

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ  
ІНСТИТУТ БІООРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ ТА НАФТОХІМІЇ**

**Мруг Галина Петрівна**

УДК 547.814

**СИНТЕЗ І ВЛАСТИВОСТІ  
НОВИХ АМІНОМЕТИЛЬНИХ ПОХІДНИХ  
ІЗОФЛАВОНІВ**

02.00.10 – біоорганічна хімія

**АВТОРЕФЕРАТ**  
**дисертації на здобуття наукового ступеня**  
**кандидата хімічних наук**

**Київ – 2015**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у відділі хімії біоактивних азотовмісних гетероциклічних основ Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України

**Науковий керівник:** кандидат хімічних наук  
**Фрасинюк Михайло Сергійович,**  
Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України,  
старший науковий співробітник відділу хімії біоактивних азотовмісних гетероциклічних основ

**Офіційні опоненти:** доктор хімічних наук, старший науковий співробітник  
**Ковтун Юрій Петрович,**  
Інститут органічної хімії НАН України, м.Київ,  
старший науковий співробітник відділу кольору та будови органічних сполук

кандидат хімічних наук, доцент  
**Горічко Мар'ян Віталійович,**  
Київський національний університет  
імені Т.Шевченка, м. Київ,  
доцент кафедри органічної хімії

Захист дисертації відбудеться «12» червня 2015 р. о 10 -й годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д.26.220.01 в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України за адресою 02660, Київ-94, вул. Мурманська, 1.

З дисертацією можна ознайомитись в науковій бібліотеці Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України.

Автореферат розісланий «11» травня 2015 р.

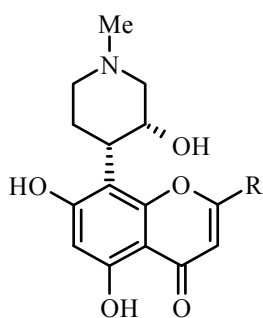
Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради

В.О. Євдокименко

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

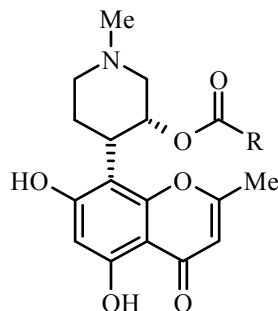
**Актуальність теми.** Важливою проблемою сьогодення є пошук селективних безпечних хімотерапевтичних засобів боротьби з онкологічними захворюваннями. Ключову роль у цьому пошуку відіграють природні сполуки, які не лише виявляють біологічну активність, але й слугують моделями для синтезу нових лікарських засобів.

Цінні фармакологічні властивості хромонових алкалоїдів рохітукіну (**1a**), кротакумінів А, В, С (**1b-d**) відкривають шляхи до створення ефективних лікарських препаратів. Завдяки високій протираковій активності, флавопіридол (**1f**), напівсинтетичний аналог алкалоїду рохітукіну, який наразі проходить клінічні випробування, став перспективною моделлю для синтезу інших флавоноїдів, що можуть затримувати прогресію клітинного циклу для досягнення інгібування росту пухлин. Як виявилось, амінометильні похідні флавонів **2** інгібують CDK-1, а деякі їх представники виявляють вищу активність в порівнянні з флавопіридом.



**1a** R = Me

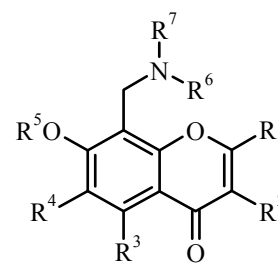
**1f** R = C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>Cl-2



**1b** R = C(Me)=CHMe

**1c** R = C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>(OMe)<sub>3</sub>-3,4,5

**1d** R = C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>(OMe)<sub>2</sub>-3,4



**2**

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> = H, Me, Ar

R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> = H, OH, OMe

R<sup>5</sup> = H, Me

R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> = alkyl, cycloalkyl

Наш інтерес викликали ізофлавоїди, які виявляють різнопланову біологічну активність. Ці сполуки характеризуються вираженими профілактичними й терапевтичними властивостями щодо багатьох захворювань. Велика кількість робіт присвячена ролі природних ізофлавоноїдів як протекторів, які перешкоджають розвитку гормонозалежних пухлинних процесів. Вони запобігають виникненню серцево-судинних захворювань та остеопорозу, ослаблюють клімактеричні симптоми.

Крім того, ізофлавоїди володіють невичерпними можливостями для введення в їх молекули фармакофорних замісників, а також можуть бути зручними проміжними сполуками для одержання нових гетероциклічних систем, одержання яких іншими шляхами утруднене або зовсім неможливе.

Високий фармакологічний потенціал та широкі можливості модифікації ізофлавоноїдів роблять їх одними з привілейованих скафолдів для одержання біологічно активних сполук.

Враховуючи цінні біологічні властивості ізофлавоноїдів та високу протиракову активність нітрогеновмісних похідних хромонов, синтез основ

Манніхаізофлавонів, вивчення їх хімічних властивостей, а також виявлення нових ефективних біологічно активних сполук є, безперечно, актуальною проблемою.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконувалась в рамках бюджетних тем відділу хімії біоактивних азотовмісних гетероциклічних основ Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України (ЦНП 9.1-12 «Розвиток методів синтезу, дослідження властивостей і механізмів дії нових потенційно біоактивних сполук» (2012-2016 рр., № держреєстрації 0112U002657), 2.1.10.11-10 Синтез та дослідження нових азотистих гетероциклів потенційних біологічноактивних сполук).

**Мета і задачі дослідження.** Метою роботи був синтез амінометильних похідних ізофлавонів, вивчення їх властивостей, виявлення серед отриманих аналогів природних ізофлавоноїдів біологічно активних сполук.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні задачі:

- синтезувати ряд основ Манніха природних ізофлавонів та їх аналогів;
- дослідити реакційну здатність синтезованих амінометильних похідних ізофлавонів щодо можливості введення в бензопіронове ядро гідроксиметильних і метоксиметильних замісників;
- вивчити можливість застосування основ Манніхаізофлавонів як проміжних сполук для одержання нових оксигеновмісних гетероциклічних систем на основі хромонового ядра;
- дослідити особливості перебігу хімічних перетворень основ Манніхаізофлавонів;
- виявити серед отриманих похідних ізофлавоноїдів перспективні біологічно активні сполуки.

**Об'єкт дослідження** – основи Манніха природних ізофлавонів та їх аналогів.

**Предмет дослідження** – синтез та перетворення амінометильних похідних ізофлавонів.

**Методи дослідження** – органічний синтез, тонкошарова хроматографія, спектроскопія ЯМР, ІЧ спектроскопія, елементний аналіз, біологічний скринінг.

#### **Наукова новизна одержаних результатів.**

Розроблено метод синтезу 7-гідрокси-5-метоксиізофлавонів, який полягає в захисті 7-гідроксигрупи шляхом її ацилюваннядиметилкарбамоїлхлоридом, метилюванні 5-гідроксигрупи з наступним дезацилюванням в кислому середовищі.

Показано, що 7-гідрокси-5-метоксиізофлавонови регіоспецифічно взаємодіють з аміналями з утворенням 8-амінометильних похідних. Амінометилювання регіоізомерних 5-гідрокси-7-метоксиізофлавонів в аналогічних умовах протікає з утворенням суміші 6- і 8-амінометильних похідних. Синтезовано ряд нових 8-амінометильних похідних 7-гідрокси-5-ме-

токсизофлавонів, 6- та 8-амінометильних похідних 5-гідрокси-7-метоксиізофлавонів.

Запропоновано умови амінометилування ізофлавонів за участю амінокислот й аміноспиртів. Одержано нові поліфункціональні основи Манніха природних ізофлавонів та їх аналогів.

На основі амінометильних похідних ізофлавонів розроблено метод введення в хромоновий цикл гідроксиметильної та алкоксиметильних груп. Вперше синтезовано ряд 8-гідроксиметильних та 8-алкоксиметильних похідних 7-гідроксиізофлавонів.

Показано можливість утворення *орто*-хінонметидів з основ Манніха ізофлавонів та продуктів їх перетворень. Зроблено порівняльний аналіз ефективності генерації *орто*-хінонметидів з амінометильних, метоксиметильних та гідроксиметильних похідних ізофлавонів на прикладі їх взаємодії з 3-(диметиламіно)-5,5-диметил-2-циклогексен-1-оном. Показано, що найвищий вихід продуктів реакції Дільса-Альдераспостерігався при використанні 8-метоксиметильних похідних в якості прекурсорів гетеродієнів.

Досліджено взаємодію 8-амінометильних, 8-метоксиметильних та 8-гідроксиметильних похідних ізофлавонів з 3-(диметиламіно)-5,5-диметил-2-циклогексен-1-оном, 1-(4-морфоліно)циклопентеном та 1-(4-морфоліно)циклогексеном, завдяки чому синтезовано похідні 8,9,10,12-тетрагідро-4*H*,11*H*-пірано[2,3-*a*]ксантен-4,11-діону, 7*a*-гідрокси-8,9,10,11,11*a*,12-гексагідро-4*H*,7*aH*-пірано[2,3-*a*]ксантен-4-ону та 7-гідрокси-8-[(2-оксоциклопентил)метил]-4*H*-хромен-4-ону.

Показано, що взаємодія 8-диметиламінометил-, 8-ацетоксиметил-, 8-гідроксиметил- та 8-метоксиметил-7-гідроксиізофлавонів з 2,3-дигідрофураном та 3,4-дигідро-2*H*-піраном протікає регіоспецифічно з утворенням 9,10,10*a*,11-тетрагідро-4*H*,7*aH*-фуоро[2,3-*b*]пірано[2,3-*f*]хромен-4-онів та 10,11,11*a*,12-тетрагідро-4*H*,7*aH*,9*H*-дипірано[2,3-*b*:2',3'-*f*]хромен-4-онів відповідно.

### ***Практичне значення одержаних результатів.***

Розроблено зручні препаративні методики синтезу бібліотек нових похідних ізофлавонів для біологічного скринінгу.

На прикладі ізофлавонів показано синтетичну цінність основ Манніха для введення нових фармакофорних замісників та для анелювання до хромонового ядра оксигеновмісних гетероциклічних систем, що може бути застосовано до інших типів флавоноїдів та кумаринів.

Запропонована нами методика введення в хромоновий цикл гідроксиметильної групи дала змогу вперше синтезувати природний ізофлавонокристатеїн, вилучений раніше з *Celosiacristata*L.

На основі даних біологічного скринінгу синтезованих похідних ізофлавоноїдів виявлено сполуки з протипухлинною та рістрегулюючою активністю.

***Особистий внесок здобувача.*** Аналіз літературних джерел, основний обсяг експериментальних досліджень, аналіз спектральних даних виконані здобувачем

особисто. Постановка задачі, планування синтетичної роботи, висновки щодо структури отриманих сполук, обговорення результатів дослідження та формулювання висновків дисертаційної роботи проводились спільно з науковим керівником к. х. н. Фрасинюком М. С. Окремі експериментальні дослідження, узагальнення одержаних результатів, формулювання наукових висновків проведені спільно з к. х. н. Бондаренко С. П. (Київський національний університет імені Тараса Шевченка).

Автор висловлює вдячність Vitaliy M. Sviripa, Chunming Liu, David S. Watt (University of Kentucky, Lexington, USA) за проведений біологічний скринінг синтезованих сполук, д. б. н. Циганковій В. А. (ІБОНХ НАН України) за вивчення рістрегулюючої активності аналогів природних ізофлавононів, д. х. н., чл.-кор. НАН України Хилі В. П. (Київський національний університет імені Тараса Шевченка) за участь у обговоренні та інтерпретації результатів дослідження.

**Апробація результатів дисертації.** Основні результати досліджень представлені на XXVII науковій конференції з біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України (Київ, 2012), 78 Міжнародній науковій конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (Київ, 2012), XXIX науковій конференції з біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України (Київ, 2014), 80 Міжнародній науковій конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (Київ, 2014), V Міжнародної конференції «Хімія, структура і функція біомолекул» (Минськ, 2014), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні проблеми хімії і хімічної технології» (Київ, 2014).

**Публікації.** За результатами дисертаційної роботи опубліковано 5 статей у фахових наукових виданнях та тези 6 доповідей на конференціях.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація складається із вступу, п'яти розділів, висновків, списку літературних джерел, що включає 236 найменувань. Робота викладена на 141 сторінці машинописного тексту і містить 7 таблиць, 8 рисунків. Повний обсяг дисертації 170 сторінок.

У **вступі** обґрунтовано актуальність та наукову новизну роботи, сформульовано її мету, наведено перелік найважливіших результатів даного дослідження.

У **першому розділі** поданий детальний огляд літератури стосовно досягнень у синтезі амінометильних похідних хромонів. В цьому розділі обґрунтовується вибір об'єктів дослідження.

В **другому розділі** описано власні експериментальні дослідження щодо отримання природних ізофлавононів та їх аналогів, синтезу основ Манніхаізофлавононів.

**Третій розділ** присвячений хімічним перетворенням основ Манніхаізофлавононів та їх похідних.

В четвертому розділі приведені результати біологічних досліджень деяких синтезованих амінометильних похідних ізофлавонів та продуктів їх хімічних перетворень.

В п'ятому розділі наведені методики синтезу сполук, фізико-хімічні константи синтезованих сполук, дані елементного аналізу та спектри ЯМР.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

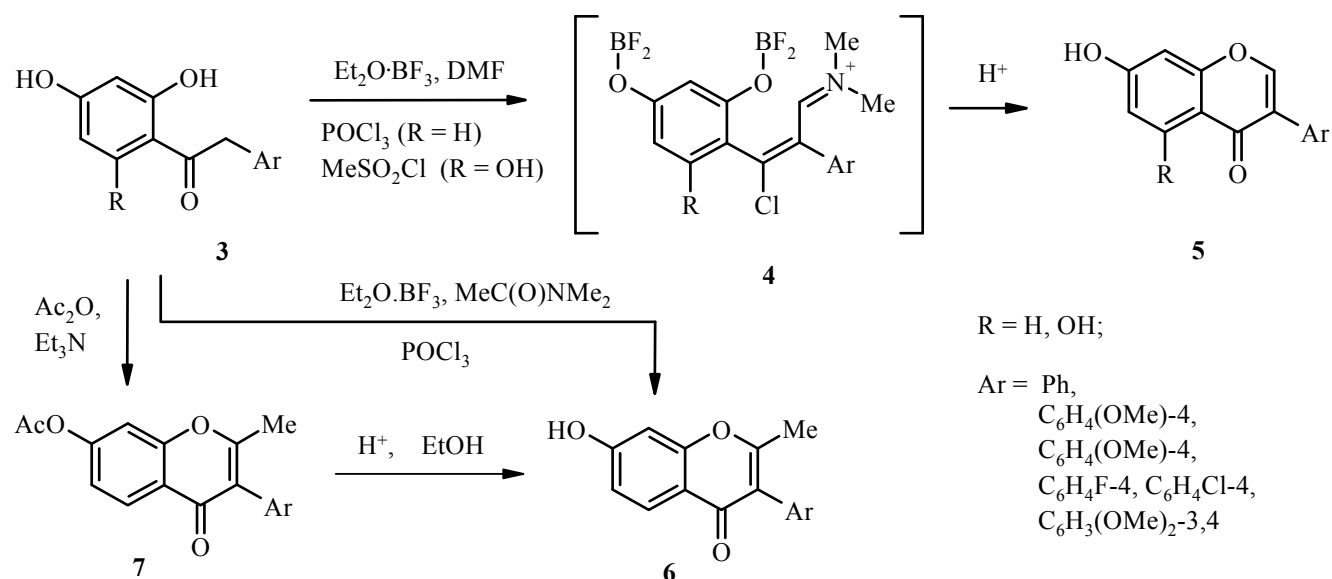
Основи Манніахромонів викликають інтерес вчених, завдяки простоті методів їх синтезу, широкому спектру біологічної дії та можливості їх використання як синтонів для одержання різноманітних органічних сполук. Крім реакції Манніа, можливість протікання якої визначається наявністю гідроксильних груп в хромоновому ядрі, відомі й інші підходи до синтезу цих сполук, такі як обмін галогенів, реакції відновлювального амінування та ін.

Разом з тим, введення амінометильної групи в молекули природних ізофлавонів та їх аналогів наразі не є всебічно вивченим. Поза увагою вчених залишились і дослідження можливості застосування основ Манніаізофлавонів в якості синтонів для введення в хромоновий цикл нових фармакофорних замісників та одержання нових оксигеновмісних гетероциклічних систем.

### Синтез ізофлавонів та їх амінометильних похідних

Вихідними сполуками для синтезу природних ізофлавонів та їх аналогів слугували заміщені 2-гідроксидезоксибензоїни **3**, отримані в умовах реакції Гьоша.

Схема 1



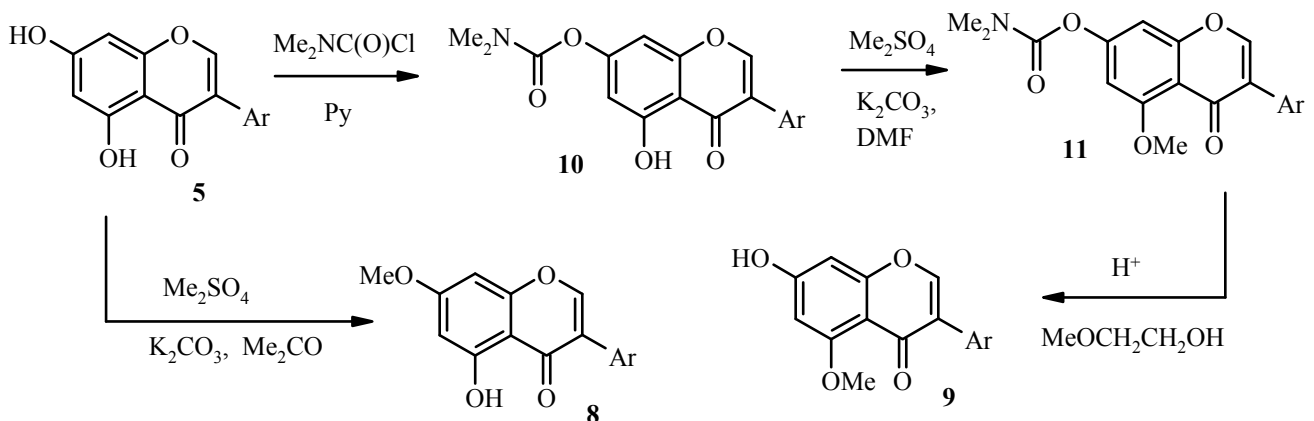
7-Гідроксиізофлавоїни **5** синтезовані в умовах реакції Вільсмейєра-Хаака дією на 2-гідроксидезоксибензоїни **3** комплексу диметилформаміду з

хлороксидом фосфору чи метансульфохлоридом в присутності етератутрифториду бору. Для синтезу 2-метилізофлавонів **6** були використані різні підходи - взаємодія кетонів з надлишком оцтового ангідриду в присутності триетиламіну (реакція Костанецького-Робінсона) з наступною переестерифікацією ацетатів 2-метилізофлавонів **7** в присутності кислоти та взаємодія кетонів із диметилацетамідом в присутності  $\text{POCl}_3$ .

5-Гідрокси-7-метоксиізофлавонови **8** одержані шляхом алкілювання 7-гідроксигрупи ізофлавонів з «флороглюциновим» фрагментом **5** диметилсульфатом в ацетоні в присутності поташу. Так як регіоізомерні 7-гідрокси-5-метоксиізофлавонови **9** неможливо отримати селективним алкілюванням 5-гідроксигрупи, з метою захисту гідроксилу в положенні 7 нами запропоновано диметилкарбамоїлхлорид в присутності піридину.

Наступне алкілювання моноацильованих похідних **10** диметилсульфатом у ДМФА в присутності поташу привело до утворення 7-*O*-захищених 5-метоксиізофлавонів **11**, а їх дезацильовання в кислому середовищі дозволило отримати цільові 7-гідрокси-5-метоксиізофлавонови **9**.

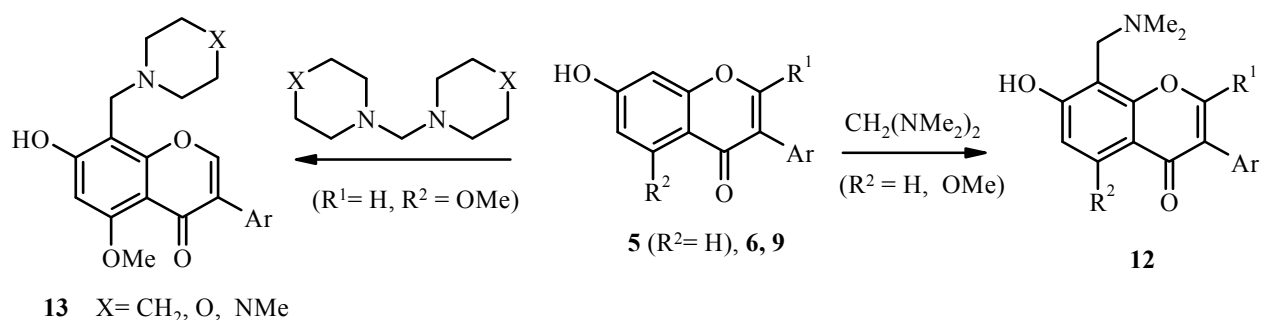
Схема 2



Варто зазначити, що введення в бензопіроновий цикл основної аміногрупи – один з перспективних шляхів модифікації флавоноїдних сполук. Так, основи Манніха флавонів, ізофлавонів, кумаринів регулюють діяльність центральної нервової системи та дихальних шляхів, виявляють високу антиконвульсивну, протиалергійну, болезаспокійливу активність. Крім того, амінометильні похідні флавонів інгібують CDK1, а деякі їх представники виявляють вищу активність в порівнянні з флавопіридолом. Тому модифікація ізофлавонів шляхом введення в хромоновий цикл амінометильної групи цікава не лише з синтетичної точки зору, але й для цілеспрямованого одержання біологічно активних сполук.

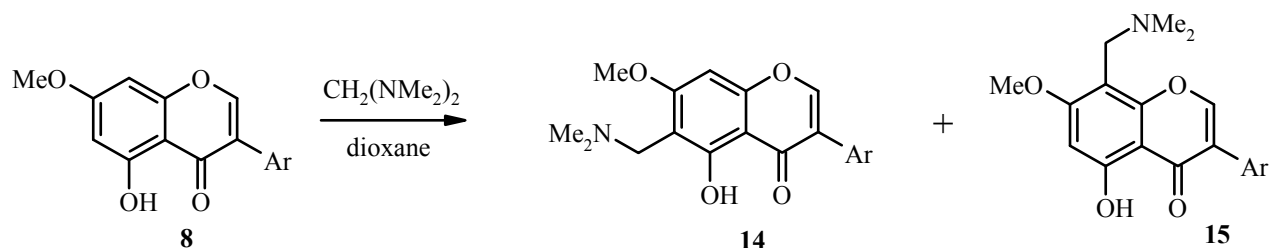
Оскільки перебіг реакції Манніха та будова продуктів залежать від структурних особливостей  $\text{CH}$ -субстрату, амінометилуючого реагенту та каталізатора, для одержання основ Манніха природних ізофлавонів та їх аналогів нами були досліджені різні підходи.





Так, синтез 8-диметиламінометильних похідних 7-гідроксиізофлавонів **12** був здійснений взаємодією ізофлавонів **5** ( $\text{R}^2 = \text{H}$ ), **6**, та **9** з біс(диметиламіно)-метаном в пропанолі-2 при застосуванні незначного надлишку аміналю. Доцільним виявилось застосування аміналів вторинних амінів і для синтезу основ Манніха 7-гідрокси-5-метоксиізофлавонів **9**. Як виявилось, реакція амінометилування протікає регіоспецифічно з утворенням моноамінометильних похідних **13** з високим виходом.

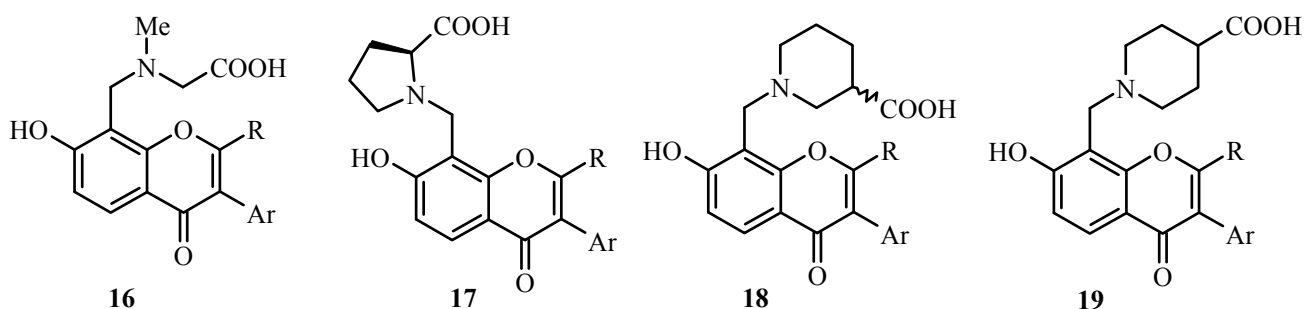
У якості СН-субстату реакції Манніха нами досліджені також 5-гідрокси-7-метоксиізофлавонови **8**. Варто зазначити, що атоми карбону в положеннях 6 і 8 ізофлавонів **8** виявляють практично однакову реакційну здатність до дії електрофільних реагентів. Амінометилування під дією біс(диметиламіно)метану вимагає тривалого нагрівання реакційної суміші (20 – 24 год) і протікає з утворенням суміші 6- і 8-амінометильних похідних (**14** і **15** відповідно). Основи Манніха **14** і **15** були виділені методом колонкової хроматографії, а їх структура була встановлена за допомогою 2D ЯМР спектроскопії.



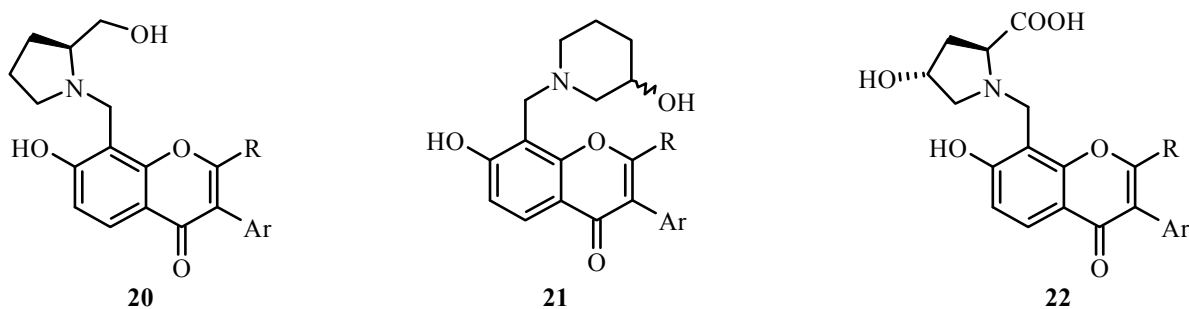
Введення амінокислотного фрагменту в органічні сполуки зі збереженням аміно- та карбоксильної функцій є перспективним шляхом для одержання біологічно активних речовин. Крім того, наявність амінокислотного залишку в молекулах флавоноїдів може покращити проникність цих сполук через клітинні мембрани, що сприятиме підвищенню їх біодоступності та фізіологічної дії.

Нами досліджена реакція Манніха природних ізофлавонів за участю N-заміщених амінокислот – саркозину, L-проліну та піперидинкарбонових кислот. Враховуючи низьку розчинність ізофлавонів, відомий метод проведення реакції в водно-спиртовому середовищі не дав бажаного результату, так як довготривале нагрівання реакційної суміші сприяло утворенню побічних продуктів та зниженню виходу цільових амінокислотних похідних **16** – **19**. Нами показано, що

амінометилування 7-гідроксиізофлавонів за участю амінокислот доцільно проводити із застосуванням параформу в абсолютному етанолі в присутності каталітичної кількості 4-(диметиламіно)піридину (DMAP).



Особливий інтерес серед нітрогеновмісних похідних хромону представляють сполуки, які містять фрагмент аміноспирту, як наприклад, алкалоїди рохітукін(**1a**), кротакуміни А, В, С(**1b – d**), які слугували прототипом для синтетичного одержання сполук з протипухлинною дією.



З метою одержання похідних ізофлавонів з фрагментом етаноламіну **20 – 22**нами досліджена реакція Манніха за участю (*S*)-пролінолу, 3-гідроксипіперидину та *транс*-4-гідрокси-*L*-проліну. Виявилось, що, як і у випадку синтезу амінокислотних похідних, реакцію доцільно проводити із застосуванням параформу в присутності DMAP, як каталізатора. Найбільш придатним розчинником для амінометилування з використанням *транс*-4-гідрокси-*L*-проліну, як і у випадку амінокислот, виявився абсолютний етанол. У випадку ж застосування (*S*)-пролінолута 3-гідроксипіперидину реакцію проводили в пропанолі-2.

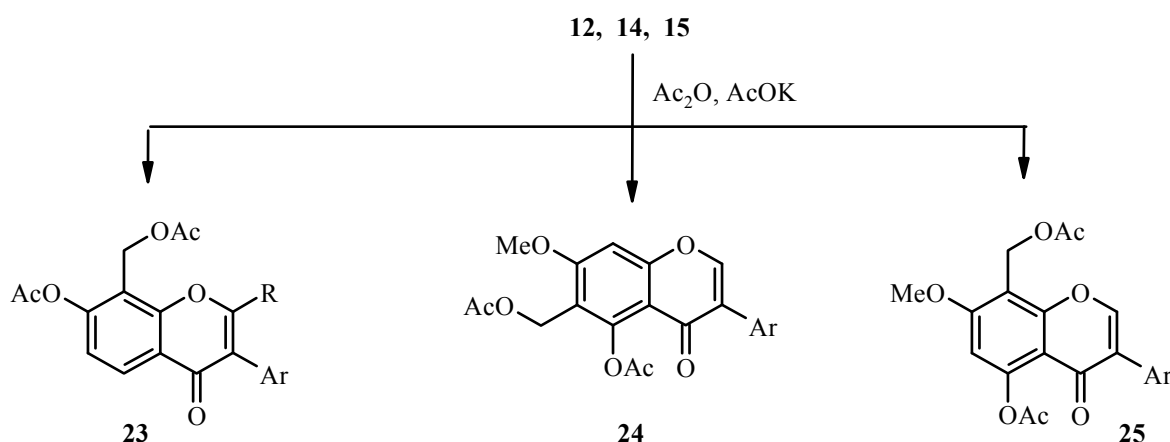
### Хімічні перетворення основ Манніха та їх похідних

Для вивчення реакційної здатності основ Манніхаізофлавонів та можливості їх застосування в якості синтонів для введення нових фармакофорних замісників та для анелювання до хромонового ядра оксигеновмісних гетероциклічних систем були використані диметиламінометильні похідні **12, 14, 15**.

Так, при короткотривалому нагріванні основ Манніха **12, 14, 15** з оцтовим ангідридом в присутності ацетату калію нами синтезовані 7-ацетокси-8-

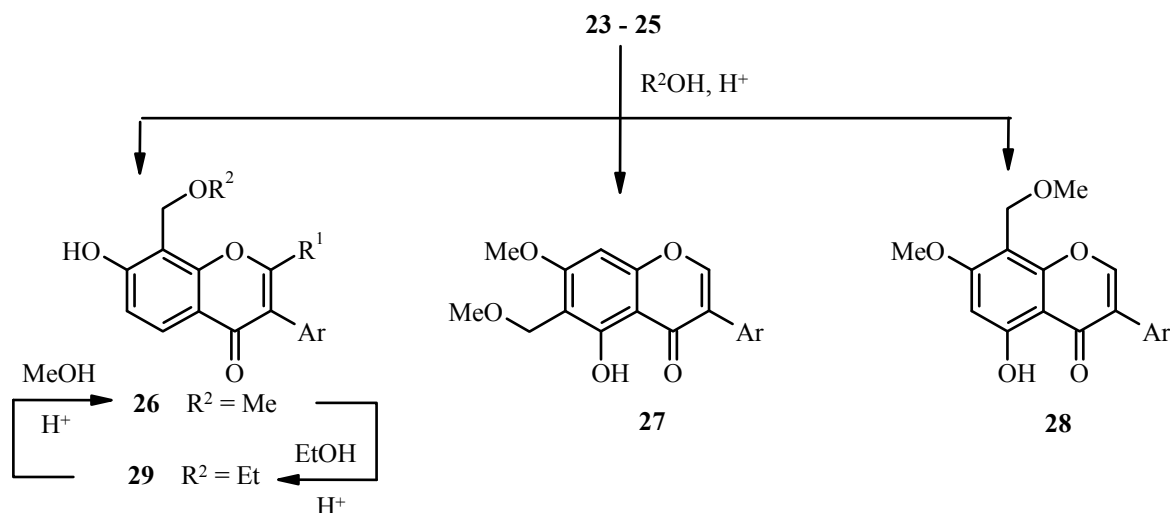
ацетоксиметилізофлаволи **23**, 5-ацетокси-6-ацетоксиметил-7-метоксиізофлаволи **24** та 5-ацетокси-8-ацетоксиметил-7-метоксиізофлаволи **25**.

Схема 5



Нами досліджено взаємодію діацетоксипохідних **23-25** зі спиртами. Дезацетилювання ізофлаволи **23-25** в метанолі або етанолі в присутності кислот у всіх випадках привело до утворення 8-алкоксиметил-7-гідроксиізофлаволи **26-29** (Схема 6), причому, алкоксигрупа відповідає залишку спирту, який був використаний для проведення реакції.

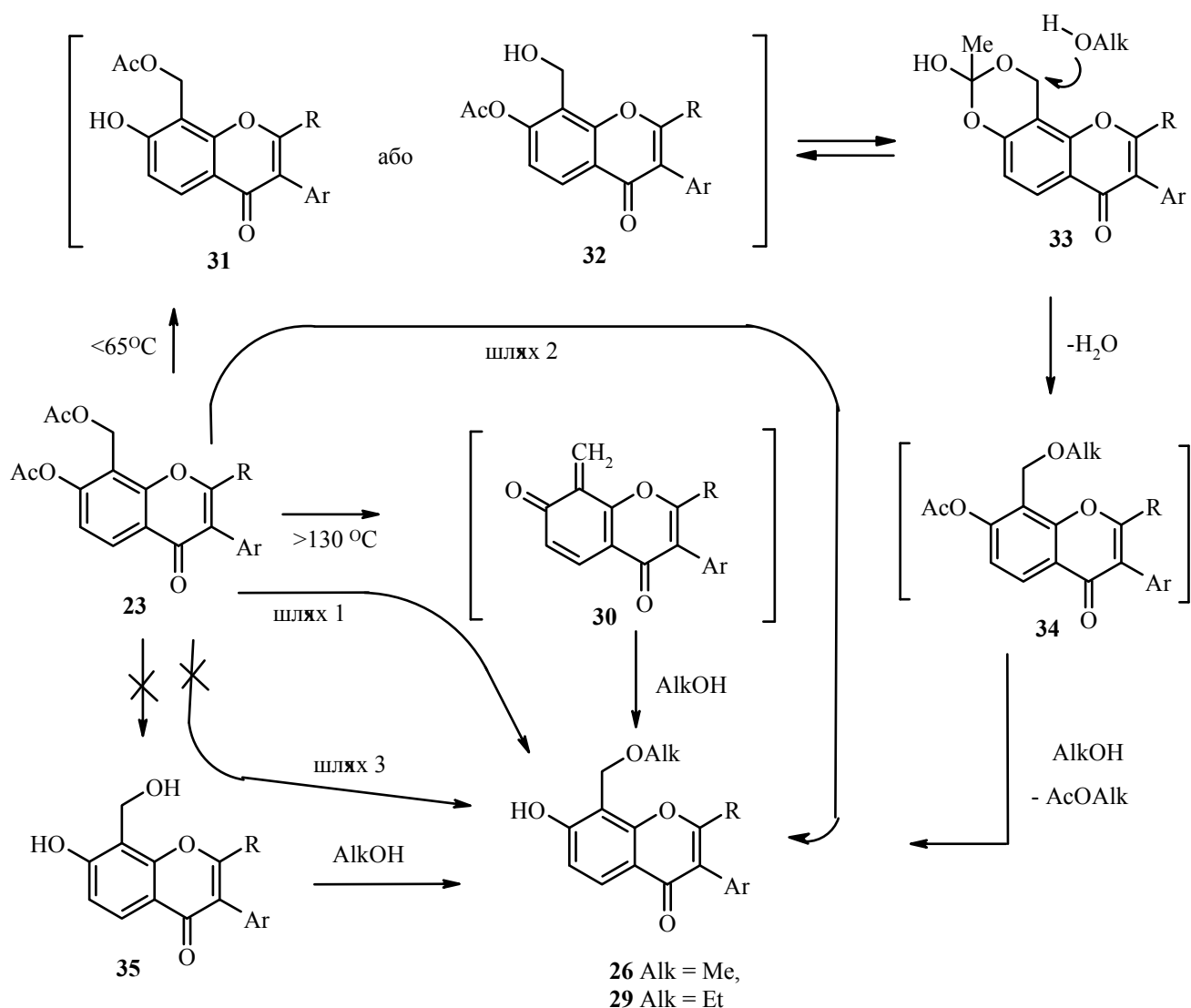
Схема 6



Як показано на схемі 7 для сполук з «резорциновим» фрагментом, аномальний перебіг реакції дезацетилювання, ймовірно, може бути результатом послідовних перетворень, які можуть протікати за двома шляхами: через утворення *орто*-хінонметидів **30** та приєднання спиртів (шлях 1) або як результат послідовних реакцій, що включають омилення однієї з ацетильних груп з утворенням проміжних продуктів **31** чи **32**, утворення циклічного ортоестеру **33**, нуклеофільне заміщення біля CH<sub>2</sub> групі та кінцеве дезацетилювання 7-ацетоксипохідних **34** з утворенням 8-алкоксиметил-7-гідроксиізофлаволи **26**, **29** (шлях 2). Шлях 3, який можна розглядати як вичерпне дезацетилювання гідроксильних груп і наступне алкілювання метилольної групи сполук **35**, є

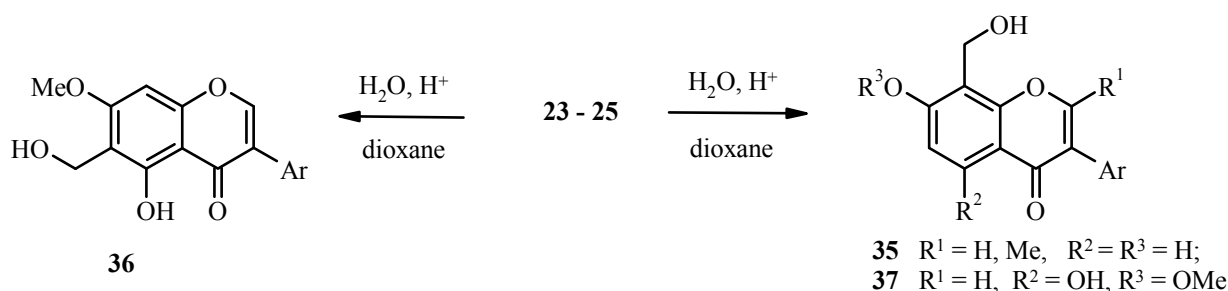
найменш імовірним, оскільки жодним із методів аналізу в реакційній суміші не виявлено продуктів **35**. Підтвердженням протікання дезацильовання шляхом 2 може слугувати виділення проміжної 5-*O*-ацетильної похідної сполуки **37**.

Схема 7



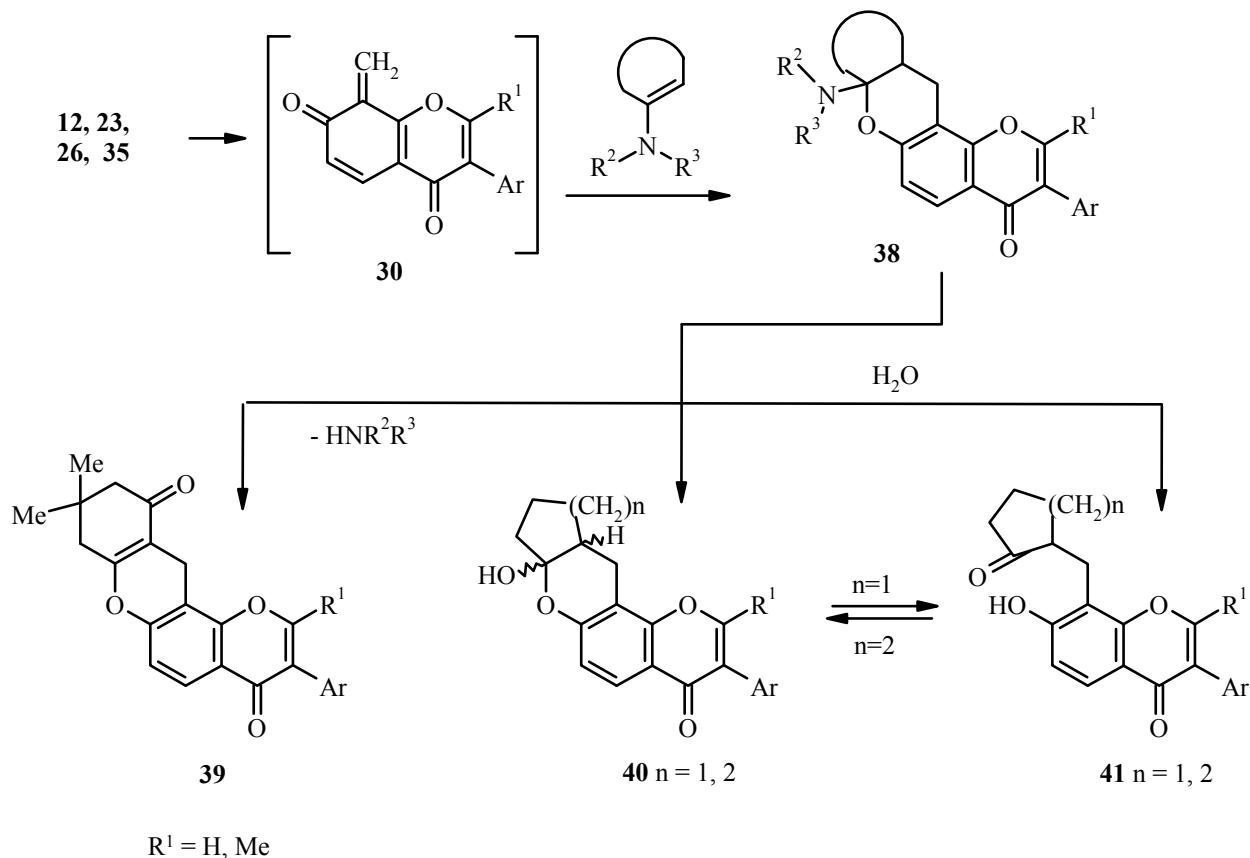
Нами показано, що синтез 8- та 6-гідроксиметильних похідних ізофлавонів **35–36** можливо здійснити за умови проведення гідролізу діацетоксипохідних **23 – 25** при відсутності нуклеofilів, сильніших за воду. В результаті нагрівання сполук **23 – 25** в водно-діоксановому розчині в присутності сірчаної кислоти нам вдалося отримати 7-гідрокси-8-гідроксиметилізофлаволи **35**, а також 6- та 8-гідроксиметильні похідні 5-гідрокси-7-метоксиізофлавонів **36, 37**.

Розроблена нами препаративна методика введення в хромоновий цикл гідроксиметильної групи дала змогу вперше синтезувати природний ізофлавонокристатеїн (**36**,  $\text{Ar} = \text{C}_6\text{H}_4\text{OMe-2}$ ), вилучений раніше з *Celosiacristata*L.



Відомо, що похідні саліцилового спирту та амінометильні похідні фенолів можуть слугувати прекурсорами для генерації *орто*-хінонметидів, які можуть бути використані в синтезі різноманітних сполук. Виходячи з цього, було цікавим вивчення можливості утворення *орто*-хінонметидів **30** основами Манніхаізофлавонів та продуктами їх перетворення, а також одержання оксигеновмісних гетероциклічних систем на їх основі.

Так, нами була вивчена взаємодія амінометильних, метоксиметильних та гідроксиметильних похідних ізофлавонів з енамінами, в якості яких використали 3-(диметиламіно)-5,5-диметил-2-циклогексен-1-он, а також 1-(4-морфоліно)-циклопентен та 1-(4-морфоліно)циклогексен, отримані конденсацією циклопентанону та циклогексанону з морфоліном.



При нагріванні сполук **12** з 3-(диметиламіно)-5,5-диметил-2-циклогексен-1-оном, в якому подвійний зв'язок активований карбонільною групою, утворюються

похідні 8,9,10,12-тетрагідро-4*H*,11*H*-пірано[2,3-*a*]ксантен-4,11-діону **39**, що є результатом елімінування диметиламіну з продуктів циклоприєднання **38** за реакцією Дільса-Альдера. Ця реакція слугувала модельною реакцією для визначення ефективності генерації *орто*-хінонметидів **30** в різних умовах. Так, при проведенні реакції в різних розчинниках (діоксані, толуені, ДМФА, та ДМСО) виявилось, що сполука **39** отримана з найвищим виходом при застосуванні ДМФА. Дослідження взаємодії сполук **23**, **26**, **35** з похідною димедону показало, що найвищий вихід продуктів спостерігався при використанні 8-метоксиметильних похідних **26** як прекурсорів гетеродієнів.

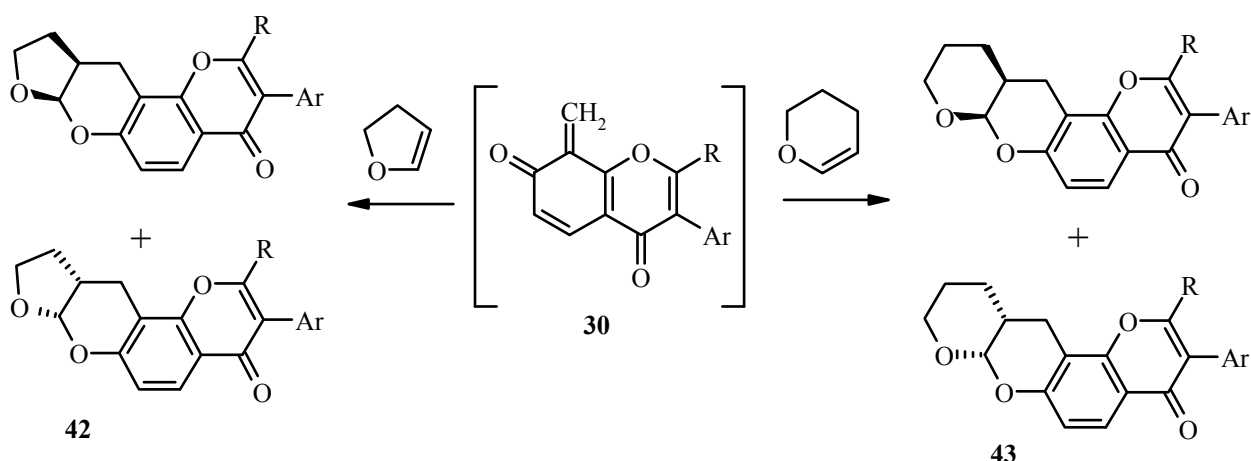
Введення в реакцію гетероприєднання Дільса-Альдера аенамінів циклопентанону та циклогексанону з *орто*-хінонметидами **30** в ДМФА приводить до утворення сполук **40** та **41**, що може бути результатом гідролізу проміжних сполук напівамінальної будови **38**. Знайдено, що продукти **40** існують у циклічній напівкетальній формі, в той час як для похідних циклопентанону більш вигідною є «відкрита» кетонна форма **41**. Доказом структури цих сполук є наявність піку в спектрах ЯМР <sup>13</sup>C при 98 – 100 м.ч. для сполук **40** та при 215 – 220 м.ч. для сполук **41** (Схема 9).

При взаємодії сполук **12** з енамінами циклопентанону та циклогексанону в толуені в деяких випадках вдалось виділити продукти циклоприєднання **38**, які при нагріванні у водному середовищі в присутності кислоти також можуть бути перетворені відповідно в сполуки **40** та **41**.

Легкість отримання *орто*-хінонметидів **30** з 8-заміщених ізофлавонів **23**, **26** дозволила нам використати їх для побудови гетероциклічних систем, які містять анельований хромоновий фрагмент. Нашу увагу привернула взаємодія *орто*-хінонметидів з вініловими етерами, яка приводить до утворення похідних хроманукетальної чи ацетальної структури. У зв'язку з цим була досліджена взаємодія

8-диметиламінометил-7-гідрокси похідних **12**, 7-ацетоки-8-ацетоксиметильних похідних **23**, 7-гідрокси-8-гідроксиметильних чи 7-гідрокси-8-метоксиметильних похідних **26** ізофлавону з циклічними вініловими етерами (2,3-дигідрофураном та 3,4-дигідро-2*H*-піраном) при кип'ятінні в ДМФА протягом 24 – 48 год. Реакція протікає регіоспецифічно з утворенням 9,10,10*a*,11-тетрагідро-4*H*,7*aH*-фуоро[2,3-*b*]пірано[2,3-*f*]хромен-4-онів **42** та 10,11,11*a*,12-тетрагідро-4*H*,7*aH*,9*H*-дипірано[2,3-*b*:2',3'-*f*]хромен-4-онів **43** (Схема 10).

Взаємодія *орто*-хінонметидів **30** з циклічними вініловими етерами протікає з утворенням *цис*-конденсованих гідрованих оксигеновмісних гетероциклів, що підтверджено КССВ протонів біля вузлових атомів карбону: 4.0 – 4.2 Гц для похідних 9,10,10*a*,11-тетрагідро-4*H*,7*aH*-фуоро[2,3-*b*]пірано[2,3-*f*]хромен-4-онів **42** та 2.1 – 2.5 Гц для похідних 10,11,11*a*,12-тетрагідро-4*H*,7*aH*,9*H*-дипірано[2,3-*b*:2',3'-*f*]хромен-4-онів **43**. Аналіз спектрів ЯМР <sup>1</sup>H сполук **42** та **43** з оптично активними лантаноїдними зсуваючими реагентами Eu(ГФБК)<sub>3</sub> та Pr(ГФБК)<sub>3</sub> показав наявність двох енантіомерів, які були ідентифіковані як 7*a*(*R*)10*a*(*R*) - **42**, 7*a*(*S*)10*a*(*S*) - **42** та 7*a*(*R*)11*a*(*R*) - **43**, 7*a*(*S*)11*a*(*S*) - **43**.



Крім того, наявність двох енантіомерів для циклічних ацеталів підтверджена і вискоєфективною рідинною хроматографією на оптично активному носії. Варто зазначити, що синтезовані сполуки **42** містять фрагменти природних ксилокеталів мангрових грибів, які виявляють інгібуючу активність по відношенню до ацетилхолінестерази, а також антиоксидантну активність.

### ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ СИНТЕЗОВАНИХ СПОЛУК

Протипухлинну активність синтезованих амінометильних похідних 7-гідрокси-5-метоксиізофлавонів **13** вивчали в рамках міжнародної наукової програми Національного інституту здоров'я США – DTP Національного інституту раку (США). Скринінгові дослідження проводили *invitro* на 60 культурах ракових клітин (раку легень, нирок, ЦНС, яєчників, простати, молочної залози, епітеліального раку, а також лейкемії та меланоми) при дії речовини в концентрації  $1 \cdot 10^{-5}$  М, у результаті яких визначали відсоток росту (GI) клітин ліній раку в порівнянні з контролем (контроль – 100 %).

Як виявилось, досліджувані основи Манніха **13** виявляють протимітотичну активність по відношенню до клітин раку легень. При цьому найбільш чутливою є лінія NCI-H522, значення GI досягало 40,35%. Під дією 8-амінометильних похідних 7-гідрокси-5-метоксиізофлавонів **13** спостерігалось інгібування росту ракових клітин молочної залози, особливо лінії MDA-MB-468 та клітин раку нирок UO-31.

У рамках наукового співробітництва з відділом біохімії Університету Кентуккі (США) проведено біологічний скринінг продуктів перетворень основ Манніхаізофлавонів. Виявлено, що 8-гідроксиметильні похідні **35** інгібують проліферацію клітин раку простати PC3 в концентрації  $1 \cdot 10^{-5}$  М, а деякі представники – в концентрації  $1 \cdot 10^{-6}$  М.

Досліджено перспективи застосування похідних ізофлавонів як протипухлинних агентів за Wnt та АМРК сигнальними шляхами інгібування росту клітин. Серед синтезованих сполук не виявлено речовин, які б проявляли

значну активність за Wnt сигнальним шляхом. Разом з тим, нам вдалось виявити окремі сполуки **37** та **40**, які активують секрецію АМРкінази у 4 – 5 разів у концентрації  $3 \cdot 10^{-6}$  М.

Оскільки сполуки **27** та **28** (Ar = C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OMe-2) є аналогами кристатеїну**36** (атрактанту по відношенню до зооспор *Aphanomycescochlioides*), цікаво було вивчити їх вплив на проростання насіння та ріст кореневої системи рослин. Рістрегулююча активність похідних ізофлавонолу була досліджена у співпраці з д. б. н. Циганковою В. А. на прикладі кукурудзи. Виявилось, що при обробці насіння та рослин вказаними сполуками в концентрації від  $1 \cdot 10^{-10}$  до  $1 \cdot 10^{-6}$  М спостерігалось значне прискорення процесів проростання насіння, росту рослин у висоту та розвитку кореневої системи.

## ВИСНОВКИ

Узагальнення результатів дисертаційної роботи свідчить про синтетичну цінність похідних природних ізофлавонолу для препаративного одержання основ Манніха та їх подальшого застосування в якості синтонів для введення нових замісників та анелюванняоксигеновмісних гетероциклічних систем до хромоногового циклу, що відкриває нові підходи до синтезу бібліотек сполук з потенційною біологічною активністю.

1. Показано, що 7-гідрокси-5-метоксиізофлавонолу регіоспецифічно взаємодіють з аміналами, що приводить до утворенням 8-амінометильних похідних. Амінометилування регіоізомерних 5-гідрокси-7-метоксиізофлавонолу в аналогічних умовах протікає з утворенням суміші 6- і 8-амінометильних похідних.
2. Запропоновано умови одержання та синтезовано ряд основ Манніха природних ізофлавонолу та їх аналогів, які містять фрагменти амінокислот та циклічних аміноспиртів.
3. Знайдено, що основи Манніхаізофлавонолу можуть слугувати синтонами для введення в хромоновий цикл гідроксиметильних та алкоксиметильних замісників. Одержано ряд нових гідрокси- та алкоксиметильних похідних ізофлавонолу, а також вперше синтезовано природний ізофлавонокристатеїн.
4. Досліджено особливості перебігу взаємодії амінометильних, метоксиметильних та гідроксиметильних похідних ізофлавонолу з еналами. Встановлено, що будова продуктів реакції залежить від умов її проведення та структури енамінів.
5. Вперше використано основи Манніха та отримані з них 8-заміщені похідні ізофлавонолу як прекурсори гетеродієнів в реакції Дільса-Альдера. Синтезовано ряд оксигеновмісних гетероциклічних систем на основі хромоногового ядра.
6. Серед синтезованих основ Манніхаізофлавонолу та продуктів їх перетворень виявлено сполуки з протипухлинною та рістрегулюючою активністю.



## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Фрасинюк М. С. Синтез аминокислотных производных формонетина и кладрина / М. С. Фрасинюк, Г. П. Мруг, О. Д. Федоряк, С. П. Бондаренко // Химия природн. соед. – 2012. – № 4. – С. 514–517.
2. Мруг Г. П. Синтез и аминотетилирование 7-гидрокси-5-метоксиизофлавонов / Г. П. Мруг, С. П. Бондаренко, В. П. Хиля, М. С. Фрасинюк // Химия природн. соед. – 2013. – № 2. – С. 203–208.
3. Фрасинюк М. С. Вивчення протипухлинної активності основ Манніхафлавоноїдів / М. С. Фрасинюк, Г. П. Мруг, С. П. Бондаренко, В. П. Хиля, В. С. Броварець // Ukr. Bioorg. Acta. – 2013. – Т. 11, вип. 2. – С. 3 – 7.
4. Мруг Г. П. Синтез 8-гідроксиметил- та 8-алкоксиметил похідних 7-гідрокси-ізофлавонів / Г. П. Мруг, М. С. Фрасинюк, В. П. Хиля // Ukr. Bioorg. Acta. – 2014. – Т. 12, вип. 1. – С. 24 – 28.
5. Мруг Г. П. Амінотетилування ізофлавонів за участю циклічних аміноспиртів / Г. П. Мруг, М. С. Фрасинюк, С. П. Бондаренко, В. С. Броварець, В. П. Хиля // Ukr. Bioorg. Acta. – 2014. – Т. 12, вип. 2. – С. 10 – 14.
6. Мруг Г. П. Синтез аминокислотних похідних формонетину і кладрину / Г. П. Мруг, О. Д. Федоряк, С. П. Бондаренко, М. С. Фрасинюк // Тези XXVII наукової конференції з біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України. «Каталіз и нефтехимия» 21 – 22 березня, 2012 р.: матеріали конференції. – Київ, 2012. – №21. – С. 174.
7. Мруг Г. П. Амінотетилування природних ізофлавонів за участю аминокислот / Г. П. Мруг, М. С. Фрасинюк, О. Д. Федоряк, С. П. Бондаренко // Тези 78 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті», Київ, 2 – 3 квітня, 2012 р.: збірник тез. – Київ, НУХТ, 2012. – С. 457 – 458.
8. Mrug G. P. Synthesis of isoflavone Mannich bases and their transformation / G. P. Mrug, S. P. Bondarenko, M. S. Frasinjuk, O. M. Vasylenko // Тези XXIX наукової конференції з біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України «Каталіз и нефтехимия» 27 – 28 березня, 2014 р.: матеріали конференції. – Київ, 2014. – №23. – С. 103.
9. Мруг Г. П. Синтез основ Манніха 7-гідрокси-5-метоксиізофлавонів та вивчення їх протипухлинної активності / Г. П. Мруг, М. С. Фрасинюк, С. П. Бондаренко // Тези 80 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті», Київ, 10 – 11 квітня, 2014 р.: збірник тез. – Київ, НУХТ, 2014. – С. 684 – 686.
10. Мруг Г. П. Синтез аналогів природних (алк)оксиметилхромонов / Г. П. Мруг, С. П. Бондаренко, А. Н. Василенко, М. С. Фрасинюк // Тезиси V

Международной конференции “химия, структура и функция биомолекул”, Минск, 2014. – С. 131 – 132.

11. Мруг Г. П. Синтез ацетальних та напівкетальних похідних ізофлавонов // Г. П. Мруг, М. С. Фрасинюк, В. П. Хиля // Тези всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні проблеми хімії і хімічної технології», Київ, 10 – 21 листопада, 2014 р.: збірник тез. – Київ, НУХТ, 2014. – С. 78 – 79.

## АНОТАЦІЯ

**Мруг Г. П. Синтез і властивості нових амінометильних похідних ізофлавонов.** – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія. – Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії Національної Академії Наук України, Київ, 2015.

Розроблено метод синтезу 7-гідрокси-5-метоксиізофлавонов. Вивчено особливості амінометилування ізомерних 7-гідрокси-5-метокси- та 5-гідрокси-7-метоксиізофлавонов під дією аміналів. Запропоновано умови одержання та синтезовано ряд основ Манніха природних ізофлавонов та їх аналогів, які містять фрагменти амінокислот та циклічних аміноспиртів.

Показано можливість застосування основ Манніхаізофлавонов в якості синтонів для введення в хромоновий цикл гідроксиметильних та алкоксиметильних замісників. Розроблена методика введення в хромоновий цикл гідроксиметильної групи дала змогу вперше синтезувати природний ізофлавонокристатеїн, вилучений раніше з *Celosiacristata*L.

Досліджено особливості перебігу взаємодії амінометильних, метоксиметильних та гідроксиметильних похідних ізофлавонов з енамінами.

Вперше використано основи Манніха та отримані з них 8-заміщені похідні ізофлавонов як прекурсори гетеродієнів в реакції Дільса-Альдера. Синтезовано ряд оксигеновмісних гетероциклічних систем на основі хромонового ядра.

Серед синтезованих основ Манніхаізофлавонов та продуктів їх перетворення виявлено сполуки з протипухлинною та рістрегулюючою активністю.

**Ключові слова:** ізофлавоно, основа Манніха, 6-гідроксиметилізофлавоно, 8-гідроксиметилізофлавоно, 6-алкоксиметилізофлавоно, 8-алкоксиметилізофлавоно, орто-хінонметид, гетерореакція Дільса-Альдера.

## АННОТАЦИЯ

**Мруг Г. П. Синтез и свойства новых аминотетильных производных изофлавонов.** – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук специальности 02.00.10 – биорганическая химия. – Институт биорганической химии и нефтехимии Национальной Академии Наук Украины, Киев, 2015.

Диссертация посвящена синтезу аминотетильных производных изофлавонов, изучению их свойств, выявлению среди полученных аналогов природных изофлавоноидов перспективных биологически активных соединений.

Разработан метод синтеза 7-гидрокси-5-метоксиизофлавонов, который заключается в защите 7-гидроксигруппы путем ее ацилирования диметилкарбамоилхлоридом, метилировании 5-гидроксигруппы с последующим дезацилированием в кислой среде. Изучено аминотетилирование изомерных 7-гидрокси-5-метокси- и 5-гидрокси-7-метоксиизофлавонов под действием аминалей. Синтезирован ряд новых 8-аминотетильных производных 7-гидрокси-5-метоксиизофлавонов, 6 и 8-аминотетильных производных 5-гидрокси-7-метоксиизофлавонов.

Исследована реакция Манниха природных изофлавонов с участием N-замещенных аминокислот - саркозина, L-пролина и пиперидинкарбоновых кислот. Показано, что аминотетилирование 7-гидроксиизофлавонов с участием аминокислот целесообразно проводить с применением параформа в абсолютном этаноле в присутствии каталитического количества 4-(диметиламино)пиридина (DMAP). Получены новые аминокислотные производные природных изофлавонов и их аналогов.

С целью получения производных изофлавонов с фрагментом этаноламина исследована реакция Манниха с участием (S)-пролинола, 3-гидрокси-пиперидина и *транс*-4-гидрокси-L-пролина. Оказалось, что, как и в случае синтеза аминокислотных производных, реакцию целесообразно проводить с применением параформа в присутствии DMAP, как катализатора. Наиболее подходящим растворителем для аминотетилирования с использованием *транс*-4-гидрокси-L-пролина, как и в случае аминокислот, оказался абсолютный этанол. В случае же применения (S)-пролинола и 3-гидрокси-пиперидина реакцию проводили в пропан-2-оле.

Изучено возможность использования аминотетильных производных изофлавонов в качестве синтонов для введения в хромоновый цикл гидроксиметильных и алкоксиметильных заместителей. При кратковременном нагревании оснований Манниха с уксусным ангидридом в присутствии ацетата калия синтезированы 7-ацетокси-8-ацетоксиметилизофлавоны, 5-ацетокси-6-ацетоксиметил-7-метоксиизофлавоны и 5-ацетокси-8-ацетоксиметил-7-метоксиизофлавоны.

Дезацилирование диацетокси производных изофлавонов в спиртах в присутствии кислот привело к образованию 7-алкоксиметил-8-гидроксиизофлавонов. При этом, алкоксигруппа соответствует остатку спирта, который был использован для проведения реакции. Показано, что синтез 8- и 6-гидроксиметильных производных изофлавонов возможно осуществить в результате нагрева соответствующих диацетокси производных в водно-диоксановом растворе в присутствии серной кислоты. Разработанная методика введения в хромоновый цикл гидроксиметильной группы позволила впервые синтезировать природный изофлавонокристаллин, выделенный ранее из *Celosiacristata* L.

Впервые использовано основания Манниха и полученные из них 8-замещенные производные изофлавонов в качестве прекурсоров гетеродиенов в реакции Дильса-Альдера.

Изучено взаимодействие аминотетильных, метоксиметильных и гидроксиметильных производных изофлавонов с 3-(диметиламино)-5,5-диметил-2-циклогексен-1-оном, 1-(4-морфолино)циклопентеном и 1-(4-морфолино)циклогексеном. Показано, что строение продуктов реакции зависит от условий ее проведения и структуры используемых енаминов.

Полученные из 8-замещенных изофлавонов *insitu орто*-хинонметиды были использованы для построения гетероциклических систем, содержащих аннелированный хромоновый фрагмент. Показано, что при взаимодействии 8-диметиламинотетил-7-гидрокси-, 7-ацетокси-8 ацетоксиметил-, 7-гидрокси-8-гидроксиметил- и 7-гидрокси-8-метоксиметилпроизводных изофлавонов с 2,3-дигидрофураном и 3,4-дигидро-2*H*-пираном приводит к региоспецифичному образованию 9,10,10а,11-тетрагидро-4*H*,7а*H*-фууро[2,3-*b*]пирано[2,3-*f*]хромен-4-онов и 10,11,11а,12-тетрагидро-4*H*,7а*H*,9*H*-дипирано[2,3-*b*:2',3'-*f*]хромен-4-онов.

Среди синтезированных основ Манниха изофлавонов и продуктов их превращений обнаружены соединения с противоопухолевой и ростстимулирующей активностью.

**Ключевые слова:** изофлавоны, основание Манниха, 6-гидроксиметилизофлавоны, 8-гидроксиметилизофлавоны, 6-алкоксиметилизофлавоны, 8-алкоксиметилизофлавоны, *орто*-хинонметиды, гетерореакция Дильса-Альдера.

## SUMMARY

**Mrug G. P. Synthesis and properties of new aminomethylisoflavone derivatives.** – A manuscript.

The dissertation for obtaining the Degree of Candidate of Chemical Sciences, speciality 02.00.10 – bioorganic chemistry. Institute of Bioorganic and Petrochemistry, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, 2015.

The procedure was elaborated for the synthesis of 7-hydroxy-5-methoxyisoflavones which involved dimethylcarbonyl chloride for selective protection of 7-hydroxy group of 5,7-dihydroxyisoflavones. The features of the aminomethylation were studied for the isomeric 7-hydroxy-5-methoxy and 5-hydroxy-7-methoxyisoflavones under aminals treatment. The conditions for the synthesis of natural isoflavone Mannich bases were suggested. A number of related compounds were synthesized which are bearing amino acids and cyclic amino alcohol moiety.

The application of isoflavone Mannich bases as synthones for the introducing of hydroxymethyl- or alkoxy methyl group into chromone ring was shown. This procedure allowed us to synthesize for the first time the natural isoflavone cristateine which was isolated from *Celosia cristata L.*

The peculiarities of interaction pathways were investigated for reaction of aminomethyl-, methoxymethyl-, and hydroxymethylisoflavone derivatives with enamines.

The Mannich bases and related 8-substituted isoflavones were used for the first time as precursors for hetero dienes generation in the Diels-Alder's reaction. The different oxygen-containing heterocyclic systems based on chromone ring were synthesized.

Antiproliferative compounds were identified among synthesized isoflavoneMannich bases and products of their transformation.

**Key words:** isoflavone, Mannich base, 6-hydroxymethylisoflavone, 8-hydroxymethylisoflavone, 6-alkoxymethylisoflavone, 8-alkoxymethylisoflavone, *ortho*-quinonemethide, Diels-Alder's hetero reaction.