



005003587

На правах рукописи

Уразаева Яна Рустэмовна

**СИНТЕЗ АНАЛОГОВ ЭКДИСТЕРОИДОВ И БРАССИНОСТЕРОИДОВ
НА ОСНОВЕ ТРАНСФОРМАЦИЙ 20-ГИДРОКСИЭКДИЗОНА**

02.00.03 – Органическая химия

24 НОЯ 2011

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук**

Уфа – 2011

Работа выполнена в Учреждении Российской академии наук
Институте нефтехимии и катализа РАН

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Одинокое Виктор Николаевич

Официальные оппоненты: доктор химических наук, профессор
Валеев Фарид Абдуллович

доктор химических наук, профессор
Зайнуллин Радик Анварович

Ведущая организация: **Учреждение Российской академии наук
Новосибирский институт органической
химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН**

Защита диссертации состоится 14 декабря 2011 года в 14⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 002.062.01 при Учреждении Российской академии наук Институте нефтехимии и катализа РАН по адресу: 450075, Уфа, проспект Октября, 141. Тел./факс: +7(347) 2842750; e-mail: ink@anrb.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Учреждения Российской академии наук Института нефтехимии и катализа РАН, с авторефератом – на Интернет-сайте <http://ink.anrb.ru>

Автореферат разослан 10 ноября 2011 года

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор химических наук



Шарипов Г.Л.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Экдистероиды – гормоны линьки и метаморфоза насекомых и ракообразных представляют собой обширную группу полигидроксилированных стероидов. К настоящему времени выделено и идентифицировано более 300 зоо- и фитоэкдистероидов. Известно, что экдистероиды обладают комплексом ценных свойств, полезных для медицины и сельского хозяйства. Установлено, что они нетоксичны для млекопитающих и человека и оказывают иммуномодулирующий, анаболический и противовоспалительный эффекты. Одним из наиболее широко изученных и доступных фитоэкдистероидов является 20-гидроксиэкдизон – основной компонент экдистероидного состава растения *Serratula coronata*. Помимо основного в растениях присутствуют минорные экдистероиды, которые, как полагают, обеспечивают защиту растения от насекомых-фитофагов. Уникальность структуры 20-гидроксиэкдизона обуславливает возможность трансформаций его в минорные и труднодоступные экдистероиды или аналоги с новыми свойствами, в том числе структурно родственные экдистероидам brassinостероиды – регуляторы роста и развития растений, выделение которых из природных источников неперспективно ввиду крайне низких концентраций brassинолидов в растениях.

Известно, что многие полезные для медицины свойства экдистероидов обусловлены их антиоксидантным действием, которое может быть усилено конъюгацией с природными антиоксидантами или их аналогами.

В этой связи разработка эффективных методов синтеза минорных экдистероидов, аналогов экдистероидов и brassиностероидов, а также конъюгатов экдистероидов с производными α -токоферола является актуальной задачей.

Работа выполнялась как плановая в Институте нефтехимии и катализа РАН по теме: «Химия экдистероидов и хроманолов: синтез и трансформации» (номер государственной регистрации 01.200.204384), «Химия стероидов, токоферолов и природных полисахаридов» (номер государственной регистрации 0120.0 850046), частично финансировалась Фондом содействия отечественной науке, грантом Президента РФ по государственной поддержке ведущих научных школ (НШ-6079.2008.3) и Академией наук Республики Башкортостан.

Цель и задачи исследования. Цель работы состояла в разработке путей синтеза аналогов экдистероидов и brassinosterоидов на основе направленных трансформаций 20-гидроксиэкдизона – основного компонента растения *Serratula coronata* L., а также синтезе конъюгатов производных 20-гидроксиэкдизона с аналогом α -токоферола. Для достижения поставленной цели решались задачи по разработке методов преобразования стероидного остова и боковой цепи 20-гидроксиэкдизона, приближающих его структуру к структуре brassinosterоида кастастерона, и разработке способа конъюгации экдистероидов с аналогом α -токоферола (витамина E).

Научная новизна. Разработан новый эффективный метод гидрирования малореакционноспособной двойной связи в кольце В экдистероидов над палладиевым катализатором в метаноле, содержащем метилат натрия, позволивший с высоким выходом в мягких условиях синтезировать труднодоступные 7,8-дигидроаналоги экдистероидов. Синтезированы 7,8 α -дигидро-20-гидроксиэкдизон и 7,8 α -дигидропонастерон А и их производные. Показано, что этот метод столь же эффективен при гидрировании 7,14-сопряженных диеновых экдистероидов. Диацетонид стахистерона В с высоким выходом был превращен в соответствующее 7,8 α ,14 α ,15-тетрагидропроизводное – диацетонид 7,8 α -дигидро-14 α -дезоксидеокси-20-гидроксиэкдизона. Полученный из диацетонида 20-гидроксиэкдизона дегидратацией по 14 α - и 25-гидроксильным группам диацетонид ω -ангидростахистерона В в одну стадию был превращен в диацетонид 7,8 α -дигидро-14 α -дезоксипонастерон А, гидролиз которого привел к структуре, содержащей элементы понастерона А и кастастерона.

Озонолизом в присутствии пиридина диацетонидов ω -ангидро-20-гидроксиэкдизона проведена ω -оксофункционализация боковой цепи. Показано, что наиболее эффективным методом окисления полученного альдегида до соответствующей кислоты - 25,26,27-трис-*нор*-аналога экдизоновой кислоты, является озонолиз в пиридине.

Найден новый метод регио- и стереонаправленной трансформации экдистероидов и их 7,8-дигидроаналогов в 2-дегидро-3-*эпи*-экдистероиды и их 7,8-дигидропроизводные в одну стадию путем озонирования в пиридине. С помощью данного метода 20-гидроксиэкдизон был превращен в 2-дегидро-3-*эпи*-20-

гидроксиэкдизон – минорный экдистеронд, выделенный из семян растения *Froelichia floridana*, который ранее синтезировали из того же исходного соединения в 6 стадий.

Практическая значимость. Разработан эффективный и удобный препаративный метод гидрирования двойных связей в экдистероидах и 7,14-диеновых экдистероидах, использованный в синтезе аналогов экдистероидов и brassinosteroidов. Предложен одностадийный метод регио- и стереоселективного превращения экдистероидов в 2-дегидро-3-эпи-экдистероиды. Синтезирован 2-дегидро-3-эпи-20-гидроксиэкдизон – минорный экдистеронд растения *Froelichia floridana*.

Синтезированы моно- и бис- конъюгаты 20-гидроксиэкдизона и его 20,22-ацетонида с аналогом α -токоферола. В результате биологического скрининга *in vitro* и *in vivo* установлено, что бис-аддукт в сравнении с 20-гидроксиэкдизоном и витамином Е гораздо более активно ингибирует процессы перекисного окисления липидов.

Апробация работы. Основные результаты исследований представлены на V Всероссийской научной конференции «Химия и технология растительных веществ» (Уфа, 2008), 30-ом Всероссийском семинаре «Озон и другие экологически чистые окислители» (Москва, 2008), Международной конференции «Актуальные проблемы химии природных соединений» (Ташкент, 2009), VII Всероссийской конференции с молодежной научной школой «Химия и медицина, Орхимед-2009» (Уфа, 2009), Всероссийской конференции по органической химии (Москва, 2009), VII Международном симпозиуме по фенольным соединениям (Москва, 2009).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 7 статей и тезисы 7 докладов на конференциях, получен патент РФ.

Структура и объем диссертации. Работа изложена на 102 страницах компьютерного набора (формат А4) и включает введение, литературный обзор на тему «Химия и биологическая активность экдистероидов, brassinosteroidов и их аналогов», обсуждение результатов, экспериментальную часть, выводы, список литературы (129 наименований).

Автор выражает благодарность кандидату химических наук, старшему научному сотруднику Савченко Римме Гафуровне за постоянную научно-методическую помощь и активное участие в работе.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Химическими трансформациями 20-гидроксиэкдизона – одного из наиболее доступных экдистероидов ранее были получены многие малораспространенные в природе зоо- и фитозекдистероиды, а также аналоги экдистероидов с новыми видами биологической активности. Сходство структур гормонов насекомых (эксдистероидов) и фитогормонов (брасиностероидов) обуславливает возможность направленных трансформаций несоразмерно более доступных растительных экдистероидов в брасиностероиды. Проведенные нами исследования по направленным трансформациям 20-гидроксиэкдизона привели к структурам, содержащим экдистероидные и брасиностероидные фрагменты.



1. Новый метод каталитического гидрирования экдистероидов в щелочных условиях.

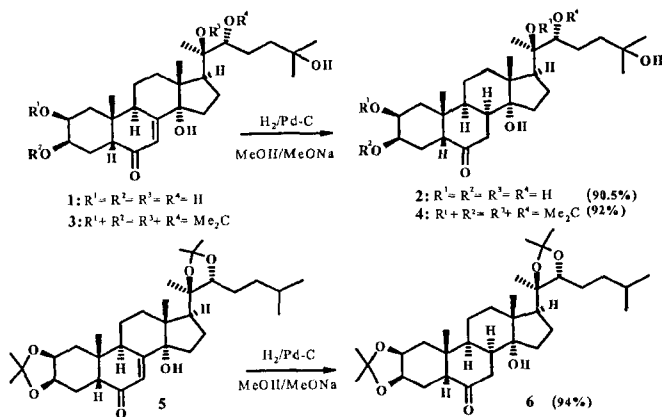
На первом этапе приближения к структуре брасиностероида кастастерона предстояло найти метод восстановления малореакционноспособной Δ^7 -связи с получением 7,8-дигидроаналогов экдистероидов. Недавно опубликованный метод гидрирования экдистероидов в присутствии нитрита натрия* не удалось воспроизвести. Однако нами было найдено, что гидрирование Δ^7 -связи в экдистероидах гладко протекает в щелочной среде на палладиевом катализаторе в метаноле в присутствии метилата натрия.

При гидрировании 20-гидроксиэкдизона **1** в присутствии 10%-ного Pd/C (MeOH/MeONa, комнатная температура, атмосферное давление, 3ч) и последующей

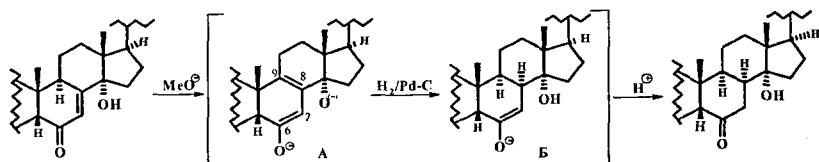
* Suksamram A., Tanachatchairatana T., Sirigam C., *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 6033.

обработке реакционной смеси хлористым аммонием образуется единственный продукт – 7,8α-дигидро-20-гидроксиэкдизон **2** (выход после колоночной хроматографии на SiO₂ превышал 90%). В тех же условиях и с высоким выходом диацетонид 20-гидроксиэкдизона **3** был превращен в 7,8α-дигидроаналог **4**, а из диацетонида понастерона А **5** получен диацетонид 7,8α-дигидропонастерона А **6** (схема 1).

Схема 1.



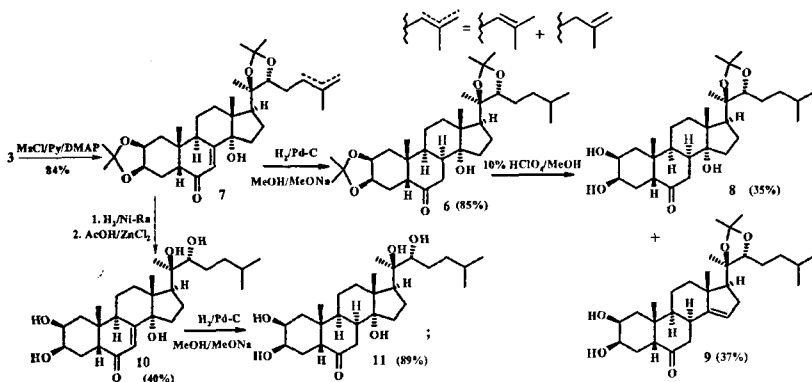
Легкость гидрирования неакционноспособной пространственно затрудненной Δ⁷-связи экистероидов в найденных нами условиях можно объяснить депротонированием исходного α,β-сопряженного кетона в щелочных условиях (при действии метилата натрия) с образованием 6(7),8(9)-диенолята А, в котором происходит гидрирование Δ⁸⁽⁹⁾-связи с образованием 8,9-дигидроенолята Б, протонирование которого приводит к целевому 7,8-дигидроаналогу.



Диацетонид **6** был получен также гидрированием диацетонида ω-дегидропонастерона А **7** – продукта дегидратации диацетонида 20-гидроксиэкдизона **3**. Таким образом, в данном случае наряду с двойной связью сопряженного 7-ен-6-она происходит гидрирование также двойных связей в боковой цепи (схема 2).

С целью синтеза 7,8α-дигидропонастерона А 11 диацетонид 6 был подвергнут гидролизу. Однако удалось деблокировать только 2,3-дигидроксильные группы, при этом дополнительно происходила дегидратация по 14α-гидроксильной группе. В итоге, были выделены 20,22-ацетонид 7,8α-дигидропонастерона А 8 и его 14,15-ангидропроизводное 9. 7,8α-Дигидропонастерон А 11 был получен в 3 стадии путем гидрирования над Ni-Ra соединения 7 с последующим деблокированием вицинальных гидроксильных групп и каталитическим гидрированием понастерона А 10 над Pd-C в щелочном метаноле (схема 2).

Схема 2.



Структура полученных 7,8-дигидроаналогов 4 и 6 подтверждена 1D- и 2D-спектрами ЯМР ^1H и ^{13}C . Ядерный эффект Оверхаузера, наблюдаемый в экспериментах ROESY между протонами β -ориентированной группы H_3C^{19} и H^5 соединений 4 и 6, свидетельствует о *cis*-сочленении колец А и В, то есть о β -конфигурации протона при атоме C^5 . Ядерный эффект Оверхаузера между протонами H^8 и $\alpha\text{-НОС}^{14}$ (ROESY) подтверждает α -конфигурацию протона при атоме C^8 . Для диацетонида 4 был выполнен рентгеноструктурный анализ (рис.1), однозначно подтвердивший конфигурацию всех хиральных центров и показавший, что при гидрировании в щелочных условиях не происходит инверсии склонного к эпимеризации протона при атоме C^5 , то есть сохраняется *cis*-сочленение колец А и В в молекуле, а протон при вновь образующемся хиральном центре C^8 имеет α -конфигурацию.

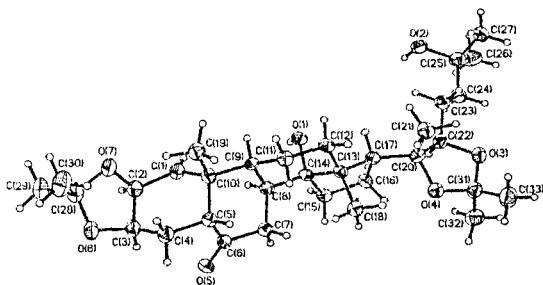
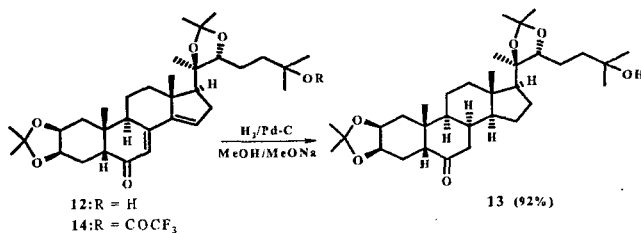


Рис.1. Структура молекулы 2,3:20,22-диацетонида 7,8 α -дигидро-20-гидроксизекдизона (4) в кристалле.

Разработанный метод гидрирования эффективен также для 7,14-диеновых экидистероидов. Гидрированием диацетонида стахистерона В 12 (синтезирован ранее дегидратацией диацетонида 3 под действием трифторуксусного ангидрида через промежуточный 25-трифторацетат 14^{*}) получен 7,8 α -дигидростахистерон В 13 (выход 92%). Оказалось, что гидрирование трифторацетата 14 также приводит к соединению 13, то есть в процессе гидрирования происходит гидролиз трифторацетильной группы (схема 3).

Схема 3.

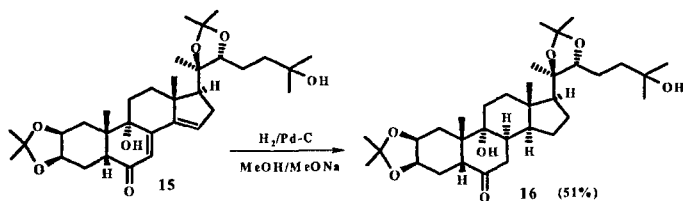


Без осложнений прошло гидрирование диацетонида 9 α -гидрокситахистерона В 15 – продукта перегруппировки диацетонида 9 α ,14 α -эпокси-14 α -дезоксидеокси-20-гидроксизекдизона^{*}. При конверсии 44% с выходом 51% получен диацетонид 14 α -дезоксидеокси-7,8 α -дигидро-9 α ,20-дигидроксизекдизона 16 (схема 4).

* Одиноков В.Н., Галаютдинов И.В., Недопекин Д.В., Халилов Л.М. // *Известия АН. Сер. хим.*, 2003, №1, 220.

* Одиноков В.Н., Галаютдинов И.В., Велькина Н.А., Халилов Л.М., Долгушин Ф.Н., Старикова З.А. // *Химия гетероцикл. соед.*, 2008, №9, 1339.

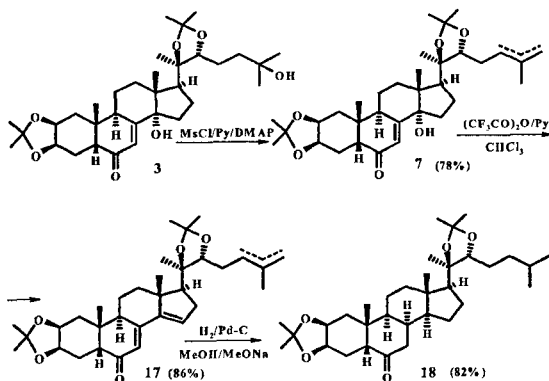
Схема 4.



О превращении 7,14-диенов **12** и **15** в соответствующие тетрагидроаналоги **13** и **16** свидетельствует отсутствие в их спектрах ЯМР ^{13}C сигналов sp^2 гибридованных атомов углерода (область δ 120-160 м.д.), а также винильных атомов водорода в спектрах ЯМР ^1H (область δ ~6 м.д.) и смещение сигнала кетогруппы (атома C^6) в слабое поле ($\Delta\delta$ ~9 м.д.).

