

На правах рукописи



Ахмедов Алан Артурович

**СИНТЕЗ АМФИФИЛЬНЫХ МЕТА- И ПАРАЦИКЛОФАНОВ,
СОДЕРЖАЩИХ ТЕРПЕНОИДНЫЕ ФРАГМЕНТЫ**

02.00.03 – Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Казань – 2021

Работа выполнена на кафедре органической и медицинской химии Химического института им. А.М. Бутлерова федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации.

Научный руководитель:

Стойков Иван Иванович

доктор химических наук, профессор

Официальные оппоненты:

Калинин Алексей Александрович,

доктор химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории функциональных материалов ИОФХ им. А.Е. Арбузова – обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань.

Липин Константин Владимирович,

кандидат химических наук, доцент кафедры химической технологии и защиты окружающей среды Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», г. Чебоксары

Ведущая организация:

Федеральный исследовательский центр «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Сыктывкар.

Защита диссертации состоится «16» сентября 2021 года в 14 часов 00 минут на заседании диссертационного совета КФУ.02.01 при ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» по адресу: 420008, г. Казань, ул. Кремлёвская, 18, Химический институт им. А.М. Бутлерова, Бутлеровская аудитория.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке им. Н.И. Лобачевского ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет».

Электронная версия автореферата размещена на официальном сайте ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» <http://www.kpfu.ru> и на официальном сайте Высшей аттестационной комиссии при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации <https://vak.minobrnauki.gov.ru/>. Отзывы на автореферат в двух экземплярах просим отправлять по адресу: 420008, г. Казань, ул. Кремлёвская, 18, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», отдел аттестации научно-педагогических кадров.

Автореферат разослан «__» _____ 2021 г.

Учёный секретарь

диссертационного совета КФУ.02.01

к.х.н., доцент



Якимова Людмила Сергеевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Природные соединения и их аналоги всё чаще привлекают внимание исследователей. Особое место среди разнообразия природных структур занимают несколько отдельных классов соединений смешанного пути биосинтеза – меротерпеноиды. Химия меротерпеноидов интенсивно развивается в последнее десятилетие, что связано в первую очередь с уникальными свойствами этих соединений. В настоящий момент актуальной стала разработка новых синтетических подходов для функционализации терпеноидными фрагментами различных соединений с целью повышения их биологической активности и снижения токсичности. В области макроциклических соединений сочетание различных структур может быть достигнуто путем объединения фрагментов нескольких классов органических соединений в одну гибридную макроциклическую платформу. Такие макроциклические меротерпеноиды могут нести в себе свойства этих фрагментов. Остатки терпеноидов являются привлекательными фрагментами, введение которых в структуру макроциклической платформы может способствовать снижению токсичности, увеличению сродства к клеточной мембране, а также процессам самоассоциации и агрегации.

Степень разработанности темы исследования. Конструирование амфифильных меротерпеноидов является перспективным направлением в наномедицине и адресной доставке лекарственных препаратов. Однако в литературе крайне мало публикаций, касающихся создания мета- и парациклофанов, функционализированных именно природными терпеноидными фрагментами. Как правило, исследователи ограничиваются лишь функционализацией макроциклов холестерольным фрагментом. Также в литературных источниках отсутствуют публикации, связанные с созданием супрамолекулярных амфифилов, содержащих терпеноидные фрагменты. Объединение макроциклических платформ тиакаликс[4]арена или пиллар[5]арена с терпеноидными остатками при конструировании самособирающихся наноконтейнеров, которые в дальнейшем могут быть использованы для создания систем стабилизации и направленного транспорта терапевтических агентов, может способствовать решению ряда проблем, связанных с применением различных лекарственных препаратов. Представляет интерес изучение агрегации и самосборки, взаимодействия с модельными фосфолипидными мембранами амфифилов на основе глицерина (как представителей биомиметического подхода по созданию липидоподобных структур), макроциклических амфифильных меротерпеноидов на основе тиакаликс[4]аренов и супрамолекулярных амфифилов на основе пиллар[5]аренов.

Целью работы является синтез различных меротерпеноидов, содержащих фрагменты терпенолов (гераниола, миртенола, фарнезола, фитола), реализация стратегии ковалентной функционализации тиакаликс[4]арена терпеноидными фрагментами и нековалентной супрамолекулярной самосборки терпеноидных производных на основе пиридина или метилимидазола и пиллар[5]арена. Также целью работы является изучение агрегационной и мембранотропной активности полученных соединений, выявление закономерностей нековалентной самосборки полученных водорастворимых макроциклических меротерпеноидов в зависимости от строения терпенового остатка (гераниол, миртенол, фарнезол и фитол), определение размера образующихся частиц немакроциклических и макроциклических меротерпеноидов и оценка способности полученных нанокапсул оказывать влияние на фазовое состояние модельных мембран.

Для достижения поставленных целей необходимо было решить **следующие задачи**: 1) синтезировать короткоцепочечные аналоги липидов архей на основе аминоклиперидов, содержащих фрагменты гераниола; 2) синтезировать макроциклические меротерпеноиды на основе тиакаликс[4]арена в конфигурациях *конус* и *1,3-альтенат*, содержащие фрагменты гераниола, миртенола, фарнезола и фитола; 3) синтезировать меротерпеноиды на основе пиридина или метилимидазола, содержащие фрагменты гераниола, миртенола, фарнезола и фитола; 4) подобрать условия для супрамолекулярной самосборки и образования супрамолекулярных амфифилов пиллар[5]арена и меротерпеноидов на основе пиридина и

метилимидазола, содержащих фрагменты терпеновых спиртов; 5) изучить способность к самоассоциации и мембранотропную активность синтезированных немакроциклических (на основе аминоклициридов гераниола) и макроциклических меротерпеноидов (на платформе тиакаликс[4]арена); 6) изучить мембранотропную активность и способность к самоассоциации супрамолекулярных амфифильных меротерпеноидов на основе синтезированных производных пиридина или метилимидазола.

Научная новизна работы заключается в следующем: 1) впервые синтезированы новые амфифильные меротерпеноиды на основе аминоклициринов и гераниола, являющиеся структурными аналогами липидов архей; 2) впервые синтезирован ряд новых немакроциклических меротерпеноидов на основе пиридина и метилимидазола, содержащих фрагменты миртенола и фитола; 3) Впервые синтезирован ряд макроциклических меротерпеноидов на платформе тиакаликс[4]арена в конфигурациях *конус* и *1,3-альтернат*, содержащих моно-, сескви- и дитерпеновые фрагменты, как ациклические, так и бициклические; 4) впервые разработан подход к созданию супрамолекулярных амфифилов на основе комплексов включения по принципу «гость-хозяин» между немакроциклическими меротерпеноидами, содержащими пиридиновые или имидазольные фрагменты, и пиллар[5]ареном; 5) впервые подобраны условия для супрамолекулярной самосборки и образования супрамолекулярных амфифилов пиллар[5]арена и меротерпеноидов на основе пиридина и метилимидазола, содержащих фрагменты терпеновых спиртов; 6) впервые показано, что синтезированные аминоклицириды на основе гераниола встраиваются в фосфолипидный бислой везикул; после достижения соотношения вещество/липид 0.5:1 наступает насыщение везикул исследуемым веществом; 7) впервые установлено, что синтезированные макроциклические меротерпеноиды образуют в водном растворе монодисперсные системы с гидродинамическим диаметром 112-200 нм ($PDI = 0.04$); 8) впервые установлено, что супрамолекулярные амфифилы на основе немакроциклических меротерпеноидов, содержащих пиридиновые или имидазольные фрагменты, образуют в водных и водно-метанольных растворах монодисперсные агрегаты ($PDI = 0.10$); 9) впервые установлено, что пиридиновые и имидазольные производные, содержащие монотерпеноидные фрагменты (гераниол, миртенол), встраиваются в фосфолипидные везикулы, а производные, содержащие сескви- и дитерпеноидные фрагменты (фарнезол и фитол), вызывают солубилизацию везикул.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Разработан подход к синтезу ряда короткоцепочечных производных глицирина (аналогов липидов архей), содержащих геранильные (C_{10}) фрагменты. Оптимизирована методика синтеза терпенилбромацетатов на основе моно-, сескви- и дитерпенолов. Было установлено, что синтезированные аналоги липидов архей встраиваются в фосфолипидную модельную мембрану и могут выступать в качестве мембранного якоря. Продemonстрировано, что использовать в качестве самособирающихся систем синтезированные аналоги липидов архей нельзя, так как они не образуют монодисперсных систем путём самоагрегации в диапазоне концентраций от 1×10^{-3} до 1×10^{-6} М. Показано, что длина терпеноидного фрагмента у синтезированных макроциклических меротерпеноидов на платформе тиакаликс[4]арена влияет на размер образующихся частиц – это справедливо для производных гераниола, и фарнезола. С увеличением терпеноидного фрагмента (от C_{10} до C_{15}) возрастает средний гидродинамический диаметр (от 112 нм до 200 нм). Для производных фитола (C_{20}) складывается несколько иная картина – образуемые ими частицы имеют меньший, по сравнению с макроциклами, функционализированными фарнезильными (C_{15}) фрагментами, диаметр (112 нм и 200 нм соответственно). Скорее всего, это связано с меньшей жёсткостью терпеноидной (фитильной) цепи, которая обусловлена втрое меньшим количеством двойных связей. Также было показано, что тиакаликс[4]арены, содержащие фрагменты фитола, образуют наиболее устойчивые агрегаты в широком диапазоне концентраций (от 1×10^{-4} М до 1×10^{-7} М) с низким индексом полидисперсности ($PDI = 0.04$).

