

АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ  
ІНСТИТУТ БІООРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ ТА НАФТОХІМІЇ

На правах рукопису

ОГОРОДНІЙЧУК ОЛЕКСАНДР СТЕПАНОВИЧ

"СИНТЕЗ ТА ВИВЧЕННЯ АМІНОКИСЛОТНИХ І  
ПЕПТИДНИХ ПОХІДНИХ ІЗОФЛАВОНОЇДІВ ТА  
ВУГЛЕВОДІВ".

02.00.10 - біоорганічна хімія, хімія природних і фізіологічно  
активних речовин

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата хімічних наук

Київ - 1994

АВ 29049

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії АН України

Науковий керівник: кандидат хімічних наук  
В.В. Шилін

Науковий консультант: доктор хімічних наук  
професор В.П. Хиля

Офіційні опоненти: доктор хімічних наук,  
професор С.В. Серебряний

кандидат хімічних наук  
А.Г. Терентьєв

Провідна організація: Київський університет ім. Тараса Шевченка, м.  
Київ

Захист відбудеться *19. Січня* 1994 р. на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 016.65.01 в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії АН України (252660, м. Київ, вул. Мурманська, 1).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії АН України (252660, м. Київ, вул. Мурманська, 1).

Автореферат розісланий *27 лютого* 1994 р.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради

Д.М. Федоряк

ЛНБ ім. В. Стефаніка  
АН України

ЛНБ України ім. В. Стефаніка  
00753697 (.)



## Загальна характеристика роботи

### Актуальність теми.

Одним з найважливіших і першочергових завдань сучасної біоорганічної хімії є пошук високоефективних біорегуляторів, які мають широкий спектр біологічної дії і, в той же час характеризуються низькою токсичністю, що дозволяє проводити лікування і діагностику серцево-судинних, злоякісних, спадкових, інфекційних, імунних і вірусних захворювань. Перспективним підходом для створення біологічно активних речовин є хімічна модифікація природних сполук.

Серед біорегуляторів особливе місце займають речовини, одержані на основі пептидів, вуглеводів і флавоноїдів. Це обумовлено їх високою реакційною здатністю і важливим значенням, яке вони відіграють в біохімічних процесах, які проходять в живих організмах.

Модифікація структури флавоноїдів і вуглеводів шляхом отримання їх кон'югатів з амінокислотами та пептидами - перспективний шлях до створення нових класів біологічно активних речовин. Висока біологічна активність цих сполук обумовлена наявністю декількох фармакофорних центрів.

З теоретичної і практичної точок зору дослідження модифікованих флавоноїдів та вуглеводів підтверджує актуальність обраного напрямку.

### Мета і завдання дослідження.

Головна мета роботи - розробка методів синтезу глікоамінів (кон'югатів амінокислот та вуглеводів), пептидних і амінокислотних похідних ізофлавоноїдів, дослідження їх фізико-хімічних і біологічних властивостей, а також виявлення ефективних лікарських засобів та пошук нових гуморальних маркерів пухлининої хвороби.

### Положення, які виносяться на захист:

1. Методи синтезу О-пептидних і О-аміноацильних похідних ізофлавоноїдів.
2. Шляхи створення ізофлавоноїдних аналогів окситоцину, даларгіну, тімогену і тіресоліберіну.
3. Способи одержання О-аміноацильних похідних моносахаридів.
4. Рекомендації по цілеспрямованому пошуку нових лікарських субстанцій і практичному використанню синтезованих речовин в медицині.

### Наукова новизна та практичне значення роботи.

В роботі вперше розроблено ефективний підхід для одержання О-аміноацильних і О-пептидних похідних ізофлавоноїдів. Ці сполуки були отримані:

- 1) взаємодією гідроксиізофлавоноїдів з симетричними ангїтридами (СА) N-захищених амінокислот в присутності каталітичної кількості 4-диметил-амінопіридину (ДМАП);
- 2) конденсацією гідроксиізофлавоноїдів з N-захищеними амінокислотами з використанням хлориду N,N'-біс-(2-оксо-3-оксазоліл)фосфадіаміду (Вор-Cl);
- 3) послідовним нарощуванням пептидного ланцюгу з N-кінця о-аміноацилхромонів методом змішаних ангїридів (ЗА).

Було синтезовано ізофлавоноїдні аналоги окситоцину, даларгіну, тімогену і тіреоліберіну.

Здійснено синтез глікоамінів - нового класу ендогенних біополімерів плазми крові, як неспецифічних пухлинних маркерів. Підвищення рівня глікоамінів в плазмі крові хворих пухлинами молочної залози і жіночих геніталій може бути використано для діагностики пухлинних новоутворень.

В результаті фармакологічного дослідження амінокислотних і пептидних похідних ізофлавоноїдів виявлено, що багато з них є практично нетоксичними та мають високу нейролептичну, гіпоглікемічну, гепатозахисну, діуретичну, протизапальну, цитопротекторну і антиоксидантну активності і за рівнем біологічної дії перевищують препарати, які застосовуються в медичній практиці. Деякі сполуки характеризуються одночасно двома або трьома видами фармакологічної дії. Отже, вони можуть бути основою для розробки лікарських препаратів широкого спектру дії.

Синтезовано понад 200 нових сполук. Будову і індивідуальність одержаних сполук доведено за допомогою даних елементного аналізу, тонкошарової хроматографії (ТШХ), високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), поляриметрії, ІЧ-, ПМР-спектроскопії.

Новизна невідомих раніше аміноацильних похідних ізофлавоноїдів, які мають біологічну активність, захищена авторськими свідоцтвами СРСР.

#### Апробація роботи:

Основні матеріали дисертації були подані і обговорювались на конференціях:

- VII Всесоюзний симпозіум по хімії білків і пептидів (м. Таллін, 1987);
- Всесоюзний симпозіум по хімії пептидів (м. Рига, 1990);
- 7 Міжнародна конференція по пухлинним маркерам (м. Київ, 1990);
- Республіканська наукова конференція "Реалізація наукових досягнень в практичній фармації" (м. Харків, 1991).

**Публікації.** Основні положення дисертації опубліковані в 15 друкованих роботах. Об'єм і структура роботи. Дисертація викладена на сторінках. Робота складається із вступу, огляду літератури (1 розділ), обговорення результатів дослідження (2 і 3 розділи), експериментальної частини і результатів біологічного скринінгу (4 розділ), висновків і списку цитованої літератури.

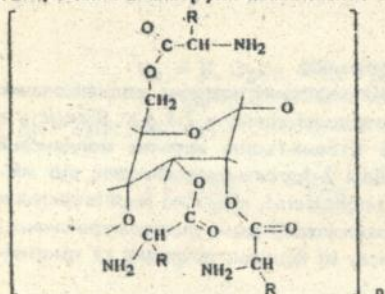
#### Розділ 1. Ізофлавоноїди: способи синтезу, біологічна активність.

Глікоаміні: структурно-функціональна характеристика нового класу гуморальних пухлинних маркерів.

Флавоноїди - це одна з цікавих і захоплюючих галузей хімії природних сполук. Підвищена зацікавленість до ізофлавоноїдів, яку проявляють вчені та спеціалісти різних напрямків, пояснюється великим значенням, яке ці сполуки відіграють в життєдіяльності рослинних і тваринних організмів, їх високою та різноманітною активністю, а також, їх нетривіальною реакційною здатністю. В літературному огляді приводяться методи синтезу 3-арил і 3-гетарилхромонів, обговорюється їх біологічна дія.

Підвищення ефективності лікування онкологічних захворювань багато в чому залежить від ранньої діагностики пухлинних маркерів (біологічних індикаторів - продуктів пухлинних кліток), які з'являються в високих концентраціях в біологічних рідинах і/або тканинах організму при пухлинному процесі.

Пухлинні маркери повинні бути специфічними для певного пухлинного процесу, доступні для визначення на різних стадіях хвороби і давати можливість використовувати їх при прогнозуванні проходження пухлинної хвороби. За нашого часу більшість пухлинних маркерів не відповідають вищеперерахованим критеріям. Одним з нових гуморальних маркерів пухлинної хвороби є глікоаміни. Ці сполуки були відкриті Г.В. Глинським у 1977 році. Глікоаміни - це раніше невідомий клас ендогенних біополімерів з молекулярною вагою менше 10 кД, які циркулюють в плазмі крові ссавців у вільній та білокзв'язаній формі. Згідно структурного аналізу глікоамінів плазми крові тварин пухлиноносців вони є вуглевод-амінокислотні кон'югати, в яких аміногрупи амінокислот є вільними, а амінокислоти з'єднані з коровою



частинною молекул складноєфірними зв'язками. Було встановлено, що складовою частиною глікоамінів є вуглеводи. В деяких зразках глікоамінів основними вуглеводами є глюкоза, до складу інших входять маноза, галактоза, фруктоза, N-ацетилглюкозамін. Кількість вуглеводних залишків коливається від 1 до 17, а амінокислот від 5 до 23.

Встановлено, що рівень вільної форми глікоамінів вищий в 2-4 рази в плазмі крові при злоякісних новоутвореннях і лейкозах у тварин і

людини, але значно знижується в артеріальній плазмі на другу добу після радикального видалення пухлини.

## Розділ 2. Аміноацильні та пептидні похідні ізофлавоноїдів.

Дослідження хімічної будови та механізму дії природних біологічно активних сполук і виявлення серед них потенційних лікарських препаратів з кожним роком набуває все більшого значення.

Флавоноїди, які складають біологічну основу рослинних лікарських препаратів, здавна використовуються в народній і науковій медицині, а також в інших галузях виробничої діяльності людини. Встановлено, що вони проявляють анаболічну, протизапальну, гіполіпідемічну, гіпоглікемічну, гепатозахисну і інші активності на рівні або перевищують за величиною біологічного ефекту препарати, які використовуються в медичній практиці.

Останнім часом хімія пептидів виросла в одну з найбільш актуальних галузей сучасної біоорганічної хімії. Це пов'язано з винятковим біологічним значенням пептидно-білкових речовин, які виконують в живому організмі різні функції. Кількість порівняно простих за будовою природних пептидів, які мають високу і

різноманітну активність (гормони, біорегулятори, антибіотики та т.і.), зараз обчислюється багатьма десятками і продовжує неухильно рости. За різноманітністю і важливістю регуляторних функцій пептиди не мають собі рівних серед інших хімічних класів природних сполук. Все більше досліджуються біохімічні механізми дії пептидних гормонів, антибіотиків, токсинів та антитоксинів, субстратів, імуномодуляторів і т.д. Велике значення мають пептидні препарати в медицині та сільському господарстві.

Беручи до уваги цінні біологічні властивості природних та синтетичних флавоноїдів з одного боку, та амінокислот і пептидів з другого боку, можна передбачити, що поєднання в одній молекулі флавоноїдного і пептидного (амінокислотного) фрагментів дозволить одержати сполуки з новими цікавими біологічними властивостями. "Пептидна" модифікація може сприяти транспорту таких кон'югатів через цитоплазматичну мембрану клітини, підвищувати стабільність дуплексних структур.

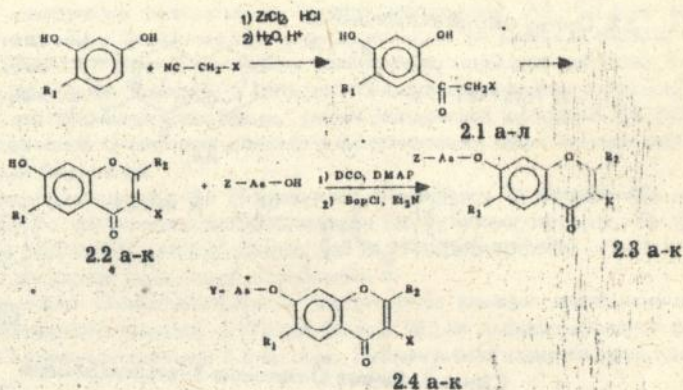
### 2.1. Синтез амінокислотних похідних ізофлавононів.

Ключовими сполуками для синтезу О-аміноацильних похідних модифікованих ізофлавоноїдів 2.4 а-к були  $\alpha$ -заміщені-2-гідроксинацетофенони 2.1 а-к. Більшість з них одержані за стандартних умов реакції Губена-Гюша шляхом конденсації поліфенолів з відповідними ацетонітрилами. Далі 2-гідроксинацетофенони, що містять сильні електроноакцепторні замісники в  $\alpha$ -положенні, кількісно перетворювали у відповідні хромони 2.2 а-к взаємодією з етоксипіхлоридом, оцтовомурашиним і оцтовим ангідридами в присутності таких основ, як піридин, піпіридин та триетиламін (схема 1).

N-Захищені 7-О-аміноацилхромони 2.3 а-к були отримані двома різними способами. Перший полягає в конденсації 7-гідроксихромонів з попередньо одержаними симетричними ангідридами N-захищених амінокислот (СА). Цю реакцію проводили при кімнатній температурі в присутності каталітичних кількостей ДМАП протягом декількох хвилин.\* Як розчинник використовували абсолютний тетрагідрофан (ТГФ).

Другий спосіб одержання аміноацильних похідних хромонів полягає в конденсації гідроксихромонів з N-захищеними амінокислотами. В цій реакції як конденсуючий реагент використовували Вор-СІ. Синтез проводили в очищеному диметилформаміді (ДМФА) в присутності триетиламіну.

Аміні функції амінокислот блокувались трет-бутилоксикарбонільною (Boc) та бензилоксикарбонільною (Cbz) групами. Захищені амінокислотні похідні є кристалічними речовинами, що добре розчинні в органічних розчинниках. В спектрі ПМР сполуки 2.3 є, вимірююму в  $CDCl_3$ , спостерігаються характеристичні сигнали хромонного фрагменту: в області 8,22 м.д. знаходиться сигнал ароматичного протону 5-H, що зазнає на собі дезекрануючий вплив сусідньої карбонільної групи, в області 8,0 м.д. знаходиться синглет протону 2-H піронового циклу, сигнали при 7,13 та 7,30 м.д. відповідають протонам 8-H та 6-H. В області 1,4 м.д. знаходиться інтенсивний сигнал дев'яти протонів Boc-групи, або двопротонний синглет в області 5,0<sup>р</sup> м.д., та п'ятипротонний мультиплет в області 7,2 м.д. фенільних протонів Cbz-групи. Протони -NH- і -CH-груп амінокислотного залишку резонують в області 5,0 та 4,5 м.д.



$R_1 = H, C_2H_5, CH_3, C_6H_{13}; \quad R_2 = H, CH_3, COOC_2H_5;$   
 $Z = C_6H_5CH_2OCO-, (CH_3)_3COCO-; \quad Y = Cl, Br, CF_3COO$

$Aa = Gly, Ala, Val, Leu, Ahx, Abu, \beta-Ala, Phe, Tyr, Trp, His, Pro, Lys, Cys, Met$

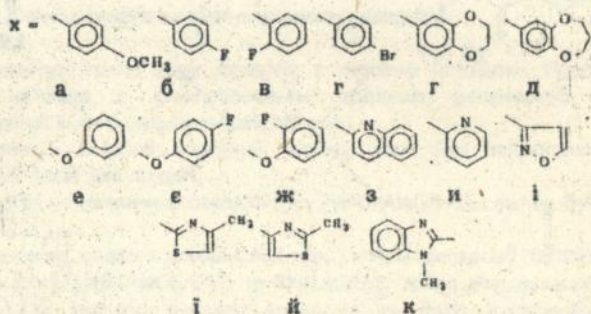


Схема 1. Синтез О-аміноацилізофлавонів.

Деблокування захисних угруповань проводили ацидोलізом. Одержані солі 2.4 а-к є кристалічними речовинами, розчинними в полярних розчинниках. Їх будову було встановлено на основі даних кількісного елементного аналізу та спектроскопії ПМР. В спектрах ПМР відсутні сигнали протонів захисних груп, а сигнал протонів аміногрупи зміщений в слабке поле (-8 м.д.).

Синтез N-3-гетарилхромон-2-карбоніл- та 7-0-метилокскарбоніламінокіслот, їх метилових ефірів та амідів проводили з використанням активованих ефірів 2.7 б,г та 2.8 г (схема 3).

Характерна для розчинів похідних L-ряду зміна кута питомого обернення  $[\alpha]^{20}_D$  з (-) на (+) при переході від N-захиснених похідних 2.3 а-к до їх галогенгідратів та трифторацетатів 2.4 а-к узгоджується з правилом оптичного зсуву для природних амінокислот L-ряду і може бути підтвердженням конфігурації отриманих сполук.

## 2.2. Синтез пептидлізофлавонів.

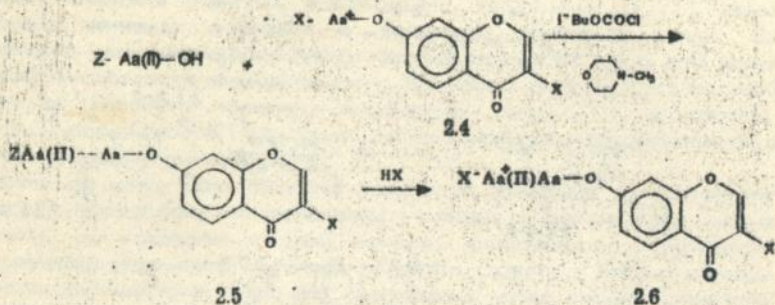


Схема 2. Синтез О-пептидил-3-гетарилхромонів

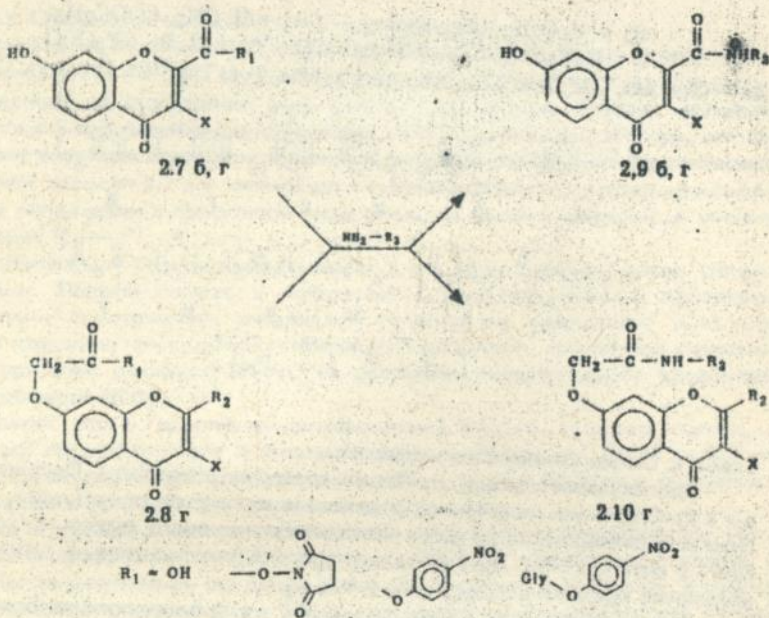


Схема 3. Синтез N-(3-гетарил-2-карбоніл)- та N-(3-гетарил-7-О-метоксикарбоніл)пептидів та амінокислот

Для одержання N-захисених O-пептидилхромонів 2.5 б,г,є,ж використували метод ЗА. Цінність методу з використанням ЗА вугільної кислоти полягає у високій швидкості реакції за низьких температур, порівняно високою чистотою отриманих продуктів. Виходячи з того, що O-аміноацилхромони з вільною аміногрупою є нестабільними сполуками, умови конденсації методом ЗА прийнятні. Спроби одержання O-пептидилхромонів з використанням інших методів пептидного синтезу були безуспішні.

В процесі отримання ЗА N-захисених амінокислот та пептидів для активації карбоксильного компоненту використували Ізо-бутилхлорформіат. Як третинна основа був обраний N-метилморфолін. Так як N-метилморфолін - слабка основа, його вплив на процес рачемізації мінімальний.

N-Захищені O-пептидилхромони одержували шляхом послідовного нарощування пептидного ланцюгу з N-кінця (схема 2). Як амінокомпоненту використували O-аміноацилхромони 2.4 б,г,є,ж. Деблокування захисних груп проводили ацидолізом.

Для синтезу пептидилхромонів 2.9 б,г, які містять в своїй молекулі ізофлавоноїдний фрагмент з N-кінця, хромони з карбоксильною групою перетворювали в активовані ефіри 2.7-2.8 б,г (p-нітрофенілові або N-оксисукцинімідні), які вводили в реакцію конденсації з пептидами (схема 3).

#### 2.2.1. Синтез ізофлавоноїдних аналогів даларгіну.

З класичної точки зору даларгін є типовим опіюїдом. Протівивразкова дія даларгіну зв'язана з стимулюванням процесів регенерації і покращення мікроциркуляції в зоні пошкодження тканини.

Даларгін - перший опіюїдний пептид, який був запропонований як протівивразковий засіб для людей.

Даларгін - синтетичний гексапептид Tyr-D-AlaGlyPheLeuArg був одержаний за схемою 4.

Заключною стадією конденсації при синтезі даларгіну було поєднання двох фрагментів Boc<sub>2</sub>Tyr(D)AlaGlyONp та PheLeuArg, тобто конденсація за схемою (6-4) + (3-1). В процесі синтезу даларгіну та його ізофлавоноїдних аналогів використували N-Boc- і N-Cbz-похідні амінокислот.

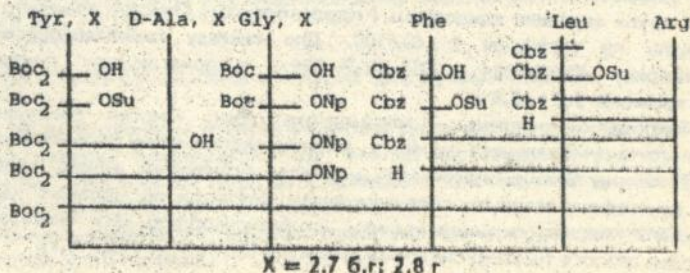


Схема 4. Синтез даларгіну та його ізофлавоноїдних аналогів

Трипептид PheLeuArg отримували послідовним нарощуванням пептидного ланцюгу, починаючи з захищеного аргініну, з використанням методу N-оксисукцинімідних ефірів. Cbz-групи видаляли каталітичним гідрогенолізом.

Фрагмент даларгіну (6-4) одержували конденсацією  $\text{Vos}_2\text{Tyr(D)Ala}$  та  $\text{HCl-GlyONp}$  з використанням ізо-бутилхлорформіату. Очистку ди-Вос-захищеного даларгіну проводили на силікагелі L 40/100. Його деблокували розчином трифтороцтової кислоти в хлористому метилени, продукт у вигляді ацетату отримували обробкою Dowex 2(OH<sup>-</sup>). Індивідуальність кінцевого гексапептиду підтверджена даними ВЕРХ, ТШХ, електрофорезу, тестами біологічної активності. Нами синтезовано ряд ізофлавоноїдних аналогів даларгіну X<sub>1</sub>PheLeuArg, X<sub>2</sub>GlyPheLeuArg, X(D)AlaGlyPheLeuArg, Tyr(D)AlaGlyX (X = 2.7 б,г; 2.8г). Ці сполуки були одержані методами активованих ефірів хромонів 2.7 б,г; 2.8 г та методом змішаних (симетричних) ангідридів.

### 2.2.2. Синтез ізофлавоноїдних аналогів тіреоліберину і тімогену.

На сьогоднішній день кількість аналогів тіреоліберину перевищує 100. Тіреоліберин (Pyr-His-Pro-NH<sub>2</sub>) регулює в аденогіпофізі синтез та секрецію тіреотропіну - гормону, який стимулює щитовидну залозу. Йому властивий ефект стимуляції виділення пролактину.

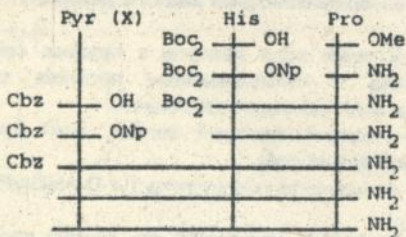


Схема 5. Синтез тіреоліберину та його ізофлавоноїдних аналогів

Тіреоліберин синтезували методом p-нітрофенілових ефірів (схема 5). Захисні групи видаляли ацидолізом і гідрогенолізом. Очистку кінцевого продукту проводили на силікагелі L 40/100. Для синтезу ізофлавоноїдних аналогів тіреоліберину XHisProNH<sub>2</sub>, XGlyHis-ProNH<sub>2</sub>, використовували p-нітрофенілові ефіри хромонів 2.7 г, 2.8 г.

Тімоген є дипептид - глутаміл-триптофан. Тімоген стимулює реакції клітинного та гуморального імунітету, а також неспецифічну резистентність.

Дипептид GluTrp одержували методом активованих ефірів, карбокси-льну групу триптофану захищали солеутворенням. Методом послідовного нарощування пептидного ланцюгу з використанням ізо-бутилхлорформіату синтезовані ізофлавоноїдні аналоги тімогену загальної формули GluTrpX (X = 2.2 б,г).



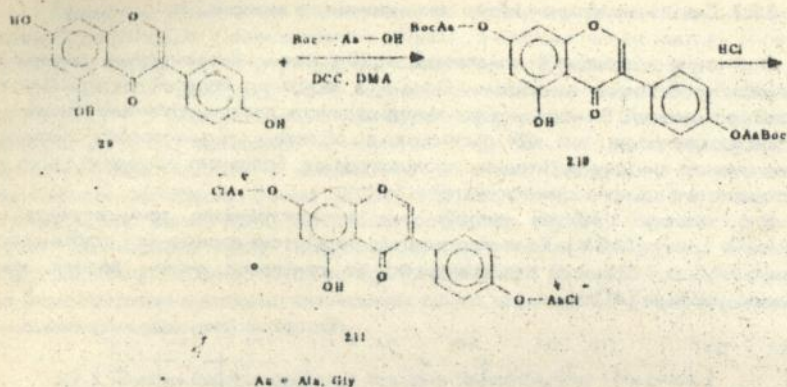


Схема 7. Синтез амінокислотних аналогів геністеїну

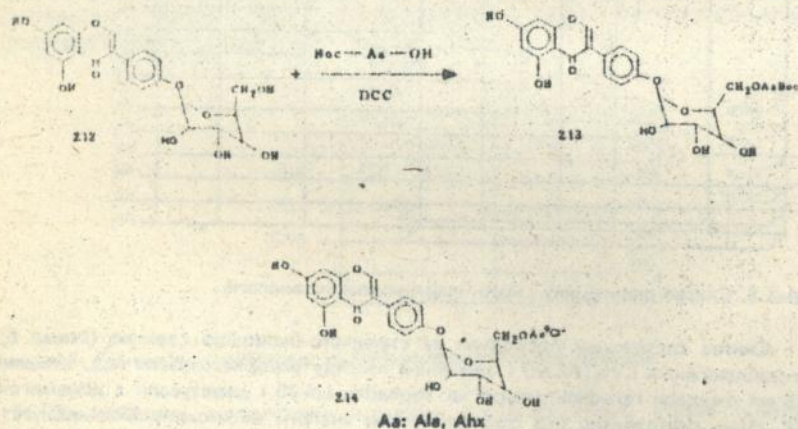


Схема 8. Синтез амінокислотних аналогів софориозиду.

Спектри ПМР продуктів реакції СА з геністеїном свідчать про входження двох залишків амінокислот в положення 7 і 4' молекули ізофлавону 2.10

З метою одержання амінокислотних похідних по вуглеводневому фрагменту ізофлавоно-глікозида, софориозицид вводили в реакцію з N-захисними амінокислотами в присутності дициклогексилкарбодіміду (DCC) (схема 8).

Аміноацилювання проходило по 6'-ОН-групі вуглеводневої частини молекули софориозициду, так як первинний гідроксил реагує значно швидше вторинного, а використання надлишку глікозициду 2.12 дозволяло одержувати виключно 6'-О-аміноацильні похідні 2.13.

### Розділ 3. Синтез глікоамінів.

З метою підтвердження структури природних глікоамінів, подальшого вивчення їх фізико-хімічних і біологічних властивостей синтезовано ряд О-аміноацильних похідних D-глюкози,  $\alpha$ -метил-D-глюкопіранозиду, D-галактози, D-манози та дезоксисахаридів.

Аміноацилювання  $\alpha$ -метил-D-глюкопіранозиду було проведено для з'ясування впливу вільного глікозидного гідроксилу на стійкість складноефірного зв'язку глікоамінів та його роль в біохімічних процесах, в яких беруть участь природні глікоаміни.

Аміні функції амінокислот блокувались Boc- та Cbz-групуваннями.

Після конденсації N-захисених амінокислот та/або їх СА з моносахаридами, одержані N-захисені глікоаміни були піддані ацидолізу та/або каталітичному гідрогенілізу з метою видалення захисних груп.

Синтетичні О-аміноацилмоносахариди є лабільними сполуками. Особливо вони нестійкі за умов, коли їх аміногрупи непротоновані. Тому синтезовані глікоаміни були виділені у вигляді хлоргідратів, трифторацетатів або оксалатів, які є більш стабільними.

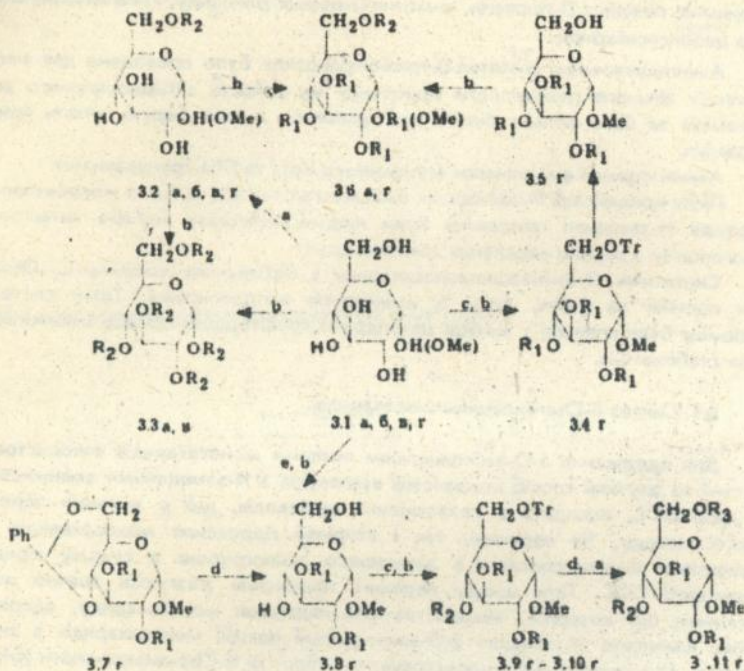
#### 3.1. Синтез 6-О-аміноацилмоносахаридів.

Для одержання 6-О-аміноацильних похідних моносахаридів використовували простий та зручний спосіб конденсації вуглеводів з N-захисеними амінокислотами під дією DCC, виходячи з незахищених вуглеводів, що є значною перевагою даного методу. Як первинні, так і вторинні гідроксильні моносахаридів легко ацетилюються амінокислотами з захищеною аміногрупою в сухому пірідині в присутності DCC. При цьому первинні гідроксильні реагують значно швидше вторинних, що дозволяє, використовуючи надлишок моносахариду, одержувати майже виключно N-захисені 6-О-аміноацильні похідні моносахаридів з високим виходом. Для конденсації використовували N-Boc- та N-Cbz-амінокислоти (Gly, Ala, Phe, Leu, Pro, Arg, Trp, Glu, Gln, Tyr, Cys) (схема 9):

Хроматографічне дослідження синтезованих глікоамінів показало, що поряд з основними побічними продуктами утворюються в незначній кількості. Вони, мабуть, є моноацильними та діацильними похідні по вторинним гідроксильним групам. N-Захищені 6-О-аміноацилмоносахариди 3.2 а-г очищали з використанням колоночної хроматографії на силікагелі. Для переходу від N-захисених глікоамінів до аміноацильних похідних з вільними аміногрупами, одержані сполуки 3.2 а-г піддавали ацидолізу (HCl/діоксан, CF<sub>3</sub>COOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) або гідрогенілізу над папалієм на вугіллі в водному метанолі в присутності оксалатної кислоти. Гідрогеніліз в нейтральних розчинах супроводжувався сольолізом складноефірного зв'язку, що не давало можливості виділити речовини в індивідуальному стані.

Для синтезу 3-О-аміноацилмоносахаридів 3.14 використовували глюко-

фуранозу 3.12. Аміноацилювання проводили СА в присутності ДМАП. Послідовним нарощуванням пептидного ланцюгу одержані 3-О-пептидглікофуранози 3.15 (схема 10).



a) Z-AaOH, DCC; b) СА, DMAP; c) TrCl, Py; d)  $H^+$ ,  $H_2/Pd$ ; e)  $C_6H_5CH(OC_2H_5)$ , TosOH

$R_1, R_2, R_3 = ZAa-$  або  $X^-Aa^+$ ; Z = Вос- або Cbz-;  $X^- = Cl, CF_3COO, COO-COO$

a = Gl; б = Man, в = Gal, r =  $\alpha$ -MeGl

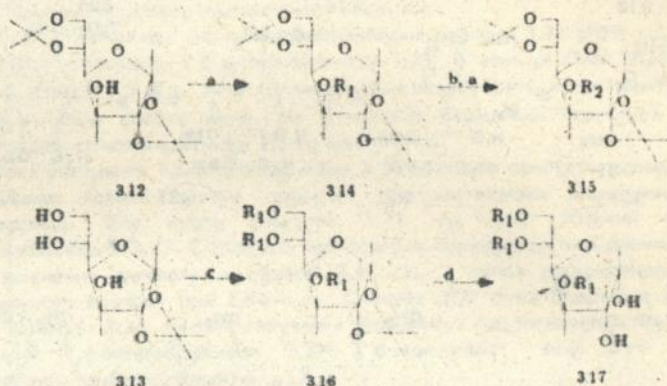
Схема 9. Синтез О-аміноацилсахаридів.

### 3.2. Синтез пента-, тетра-, три-, та ди-О-гомоаміноацилмоносахаридів.

Повністю О-аміноацильовані моносахариди 3.3 а,в,г синтезовані конденсацією глікопіраноз з попередньо одержаними СА. Реакцію проводили за кімнатної температури в присутності каталітичної кількості ДМАП в абсолютному ТГФ (схема 9). Пергомоаміноацилмоносахариди 3.3 а, в, г були також одержані, виходячи з сахаридів 3.2 а, в, г.

Для синтезу 2,3,4-О-тригомоаміноацил- $\alpha$ -метилглікопіранозиду 3.4 г первинний гідроксил вуглеводу вибірково захищали тритильною групою (схема 9). З

метою одержання тригомоаміноацилглюкофуранози використовували моносахарид 3.13 (схема 10). Дигомоаміноацильні похідні синтезовані, виходячи з  $\alpha$ -метил-D-глюкопіранозиду 3.12. Для цього гідроксильні в положеннях 4 та 6 піранозного циклу блокували бензиліденовим угрупованням. Далі вільні гідроксильні сахаридів аміноацилювали СА в присутності ДМАП (схема 9).



а)  $ZAAOH$ , DCC, б)  $H_2/Pd$ ; в) СА, ДМАП, д)  $CF_3COOH$

$R_1 = CbzAa$  або  $X^*Aa$   $R_2 = Cbz$  пептидил,  $X = COO COO$

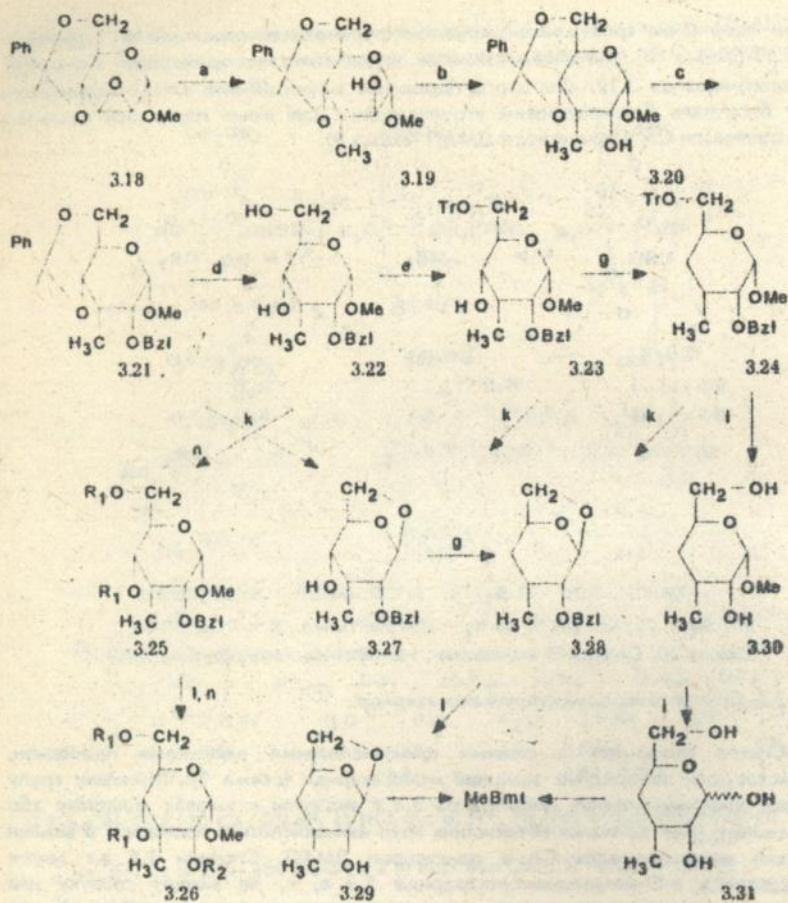
Схема 10. Синтез О-аміноацил-, і-О-пептидилглюкофуранозидів.

### 3.3. Синтез гетероаміноацилманосахаридів.

Синтез глікоамінів з різними амінокислотними залишками проводили, використовуючи попередньо захищені моносахариди (схема 9). Тритильну групу частково аміноацильованих глікопіраноз 3.4 г видаляли в умовах ацидлізу або гідрогенолізу (без займання N-захисних груп амінокислотних залишків), а вільний гідроксил аміноацилювали СА в присутності ДМАП. Сполуки 3.6 а, г також одержували з 6-О-аміноацилмоносахаридів 3.2 а, г. Як вихідну сполуку для одержання глікоамінів з трьома різними амінокислотними залишками було обрано синтон 3.8 г. Селективний захист первинного гідроксилу і ацилювання СА вторинного біля С4 приводило до аміноацилмоносахаридів 3.10 г. Каталітичне гідрування або ацидоліз таких сполук з подальшим аміноацилюванням первинного гідроксилу приводило до пераміноацильованих вуглеводів з трьома різними амінокислотними залишками.

### 3.4. Синтез аміноацильних похідних дезоксимоносахаридів.

Нами синтезовано ряд кон'югатів амінокислот та дезоксисахаридів, які були використані для синтезу (2S,3R,4R,6E)-3-окси-4-метил-2-метиламіно-6-октенвої кислоти (MeVmt) циклоспорину А. Як відомо, моносахариди та їх похідні є



a)  $\text{CH}_3\text{MgCl}$ , b)  $\text{DMSO}$ ,  $\text{LiAlH}_4$ , c)  $\text{NaH}$ ,  $\text{BzlBr}$ , d)  $\text{H}^+$ , e)  $\text{TrCl}$ ,  $\text{Py}$ , g)  $\text{NaH}$ ,  $\text{CS}_2$ ,  $\text{CH}_3\text{I}$ ,  $\text{Bu}_3\text{SnH}$ , k) 80%  $\text{CF}_3\text{COOH}$ , n)  $\text{CA}$ ,  $\text{DMAF}$ ,  $\eta\text{H}_2/\text{Pd}$ , i)  $\text{Dowex 50} [\text{H}^+]$ .

$\text{R}_1, \text{R}_2 = \text{BocAa}, \text{CF}_3\text{COO}^-\text{Aa}^+, \text{Aa} = \text{Ala}, \text{Gly}$

Схема 11. Синтез О-аміноацилдезоксимоносхаридів.

ідеальними вихідними речовинами для хірального синтезу складних природних сполук. Взаємодія оксірану 3.18 з метилмагнійхлоридом і наступна окисно-відновна процедура приводили до піранози 3.20, конфігурація хіральних центрів при C2 та C3 якої відповідає необхідній для побудови MeVmt. Далі вільна

гідроксильна група сполуки 3.20 блокувалась бензильним угрупованням (схема 11).

Видалення бензильденової групи, захист первинного гідроксилу з наступним дезоксигенуванням вторинного гідроксилу при C4 приводило до сполуки 3.24. Її структура підтверджується даними спектру ПМР: на положення нової дезоксиланки вказує високопольний зсув сигналу протонів при C4 в області 1,49 м.д. та відсутність сигналу гідроксильного протону.

Було встановлено, що при детритилуванні сполуки 3.24 (80% HAc, 110°C) спостерігали утворення 1,6-ангідропіранози 3.28. В спектрі ПМР 3.28 відсутній синглет в області 3,5 м.д., який відповідав  $\alpha$ -метильній групі, а протони H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>6</sub> зміщені в більш слабе поле. На утворення біциклічної структури вказує і константа спин-спінової взаємодії 2,3 Гц протону H<sub>1</sub>.

Факт утворення 1,6-ангідропіранози 3.28 дозволив припустити, що побудову дезоксиланки MeVtI зручно провести, використовуючи біциклічний скелет моносахарида. Для цього піраноза 3.21 під дією 80%-ної CF<sub>3</sub>COOH перетворювалась в 3.27. Структура цієї сполуки підтверджується даними спектру ПМР: зникнення синглету в області 3,5 м.д. і поява розширеного сигналу гідроксильного протону при 2,84 м.д.. Сполука 3.27 була одержана за тих же умов з піранози 3.23. Дезоксигенування вторинного гідроксилу при C4 здійснено переводом 1,6-ангідропіранози 3.27 в ксантогенат, який без очищення відновлювався трибутилстананом.

Утворення 1,6-ангідропіраноз 3.27 і 3.28 в деякій мірі було несподіваним. Мабуть, просторова орієнтація метильної та бензильної груп сприяє зміні конформації піранозного циклу, що полегшує утворення біциклічної структури. Для синтезу дезоксиглікоамінів, сполука 3.22 була аміноацильована SA. Для одержання триаміноацильмоносахариду 3.26, сполуку 3.25 дебілсували, а вільний гідроксил при C2 аміноацильовали SA.

#### Розділ 4. Біологічне дослідження пептидил(аміноациль) флавоноїдів і синтетичних глікоамінів

Велика група аміноациль- і пептидилхромонів була передана на біологічний скринінг до Харківського державного фармацевтичного інституту, П'ятигорського фармацевтичного інституту, Луганського медичного інституту, Київського інституту біохімії ім. О.В.Паладіна АН України та Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького АН України.

В результаті біологічного скринінгу знайдено препарати з високою гепатозахисною, цитопротекторною, жовчогінною, нейроліптичною, гіпоглікемічною, протизапальною, діуретичною та антиоксидантною діями. Було встановлено, що деякі з 7-О-аміноацильхромонів мають більш високу гіпоглікемічну та протизапальну активності в порівнянні з препаратами "Бутамід" і "Вольтарен".

Показано, що ряд синтетичних глікоамінів проявляють інгібіторний ефект на агрегацію пухлинних клітин. В культуральному середовищі ці сполуки, не проявляючи цитотоксичної дії на пухлинні клітини, інгібують сфероїдоутворення пухлинними клітинами на 30-80%.

## ВИСНОВКИ

1. Розроблено препаративні методи синтезу О-аміноацильних похідних ізофлавоноїдів, які полягають в:
  - a) конденсації гідроксихромону з симетричним ангідридом N-захищеної амінокислоти;
  - б) взаємодії гідроксихромону з N-захищеною амінокислотою. Як конденсуючий реагент використовували хлорид N,N'-біс-(2-оксо-3-оксазоліл)фосфадіаміду.
2. Шляхом послідовного нарощування пептидного ланцюгу, методом змішаних ангідридів, одержані пептидихромони. Ізофлавоноїдні аналоги пептидів, які містять хромоновий фрагмент з N-кінця, синтезували конденсацією активованих ефірів карбоксихромонів з пептидами.
3. Розроблені методики синтезу та одержані в препаративних кількостях окситоцин, даларгін, тіреопіберін, тімоген та їх ізофлавоноїдні аналоги.
4. Запропоновано та розроблено спосіб синтезу глікоамінів - кон'югатів амінокислот і вуглеводів, які можуть бути використані як неспецифічні пухлинні маркери; встановлено ідентичність поведінки природних та синтетичних глікоамінів при хроматографуванні, сіквенсі, пужному та кислотному гідролізах.
5. Серед одержаних сполук виявлено препарати, які мають високу гепатозахисну, цитопротекторну, жовчогінну, нейроліптичну, гіпоглікемічну, протизапальну, діуретичну і антиоксидантну активності. Встановлено, що ряд сполук за рівнем фармакологічної дії перевищують препарати, які використовуються в медицині. Окремі сполуки характеризуються двома і трьома видами біологічної дії і, отже, можуть бути основою для розробки лікарських препаратів широкого спектру дії.
6. Показано, що синтетичні аналоги глікоамінів інгібують процеси сфероїдоутворення і клонізацію легень клітинами рабдомісаркоми МХ-1.

### Основні наукові результати опубліковані в роботах:

1. Синтез 3-(7-хінолін)-7-оксихромону і його 7-O- $\alpha$ -D-тетра-O-ацетилглюкопіранозиду. В.П. Хиля, В.Г. Пивоваренко, О.С. Огороднійчук, Ф.С. Бабичев. \ Доп. АН УРСР, сер. Б, 1985, N 3, с. 58-61.
2. Глікозиди 3-(2-піридил)-7-оксихромонів и  $\alpha$ -(2-піридил)-2,4-діоксиацетофенону В.П. Хиля, Ф.С. Бабичев, В.Г. Пивоваренко, А.С. Огороднійчук, В.Н. Ковалев, А.П. Коваль. \ Укр.хим.журн., 1987, т. 53, N 3, с. 315-319.
3. Глікозиды 3-(2-хинолин)-7-оксихромонів и  $\alpha$ -(2-хинолин)-2,4-діоксиацетофенону В.П. Хиля, Ф.С. Бабичев, В.Г. Пивоваренко, А.С. Огороднійчук, А.П. Коваль, С.И. Тюхтенко. \ Укр.хим.журн., 1987, т. 53, N 4, с. 404-409.

4. Огороднийчук А.С., Савченко В.И., Эльварт Л.П., Романова В.П., Шилин В.В. Синтез С<sub>3</sub>-С<sub>8</sub> фрагмента MeVmf циклоспорина А. В кн.: VII Всесоюзный симпозиум по химии белков и пептидов. Тезисы докладов. - Таллин, 1987, с. 221-222.
5. Романова В.П., Огороднийчук А.С., Шилин В.В. Синтез фрагмента 8-11 циклоспорина А<sub>4</sub>. - В кн.: VII Всесоюзный симпозиум по химии белков и пептидов. Тезисы докладов. - Таллин, 1987, с. 231.
6. А.с. N 1547276 СССР МКИ<sup>5</sup> С 07 D 407/04. Галогенидаты 3-арил-7-О-аминоацилхромоны, обладающие сахароснижающей и противовоспалительной активностью. \ Хия В.П., Ковалев В.Н., Седова А.Б., Шилин В.В., Огороднийчук А.С., Сытник А.Г., Черкасова Л.Н., 1989 г.
7. Огороднийчук А.С., Дыбенко А.Г., Романова В.П., Шилин В.В. Синтез (2S, 3R, 4R, 6E)-3-гидрокси-4-метил-2-метиламино-6-октенной кислоты. \ Укр. хим. журн., 1990, т. 5, N 11, с. 1203-1205.
8. Structural analysis of synthetic structural analogues of glycoamines (GA): contribution into elucidation of the structure and biogenesis of natural aminoglucoconjugates (AGG). / G.V. Glnsky, A.S. Ogorodnichuk, V.V. Shilin, M.D. Linetsky, V.V. Livetson, M.V. Sidorenko, N.I. Surmilo, V.P. Kukhar. \ Tumor Marker Oncology, 1990, N 3, p. 250.
9. Огороднийчук А.С., Шилин В.В., Хия В.П., Ковалев В.Н. Синтез и изучение фармакологических свойств пептидил- и аминокетилизофлавонов. В кн.: Всесоюзный симпозиум по химии пептидов. Тезисы докладов. - Рига, 1990, с. 101.
10. А.с. N 1626633 СССР МКИ<sup>5</sup> С 07 D 311/22. Бромгидрат 7-О-(6-аминогексанонокси)-4-метоксизофлавоны, обладающей гипогликемической и диуретической активностью / Хия В.П., Ковалев В.Н., Шилин В.В., Огороднийчук А.С., Сытник А.Г. 1991 г.
11. Синтез и свойства 3-фторфенокси-7-О-аминоацилхромонов. Огороднийчук А.С., Васильев С.А., Лехан И.Н., Хия В.П., Шилин В.В. \ Биоорганическая химия. - 1991, Т. 17, N 7, с. 1005-1007.
12. Аминоацильные производные бензимидазольных аналогов изофлавонов. Горбуленко Н.В., Гайдук О.Н., Хия В.П., Огороднийчук А.С., Шилин В.В. \ Докл. АН УССР, сер. Б, 1991, N 9, с. 149-153.
13. Синтез С<sub>3</sub>-С<sub>8</sub>-фрагмента (2S, 3R, 4R, 6E)-3-гидрокси-4-метил-2-метиламино-6-октенной кислоты. Огороднийчук А.С., Дыбенко А.Г., Эльварт Л.П., Осташевская Т.Н., Шилин В.В. \ Укр.хим.журн., 1991, т. 57, N 1, с. 85-89.
14. Хия В.П., Ковалев В.Н., Васильев С.А., Огороднийчук А.С., Лехан И.Н., Лукьянчиков М.С. Поиск в ряду аминокетильных производных 3-феноксихромонов препаратов, обладающих комплексом полезных свойств. В кн.: Реализация научных достижений в практической фармации. Тезисы докладов. - Харьков, 1991, с. 143-144.
15. А.с. СССР положит. решение по заявке N 4862785/04 Бромгидрат 7-О-L-( $\alpha$ -фенилаланил)окси-4'-фторизофлавоны, обладающий гиполипидемической активностью. Хия В.П., Шилин В.В., Огороднийчук А.С., Васильев С.А., Лукьянчиков М.С., Василенко Ю.К. (1991).

*Органи-*

459308

ЛИБ ім. В. Стефаника  
АН України

Ав 29.049

---

Підл. до друку 22.12.93 . Формат 60x84/16. Папір друк. Офс. друк.  
Ум. друк. арк. 116 . Ум. фарб.-відб. 116 . Сбл.-вид. арк. 09  
Тираж 100 пр. Зам. 466 Безкоштовно.

---

Віддруковано в Інституті математики АН України  
252661 Київ 4, ГСП, вул. Терещенківська, 5