Полученный последовательной дегидратацией диацетонида 20-гидроксиэкдизона **3** сначала по 25-гидроксильной группе (реагент MsCl/Py-DMAP), а затем по 14 α -гидроксильной группе (обработка образовавшегося Δ 24/25-дегидропонастерона **7** трифторуксусным ангидридом в хлороформе в присутствии пиридина) диацетонид ω -ангидростахистерона **В 17** был успешно (гидрированием в одну стадию) превращен в диацетонид 7,8 α -дигидро-14 α -дезоксипонастерон **А 18** (схема 5).

Схема 5.



Для соединения **18** был сделан рентгеноструктурный анализ (рис.2), однозначно подтвердивший конфигурацию вновь образовавшихся C^8 и C^{14} хиральных

центров, протоны при которых занимают α -положение. Установлено также, что β -конфигурация протона при атоме C^5 сохраняется (*цис*-сочленение колец А и В).

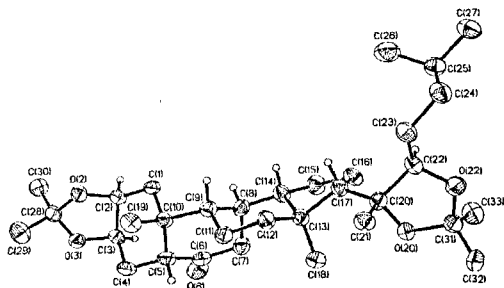
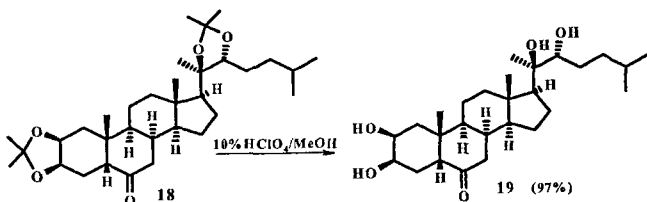


Рис.2. Структура молекулы 2,3:20,22-диацетонида-7,8 α -дигидро-14 α -дезоксиде-20-гидроксиэктизона (**18**) в кристалле.

Гидролиз диацетонида **18** привел к соединению **19** (схема 6), в структуре которого присутствуют элементы, свойственные как эктистероидам (понастерону А), так и brassinостероидам (кастастерону).

Схема 6.



Таким образом, каталитическим гидрированием в щелочных условиях ди- и триеновых эктистероидов синтезированы 7,8 α -дигидро-14 α -дезоксидеэктистероиды, которые можно рассматривать также как аналоги brassinостероида кастастерона

2. ω -Функционализация боковой цепи 20-гидроксиэктизона.

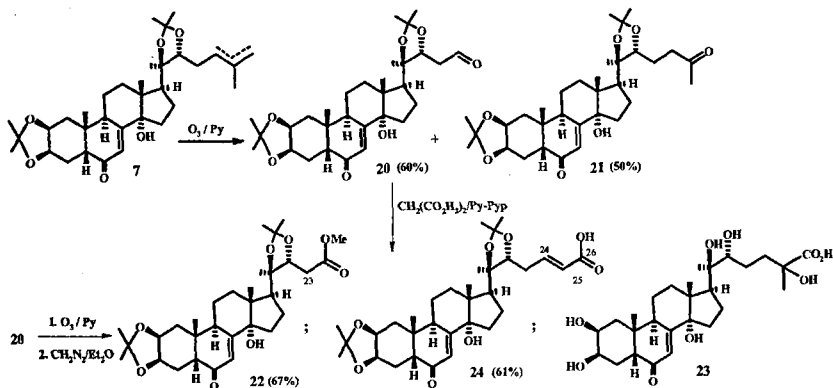
Использованная в синтезе понастерона А и его 7,8 α -дигидропроизводных смесь диацетонидов 24(25)- и 25(26)-дегидропонастерона А **7** была подвергнута ω -функционализации путем озонлиза. При проведении озонлиза смеси **7** в пиридине образующиеся перекисные соединения разлагаются в процессе озонирования, что

позволяет избежать стадии восстановительного разложения пероксидов. Наряду с упрощением процесса повышаются выходы альдегида **20** и кетона **21** до 60 и 50% соответственно (против достигаемых ранее* 45 и 22 %).

Окислением альдегида **20** путем озонирования в пиридине с последующей обработкой реакционной смеси эфирным раствором диазометана был получен диацетонид **23**-метоксикарбонил-25,26,27-трис-*нор*-20-гидроксиэкдизона **22** – аналог 20-гидроксиэкдизоновой кислоты **23**, выделенной из личинок насекомого *Spodoptera littoralis*.

При взаимодействии смеси карбонильных соединений **20** и **21** с малоновой кислотой в присутствии смеси пиридина и пиперидина (реакция Кневенагеля) избирательно вступает в реакцию только альдегид **20**. В результате синтезирован диацетонид **24**-карбоксиметилен-25,26,27-трис-*нор*-20-гидроксиэкдизона **24** (схема 7).

Схема 7.



В спектре ЯМР ^{13}C сигналы карбонила групп CO_2Me (соединение **22**) и CO_2H (соединение **24**) наблюдаются при δ 171.6 и 176.0 м.д. соответственно. Сигналы атомов углерода двойной связи, сопряженной с карбоксильной группой, в спектре ЯМР ^{13}C соединения **24** выходят в области 146.7 (C^{24}) и 129.0 м.д. (C^{25}), которые в спектре HSQC имеют кросс-пики с протонами HC^{24} (6.94 м.д.) и HC^{25} (5.91 м.д.).

* Одиноков В.Н., Назмеева С.Р., Савченко Р.Г., Галаяугдинов И.В., Халилов Л.М. // ЖОРХ, 2002, 38, 550.

Таким образом, с применением на двух стадиях метода озонирования в пиридине синтезирован структурный аналог 20-гидроксиэкдизоновой кислоты. На примере конденсации Кневенагеля показана возможность избирательного вовлечения в реакцию из смеси альдегида и кетона более реакционноспособного альдегида.

3. Регно- и стереонаправленные трансформации кольца А 20-гидроксиэкдизона и его производных при озонировании в пиридине.

В brassinостероидах 2- и 3-гидроксильные группы кольца А являются α -ориентированными, тогда как в экдистероидах эти группы имеют β -конфигурацию.

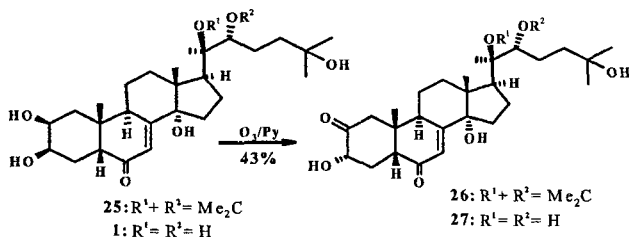
Возможным путем эимеризации 2- и 3-гидроксильных групп может служить их окисление до кето-групп с последующим стереоселективным восстановлением до 2 α ,3 α -гидроксильных групп. Однако окисление экдистероидов по гидроксильным группам кольца А протекает не селективно. Так, при окислении 20-гидроксиэкдизона периодатом натрия и соединениями шестивалентного хрома основным направлением реакции является расщепление связи C²⁰-C²² с образованием постстерона (это может быть использовано для построения боковой цепи brassinостероидов).

Нами была исследована возможность трансформации кольца А экдистероидов в реакции озонирования. Хорошо известно, что стерически затрудненная Δ^7 -связь в экдистероидах инертна к озону. С другой стороны, вторичные спиртовые группы, присутствующие в экдистероидах, могут присоединять молекулу озона по связи С-Н с образованием α -гидроксигидротриоксида, который неустойчив и разлагается с образованием соответствующего кетона.

При озонировании экдистероидов в различных растворителях (CH₂Cl₂, EtOAc, EtOH, AcOH) было выявлено, что только при озонировании в пиридине при комнатной температуре с выходом ~43% и при 50% конверсии исходного соединения образуется требуемое 2-дегидро-3-эпи-производное. Таким образом, озонированием 20,22-ацетонида 20-гидроксиэкдизона **25** получен 20,22-ацетонид 2-дегидро-3-эпи-20-гидроксиэкдизона **26** (схема 8). Весьма знаменательно, что озонирование в найденных условиях 20-гидроксиэкдизона **1**, содержащего дополнительную вторичную группу (в боковой цепи), также селективно приводит к 2-дегидро-3-эпи-20-

гидроксизекдизону **27** – минорному экидстероиду, выделенному из семян растения *Froelichia floridana*. Ранее* этот экидстероид был синтезирован путем шести стадийных трансформаций 20-гидроксизекдизона с общим выходом 7%.

Схема 8.



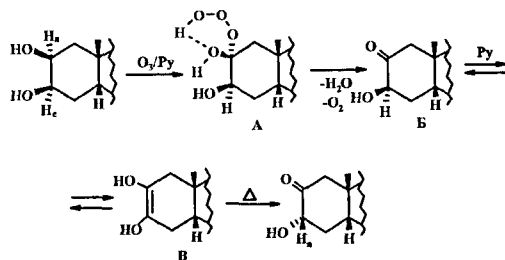
Структура соединения **27** установлена 1D и 2D ЯМР 1H и ^{13}C экспериментами. Типичный для экидстероидов Δ^7 -6-кетофрагмент остается неизменным в условиях реакции, что подтверждается наличием сигналов атомов углерода в области 203.3, 167.1 и 122.1 м.д. в спектре ЯМР ^{13}C . Присутствие дополнительного сигнала в области, характерной для карбонильных углеродов (210.9 м.д.), свидетельствует о трансформации одной из vicinalных гидроксильных групп кольца А в кетон. Взаимодействие двух дублетов геминальных протонов (δ 2.38 и δ 2.57 м.д., 2J 13.8 Гц) с одним и тем же сигналом карбонильной группы (δ 210.9 м.д.) в спектре НМВС свидетельствует о том, что данные сигналы относятся к группам H_2C^1 и OC^2 соответственно. В свою очередь, образование 2-кетона приводит к смещению сигнала атома C^3 и протона при нем в более слабое поле ($\Delta\delta_C$ 7.4, $\Delta\delta_H$ 0.4 м.д.). Большая КССВ (J 11.9 Гц) в дублете протона HC^3 , отвечающая взаимодействию с аксиальным протоном группы H_2C^4 , свидетельствует об аксиальной ориентации β -протона при атоме C^3 . Соответственно, гидроксильная группа у атома C^3 является α -ориентированной. Протон атома C^5 не меняет в условиях реакции своей β -ориентации. Его аксиальному положению в кольце А отвечает КССВ 14.6 Гц с аксиальным протоном группы H_2C^4 .

Избирательность окисления экидстероидов при озонировании в растворе пиридина, вероятно, обусловлена образованием комплекса пиридина с озоном, менее

* Charoensuk S., Yingyongnarongkul B., Suksamran A. // *Tetrahedron*, 2000, 56, 9313.

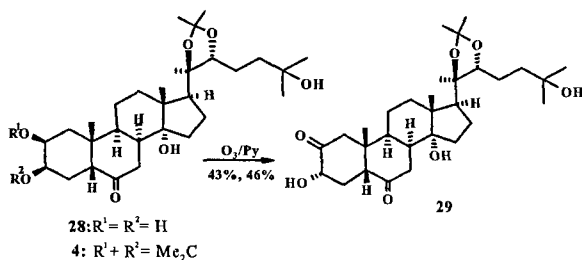
реакционноспособного по сравнению с самим озоном. Однако, поскольку такого рода комплексы не стабильны, реакция в пиридине, предварительно насыщенном озоном, не протекала. Предпочтительность реакции по гидроксильной группе при атоме C^2 обуславливается, по-видимому, атакой на пространственно более доступную аксиальную связь $H-C^2$ с образованием стабилизированного внутримолекулярной водородной связью α -гидроксигидротриоксида **A**. При его разложении образуется 2-оксопроизводное **B**, которое в среде пиридина эимеризуется по соседнему с кетогруппой атому C^3 (через ендюл **B**) с образованием, очевидно, более устойчивого 2-оксо-3 α -гидроксипроизводного, гидроксильная группа при атоме C^3 которого экваториальна (схема 9).

Схема 9.



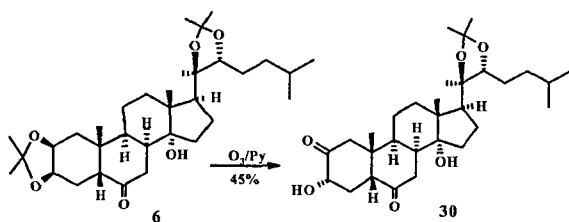
С целью расширения применения стереоизбирательного окисления озоном в пиридине вторичных гидроксильных групп в кольце А экидстероидов была исследована возможность этой реакции с 7,8-дигидроаналогами экидстероидов. Озонирование в пиридине 20,22-ацетонида 7,8 α -дигидроаналога 20-гидроксизэкдизона **28** протекает аналогично негидрированному соединению **25** и приводит с выходом 43% при конверсии 50% к 20,22-ацетониду 2-дегидро-3-эпи-7,8 α -дигидро-20-гидроксизэкдизона **29** (схема 10). В отличие от 2,3:20,22-диацетонида 20-гидроксизэкдизона **3**, не вступающего в исследуемую реакцию, его 7,8 α -дигидроаналог **4** при озонировании в пиридине (аналогично моноацетониду **28**) с выходом 46% превращается в соединение **29** (схема 10). Как видно, в диацетониде 7,8 α -дигидроаналога **4** связь $H-C^2$ в 2,3-изопропилидендиоксидном цикле более доступна для атаки озоном по сравнению с диацетонидом 20-гидроксизэкдизона **3**.

Схема 10.



Озонирование 2,3:20,22-диацетонида 7,8 α -дигидропонастерона А 6 (как и диацетонида 4) с выходом 45% приводит к 20,22-ацетониду 2-дегидро-3-эпи-7,8 α -дигидропонастерона А 30 (схема 11). Изменения спектральных характеристик соединений 29 и 30 по отношению к исходным соединениям 4 и 6 аналогичны ранее приведенным для других 2-дегидро-3-эпи-производных.

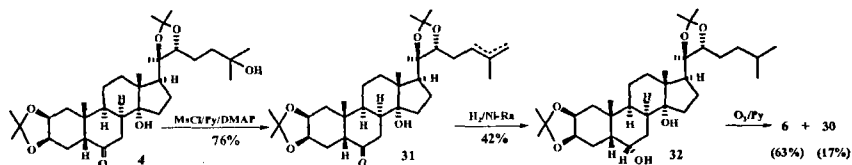
Схема 11.



Озонированием в пиридине диацетонида 6 α -гидрокси-25-дезоксидигидропроизводного 32 получена смесь (3.7:1) диацетонида 6 и ацетонида 30 (схема 12). Очевидно, в первую очередь происходит окисление 6-гидроксигруппы, после чего образовавшийся кетон 6 превращается в 2-дегидро-3-эпи-производное 30. Соединения 6 и 30 были разделены с помощью колоночной хроматографии.

Соединение 32 было получено гидрированием над никелем Ренея диацетонида ω -дегидропонастерона А 31, который в свою очередь, был получен ω -дегидратацией диацетонида 7,8 α -дигидро-20-гидроксиэкдизона 4 (схема 12).

Схема 12.



Таким образом, разработанная методология озонирования в пиридине является общей для регио- и стереонаправленной трансформации вторичных гидроксильных групп кольца А в экдистероидах и их производных в 2-дегидро-3-эпи-екдистероиды. Данный метод озонолитического окисления эффективен также для окисления 6-гидроксильной группы.

4. Конъюгаты 20-гидроксиэкдизона и его производных с ω -оксо-2С-аналогом α -токоферола и их биологическая (антиоксидантная) активность.

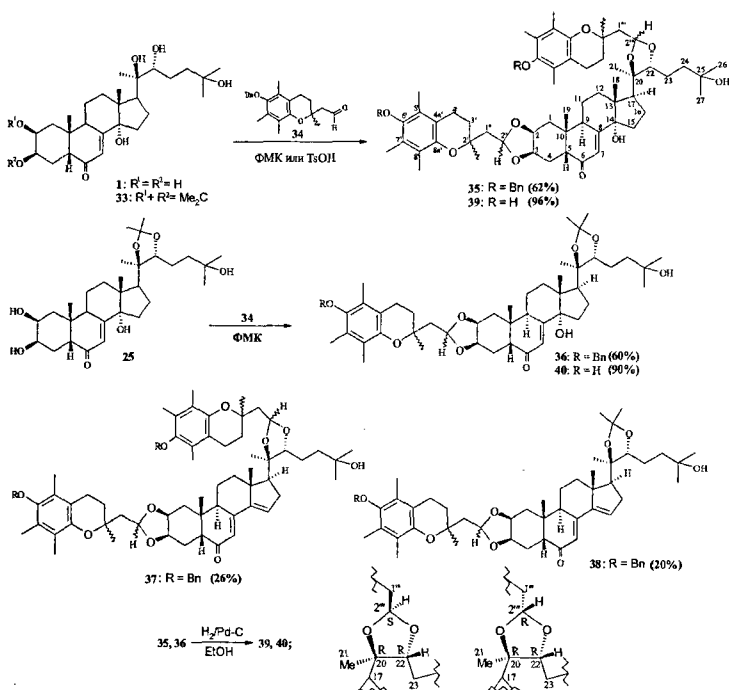
Исследование медико-биологических свойств экдистероидов, оказавшихся нетоксичными для теплокровных животных и человека, выявили разнообразные полезные физиологические свойства. Экдистероиды регулируют минеральный, углеводный, липидный и белковый обмен, нормализуют уровень сахара и холестерина, стимулируют кроветворную функцию, оказывают иммуномодулирующее действие. В определенной мере столь разнообразная физиологическая активность экдистероидов обусловлена антиоксидантными свойствами, поскольку многие заболевания связаны с окислительным стрессом организма.

Для усиления фармакологического эффекта экдистероидов перспективным является их конъюгация с природными фенольными антиоксидантами – α -токоферолом и его аналогами. Нами исследовано взаимодействие 20-гидроксиэкдизона 1, его 2,3- 33 и 20,22-ацетонидов 25 с (6-бензилокси-2,5,7,8-тетрамethylxроман-2-ил)ацетальдегидом 34 – (ω -оксо-2С-аналогом α -токоферола) с целью синтеза соответствующих конъюгатов (схема 13).

При взаимодействии экдистероида 1 с 2-кратным мольным избытком альдегида 34, катализируемом фосфорномолибденовой кислотой (ФМК), получен с выходом 62% бисаддукт 35. Реакция ускоряется при использовании в качестве катализатора

TsOH, однако выход бисацетала **35** не изменяется. Реакция 2,3-ацетонида **20**-гидроксиэкизона **33** с эквимолярным количеством хроманилэтаноля **34** в присутствии TsOH или ФМК также приводит к бисаддукту **35**, но его выход составил 35%. В тех же условиях из **20,22**-ацетонида **25** был получен с выходом 60% 2,3-моноаддукт **36**. По-видимому, образование бисаддукта **35** из 2,3-ацетонида обусловлено известной лабильностью последнего в кислотной среде.

Схема 13.



Наряду с конъюгатами **35** и **36** выделены их 14,15-ангидропроизводные **37** и **38** с выходами 26 и 20% соответственно, которые можно рассматривать как соответствующие конъюгаты стахистерона В. 6-Дебензилирование конъюгатов **35** и **36** гладко протекает при гидрировании в растворе этанола в присутствии катализатора Pd-C и приводит к соответствующим соединениям **39** и **40** со свободной фенольной группой. Для бисаддукта **39** был снят масс-спектр MALDI TOF и зарегистрирован ион $[M+H]^+$.

В спектрах ЯМР ^1H и ^{13}C полученных гибридных соединений присутствуют сигналы всех атомов водорода и углерода экистероидного и хроманильного фрагментов молекул.

В спектре ЯМР ^{13}C моноаддукта **36** в области, характерной для ацетальных атомов углерода, присутствуют сигналы четвертичного (δ 106.97 м.д.) и третичного (δ 101.97 м.д.) атомов углерода 20,22-О-изопропилидендиокси- и 2,3-О-этилидендиоксигрупп соответственно. В спектре ЯМР ^{13}C бисаддукта **35** наблюдаются 3 сигнала О-этилидендиоксигрупп в области δ 101.99, 101.41 и 101.63 м.д. с соотношением интенсивностей 2:1:1. Очевидно, два последних из них относятся к 20,22-О-(6-бензилокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-ил)этилидендиокси- фрагменту.

При образовании 1,3-диоксоланов – циклических 2,3- и 20,22-ацеталей в соединении **35** появляются два новых асимметрических атома $\text{C}^{2''}$ и $\text{C}^{2'''}$. Из них в спектре ЯМР ^{13}C только сигнал атома $\text{C}^{2'''}$ удваивается в результате образования (*S,R,R*)- и (*R,R,R*)-диастереомерных 1,3-диоксоланов. Очевидно, наблюдаемое удвоение сигнала $\text{C}^{2'''}$ происходит вследствие влияния сильно различающихся заместителей при атомах C^{20} и C^{22} в 1,3-диоксолановом цикле 20,22-ацетала. В то же время в 2,3-ацетале заместители при атомах C^2 и C^3 1,3-диоксоланового цикла мало отличаются друг от друга, и сигнал хирального ацетального атома $\text{C}^{2''}$ выходит одним пиком. Сигналы протонов при ацетальных атомах $\text{C}^{2''}$ и $\text{C}^{2'''}$ в спектрах ЯМР ^1H бисаддукта **36** представляют собой уширенные синглеты ($w_{1/2}$ 13 Гц) в области δ 5.18 (20,22-ацеталь) и 5.24 м.д. (2,3-ацеталь).

В спектрах ЯМР ^{13}C соединений **37** и **38** [вместо сигналов δ ~31 (C^{15}) и ~85 м.д. (C^{14}) в спектрах аддуктов **35** и **36**] обнаруживаются сигналы sp^2 -гибридизованных атомов углерода при δ ~123 (C^{14}) и ~149 м.д. (C^{15}), а в спектрах ЯМР ^1H этих соединений дополнительно к сигналам в области δ ~6.1 м.д. (HC^7) появляются сигналы δ ~6.0 м.д. (HC^{15}). Эти данные свидетельствуют об образовании связи $\Delta^{14(15)}$ в соединениях **37** и **38** – конъюгатах стахистерона В.

Таким образом, впервые синтезированы конъюгаты экистероидов с аналогом α -токоферола по его карбонильной группе.

Антиоксидантная активность 20-гидроксиэкидизона **1**, его моно- **40** и бис-**39**-конъюгатов исследована (Башкирский Государственный Университет) на примере

модельной реакции инициированного окисления 1,4-диоксана при 348 К и концентрации ингибирующих добавок $4 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Для сравнения в аналогичных условиях изучены антиокислительные свойства α -токоферола и его аналогов (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-ил)этанола и 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (тролокс). В результате проведенных кинетических исследований найдено, что значения эффективных констант скорости ингибирования инициированного окисления 1,4-диоксана для соединений **1**, **40**, **39**, α -токоферола, 6-бензилокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-илэтанола и тролоксом находятся в соотношении 0.04: 1.6: 1.1: 0.4: 1.3: 4.0, соответственно.

Таким образом, эффективность ингибирования окисления 1,4-диоксана моно-**40** и бисаддуктами **39** выше таковой для α -токоферола, но уступает тролоксу.

В Институте химии растительных веществ АН Узбекистана (г. Ташкент) проведен биологический скрининг *in vitro* и *in vivo* на печени мышей антиоксидантных свойств синтезированных конъюгатов. Установлено, что бис-аддукт **39** в сравнении с 20-гидроксиэкдизоном и коммерческим витамином Е гораздо более активно ингибирует процессы перекисного окисления липидов. Кроме того, отмечено выраженное повышение по сравнению с 20-гидроксиэкдизоном и витамином Е активности ферментов каталазы и супероксиддисмутазы, определяющих состояние антиоксидантной защиты организма.

ВЫВОДЫ

1. Разработан эффективный и селективный метод гидрирования двойных связей в экдистероидах и 7,14-диеновых экдистероидах в щелочных условиях (MeONa/MeOH) над палладиевым катализатором (10% Pd-C).
2. Путем дегидратации по 14 α - и 25-гидроксильным группам диацетонида 20-гидроксиэкдизона и последующих стадий каталитического гидрирования в щелочных условиях и деблокирования гидроксильных групп синтезирован 7,8 α -дигидро-14 α -дезоксипонастерон А, содержащий структурные элементы экдистероида и брасиностероида.
3. Озонлизом в пиридине диацетонида ω -ангидро-20-гидроксиэкдизона проведена ω -функционализация боковой цепи. Окислением выделенного альдегида с помощью

озона в пиридине получена соответствующая кислота - трис-*нор*-аналог 20-гидроксиэктодионовой кислоты. Показано, что при взаимодействии смеси ω -оксопроизводных с малоновой кислотой (реакция Кневенагеля) в реакцию вступает только альдегидная компонента.

4. Разработан метод регио- и стереонаправленной трансформации эктистероидов и 7,8-дигидроэктистероидов по кольцу А, приводящей к 2-дегидро-3-эпи-эктистероидам в одну стадию путем озонирования в растворе пиридина. Предложен одностадийный синтез 2-дегидро-3-эпи-20-гидроксиэктодизона – минорного эктистероида растения *Froelichia floridana*, ранее получаемого в 6 стадий из того же исходного соединения – 20-гидроксиэктодизона.

5. Разработан метод конъюгации эктистероидов с ω -оксо-2С-аналогом а-токоферола. Синтезированы 2,3-моно- и 2,3:20,22-бис-конъюгаты 20-гидроксиэктодизона, проявившие высокую антиоксидантную активность. Установлено, что в испытаниях *in vitro* и *in vivo* бис-конъюгат более активно (в сравнении с витамином Е) ингибирует процессы перекисного окисления липидов, а также повышает активность ферментов каталазы и супероксиддисмутазы, определяющих состояние антиоксидантной активности организма.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

1. R.G.Savchenko, Y.R. Urmanova*, R.V. Shafikov, S.R. Afon'kina, L.M. Khalilov, V.N. Odnokov. Regio- and stereodirected transformation of 20-hydroxyecdysone to 2-dehydro-3-epi-20-hydroxyecdysone under ozonization in pyridine. // *Mendeleev Commun.*, 2008, 18, № 4, 191-192.
2. Р.Г. Савченко, Я.Р. Уразаева, Р.В. Шафиков, В.Н. Одинок. Регио- и стереонаправленное окисление эктистероидов и их 7,8-дигидроаналогов озоном в пиридине. // *ЖОРХ*, 2009, 45, № 8, 1163-1166.

* Урманова Я.Р. сменила фамилию на Уразасву Я.Р.

3. Р.Г. Савченко, Я.Р. Уразаева, Р.В. Шафиков, В.Н. Одинок. Эффективный метод селективной трансформации экдистероидов в 7,8-дигидроаналоги путем каталитического гидрирования в щелочных условиях. // *ЖОрХ*, 2010, 45, № 1, 147-149.
4. В.Р. Хайруллина, Я.Р. Уразаева, Р.Г. Савченко, А.Я. Герчиков, В.Н. Одинок. Антиокислительные свойства конъюгатов производных 20-гидроксиэкдизона с полизамещенным хроманилальдегидом. // *Кинетика и катализ*, 2010, 51, № 4, 1-5.
5. Р.Г. Савченко, Я.Р. Уразаева, А.Ю. Спивак, В.Н. Одинок. Конъюгаты 20-гидроксиэкдизона, стахистерона В и их 20,22-ацетонидов с (6-бензилокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2ил)ацетальдегидом. // *ЖОрХ*, 2010, 46, № 8, 1158-1161.
6. R.G. Savchenko, Y. R. Urasaeva, I.V. Galyautdinov, S.R. Afonkina, L.M. Khalilov, F.M. Dolgushin, V.N. Odinokov. Synthesis of 7,8 α -dihydro-14 α -deoxyecdysteroids. // *Steroids*, 2011, 76, 603-606.
7. Р.Г. Савченко, Я.Р. Уразаева, С.Р. Афонькина, В.Н. Одинок. Трансформации диацетонида ω -ангидро-20-гидроксиэкдизона в 7,8 α -дигидропонастерон А и его ацетониды. // *ЖОрХ*, 2011, 47, № 7, 1078-1080.
8. Р.Г. Савченко, Я.Р. Уразаева, В.Н. Одинок. Способ получения 2-дегидро-3-эпи-20-гидроксиэкдизона, минорного экдистероида семян растений *Froelichia floridana*. // Патент РФ № 2397177, *Бюл. изобр.* № 23 (2010).
9. Я.Р. Урманова*, Р.Г. Савченко, Р.В. Шафиков, В.Н. Одинок. Превращения 20-гидроксиэкдизона и его производных под действием озона и надкислот. // Тезисы докладов, V Всероссийской научной конференции «Химия и технология растительных веществ», Уфа, 2008, с.300.
10. Р.Г. Савченко, Я.Р. Урманова*, Р.В.Шафиков, В.Н. Одинок. Озонирование 20-гидроксиэкдизона и одностадийный синтез 2-дегидро-3-эпи-20-гидроксиэкдизона – минорного фитогэкдистероида. // Тезисы докладов 30 Всероссийского семинара «Озон и другие экологически чистые окислители», Москва, 2008, с. 58-63.
11. Р.Г. Савченко, Я.Р. Уразаева, В.Н. Одинок. Озонирование как новая методология в полусинтетическом подходе к минорным экдистероидам. // Тезисы докладов Конференции «Актуальные проблемы химии природных соединений», Ташкент, Узбекистан, 2009, с. 27.

12. Я.Р. Уразаева, Р.Г. Савченко, А.Ю. Спивак, О.В. Иванова, В.Н. Одинокоев. Конъюгаты производных 20-гидроксиэкдизона с полизамещенным хроманилальдегидом – аналогом витамина Е. // Тезисы докладов VII Всероссийской конференции с молодежной научной школой «Химия и медицина, Орхимед-2009», Уфа, 2009, с.286.
13. Я.Р. Уразаева, Р.Г. Савченко, В.Н. Одинокоев. Эффективный метод селективного кагалигического гидрирования Δ^7 -связи в экдистероидах. // Тезисы докладов Всероссийской конференции по органической химии, Москва, 2009, с. 136.
14. Я.Р. Уразаева, Р.Г. Савченко, А.Ю. Спивак, В.Н. Одинокоев, В.Р. Хайруллина, А.Я. Герчиков. Синтез новых эффективных антиоксидантов на основе конъюгации 20-гидроксиэкдизона и его 20,22-ацетонида с C_2 -аналогом α -токоферола. // Тезисы докладов VII Международного симпозиума по фенольным соединениям, Москва, 2009, с. 116.
15. Я.Р. Уразаева, Р.Г. Савченко, В.Н. Одинокоев. Трансформации экдистероидов как путь синтеза природных экдистероидов. // Тезисы докладов VII Всероссийской конференции с международным участием «Химия и медицина», Уфа, 2010, с. 137.

Подписано в печать 2.11.2011. Бумага офсетная. Формат 60x84 ¹/₁₆
Гарнитура «Таймс». Печать трафаретная. Усл. печ. л. 1.
Тираж 125. Заказ 198.

Типография Уфимского государственного нефтяного технического университета

Адрес издательства и типографии:
450062, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1