Установлено, что процессы ассоциации меротерпеноидов, содержащих имидазолиевый фрагмент, в присутствии и в отсутствие водорастворимого пиллар[5]арена протекают схожим образом. В водных растворах происходит замена аниона, что, скорее всего, связано со стерическими особенностями имидазолиевого фрагмента. Однако при переходе от водных растворов к системе растворителей метанол/вода (2:1) происходит образование комплексов включения фрагментов меротерпеноидов в полость макроциклической платформы пиллар[5]арена. В свою очередь, было показано, что пиридиниевый фрагмент синтезированных меротерпеноидов встраивается в полость пиллар[5]арена именно в водных растворах с образованием супрамолекулярного амфифила по принципу «гость-хозяин». Меротерпеноиды, содержащие монотерпеновый остаток (геранил или миртенил), функционализированные имидазолиевыми и пиридиниевыми фрагментами, встраиваются в фосфолипидные мембраны. В то время как супрамолекулярные амфифилы на основе этих меротерпеноидов и водорастворимого пиллар[5]арена не взаимодействуют с модельной биомембраной. Полученные результаты могут быть использованы для создания биодоступной системы супрамолекулярных меротерпеноидных везикул. Эти системы являются стабильными и невосприимчивыми к внешним условиям. При этом компоненты системы являются биодоступными, биodeградируемыми и способными к взаимодействию с липидной мембраной.

Методология и методы исследования. При выполнении диссертационной работы был использован широкий набор методов органического синтеза и методов, позволяющих установить структуру и состав синтезированных соединений (одномерная и двумерная спектроскопия ЯМР (^1H , ^{13}C , ^1H - ^1H NOESY), ИК-спектроскопия, масс-спектрометрия (МАЛДИ и ESI), элементный анализ). Для изучения мембранотропных и агрегационных свойств синтезированных меротерпеноидов были использованы следующие методы: турбидиметрия, динамическое светорассеяние, лазерный доплеровский микроэлектрофорез.

На защиту выносятся следующие положения:

- 1) Метод синтеза амфифильных немакроциклических липидоподобных меротерпеноидов, содержащих два фрагмента гераниола.
- 2) Подходы к синтезу макроциклических меротерпеноидов на платформе тиакаликс[4]арена в конфигурациях *конус* и *1,3-альтернат*, содержащих фрагменты моно-, сескви- и дитерпенолов.
- 3) Синтез амфифильных меротерпеноидов, содержащих пиридиниевые и имидазолиевые фрагменты, способных к образованию супрамолекулярных амфифилов на платформе пиллар[5]арена по принципу «гость-хозяин».
- 4) Закономерности, связывающие структуру различных немакроциклических и макроциклических (содержащих ковалентно присоединённый или нековалентно присоединённый терпеноидный фрагмент) меротерпеноидов с их агрегационной и мембранотропной активностью.

Личный вклад автора. Автор принимал участие в постановке цели и задач исследования, анализе литературных данных, выполнении экспериментальных исследований, обсуждении результатов и формулировке выводов, подготовке публикаций по теме исследования. Все соединения, представленные в диссертационной работе, синтезированы соискателем лично.

Степень достоверности результатов. Достоверность результатов проведённых исследований подтверждается использованием целого ряда современных физических и физико-химических методов анализа.

Апробация работы. Основные результаты исследования докладывались и обсуждались на следующих конференциях: IX Научной конференции молодых учёных «Инновации в химии: достижения и перспективы – 2018» (Москва, 9 – 13 апреля, 2018), XXV Всероссийской конференции «Структура и динамика молекулярных систем» (Йошкар-Ола, 25 – 26 июня 2018), Russian-German Seminar dedicated to the 30th anniversary of partnership

between Justus Liebig University Giessen and Kazan (Volga-Region) Federal University “Interaction: from cell to human” (Казань, 20 – 24 мая, 2019), XI International Conference on Chemistry for Young Scientists (Санкт-Петербург, 9 – 13 сентября, 2019), Второй школе молодых ученых «Биохимия – основа наук о жизни» (Казань, 7 – 9 ноября, 2019), XXVI и XXVII Международных научных конференциях студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2019» и «Ломоносов-2020» (Москва, 8 – 12 апреля, 2019, 10 – 27 ноября 2020), Actual Problems of Organic Chemistry and Biotechnology (Екатеринбург, 18 – 21 ноября 2020).

Публикации.

По материалам диссертации опубликовано 5 статей в изданиях, рекомендованных ВАК, а также 9 тезисов докладов в материалах симпозиумов, конгрессов, съездов и конференций различного уровня.

Объем и структура работы.

Диссертационная работа изложена на 130 страницах печатного текста и содержит 9 таблиц, 26 схем, 51 рисунок и состоит из введения, литературного обзора (Глава 1), обсуждения результатов (Глава 2), экспериментальной части (Глава 3), выводов, списка использованных сокращений и списка литературы, включающего 150 ссылок на отечественные и зарубежные работы.

Работа выполнена на кафедре органической химии Химического института им. А.М. Бутлерова ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», является частью исследований по основному научному направлению «Синтез, строение, реакционная способность и практически полезные свойства органических, элементоорганических и координационных соединений».

Исследования проводились при поддержке гранта РФФИ 19-33-90170 «(Супра)молекулярные контейнеры на основе функционализированных меротерпеноидов: синтез, самосборка и капсулирование противоопухолевых препаратов» и гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки ведущих научных школ Российской Федерации (НШ-2499.2020.3).

Запись ИК-спектров выполнялась на кафедре неорганической химии Химического института им. А.М. Бутлерова к.х.н. А.А. Ханнановым и к.х.н., доцентом М.П. Кутыревой. Запись масс-спектров выполнена в научно-образовательном центре фармации КФУ и лаборатории физико-химического анализа Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова под руководством к.х.н. И.Х. Ризванова. Регистрация спектров ЯМР выполнена на кафедре органической химии Химического института им. А.М. Бутлерова КФУ к.х.н. Д.Н. Шурпиком, к.х.н. А.А. Назаровой и к.х.н. К.С. Шибаевой. Основная экспериментальная работа и выводы сделаны самим автором. В выполнении отдельных разделов работы принимали участие студенты З.Р. Латыпова, Р.Р. Гаширов и Ю.В. Панина, которые под руководством автора выполняли курсовые и дипломные работы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Важной частью органической химии является разработка и получение новых соединений для конструирования супрамолекулярных систем, потенциально способных к направленному транспорту терапевтических препаратов и молекулярному распознаванию разных субстратов. С каждым годом увеличивается интерес современных исследователей к созданию многофункциональных соединений для формирования программируемых супрамолекулярных систем. Как правило, в качестве основы для создания таких систем применяют макроциклические соединения, например (тия)каликс[4]арены, циклодекстрины и пиллар[5]арены. Данное исследование ориентировано на решение фундаментальной проблемы фармацевтической и супрамолекулярной химии, связанной с дизайном новых, нетоксичных амфифильных структур на основе макроциклических и терпеновых производных для капсуляции терапевтических препаратов.

Создание интеллектуальных надмолекулярных наноструктур, таких как мицеллы, везикулы и другие наноагрегаты, на основе амфифилов и супрамолекулярных амфифилов, чьи гидрофильные и гидрофобные компоненты связаны как ковалентными, так и нековалентными взаимодействиями, способно обеспечить формирование нового подхода по изготовлению сложных супрамолекулярных наноконтейнеров. Применение терпеновых фрагментов для конструирования надмолекулярных агрегатов позволит повысить их устойчивость к различным воздействиям и агрессивным средам, а также снизить токсичность и негативное влияние на организм.

Однако в литературе крайне мало публикаций, касающихся создания мета- и парациклофанов, функционализированных именно природными терпеноидными фрагментами. Как правило, исследователи ограничиваются лишь функционализацией макроциклов холестерольным фрагментом. Также имеется мало публикаций, посвящённых созданию супрамолекулярных амфифилов, содержащих меротерпеноидные фрагменты. Объединение макроциклических платформ тиакаликс[4]арена или пиллар[5]арена, как доступных синтетических моделей, с меротерпеноидными остатками при конструировании самособирающихся наноконтейнеров, которые в дальнейшем могут быть использованы для создания систем стабилизации и направленного транспорта терапевтических агентов, может способствовать решению ряда проблем, связанных с применением различных лекарственных препаратов. Особый интерес представляет изучение агрегации и самосборки, а также взаимодействия с модельными фосфолипидными мембранами амфифилов на основе глицерина (как представителей биомиметического подхода по созданию липидоподобных структур), так и макроциклических амфифильных меротерпеноидов на основе тиакаликс[4]аренов и супрамолекулярных амфифилов на основе пиллар[5]аренов.

1. Синтез короткоцепочечных аналогов липидов архей на основе аминокислот и гераниола

Первоначально была синтезирована платформа для создания липидоподобных соединений (Схема 1). Так, был получен солкеталь **2**. Была применена модифицированная литературная методика – вместо удаления воды азеотропной отгонкой нами были использованы молекулярные сита. При этом реакция проводилась в течение двух суток при комнатной температуре. Затем, с использованием в качестве алкилирующего агента тозилхлорида, был синтезирован эфир **3** (Схема 1). Взаимодействием соединения **3** с пирролидином, диэтиламином и пиперидином были получены защищенные аминокислоты **4а-в** соответственно (Схема 1). Синтез проводился в расплаве без растворителя. В результате был получен продукт с крайне низким выходом (5-10%). Модификация методики проведения синтеза в запаянной ампуле в атмосфере аргона позволила существенно повысить выход целевых продуктов **4а-в** (до 80-89%). Удаление кетальной защиты соединений **4а-в** осуществлялась обработкой 1М раствором соляной кислоты. После удаления воды к остатку был добавлен раствор метилата натрия в метаноле. Практически сразу выпадал осадок хлорида натрия, который отфильтровывался на бумажном фильтре. Были получены целевые диолы **5а-в**, которые представляют собой вязкие жидкости с резким неприятным запахом. Соединения **2**, **3**, **4а-в** были охарактеризованы методом спектроскопии ЯМР ^1H , индивидуальность подтверждена измерением температуры плавления и показателя преломления. Соединения **5а-в** были охарактеризованы комплексом физических методов – спектроскопией ЯМР ^1H и ^{13}C , индивидуальность подтверждена тонкослойной хроматографией (ТСХ).

Затем терпеновый спирт гераниол по литературной методике был переведён в геранилхлорид **7** по реакции Аппеля, для дальнейшего его использования в реакции Вильямсона. Атом хлора в геранилхлориде находится в аллильном положении, что даёт преимущество при алкилировании геранилхлоридом. Для этого гидроксильная группа

гераниола **6a** была замещена на атом хлора в присутствии трифенилфосфина в четырёххлористом углероде (Схема 2). Выход продукта **7** составил 88%.

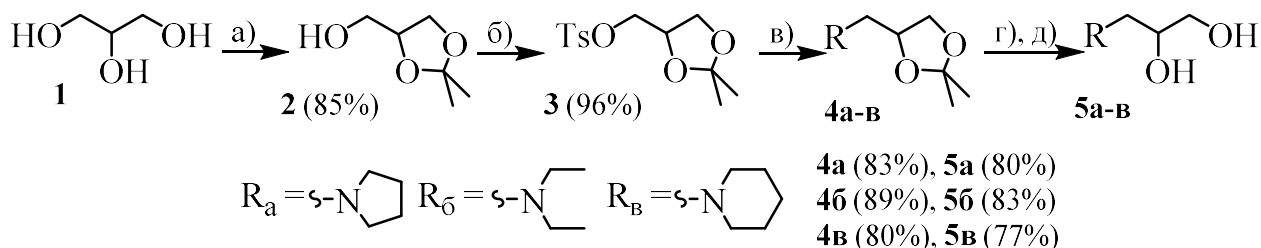


Схема 1. Реагенты и условия: а) Me_2CO , TsOH , 25 °С, б) TsCl , пиридин, 25 °С, в) пирролидин / диэтиламин / пиперидин, нагрев; г) 1М HCl , 25 °С, д) MeONa , MeOH , 25 °С.

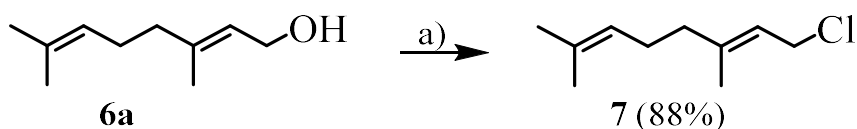


Схема 2. Реагенты и условия: а) PPh_3 , CCl_4 .

Для получения липидоподобных меротерпеноидов на основе аминоглицеринов первоначально была предпринята попытка провести алкилирование в диоксане, при 100°С. Синтез проводился в течение 8 часов. После выделения сырого продукта была проведена тонкослойная хроматография с использованием элюента этилацетат-гексан в соотношении 1:3. На пластинке ТСХ наблюдалось три пятна. Затем полученная смесь была разделена с помощью колоночной хроматографии с выделением трех фракций. С помощью спектроскопии ЯМР ^1H было установлено, что первая фракция ($R_f = 0.9$) – представляет собой исходный геранилхлорид (который был взят с 20% избытком на каждую гидроксильную группу). Вторая фракция ($R_f = 0.7$) – монозамещённый продукт, текучая жидкость оранжевого цвета, выход которого составил 52%. И третья фракция ($R_f = 0.4$) – целевой продукт **8a**, представляющий собой жёлтое масло, выход которого составил 25% (Схема 3).

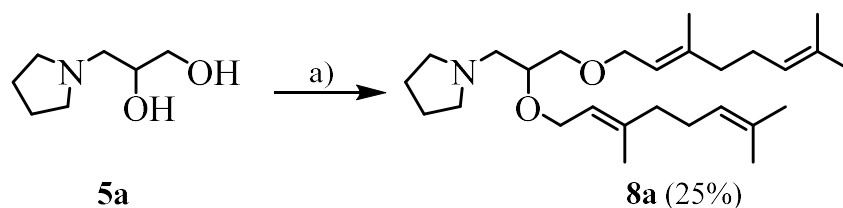


Схема 3. Реагенты и условия: а) геранилхлорид, NaN , диоксан, 100 °С.

Для повышения выходов целевых продуктов было решено увеличить время синтеза, увеличить избыток геранилхлорида и заменить растворитель на ТГФ (Схема 4). При проведении реакции в ТГФ удалось добиться высоких выходов целевых дизамещённых продуктов **8a-в**. Также наряду с глицеридами **8a-в** был получен глицерид **8г** с использованием в качестве исходного диола коммерчески доступного аминоглицерина – 3-(диметиламино)-1,2-пропандиола **5г**. С помощью колоночной хроматографии с использованием элюента этилацетат-гексан (1:3) удалось отделить целевые продукты (**8a-г**) от исходного геранилхлорида. Продукты представляют собой светло-жёлтые вязкие жидкости.

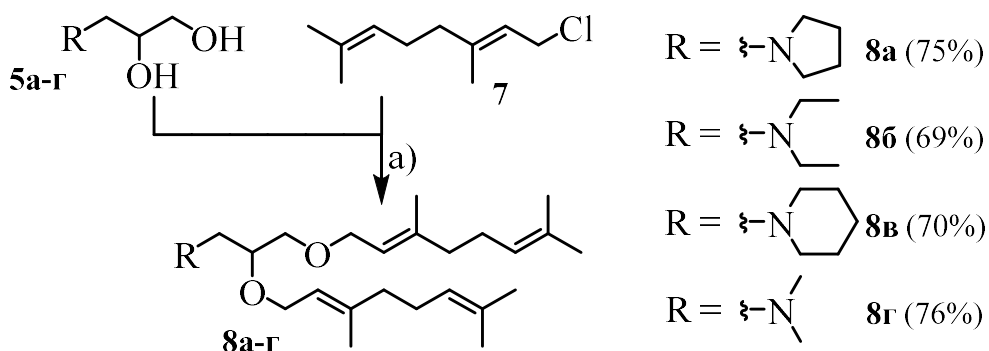


Схема 4. Реагенты и условия: а) NaN, абс. ТГФ, 80 °С.

Таким образом, впервые был предложен и разработан синтетический подход к созданию аминоклицидов с геранильными фрагментами **8a-г**. Оптимизирована методика проведения реакции Вильямсона для аминоклицидов **5a-г** и геранилхлорида **7**. Структура полученных соединений подтверждена рядом физических методов, таких как спектроскопия ЯМР ^1H , ^{13}C , ИК-спектроскопия, масс-спектрометрия (МАЛДИ), а состав подтверждён данными элементного анализа.

2. Синтез макроциклических меротерпеноидов на основе *n*-трет-бутилтиакаликс[4]арена и терпеновых спиртов

Для реализации концепции ковалентной сборки макроциклических меротерпеноидов нами был использован разработанный ранее в нашей группе синтетический подход к получению водорастворимых аммониевых производных тиакаликс[4]аренов реакцией Меншуткина. Были выбраны макроциклы, содержащие одновременно амидные и третичные аминогруппы по нижнему ободу. В качестве терпеноидных фрагментов, для введения в структуру тиакаликсаренов было решено использовать терпеновые спирты: гераниол, миртенол (монотерпенолы), фарнезол (сесквитерпенол) и фитола (дитерпенол). Для создания высокореакционноспособных алкилирующих агентов на основе выбранных терпеновых спиртов была предложена идея перевести их в форму терпенилбромацетатов. Как таковых способов получения терпенилбромацетатов, в частности геранилбромацетата, в литературе сравнительно мало. Гидроксильная группа в гераниоле (как и фарнезоле, фитоле и миртеноле) находится в аллильном положении, поэтому целесообразным было использовать методики для аллилового спирта. Так, британскими учёными в 1985 году была предложена методика синтеза аллилбромацетата. Реакцию проводили в хлористом метиле. В статье 1995 года, опубликованной группой венгерских учёных, представлена методика, в которой аллиловый спирт был ацилирован бромацетилбромидом в присутствии триэтиламина и диметиламинопиридина (ДМАП). В качестве растворителя использовался бензол. В 2012 году была описана общая методика синтеза α -бромэфиров, в том числе и геранилбромацетата: к перемешиваемому раствору гераниола в ТГФ при комнатной температуре добавляли бромацетат, растворённый в ТГФ.

Нами было решено использовать методику венгерских учёных без какой-либо модификации, кроме того, что вместо аллилового спирта был использован гераниол. Так как эта методика одностадийна, в ней используется высокореакционноспособный ацилирующий агент – бромангидрид бромуксусной кислоты. Продукт, выделенный нами из реакционной смеси, представлял собой чёрно-бурую вязкую жидкость. К сожалению, дальнейшая перегонка при пониженном давлении не позволила выделить целевой продукт. В спектре ЯМР ^1H перегнанного продукта наблюдалось удвоение синглета соответствующего CH_2Br -фрагменту, что, скорее всего, свидетельствует о диспропорционировании соединения по этому фрагменту.

В связи с этим была разработана собственная методика (Схема 5): в качестве основания для поглощения выделяющегося бромоводорода был использован диизопропилэтиламин (ДИПЭА). Выбор ДИПЭА, а не триэтиламина обусловлен тем, что последний в ходе реакции может быть алкилирован образующимся терпенилбромацетатом, что может значительно снизить выход конечного продукта. ДИПЭА же в свою очередь является стерически затруднённым третичным амином, поэтому атом азота в нём не может быть алкилирован. В ходе проведения синтеза реакционная смесь сильно разогревается, что вызывает побочные реакции природных терпеновых фрагментов (окисление, полимеризация). Поэтому было решено проводить реакцию при пониженной (-5°C) температуре. В качестве растворителя был выбран хлороформ. Хлороформ достаточно полярный растворитель для проведения реакции ацилирования спиртов, однако использование более полярных растворителей сопряжено с трудностями растворения исходных терпенолов, которые весьма липофильны (в особенности фарнезол и фитол). Таким образом, были получены терпенилбромацетаты **9а-г** на основе гераниола, фарнезола, фитола и миртенола соответственно. С помощью разработанной методики удалось повысить выходы (до 69-78%) и добиться чистоты целевых терпенилбромацетатов **9а-г** (Схема 5).

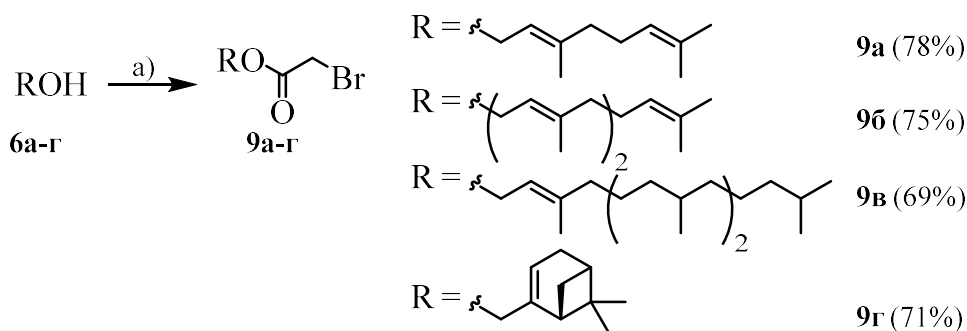


Схема 5. Реагенты и условия: а) $\text{BrCH}_2\text{C}(\text{O})\text{Br}$, ДИПЭА, CHCl_3 , -5°C .

Следующим этапом работы стало присоединение терпенилбромацетатов **9а-г** к тиакаликсаренам в конфигурациях *конус* и *1,3-альтернат*. В качестве исходных соединений были выбраны макроциклы **10** и **11**, полученные ранее в нашей группе. Для проведения реакции была выбрана разработанная ранее в нашей группе методика. К раствору исходного тиакаликс[4]арена **10** в конфигурации *конус* в ацетонитриле добавлялся раствор, содержащий четырёхкратное (по молям) на четыре третичных аминогруппы макроцикла количество геранилбромацетата **9а**. В ходе проведения синтеза при нагревании реакционная смесь почернела, что, по всей видимости, свидетельствует о прохождении побочных реакций (полимеризации, окисления), связанных с геранильным фрагментом алкилирующего агента. Было высказано предположение, что нагревание оказывает негативное влияние на терпенилбромацетаты. В связи с этим был изменён подход к проведению синтеза. Было решено проводить процесс при комнатной температуре в течение 16 часов, чтобы избежать побочных реакций терпеноидных фрагментов, увеличить время проведения синтеза вдвое, а также использовать 20%-ный избыток геранилбромацетата на одну третичную аминогруппу макроцикла. Анализ спектра ЯМР ^1H продукта показал наличие нескольких продуктов частичного замещения. В связи с этим было решено увеличить время проведения реакции. Вместо 16 часов реакционная смесь перемешивалась в течение 40 часов. Анализ спектров ЯМР ^1H , показал, что в реакционной смеси присутствовал только продукт **12а** в конфигурации *конус* и остаток геранилбромацетата, от которого избавлялись промыванием гексаном. Этот дополнительный этап очистки реакционной массы значительно понизил выход целевого соединения, тем не менее, некоторое количество исходного геранилбромацетата осталось. В связи с этим была проведена дальнейшая оптимизация методики. Синтез проводился при комнатной температуре в течение 56 часов, был

использован 5% избыток на каждую группу тиакаликс[4]арена геранилбромацетата (Схема 6). В результате был выделен продукт **12а** в конфигурации *конус* с хорошим выходом (70%). Аналогичная методика оказалась применима и для макроциклов в конфигурации *1,3-альтернат*. Таким образом с хорошими выходами (70-86%) были получены макроциклические четвертичные аммониевые соли **12а,б,г** и **13а,б,г** (Схема 6), содержащие терпеноидные фрагменты, в конфигурациях *конус* и *1,3-альтернат*.

Однако, по описанной выше методике, соединения **12в** и **13в** получить не удалось, из реакционной смеси были выделены исходные тиакаликс[4]арены **10** и **11**. По всей видимости, это связано с плохой растворимостью фитилбромацетата **9в** в ацетонитриле. Для получения производных фитола пришлось несколько изменить подход. Сначала готовился раствор исходных тиакаликс[4]аренов **10** или **11** в ацетонитриле, к которым добавлялся раствор фитилбромацетата в метил-*трет*-бутиловом эфире (МТБЭ). Мольное соотношение реагентов оставалось прежним. Были выделены целевые продукты **12в** и **13в** с хорошими выходами (71 и 72% соответственно). Таким образом, были получены все целевые соединения, содержащие фрагменты гераниола, миртенола, фарнезола или фитола.

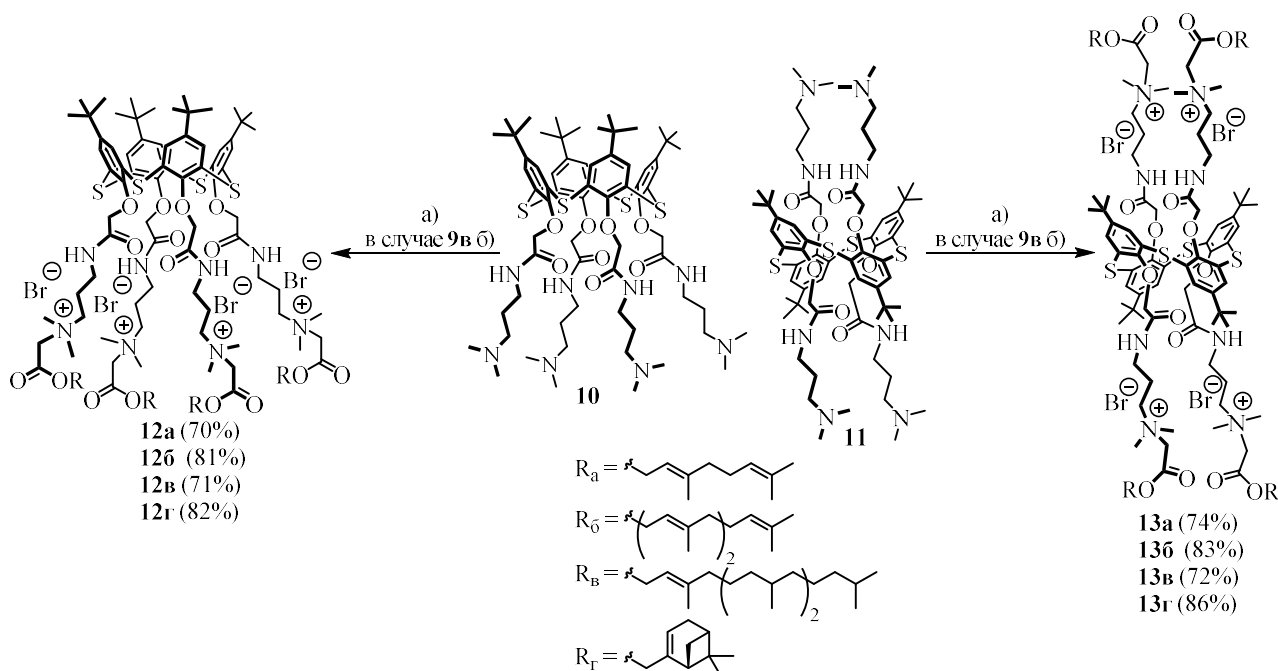


Схема 6. Реагенты и условия: а) **9а,б,г**, CH₃CN, 25 °С, б) **9в**, CH₃CN, МТБЭ, 25 °С.

Для сравнения различных свойств между макроциклическими меротерпеноидами, содержащими монотерпеновый фрагмент гераниола (длина которого составляет восемь атомов углерода), с аналогичным по длине неразветвлённым алкильным фрагментом было решено расширить ряд синтезированных макроциклов **12а-г** и **13а-г** ещё четырьмя аналогичными производными, которые содержат вместо терпеновых фрагментов О-октильный и N-октильный. По методике, разработанной нами для получения терпенилбромацетатов, был синтезирован алкилирующий агент – октилбромацетат **9д**. На следующем этапе (Схема 7) реакцией Меншуткина были получены макроциклические производные **12д,е** и **13д,е**, содержащие октильные фрагменты. Реакция проводилась в аналогичных условиях в течение 56 часов. В случае **12е** и **13е** синтез проводился при повышенной температуре (80 °С). Выходы октильных производных (83-95%) оказались сравнимы с выходами (70-95%) аналогичных терпеновых производных.

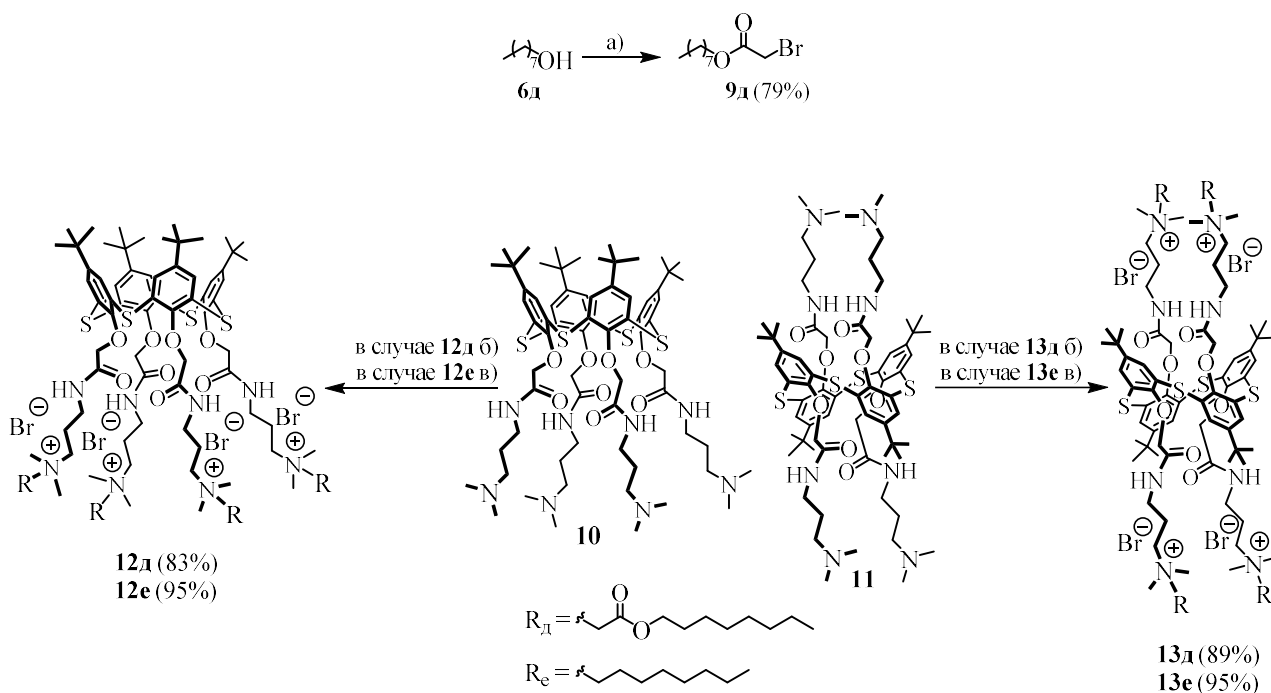


Схема 7. Реагенты и условия: а) $\text{BrCH}_2\text{C}(\text{O})\text{Br}$, ДИПЭА, CHCl_3 , -5°C ; б) **9д**, CH_3CN , 25°C . в) $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{Br}$, CH_3CN , 80°C .

Для оценки влияния макроциклического эффекта на способность к самоассоциации макроциклических меротерпеноидов на платформе тиакаликс[4]аренов был синтезирован ряд модельных соединений — **15а-в** — производных *n*-трет-бутилфенола, содержащих терпеноидные фрагменты (Схема 8).

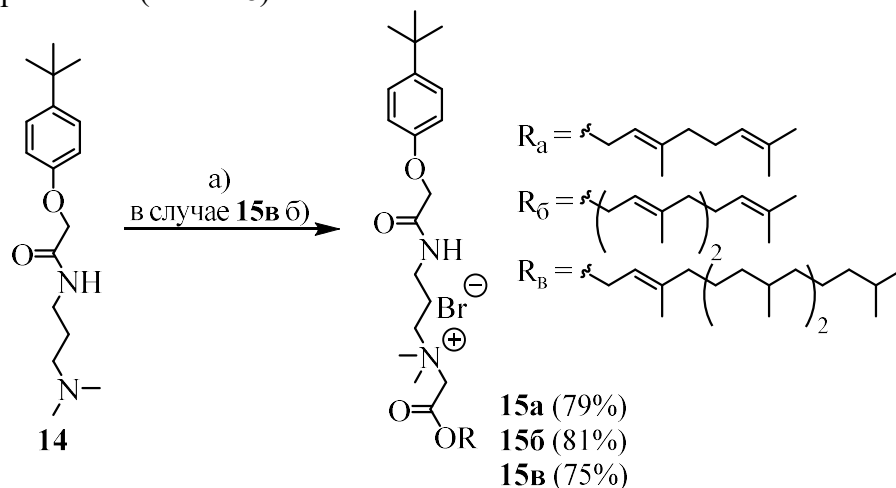


Схема 8. Реагенты и условия: а) **9а,б**, CH_3CN , 25°C ; б) **9в**, CH_3CN , МТБЭ, 25°C .

Таким образом, были получены макроциклические меротерпеноиды **12а-г** и **13а-г**, содержащие ковалентно присоединённые фрагменты гераниола, миртенола, фарнезола или фитола. Были синтезированы аммониевые макроциклические соли **12д,е** и **13д,е**, содержащие октильные фрагменты, в конфигурациях конус и 1,3-альтернат. Также были синтезированы модельные соединения **15а-в** на основе *n*-трет-бутилфенола и линейных терпеновых спиртов. Была реализована стратегия ковалентной функционализации тиакаликс[4]арена терпеноидными фрагментами. Структура полученных соединений подтверждена рядом физических методов, таких как спектроскопия ЯМР ^1H , ^{13}C , ИК-спектроскопия, масс-спектрометрия (МАЛДИ), масс-спектрометрия высокого разрешения (ESI), а состав подтверждён данными элементного анализа.

3. Синтез меротерпеноидов, содержащих пиридиниевые и имидазолиевые фрагменты, на основе терпеновых спиртов

Из литературных данных хорошо известно, что соединения, содержащие имидазолиевый или пиридиниевые фрагменты, имеют склонность к образованию комплексов по принципу «гость-хозяин» с пиллар[n]аренами. Поэтому нами была поставлена задача синтезировать меротерпеноиды на основе гераниола, миртенола, фарнезола и фитола, содержащие имидазолиевые или пиридиниевые фрагменты, способные к нековалентному взаимодействию с макроциклической платформой. Было изучено взаимодействие избытка пиридина с полученными ранее терпенилбромацетатами **9а-г**. Синтез геранил- и фарнезилпроизводных проводился в ацетонитриле при нагревании в течение 8 часов, после выделения продукта был получен осадок. Анализ данных, полученных методом спектроскопии ЯМР ^1H , показал, что этот осадок – гидробромид пиридинийацетата. Это указывает на то, что если в ходе реакции и образовался целевой продукт, то он оказался нестабилен в применённых условиях. Было решено проводить синтез без нагревания и увеличить время реакции до 16 часов. Соотношение пиридина и терпенилбромацетатов оставалось прежним. Анализ спектров ЯМР ^1H продуктов показал, что в реакционной смеси присутствует только исходный геранилбромацетат **9а**, аналогичная ситуация наблюдалась и для фарнезилбромацетата **9б**. Было высказано предположение, что если использовать растворитель менее полярный, чем ацетонитрил, то конечный продукт (пиридиниевая соль) будет выпадать в осадок. Уменьшив полярность среды, тем самым мы понизим скорость реакции нуклеофильного замещения, поэтому потребуется увеличить время проведения реакции. В связи с этим вновь был изменён подход (Схема 9). В качестве растворителя был использован диэтиловый эфир, и синтез проводился при комнатной температуре в течение 36 часов. Анализ спектров ЯМР ^1H продуктов показал, что в случае геранил-, фарнезил- и миртенилпроизводных удалось получить целевые соединения **16а,б,г**, при этом сохранялась незначительная примесь исходного терпенилбромацетата. От примеси терпенилбромацетатов удалось избавиться, промыв продукт гексаном. В случае же фитилпроизводного, в спектре наблюдался лишь исходный фитилбромацетат **9в**. По всей видимости, липофильный фрагмент фитола благоприятствует образованию агрегатов фитилбромацетата в диэтиловом эфире, что затрудняет прохождение реакции. Повторное проведение реакции фитилбромацетата с пиридином в диэтиловом эфире с нагревом (35 °С) позволило получить целевой продукт **16в**.

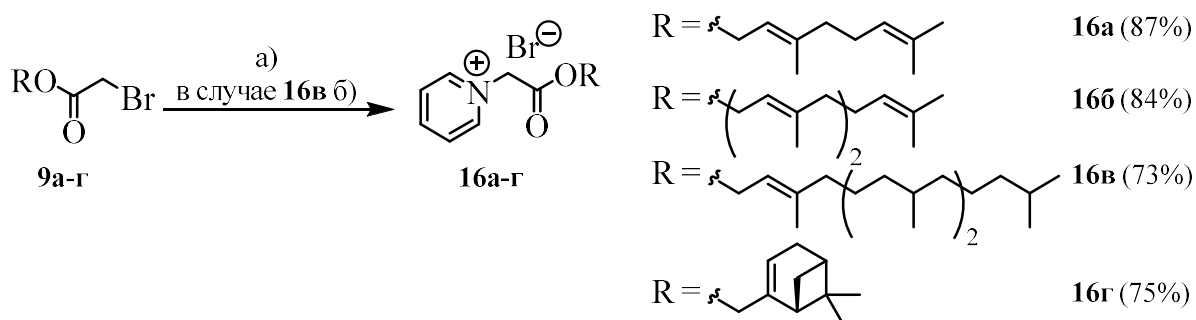


Схема 9. Реагенты и условия: а) пиридин, Et₂O, 25 °С, б) пиридин, Et₂O, 35 °С.

Для получения имидазолсодержащих меротерпеноидов была использована та же методика, что и в случае алкилирования пиридина. В качестве исходных соединений выступали терпенилбромацетаты **9а-г** и метилимидазол. Была проведена реакция геранилбромацетата **9а** с N-метилимидазолом, который был взят с 20%-ным избытком. Однако если в случае получения пиридиниевых солей избыток пиридина было легко удалить, то в этом случае подобный подход оказался неудачным. Продукт был промыт гексаном, чтобы очистить его от примеси метилимидазола, однако это не привело к

удовлетворительному результату. Поэтому для синтеза имидазолсодержащих меротерпеноидов **17а-г** (Схема 10) использовались эквимольные количества терпенилбромацетатов и метилимидазола. Таким образом удалось получить геранил- и миртенилпроизводные метилимидазола **17а,г**. В случае фарнезил- и фитилпроизводных **17б,в** понадобился нагрев реакционной смеси. Стоит отметить, что для получения фарнезилпиридиниевой соли нагрев не требовался. По всей видимости, это связано с меньшей нуклеофильностью метилимидазола по сравнению с пиридином.

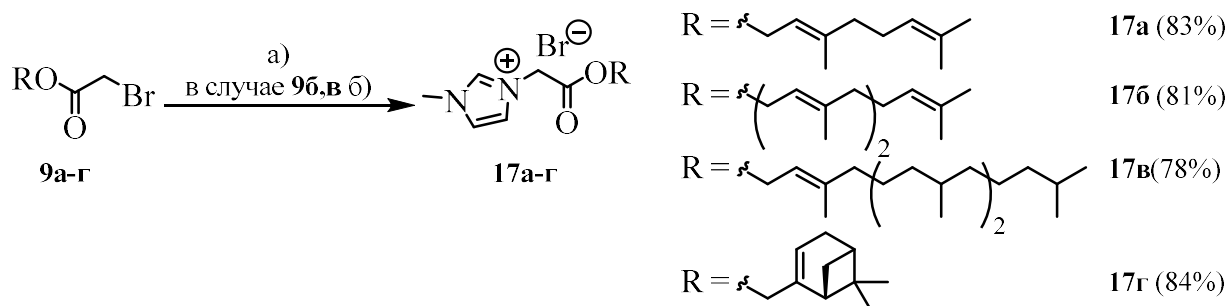


Схема 10. Реагенты и условия: а) N-метилимидазол, Et₂O, 25 °С, б) N-метилимидазол, Et₂O, 35 °С.

Итак, нами была разработана методика синтеза целевых соединений **16а-г** и **17а-г**, основанная на алкилировании ароматических азотсодержащих гетероциклов (пиридина и метилимидазола) терпенилбромацетатами. Состав и структура полученных меротерпеноидов были подтверждены рядом физических методов: спектроскопией ЯМР ¹H, ¹³C, ИК-спектроскопией, масс-спектрометрией (ESI) высокого разрешения.

4. Агрегационные и мембранотропные свойства немакроциклических меротерпеноидов (аминоглицеридов на основе гераниола) и макроциклических меротерпеноидов (*n*-трет-бутилтиакаликс[4]аренов с фрагментами терпеновых спиртов)

Для количественной оценки взаимодействия полученных соединений **8а-г** с фосфолипидными бислоями методом турбидиметрии была использована модельная система, состоящая из моноламелярных везикул дипальмитоилфосфатидилхолина (ДПФХ) диаметром 100 нм. Температура фазового перехода T_m (гель – жидкие кристаллы) является чувствительным индикатором состояния молекул липидов в бислое.

Было проведено титрование растворов ДПФХ (в концентрации 7×10⁻⁴ М) исследуемыми соединениями **8а-г** в буфере (Tris-HCl 50 мМ, рН 7.4), и были определены температуры фазового перехода везикул в диапазоне мольных соотношений вещество:липид 0.1:1 – 0.5:1. Температура фазового перехода мембраны из гелеобразного состояния в жидкокристаллическое (T_m) имеет постоянное значение. В случае ДПФХ она составляет по разным данным от 41.20 до 41.75 °С и является чувствительным показателем состояния мембраны. Встраивание соединений в липидный бислой обязательно приводит к понижению температуры фазового перехода, что делает его индикатором взаимодействия исследуемых соединений с модельной мембраной. Понижение происходит вследствие нарушения упаковки ацильных цепочек липида вносимым веществом.

На рисунке 1 представлена зависимость температуры фазового перехода везикул от мольного соотношения вещество–липид. Можно отметить, что при повышении концентрации соединения понижается температура фазового перехода, что позволяет сделать два вывода. Во-первых, взаимодействие соединений **8а-г** происходит с липофильной частью бислоя. Во-вторых, линейный характер зависимости указывает на то, что взаимодействие не приводит к разрушению структуры бислоя. При увеличении мольного

соотношения выше 0.5 линейный характер зависимости нарушается, а величина температуры фазового перехода остаётся постоянной, что, скорее всего, говорит о насыщении везикул исследуемым веществом.

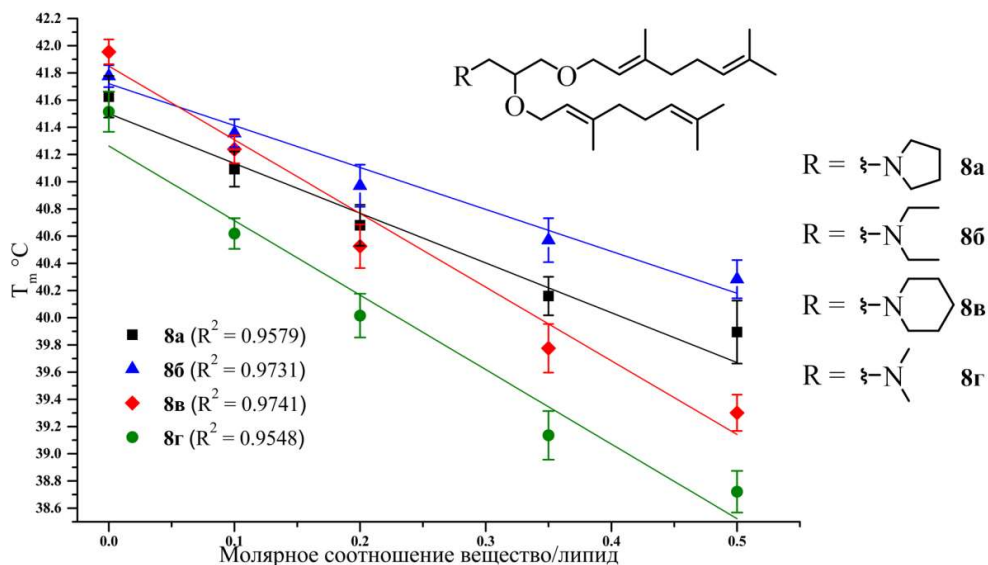


Рисунок 1. Зависимости температуры фазового перехода везикул ДПФХ от количества внесенных соединений **8a-г**.

Изменение ζ -потенциала везикул ДПФХ свидетельствует о встраивании соединений в липидный бислой. Были определены величины ζ -потенциала везикул в присутствии соединений **8a-г**. При повышении молярного соотношения вещество:липид выше 0.5 зависимость выходит на плато, что указывает на насыщение везикул и коррелирует с данными турбидиметрии (Рис. 2).

Из полученных экспериментальных данных можно сделать вывод, что соединения **8a-г** встраиваются в фосфолипидную модельную мембрану и могут выступать в качестве мембранного якоря. Но, к сожалению, использовать в качестве самособирающихся систем производные глицерина **8a-г** нельзя, так как они не образуют в водных растворах монодисперсных систем путём самоагрегации в диапазоне концентраций от 1×10^{-3} до 1×10^{-6} М.

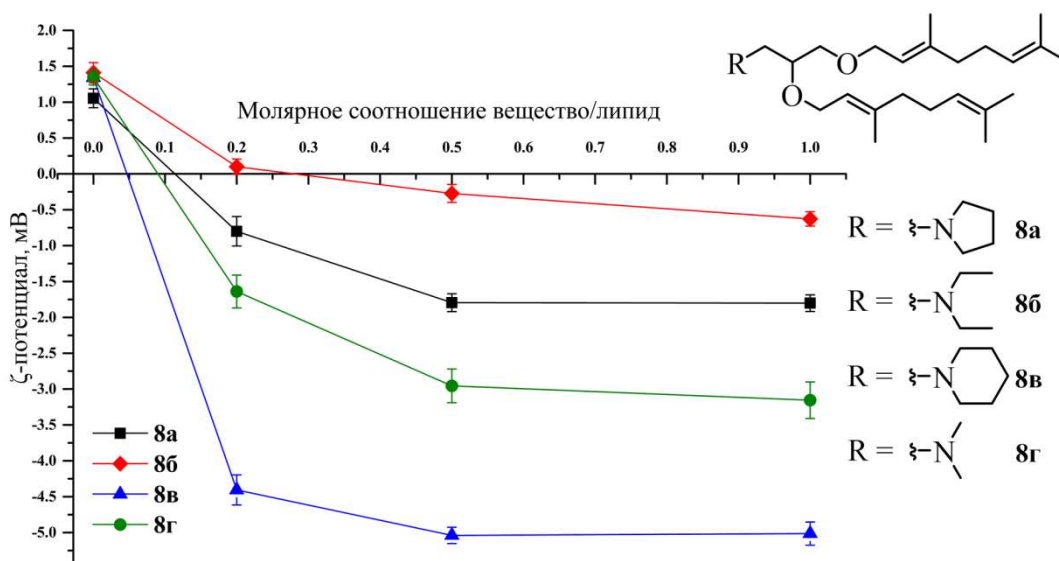


Рисунок 2. Зависимости ζ -потенциала везикул ДПФХ от количества внесенных соединений **8a-г**.

В связи с этим нами было предложено использовать меротерпеноиды на макроциклической платформе. Нами было высказано предположение, что меротерпеноиды на основе макроциклической платформы, способной к предорганизации, могут быть применены для создания самособирающихся контейнеров. Методом динамического светорассеяния была изучена способность синтезированных соединений **12а-г** и **13а-г** к самоассоциации в водном растворе.

В качестве примера на рисунке 3 приведены размерные распределения, полученные методом динамического светорассеяния (ДСР); для производных фитола в конфигурациях *конус* **12в** и *1,3-альтернат* **13в**. В диапазоне концентраций от 1×10^{-4} до 1×10^{-7} М сохраняются невысокие значения индекса полидисперсности. При этом гидродинамический диаметр агрегатов составляет: для конфигурации *1,3-альтернат* 154-168 нм, для конфигурации *конус* – 112-128 нм (Рис. 3).

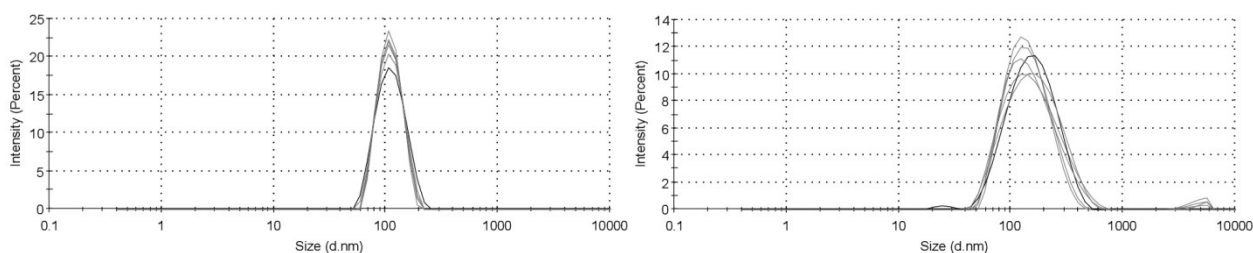


Рисунок 3. Размерное распределение частиц по интенсивности в водном растворе соединения **12в** (слева) и **13в** (справа) (концентрация 1×10^{-4} М).

В целом, образуемые агрегаты соединений **12а-г** и **13а-г** монодисперсны, а диаметр агрегатов составляет от 112 до 320 нм. Было показано, что меротерпеноиды на основе тиакаликс[4]арена **12а-в** и **13а-в**, содержащие линейные терпеноидные фрагменты, образуют более монодисперсные системы (PDI 0.04-0.35) по сравнению с макроциклами, содержащими циклические миртенильные фрагменты **12г** и **13г** (PDI 0.34-0.43). Также было показано, что длина терпеноидного фрагмента, моно- (C10, **12а** и **13а**) или сескви- (C15, **12б** и **13б**), влияет на средний гидродинамический диаметр частиц (112 нм против 200 нм). Однако для дитерпеновых (C20) фитильных производных тиакаликс[4]арена **12в** и **13в** тенденция нарушается – гидродинамический диаметр частиц составляет 112-164 нм.

Затем была изучена способность к агрегации производных **12д** и **13д**, содержащих октильные фрагменты в конфигурациях *конус* и *1,3-альтернат* в водной среде. Наблюдались немодальное распределения с PDI = 0.34-0.43, со средним гидродинамическим диаметром частиц от 161 до 212 нм. Если сравнивать значения полидисперсности **12д** и **13д** с аналогичными (по длине) геранильными производными **12а**, **13а**, то наиболее монодисперсными оказываются последние. Можно сделать вывод, что терпеноидные фрагменты положительно влияют на агрегационную способность конечных макроциклов по сравнению с неразветвлёнными алкильными фрагментами.

Далее для оценки влияния макроциклической платформы на агрегационную способность меротерпеноидов были проведены эксперименты методом ДСР с модельными соединениями (производными *n*-трет-бутилфенола) **15а-в** в водных растворах. Агрегаты, образуемые модельными производными **15а-в**, обладают меньшими гидродинамическими диаметрами (87-125 нм), в сравнении с агрегатами, образуемыми макроциклическими производными **12а-в** и **13а-в** в соответствующих концентрациях. Однако значение индекса полидисперсности в случае модельных производных выше (PDI 0.35-0.46), в отличие от макроциклических меротерпеноидов. Можно сделать вывод, что макроциклическая платформа способствует образованию более монодисперсных систем с меньшим значением индекса полидисперсности.

Однако изучить мембранотропную активность соединений **12а-г** и **13а-г** методом турбидиметрии не удалось, так как эти соединения вызывают сольubilизацию везикул ДПФХ в диапазоне концентраций макроциклов от 7×10^{-4} М до 7×10^{-7} М (при концентрации липида 7×10^{-4} М).

Таким образом, установлена способность синтезированных соединений **8а-г** самопроизвольно встраиваться в модельные мембраны ДПФХ. Величины изменения ($\Delta \sim 1.5$ - 6.5 мВ) электрокинетического потенциала везикул ДПФХ при встраивании синтезированных меротерпеноидов свидетельствуют о сохранении структуры липидного бислоя. Показано, что при соотношении меротерпеноид/ДПФХ выше 0.5:1 происходит насыщение изучаемым соединением модельных везикул без разрушения липидного бислоя. Также на основе данных, полученных методом ДСР для макроциклических меротерпеноидов **12а-г** и **13а-г**, можно сделать вывод о том, что длина терпеноидного фрагмента у синтезированных макроциклов влияет на размер образующихся частиц. Это справедливо для производных гераниола **12а**, **13а** и фарнезола **12б**, **13б**: с увеличением терпеноидного фрагмента (от C10 до C15) возрастает средний гидродинамический диаметр. Агрегаты, образуемые производными фитола (C20) **12в**, **13в**, имеют меньший, по сравнению с макроциклами, функционализированными фарнезильными (C15) фрагментами, диаметр. Скорее всего, это связано с меньшей жёсткостью терпеноидной (фитильной) цепи, которая обусловлена втрое меньшим количеством двойных связей. Также макроциклы, содержащие фрагменты фитола, образуют наиболее устойчивые агрегаты в широком диапазоне концентраций (от 1×10^{-4} М до 1×10^{-7} М) с низким индексом полидисперсности ($PDI = 0.04$).

5. Самосборка супрамолекулярных амфифилов на основе пиллар[5]арена и меротерпеноидов, содержащих пиридиниевые и имидазолиевые фрагменты

Пиллар[5]арены склонны образовывать с заряженными пиридиниевыми и имидазолиевыми фрагментами в растворах устойчивые комплексы включения. В связи с этим было предложено получить в водных растворах супрамолекулярный амфифил (Рис. 4). В качестве водорастворимой компоненты был выбран деказамещённый пиллар[5]арен **18**, а в качестве липофильного гостя – пиридиниевые и имидазолиевые соли, содержащие терпеноидный фрагмент.

Встраивание тех или иных фрагментов в полость пиллар[5]арена характеризуется смещением сигналов протонов встроенного фрагмента в область более сильных полей. При изучении взаимодействия имидазолиевых меротерпеноидов с помощью спектроскопии ЯМР ^1H было показано, что в водном растворе заряженный фрагмент не встраивается в полость, а происходит замена противоиона у пиллар[5]арена. Было решено использовать метанол, как менее полярный растворитель, для того, чтобы понизить диэлектрическую проницаемость среды и изменить тип ионного взаимодействия между макроциклом и меротерпеноидом. Однако пиллар[5]арен **18** плохо растворим в метаноле. Поэтому нами для исследования была использована смесь метанол/вода в соотношении 2:1. Анализ спектров ЯМР ^1H системы **17а/18** и меротерпеноида **17а** в смеси $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$ показал, что сигналы протонов имидазолиевого фрагмента, протонов метильной CH_3N -группы и протонов мостикового CH_2N^+ -фрагмента имеют сильнополюсный сдвиг, что указывает на встраивание имидазолиевого фрагмента в полость пиллар[5]арена и образование супрамолекулярных амфифилов по принципу «гость-хозяин». Аналогичная картина наблюдается и для фарнезильного и миртенильного производных **17б,г**. В случае же с фитильным имидазолиевым производным **17в** оказалось, что в D_2O и в $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$ происходит замена аниона в присутствии пиллар[5]арена **18**. Нам не удалось подобрать подходящие условия для образования комплекса включения в системе **17в/18**. Варьирование растворителей и температуры не привело к образованию комплекса включения **17в/18**.

Таким образом, в водных растворах производных метилимидазола **17а,б,г** в присутствии пиллар[5]арена происходит замена противоиона, а в водно-метанольных

растворах образуются супрамолекулярные амфифилы. Вероятно, это связано со стерическими особенностями имидазольного фрагмента.

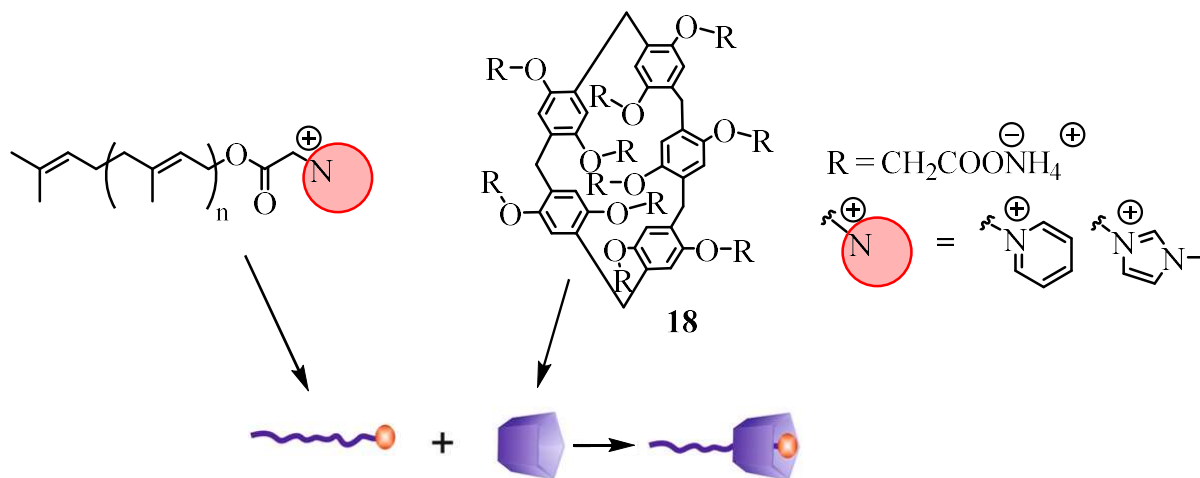


Рисунок 4. Концепция супрамолекулярных амфифилов на основе водорастворимого пиллар[5]арена **18** и амфифильных меротерпеноидов.

Помимо имидазольных солей для образования супрамолекулярных амфифилов используются более объёмные пиридиновые фрагменты. Была высказана идея, что замена имидазольного фрагмента на пиридиновый будет способствовать образованию исключительно комплексов «гость-хозяин» в водных растворах. В спектрах ЯМР ^1H в D_2O (1×10^{-3} М) системы **16a/18** и меротерпеноида **16a** были зафиксированы смещения сигналов протонов пиридинового фрагмента и сигналов протонов CH_2N^+ **16a** в область сильных полей на ~ 0.2 м.д. Это свидетельствует о встраивании пиридинового фрагмента в полость пиллар[5]арена **18** и формировании комплекса включения. