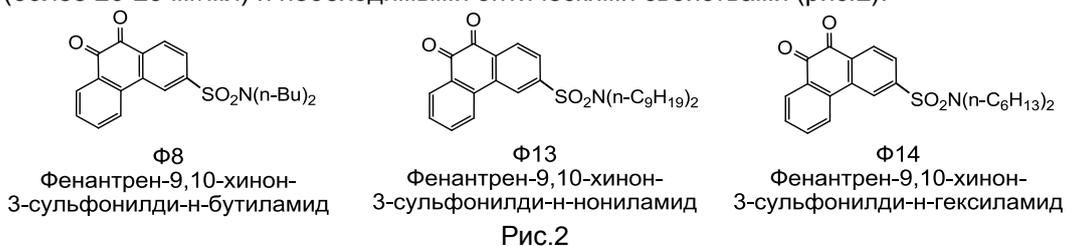
Схема 9. Синтез полимера 6FI/7FB

Изучено влияние различных катализаторов (триметоксибороксин, эфират трехфтористого бора) на реакцию конденсации. Исследована реакция присоединения исходных реагентов в условиях УФ излучения в композициях различного состава.

«Получение продуктов нуклеофильного замещения сульфонилхлоридов фенантренхинона с целью синтеза эфиров и амидов фенантренхинона, светочувствительных в широком спектральном диапазоне»

Найдены реагенты и условия взаимодействия сульфохлоридов ряда фенантренхинона с диалкиламинами разработаны образцы фенантренхинон-

сульфонамидов, обладающих хорошей растворимостью в ацетоне и хлороформе (более 20-25 мг/мл) и необходимыми оптическими свойствами (рис.2).



«Синтез акрильных фторсополимеров как потенциальных полимерных носителей для создания покрытий чувствительных к давлению, применяемых в области аэрокосмической техники, и получение данных об их физико-химических свойства»

Осуществлен синтез сополимеров, исходя из 1,1,1,3,3,3-гексафторизопропил-метакрилата (6FI), 2,2,3,3,4,4,4-гептафторбутил-метакрилата (7FB), а также тройных сополимеров на основе мономеров 1,1,1,3,3,3-гексафторизопропилметакрилата (6FI), 2,2,3,3,4,4,4-гептафторбутил-метакрилата (7FB) и акрилоильных производных *N*-замещенных пиперазина (схема 10).

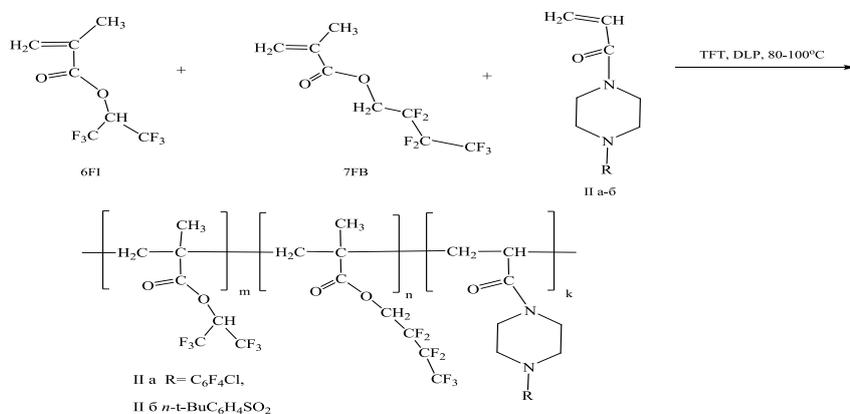
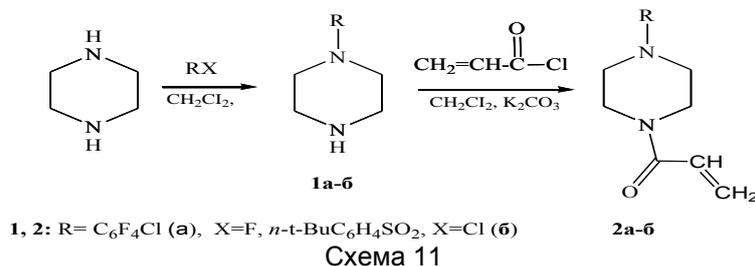


Схема 10

Для синтеза тройных сополимеров нами были получены новые акрилоильные производные пиперазина, введение которых в структуру сополимера значительно улучшает его термическую устойчивость и адгезию к алюминиевому покрытию (схема 11).



Синтезированные тройные полимеры характеризуются высокой молекулярной массой (Mw) 110000-130000, хорошо растворяются в ТГФ, ацетоне, трифтортолуоле. Температуры стеклования тройных полимеров на 10°С выше, чем фторалкилметилакрилатных сополимеров, и составляют 77-78 °С.

«Запись голограмм в фотополимерных материалах на основе новых пиперазиновых и пиперидиновых акрильных и оксирановых мономеров, полимеризующихся по радикальному и катионному механизму»

Разработан голографический фотополимерный материал, состоящий из полимерной матрицы поливинилацетата, в которой растворены фоточувствительные и мономерные компоненты. В качестве фоточувствительной компоненты использован дигексафторфосфат 2-(N,N,N-триэтиламмонио)метил-9-оксо-10-(4-гептилоксифенил)-9*H*-тиоксантия (соединение 1). Данный фотоинициатор имеет слабое поглощение в области 350-400 нм с максимумом  $\lambda = 385$  нм и интенсивное поглощение с максимумом при  $\lambda=265$  нм (см. рис. 3).

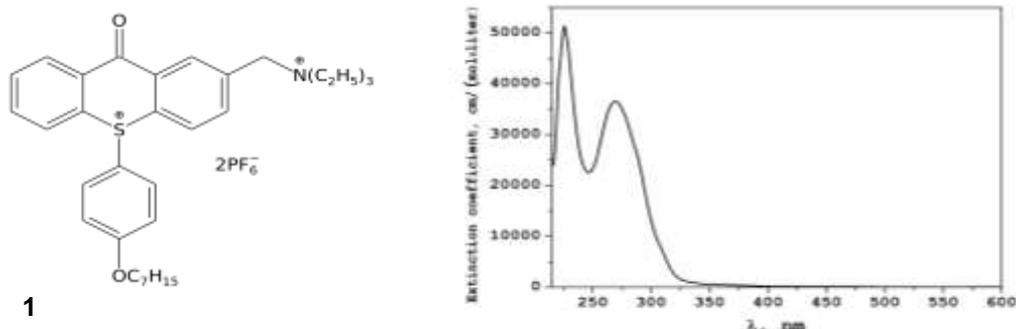


Рис. 3. Спектр поглощения фотоинициатора дигексафторфосфата 2-(N,N,N-триэтиламмонио)метил-9-оксо-10-(4-гептилоксифенил)-9*H*-тиоксантия

В состав данной композиции входит мономер (бис(4-оксиран-2-илметокси)фенил)сульфид (M2), содержащий два оксирановых цикла (соединение 2), и 1,4-бис(акрилоил)пиперазин (ВАР) (соединение 3). Свободные радикалы, образующиеся при фотолизе сенсбилизатора, инициируют процесс полимеризации сшивающего мономера по механизму свободно-радикальной полимеризации (рис.4).

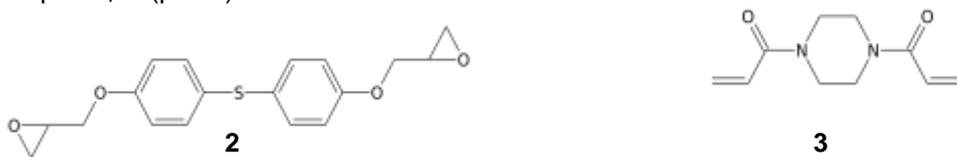


Рис.4

Экспериментальные образцы представляют собой слои фотополимерного голографического материала толщиной 60-120 мкм, нанесенные на стеклянную подложку и закрытые защитной PET пленкой.

Исследовано влияние концентрации фотоинициатора на эффективность полимеризации, показано возрастание скорости полимеризации при увеличении концентрации фотоинициатора до 0.04 моль/л с последующей стабилизацией.

Изучено влияние концентрации мономеров радикального и катионного типов в ГФПМ на эффективность и скорость записи голограмм. Выявлены оптимальные значения концентраций мономера радикального типа.

«Данные сравнительного исследования однофотонной и двухфотонной записи голограмм в условиях катионной фотополимеризации»

Разработан новый голографический фотополимерный материал, обладающий высокой чувствительностью к УФ излучению (до 350 нм) и несколько меньшей к излучению до 405 нм. Фотополимер обеспечивает уровень дифракционной эффективности порядка 80 % ( $n_1 = 0.0014$ ) при чувствительности к УФ излучению (375 нм)  $\sim 300$  мДж/см<sup>2</sup>.

ГФПМ пригоден для записи голограмм в режиме двухфотонного поглощения. В процессе записи достигается величина изменения показателя преломления порядка  $n_1 = 0.003$ . Материал обеспечивает величину сечения двухфотонного поглощения (532 нм)  $\delta = 2 \cdot 10^{-52} \text{ см}^4 \cdot \text{с}/\text{фотон}$  и имеет порог интенсивности записывающего излучения в районе  $\sim 2 \text{ ГВт}/\text{см}^2$ .

«Разработка метода цветного фотоселективного окрашивания анодированного наноструктурированного алюминия»

Анодные оксидные пленки (АОП), образующиеся на металлах и полупроводниках, имеют все большее практическое применение. Наиболее известное применение анодной пленки на алюминии – это эффективный и дешёвый способ повышения коррозионной стойкости металла.

Выявлен эффект изменения оптических свойств селективно окрашенных пленок при вторичном осаждении благородного металла (Ag, Au) на поверхности образца многослойной структуры. Схема образования цветов интерференции при двухстадийном анодировании алюминия приведена на рис. 5

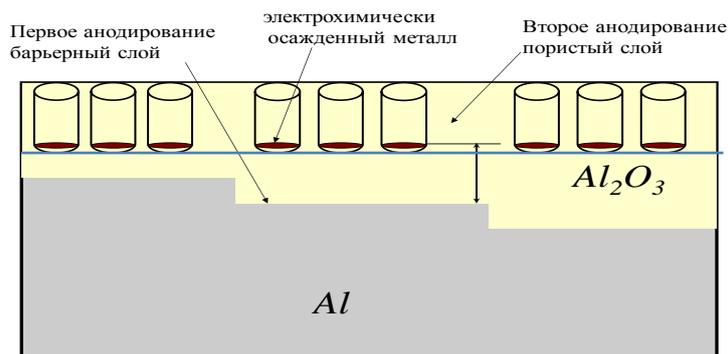


Рис. 5. Формирование интерференционных слоев на двухстадийно-анодированном алюминии

Интерференция возникает между световым лучом, отраженным от алюминиевой подложки, и слоем металла, разделенными слоем оксида алюминия определенной толщины. Толщина слоя анодированного алюминия контролируется временем анодирования.

При дополнительном осаждении благородного металла (Ag, Au) на поверхности первичного металла (Cu, Co, Ni) происходит усиление яркости отраженного интерферирующего света. Для сравнения на рис. 6 приведены поля с нанесенным первичным металлом до и после обработки в солях серебра.

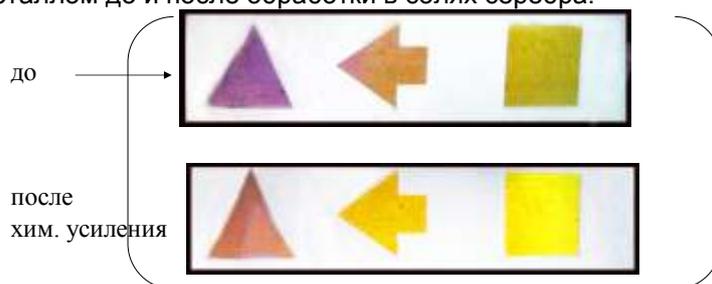


Рис. 6. Образцы цветных полей с нанесенными наночастицами неблагородных металлов (Cu) до и после усиления в растворе солей серебра

Как видно из рисунка, отчетливо наблюдается усиление яркости отраженного света интерференции.

В результате проведенной работы найдены условия электрохимического селективного цветного окрашивания АОП алюминия с высоким коэффициентом отражения и широкой гаммой цветных тонов, достигнуто усиление яркости.

## Группа функциональных материалов

Руководитель группы – к.х.н. Е.В. Малыхин

**Проект № V.45.3.10.** «Разработка методов синтеза органических и гибридных соединений для создания новых функциональных наноструктурированных материалов»

**Пункт 1.** «Получение и изучение характеристик полифторированных полиимидных прекурсоров, в том числе, карбонизованных, для высокоселективных разделительных слоев и мембран»

Для оценки возможности получения карбонизованного материала из полиимидов, содержащих пиридиновый фрагмент (схема 1), изучено влияние структуры, природы заместителей (H, F, Cl, NH<sub>2</sub>) и температуры пиролиза на выход и динамику элементного состава карбонизованных прекурсоров.

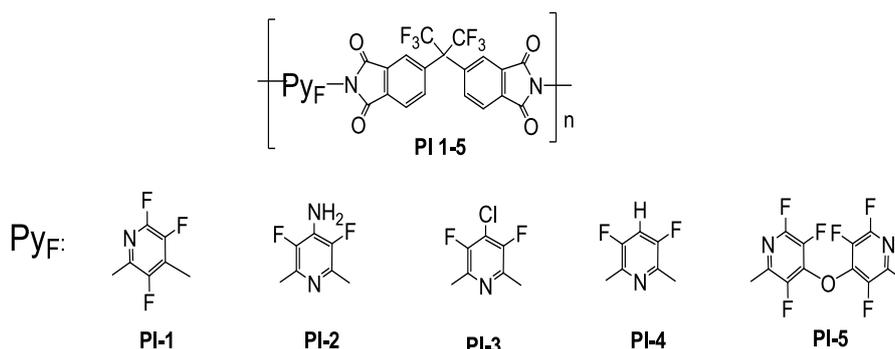


Схема 1. Строение полиимидных прекурсоров, использованных для пиролиза

Показано, что модификация условий пиролиза обеспечивает последовательное селективное элиминирование различных гетероатомов из пиридинсодержащих полиимидных прекурсоров. Определены условия, обеспечивающие образование карбонизованных материалов различного состава, что может быть использовано для регулирования пористой наноструктуры карбонизованных материалов.

С целью формирования разделительного слоя на основе высокофторированного полиимида, нанесенного на оксид алюминия, и исследования адсорбционных и хроматографических свойств такого сорбента синтезирован термостойкий высокофторированный полиимид на основе 2,7-диаминогексафторнафталина и диангида 2,2-бис(3',4'-дикарбоксифенил)-гексафторпропана (схема 2).

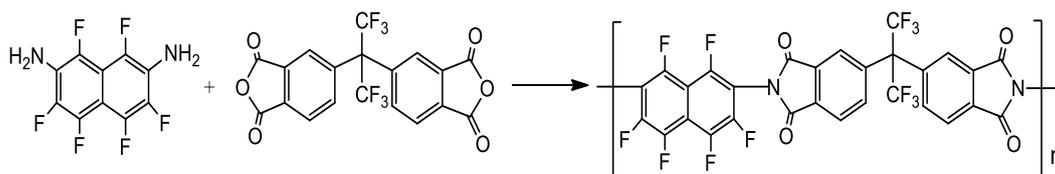


Схема 2. Строение высокофторированного полиимида, использованного для создания разделительного слоя

Определены условия пиролиза, обеспечивающие образование из высокофторированных полиимидов карбонизованных материалов различного состава; получены высокоэффективные разделительные слои и определены их адсорбционные и хроматографические свойства.

**Пункт 2.** «Дизайн кристаллических супрамолекулярных 1D ансамблей полигалогенированных *мета*-арилендиаминов и макроциклических эфиров, перспективных в качестве функциональных материалов; исследование взаимосвязей между структурой компонентов и параметрами сокристаллов»

Кристаллические водородносвязанные супрамолекулярные ансамбли представляются перспективными твердофазными хемосенсорами: разрушение межмолекулярной связи эквивалентно передаче возмущения системы сигнальной группе в ковалентносвязанных объектах и сопровождается изменением её детектируемых характеристик. Дизайн серий этих объектов, в частности, на основе полигалогенированных *мета*-арилендиаминов и макроциклического эфира 18-краун-6 позволяет исследовать взаимосвязь между структурой компонентов и параметрами сокристаллов (геометрическими и термодинамическими) и, тем самым, развить подходы к синтезу этой перспективной группы объектов для применения в качестве функционального материала.

Анализ данных РСА позволил выявить структурные факторы, определяющие длину элементарного звена 1D ансамбля ( $l_U$ ): тип ароматического остова, симметрия диамина, расположение атома азота в гетероцикле по отношению к аминогруппам ( $\alpha,\alpha$ - и  $\alpha,\gamma$ -диамины), объем заместителя между аминогруппами, природа, количество и расположение заместителей в кольце (H, Cl, F,  $CF_3$ ) (рис. 1). Методом ДСК исследованы параметры фазовых переходов кристаллических ассоциатов и показано, что ассоциаты, кристаллизующиеся из раствора и расплава, имеют идентичные теплоты ( $\Delta H_U$ ) и температуры переходов. Обнаружено, что геометрические и термодинамические характеристики серий зигзагообразных 1D ансамблей 18-краун-6 с полифторированными *мета*-диаминобензолами,  $\alpha,\alpha$ - и  $\alpha,\gamma$ -диаминопиридинами стехиометрии 1:1 подчиняются общей закономерности: существует обратно пропорциональная зависимость между удельной теплотой плавления со-кристаллов и длиной звена 1D ансамбля:  $\Delta H_U = 500 \pm 49 - (25 \pm 3)l_U$ ; R = 0.954, SD = 6.7 (рис. 2).

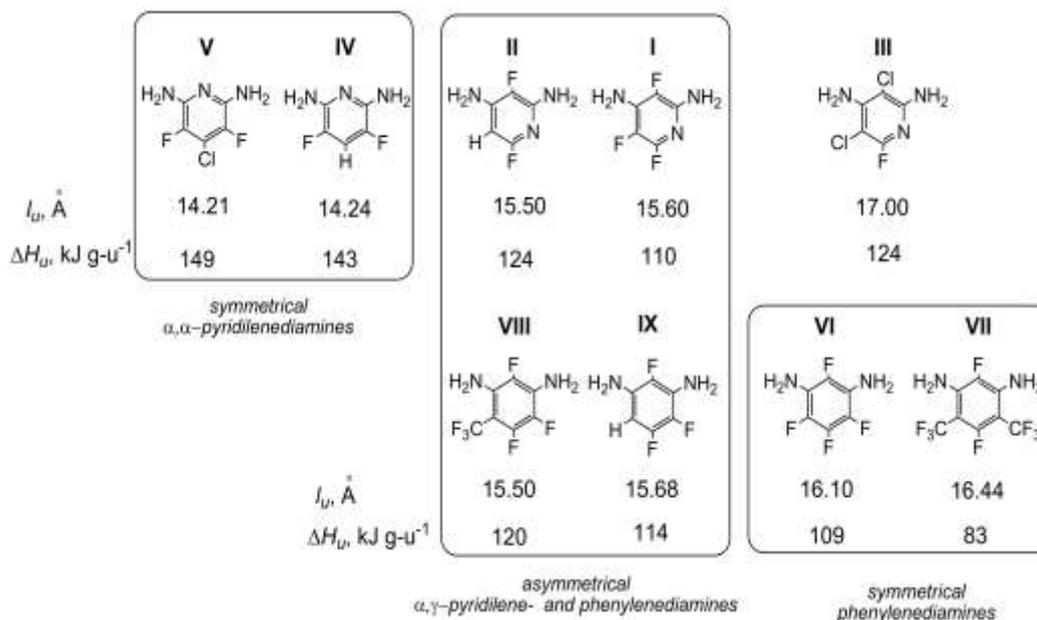


Рис. 1. Влияние структурных особенностей *мета*-(гет)арилендиаминов на геометрические и термодинамические параметры кристаллических ассоциатов

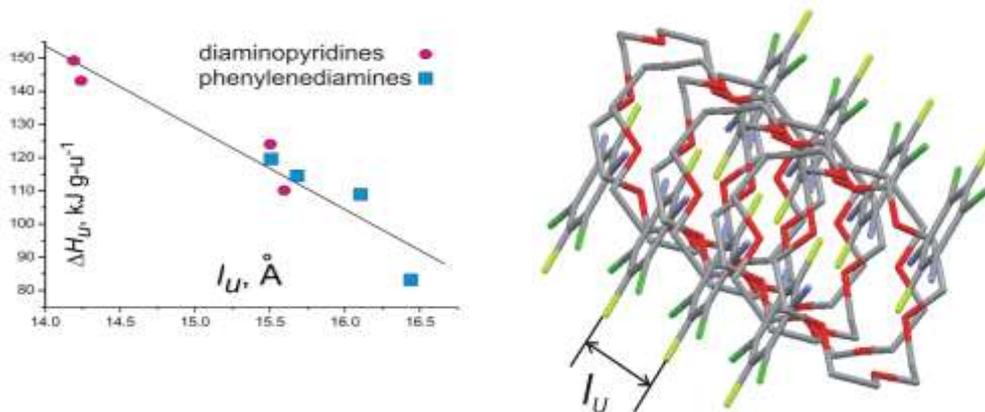


Рис. 2. Взаимосвязь геометрических ( $l_U$ ) и термодинамических ( $\Delta H_U$ ) параметров кристаллических супрамолекулярных ассоциатов

### Интеграционный проект № 97 (Б)

«Исследование физико-химических механизмов управления механическими, теплопроводящими и электроизоляционными свойствами композитных полимерных материалов с нанодобавками»

«Разработка рецептур новых фторсодержащих эпоксиодно-олигоимидных матриц: изучение влияния структуры олигоимидного фрагмента, степени его фторирования, а также количества олигоимида на эксплуатационные характеристики композитов»

Впервые для модификации эпоксидных смол использованы высокофторированные бифункциональные имидоангидриды (схемы 3 и 4), которые обеспечивают встраивание олигоимидных фрагментов варьируемого строения в сетчатую структуру эпоксиангидридной матрицы и, благодаря этому, улучшают комплекс эксплуатационных характеристик (тепло- и термостойкость, механические свойства, гидрофобность) эпоксидного полимера.

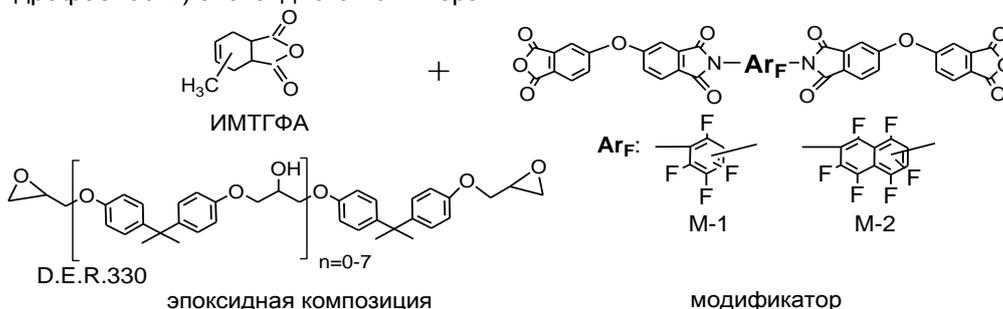


Схема 3. Структура исходных компонентов модифицированных эпоксидных композиций.

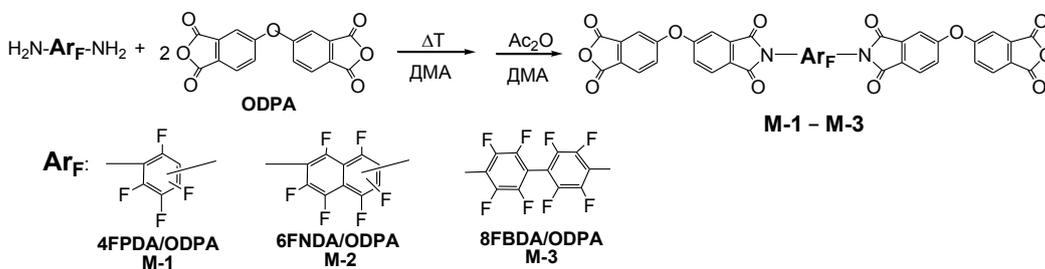


Схема 4. Синтез и структуры полифторированных олигоимидных модификаторов эпоксидных композитов

Исследованы термические и механические свойства 133 различных образцов композитных материалов. Определены значения динамических модулей упругости  $E'$  в режиме трехточечного изгиба методом ДМА (при комнатной температуре). Получены температурные зависимости модуля упругости, модуля потерь, тангенса угла механических потерь в режиме трехточечного изгиба при частоте 1 Гц (метод ДМА) в диапазоне температур 20-250<sup>o</sup>С. Изучена кинетика отверждения по изменению модуля упругости и тангенса угла механических потерь. Исследованы процессы отверждения эпоксидных компаундов методом ДСК, а также определены температуры стеклования методом ДСК. Исследована устойчивость к термическому разложению эпоксидных компаундов в окислительной атмосфере.

#### **Проект V.44.5.8.**

«Создание новых эффективных методов синтеза соединений с заданными функциональными свойствами на основе ароматических и гетероциклических соединений, включая полифторированные производные»

**Пункт 30.** «Сравнительное исследование конкурентных реакций C- и N-алкилирования ароматических аза- гетероциклов сверхкритическими низшими спиртами в некаталитических условиях и при гомогенном катализе»

Обнаружен необычный пример автокаталитического превращения трёх-компонентной смеси «Азагетероцикл – SiO<sub>2</sub> – MeOH» при 350<sup>o</sup>С в сверхкритическом метаноле: присутствие ароматического азота способствует образованию тетраметилортосиликата (ТМОС) из SiO<sub>2</sub> и метанола, который, в свою очередь, прототирует высокоселективное C-алкилирование данного гетероциклического соединения метанолом.

Полученный результат заставляет пересмотреть общепринятое представление о SiO<sub>2</sub>-содержащих материалах как удобных и универсальных подложках (или носителях) для различных катализаторов, если такие катализаторы используются в высокотемпературных процессах (выше 300<sup>o</sup>С), одним из химических компонентов которых является метанол и/или другие N-нуклеофильные агенты. Осторожность в применении SiO<sub>2</sub>-материалах при указанных условиях диктуется не только их разрушением под действием метанола, но и тем фактом, что образующийся при этом ТМОС может катализировать нежелательные химические реакции органических субстанций.

**Проект V.46.5.4.** «Развитие методологии комплексных исследований органических веществ и материалов синтетического, природного и антропогенного происхождения, реакций и процессов, протекающих в живых системах и объектах окружающей среды»

**Пункт 7.** «Изучение хроматографических профилей экстрактов биологически активных соединений растений флоры Сибири с использованием ВЭЖХ и ХМС»

Исследован состав липофильных компонентов, содержащихся в лекарственном растении иван-чай узколистный (*Chamaenerion angustifolium*), на сырье трех лет сбора. С помощью хромато-масс-спектрометрического анализа впервые обнаружено 36 алифатических и 6 тритерпеновых кислот. В бактериальных тестах исследована мутагенность и генотоксичность помоловой кислоты. Показано, что по данным теста Эймса и SOS-хромотеста помоловая кислота не обладает генотоксическими и мутагенными свойствами. Изучены защитные свойства олеаноловой и помоловой кислот против классических мутагенов 4-нитрохинолин-1-оксида и трет-бутил гидропероксида. Показано, что в целом специфичность к t-BuO<sub>2</sub>H у помоловой кислоты гораздо выше, чем у олеаноловой. Олеаноловая же лучше защищает от NQO. Определено рабочее окно концентраций для тритерпеновых кислот, в котором их эффект максимален.

Впервые детально исследован состав липофильных компонентов иван-чая узколистного. Помимо обнаруженных ранее урсоловой, олеаноловой, корсоловой

и маслиновой кислот, идентифицированы: помоловая, урсонная, олеанонная, бетулиновая, ацетилурсоловая, ацетилолеаноловая кислоты. Установлено распределение алифатических кислот в различных органах растения. Определены мутагенность, генотоксичность и защитные свойства его тритерпеноидов и их производных, в частности, метилового эфира бетулиновой кислоты, показано, что основные тритерпеновые компоненты иван-чая узколистного, а также 30-азидолуп-20(29)-ены и 3 $\beta$ ,28-диацетокси-30-(4-R-1,2,3-триазол-1-ил)луп-20(29)-ены не обладают мутагенными свойствами.

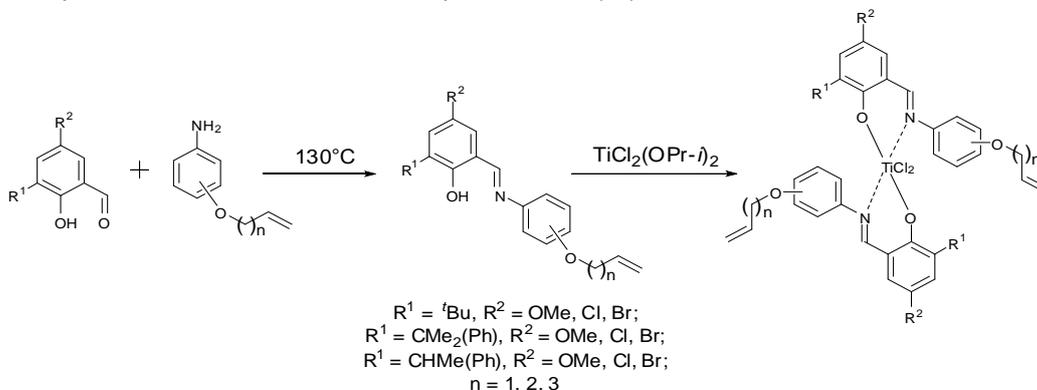
### **Группа синтеза катализаторов полимеризации**

Руководитель группы – д.х.н. И.И. Олейник

**Проект V.44.5.8**, «Создание новых эффективных методов синтеза соединений с заданными функциональными свойствами на основе ароматических и гетероциклических соединений, включая полифторированные производные»

**Пункт 31.** «Синтез новых салицилальдарилиминных лигандов, содержащих метокси-группу и атомы хлора и брома в положении 5 альдегидного фрагмента и  $\omega$ -алкенилоксифенилиминогруппу, и синтез комплексов дихлорида титана(IV) на их основе с целью изучения каталитической активности при полимеризации этилена»

Разработан удобный способ синтеза новых салицилальдарилиминных лигандов, содержащих метоксигруппу и атомы хлора и брома в положении 5 альдегидного фрагмента и  $\omega$ -алкенилоксифенилиминогруппу, взаимодействием 5-метокси-, 5-хлор- и 5-бромзамещенных салициловых альдегидов, содержащих в положении 3 трет-бутильную, 2-фенилпропан-2-ильную или 1-фенилэтильную группы, с о-, м- и п-изомерными аллилкси-, (бут-3-енилокси)-, (пент-4-енил)оксанилинами без растворителя в открытой системе при 130°C. Взаимодействием полученных салицилальдарилиминов с Ti(OiPr)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> с высокими выходами синтезированы новые бисарилиминные комплексы дихлорида титана(VI).



При изучении кинетики полимеризации этилена в присутствии полученных комплексов и метилалюмоксана в температурном интервале 30-80°C обнаружена способность комплексов с п- и м-расположенными  $\omega$ -алкенилоксигруппами вести полимеризацию с практически постоянной скоростью во всем временном интервале с образованием сверхвысокомолекулярного полиэтилена [(1.1-3.8) $\times 10^6$  а.е.м.]. Получены доказательства самоиммобилизации молекулы комплекса на макромолекуле полиэтилена. Получаемые полиэтилены характеризуются высокой кристаллическостью (75-85%) и малым количеством концевых метильных и винильных групп, что указывает на незначительную долю реакций передачи цепи на мономер и MAO.

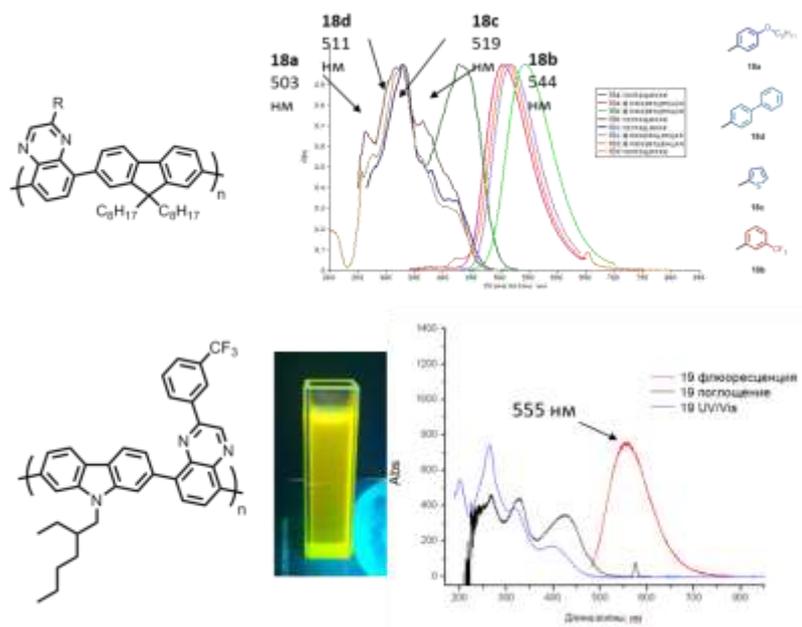
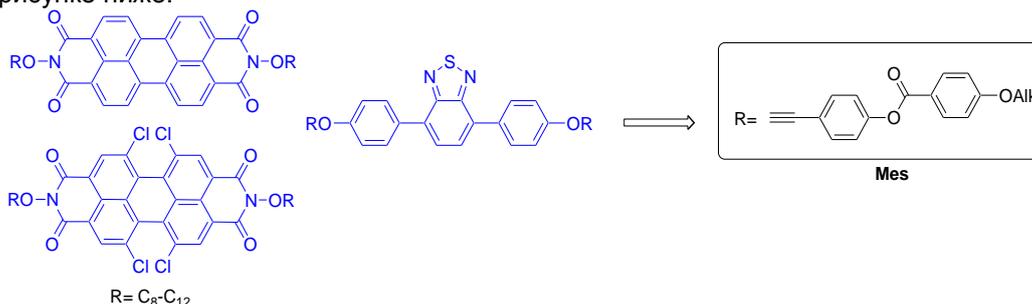
## Группа органических материалов для электроники

Руководитель группы – к.х.н. Е.А. Мостович

**Проект № 129** «Комплексные исследования состояния мягких сред в электромагнитных полях, направленные на создание высокоэффективных преобразователей энергии нового поколения»

«Молекулярный дизайн, синтез и исследование органических полупроводниковых материалов ряда перилена, бензотиадиазола, дитиенобензола и пиразина с мезогенными группами ( $C_8-C_{12}$ ).

Осуществлен молекулярный дизайн, синтез и исследование органических полупроводниковых материалов ряда перилена, бензотиадиазола, и в том числе полимерных на основе пиразина с мезогенными группами ( $C_8-C_{12}$ ), показанных на рисунке ниже.



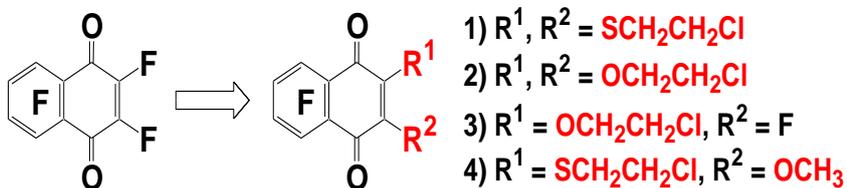
Изучены флуоресцентные свойства полученных полимеров и показана корреляция между типом заместителя и полосы флуоресценции.

Проведена модификация бокового заместителя путем замены алкильного фрагмента на мезогенный фрагмент **Mes**. Данная замена позволила нам успешно получить материалы с ЖК переходом в области  $70-120^\circ\text{C}$ , что полностью укладывается в цели проекта. Ведется наработка данных соединений для дальнейшего изучения их свойств. (Исследование Ox/Red-потенциала с помощью циклической вольтамперометрии (CVA) и локализация HOMO/LUMO из полученных данных, сравнение с расчетными данными).

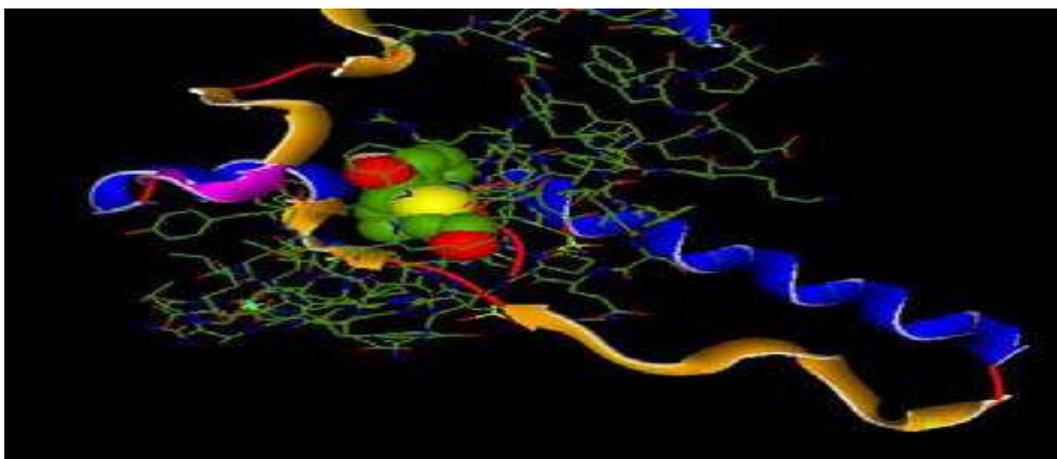
В рамках выполнения проекта мы продолжаем поиск новых структур подходящих на роль амбиполярных молекул, т.е. обладающих как электронной, так и дырочной проводимостью. Одними из таких молекул являются производные тиено[3,4-*b*]пиразина. По данным DFT B3LYP расчетов некоторых структур, ожидаемая энергетическая разница ВЗМО-НСМО составляет менее 1.9 эВ, что позволяет рассматривать данные молекулы на роль полупроводящих амбиполярных материалов.

**Основные научные и прикладные результаты,  
полученные в ходе выполнения НИР по различным  
проектам в 2013 году**

**Новые производные полифторированного 1,4-нафтохинона -  
эффективные ингибиторы роста раковых клеток и антиоксиданты**



Разработан метод синтеза производных полифторированного 1,4-нафтохинона, содержащих алкилирующие группы, способные модифицировать Cdc25A и Cdc25B фосфатазы, которые играют важную роль в регуляции пролиферации клеток и гиперэкспрессированы в различных раковых клетках человека. По результатам первичного тестирования выявлена их высокая цитотоксическая активность по отношению к клеткам миеломы и грудной аденокарциномы человека, превышающая эффективность контрольного вещества в 6–30 раз, а также антиоксидантная активность на фоне достаточно низкой общей токсичности.



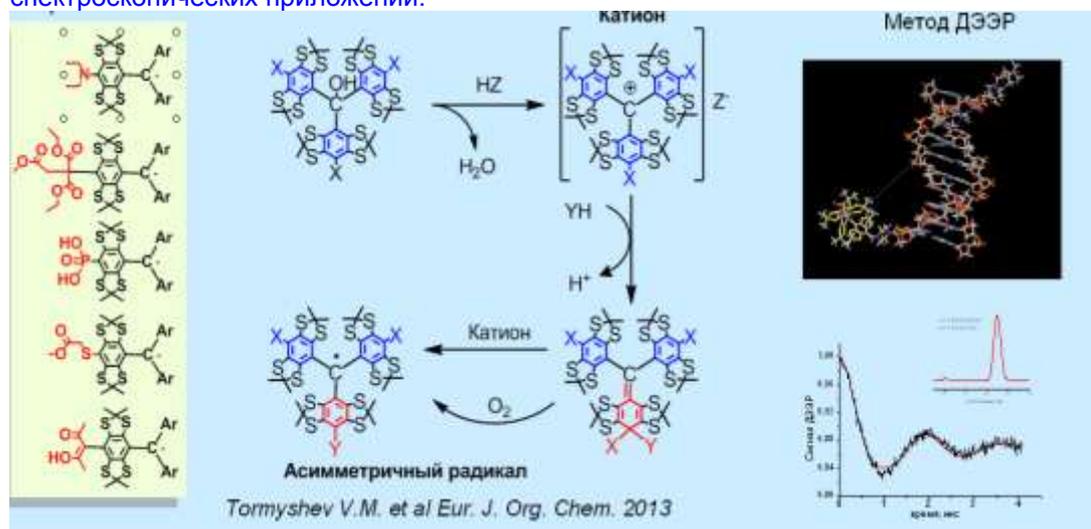
*Комплекс Cdc25A фосфатазы с алкилирующим ингибитором*

*Патент RU № 2499789*

*Лаборатория изучения нуклеофильных и ион-радикальных реакций НИОХ СО  
РАН, ИХБФМ СО РАН*

## Новый подход к синтезу асимметричных монофункциональных стабильных триарилметильных радикалов

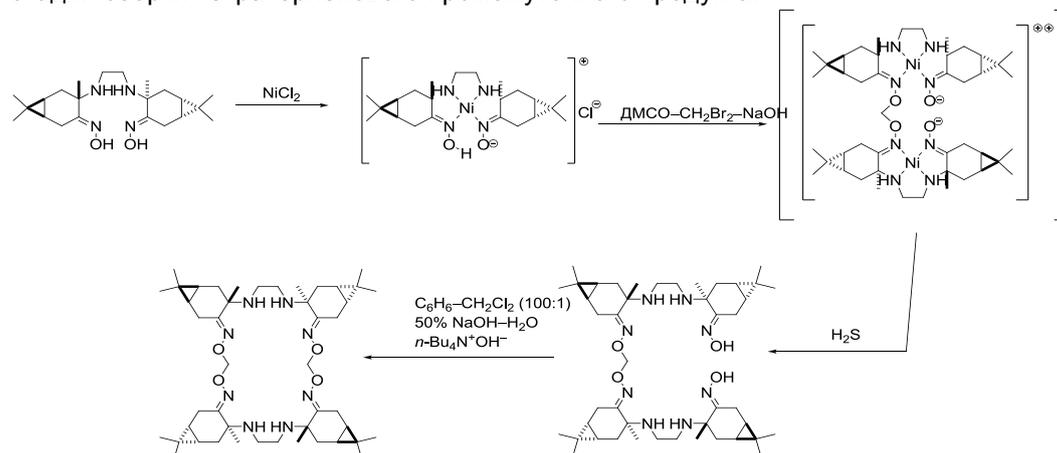
Разработан новый подход к синтезу монофункциональных стабильных триарилметильных радикалов из симметричных триарилкарбинолов с 2,3,5,6-тетратиаарильными заместителями. В среде сильных кислот из исходных триарилкарбинолов получают соответствующие симметричные триарилметильные катионы, которые взаимодействуют с C-, N-, P- и S-нуклеофилами с образованием монозамещенных триарилметильных радикалов. Полученные соединения потенциально важны для медицинской диагностики, биологических и спектроскопических приложений.



Группа металлокомплексного катализа НИОХ СО РАН

## Синтез $D_2$ -симметричных макроциклических соединений с терпеновыми фрагментами

Разработан эффективный способ сборки хиральных макроциклических соединений симметрии  $D_2$  с использованием темплатного синтеза в комплексе  $Ni^{2+}$  на ключевой стадии сборки тетратерпенового промежуточного продукта.



Полигетероатомные макроциклические соединения, содержащие 26-членные циклы с встроенными терпеновыми фрагментами являются первыми представителями хиральных наноразмерных терпен-содержащих производных, имеющих линейные размеры в пределах 1.5-2 нм.

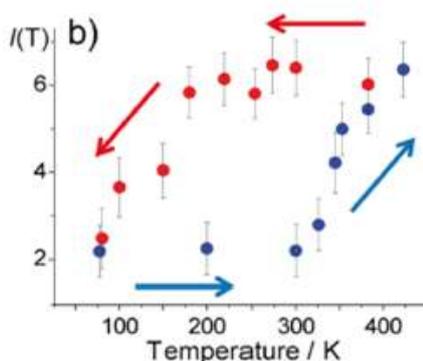
Лаборатория терпеновых соединений НИОХ СО РАН

## Исследование структурной динамики «дышащих» каркасов в пористых металлорганических координационных полимерах (МОК) методом ЭПР

Предложен новый подход для исследования обратимых структурных переходов в дышащих каркасах МОК, вызванных изменением температуры или взаимодействием с гостевыми молекулами. Показано, что нитроксильные радикалы являются чувствительными зондами для определения динамики изменения размера пор и установления механизма взаимодействия гость-хозяин методами стационарного и импульсного ЭПР.



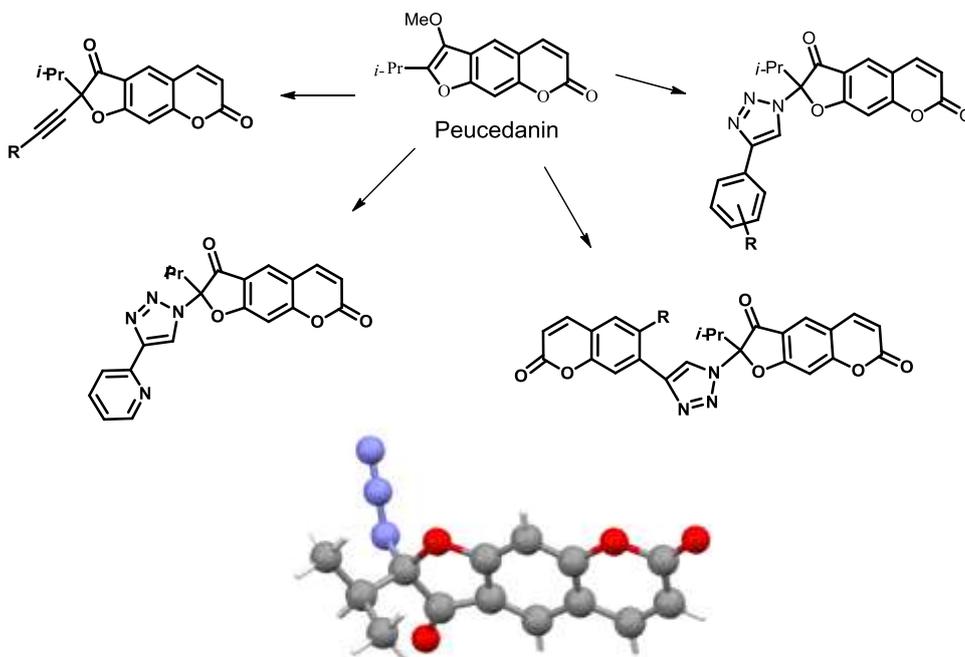
### Петля гистерезиса как отклик на взаимодействие гость-хозяин



Лаборатория физических методов исследования НИОХ СО РАН, МТЦ СО РАН, ИК СО РАН

## Новые превращения производных растительного фурукумарина пеucedанина

На основе новых превращений производных растительного фурукумарина пеucedанина (метаболита горичника Морисона) осуществлен синтез серии разнообразных 2-замещенных псораленов, представляющих интерес для создания новых антикоагулянтов, антиоксидантов и противоопухолевых агентов. Развиваемая стратегия – превращения фурукумаринов в условиях металлокомплексного катализа открывает новые возможности для направленного синтеза соединений с кумариновым остовом на основе доступной природной матрицы фурукумарина пеucedанина.



**Лаборатория медицинской химии НИОХ СО РАН**

### **Нетрадиционные способы введения лекарственных веществ в организм и физические методы модифицирования их свойств**

Обнаружен антагонизм снотворного препарата хлоралгидрата, введенного до помещения животных в камеру, с наноаэрозолем барбитала натрия, и найдено, что пробуждение животных после помещения их в камеру наступает через 10 минут, тогда как в контрольной группе (с введенным только хлоралгидратом) – через 39,7. Новый эффект не только связан с низкими эффективными микродозами, но и выявляет возможность изменять базовую активность широко применяемых в клиниках лекарственных веществ.



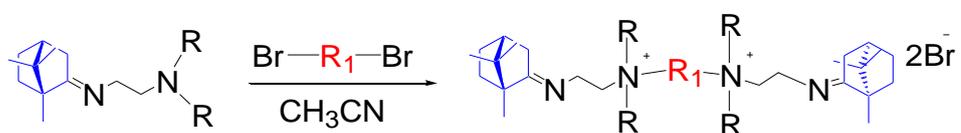
**Лаборатория фармакологических исследований НИОХ СО РАН, ИХКГ СО РАН, ИТПМ СО РАН, ИХТТМ**

## Новые противовирусные агенты на основе камфоры

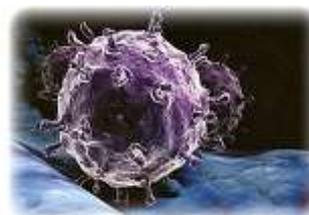
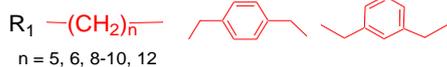


Разработан метод синтеза симметричных дикватернизованных соединений, основанный на взаимодействии производных природных веществ, содержащих третичные амины, с дигалогенами различного строения. Синтезирован набор новых азотсодержащих соединений производных камфоры, обнаружены соединения лидеры, обладающие высокой противовирусной активностью (SI 82-87) в отношении пандемического вируса гриппа A\California/07/09 (H1N1)v наряду с низкой токсичностью.

Показано, что некоторые продукты проявляют миорелаксанта́нный эффект.



R=Et, Me

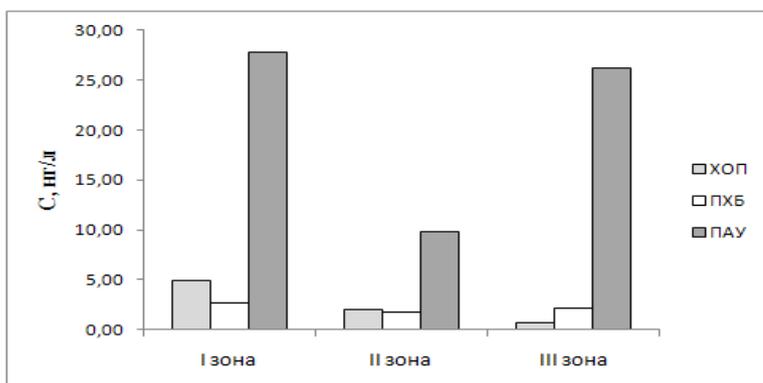
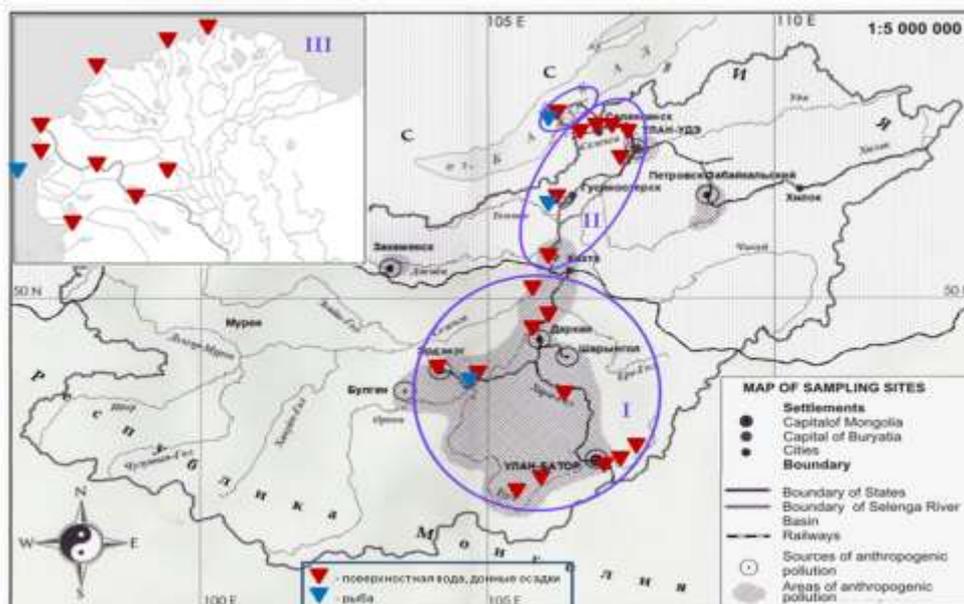


Патенты № 2013118530 , № 2013105423  
Bioorg. Med. Chem, 2013, in print

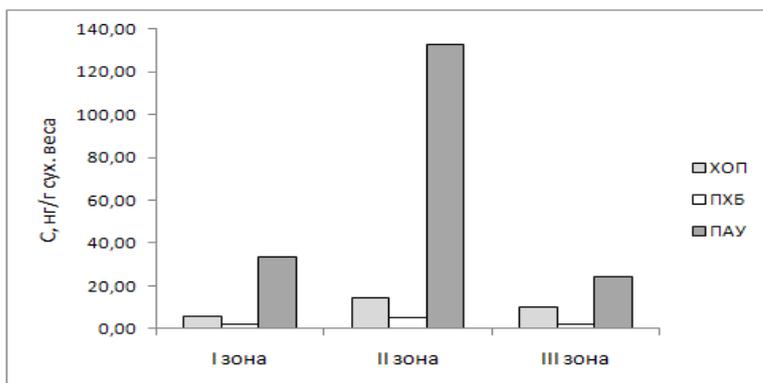
**Лаборатория физиологически активных веществ НИОХ СО РАН**

## Исследование процессов хемодинамики стойких органических загрязнителей в водных экосистемах Байкальской природной территории

Впервые получены и проанализированы данные по содержанию, распределению и накоплению стойких органических загрязнителей в экосистеме р. Селенга на территории Монголии и России.



Распределение ΣХОП, ΣПХБ и ΣПАУ в поверхностной воде бассейна реки Селенги



Распределение ΣХОП, ΣПХБ и ΣПАУ в донных осадках бассейна реки Селенги.

Лаборатория ЭИиХА НИОХ СО РАН

## КРАТКИЙ ПЕРЕЧЕНЬ ПУБЛИКАЦИЙ, ПОДГОТОВЛЕННЫХ СОТРУДНИКАМИ ИНСТИТУТА В 2013 ГОДУ

№ п./п.	Наименование	Коли- чество
1	Учебники и учебные пособия	4
2	Учебные видеофильмы	12
3	Монографии	2
4	Главы в монографиях	4
5	Обзоры, опубликованных в отечественных журналах	5
6	Обзоры, опубликованных в международных журналах	1
7	Статьи, опубликованных в международных журналах	87
8	Статьи, опубликованных в отечественных периодических журналах (входящих в перечень ВАК рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов)	84
9	Статьи, опубликованные в журналах, не вошедших в перечень ВАК, а также в сборниках трудов	17
10	Тезисы пленарных и устных докладов, представленных сотрудниками на международных конференциях	40
11	Тезисы пленарных и устных докладов, представленных сотрудниками на отечественных конференциях	37
12	Тезисы стендовых докладов, представленных сотрудниками на международных конференциях	58
13	Тезисы стендовых докладов, представленных сотрудника на российских конференциях	47

### НАУЧНО-ОРГАНИЗАЦИОННАЯ РАБОТА

#### Деятельность Ученого совета

В 2013 году состоялось 18 протокольных заседаний Ученого совета, на которых рассматривались следующие основные вопросы:

- ◆ Итоги научно-исследовательской и организационной деятельности НИОХ
- ◆ Планирование научно-исследовательской работы Института
- ◆ Структурные изменения в Институте
- ◆ О дополнениях и изменениях в редакции Устава Института:
- ◆ Проведение научных мероприятий с участием Института
- ◆ О работе с научной молодежью в Институте:
- ◆ О системе стимулирования эффективности научной работы сотрудников
- ◆ О признании научно-исследовательской деятельности отдельных ученых и коллективов исследователей

- ◆ Издательская деятельность
- ◆ Об экспедиционных проектах
- ◆ Кадровые и квалификационные дела
- ◆ Мероприятия, посвященные 55-летию Института

### Рост и подготовка научных кадров

В Институте работал диссертационный совет по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 003, 049, 01 по специальностям:

- 02.00.03 «Органическая химия»
- 02.00.04 «Физическая химия»
- 02.00.10 «Биоорганическая химия»
- 14.00.25 «Фармакология, клиническая фармакология».

Защищены 2 докторские и 6 кандидатских диссертаций:

**Макаров А.Ю.** (д.х.н.) «Синтез, структура и реакционная способность 1,3,2,4-бензодитиадиазиннов и родственных соединений» (02.00.03 – Органическая химия)  
**Жукова Н.А.** (д.м.н.) «Патоморфогенез токсических поражений печени, индуцированных полихимиотерапией и тетрахлорметаном, и их коррекция тритерпеновыми производными» (14.03.02 – Патологическая анатомия),  
**Максимов А.М., Семенов Н.А., Шернюков А.В., Миронов М.Е., Макаров А.Г., Бредихин Р.А.** (к.х.н. по специальности 02.00.03 – Органическая химия) и  
**Иванова Е.П.** (к.б.н. по специальности 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология).

В аспирантуру принято 4 человека.

### Общая характеристика изобретательской и патентно-лицензионной работы

- ✦ Подано **14** заявок на выдачу патентов РФ на изобретения
- ✦ Получено **1** положительное решение о выдаче патента РФ по заявке на изобретение
- ✦ Получено **9** патентов РФ на изобретения
- ✦ Поддерживается в силе **88** патентов РФ
- ✦ Прекращено патентование **4** изобретений в РФ

### Международные научные связи

В течение 2013 года состоялось 35 зарубежных командировок в 15 стран дальнего и ближнего зарубежья.

Институт посетили 5 иностранных ученых из Казахстана, США, Дании и Японии.

№ п.п	Фамилия, И.О. дата рождения	Страна, научный центр, должность	Срок пребывания, цель
1.	Есенбаева Акмарал Ертугановна	Казахстан, АО «Международный производственный холдинг «Фитохимия», м.н.с.	29.03-15.04 2013 г., Проведение работы по проекту

2.	Нурмаганбетов Жангельды Сейтович	Казахстан, «Международный производственный «Фитохимия», с.н.с.	АО научно- холдинг	29.03-15.04 2013 г., Проведение работы по проекту
3.	Майкл К. Боуман Michel K. Bowman	США, Университет Алабамы Химический факультет, профессор		02.06- 07.07 2013 г Согласование заявки на получение гранта РФФИ/NSF
4.	Энгсиг Майкл Тирринг Engsig Michael Thyrring	Дания, Российский инновационный центр компании «ТАКЕДА», директор		02 .06- 03.06 2013 г Обсуждение сотрудничест ва
5.	Янь Джу Zhu Yan	Япония, исследовательская медицинская химическая лаборатория отдела исследований компании «ТАКЕДА», директор		02.06-03.05 2013 г Обсуждение сотрудничест ва

Проводились работы по 9-ти двухсторонним проектам и грантам с финансированием и одному проекту без финансирования.

### **Научно-образовательные лектории**

«Актуальные проблемы органической химии» в рамках работы проблемного семинара

Проведены 6 лекций приглашенными специалистами, посвященные актуальной тематике - исследования в органической химии и в смежных областях знания за последние годы.

### **Преподавательская деятельность сотрудников**

В преподавательскую деятельность в 2013 г. были вовлечены 32 штатных сотрудников Института и 6 аспирантов, из них на должности профессора – 6 человек, на должности доцента – 6 человека, на должности старшего преподавателя – 10 человек, на должности ассистента - 5 человек, остальные преподаватели-почасовики.

Девять студентов НГУ, проходили дипломную практику и защитили дипломы.

Стипендию имени Н.Н. Ворожцова получили двое студентов ФЭН НГУ II и IV курсов обучения.

### **V Олимпиада по органической химии**

Проведена V Олимпиада по органической химии для старшеклассников и студентов г. Новосибирска.

### **Выставочная деятельность**

Институт принял участие в 4-х выставках:

1. Выставка «Медицина, здравоохранение, фармацевтика». 16-ая межрегиональная специализированная выставка-ярмарка.

(24-26.04.2013 г., г.Томск, Экспоцентр).

2. Выставка «МедСиб-13», 24-ая Международная медицинская выставка.  
(22-24.05.2013 г., г. Новосибирск, Экспоцентр).

3. Выставка «Иннопром-13», Международная выставка-форум промышленности и инноваций.  
(11-14.07.2013 г., г. Екатеринбург, Екатеринбург-Экспо).

4. Выставка «Технопром-13», в рамках Международного форума технологического развития.  
(14-15.11.2013 г., г. Новосибирск, Экспоцентр).

Новосибирский институт органической химии на Международной выставке «МедСиб» был достоин высокой оценки Организационного комитета за актуальность и профессионализм представленной экспозиции (получен СЕРТИФИКАТ).



### **Гранты и стипендии Президента РФ, молодежные конкурсы и программы, прочие бюджетные финансируемые проекты**

**Стипендия Президента РФ** молодым ученым и аспирантам в номинации «Медицинские технологии, прежде всего диагностическое оборудование, а также лекарственные средства» за работу: «Нитроксильные радикалы с фармакофорными группами для терапии и диагностики» (грант СП-1351.2012.4) к.х.н. - Ю.Ф. Полиенко.

#### **Молодежные конкурсы и программы**

Грант мэрии г. Новосибирска 2013 года на поддержку проекта «Создание эффективных противотуберкулезных агентов на основе отечественного растительного сырья» к.х.н. - Д.Н. Соколова.

#### **Прочие целевые гранты СО РАН**

1. Программа поддержки музеев СО РАН Мемориальный музей акад. В.А. Коптюга  
Ответственный исполнитель - Козачок Л.К.
2. Программа поддержки Советов научной молодежи Институтов СО РАН  
Ответственный исполнитель - Бредихин Р.А.

### **Конкурс научных работ и конкурс молодых ученых, посвященных 55 летию Института**

24-25 июня 2013 г. в Институте проходил конкурс научных работ сотрудников НИОХ, посвященный 55-летию НИОХ. На конкурс было представлено 16 работ. По итогам конкурсы были присуждены одна – первая премия, три – вторых и шесть – третьих.

3 - 5 декабря 2013 г. в Институте проходил конкурс работ научной молодежи НИОХ, посвященный 55-летию Института.

Было подано 35 заявок, из которых Стипендии им. акад. Н.Н. Ворожцова и Дипломы I степени получили О.С. Михальченко и А.Д. Сколяпова.

Повышенную стипендию и Дипломы II степени получили – 10 человек; повышенную контрактную надбавку и Дипломы III степени получили так же 10 человек. Остальные участники получили контрактную надбавку и базовую поддержку.

Премия им. Г.Г. Якобсона за исследования в области химии фторорганических соединений присуждена Н.М. Трошковой.

### **Награды Института и отдельных ученых**

Д.А. Морозов, к.х.н.– победитель конкурса на право получения гранта Президента РФ по государственной поддержке молодых российских ученых – за работу «Реакция 1,3-диполярного циклоприсоединения нитронов как новый подход в синтезе стерически-затруднённых нитроксильных радикалов».  
Грант МК-5840.2014.3

Коллектив сотрудников лаборатории медицинской химии, входящий в состав научной школы под руководством чл.-корр. РАН Толстикова А. Г., победившей в конкурсе 2014 г. на право получения гранта Президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ в области знания «Химия, новые материалы и химические технологии».  
Грант НШ-2625.2014.3

М.В. Хвостов, к.х.н. – победитель конкурса на право получения стипендии Президента РФ молодым ученым и аспирантам за работу «Комплексирование с растительными полисахаридами как способ для улучшения физико-химических и фармакологических свойств лекарственных средств».  
Грант СП-2655.2013.4

И.А. Сокол Иван студент V курса ФЕН НГУ победил в конкурсе УМНИК 2013 г. в направлении «Современные материалы и технологии их создания» проекта № 0000212 «Разработка новых производных тиено[3,4-b]пирозина для использования в органической фотовольтаике».  
Научный руководитель – к.х.н., н.с. Е.А. Мостович

Е.В. Суслов, к.х.н., К.Ю. Пономарев, аспирант - победители конкурса Правительства НСО за проект «Синтез новых биологически активных диаминов сочетающих алмагдановый и монотерпеновый фрагменты».

Н.В. Чуканов, к.х.н., К.С. Беккер, к.х.н. - победители конкурса Правительства НСО за проект «Разработка терапевтических и диагностических средств на основе 1-амино-1,1-бисфосфонатов».

Н.М. Трошкова, к.х.н., С.И. Живетьева, инженер - победители конкурса Правительства НСО за проект «Разработка синтетических подходов к новым функционализированным фторсодержащим хинонам – потенциальным ингибиторам роста раковых клеток».

М.С. Казанцев, к.х.н. - победитель конкурса Правительства НСО за проект «Исследование новых Red/Ox систем на основе нитроксильных радикалов для использования в цилиндрических гибридных цветосенсибилизированных солнечных элементах».

А.В. Липеева, к.х.н. - победитель конкурса Правительства НСО с получением Диплома I степени и именной премии Правительства НСО за цикл работ «Новые фармакологические перспективные агенты на основе растительного фурукумарина пеucedанина».

Д.Н. Соколов, к.х.н. - победитель конкурса мэрии г. Новосибирска среди научных работ молодых ученых с получением муниципального гранта за проект «Создание эффективных противотуберкулезных агентов на основе отечественного растительного сырья».

К.П. Волчо, д.х.н. - награжден Дипломом VI Международного форума «Интеллектуальная собственность – XXI век» за значительный личный вклад в процесс формирования, развития и охраны интеллектуального потенциала России.

О.С. Михальченко, аспирант награждена Дипломом оргкомитета Всероссийской конференции-школы «Химическое строение, физиологическая активность и биотехнология органических соединений растительного сырья» за лучшее устное выступление представленное молодым ученым.

Памятным знаком «За труд на благо города» администрации Советского района г. Новосибирска награждены 58 сотрудников НИОХ СО РАН.

*Краткий отчёт о деятельности Института за 2013 год  
подготовлен на основании материалов полного отчета*

*Ответственный за выпуск к.х.н. М.И. Подгорная  
Оформление и компьютерная верстка Е.В.Лобова*

*Новосибирский Институт органической химии  
имени Н.Н. Ворожцова*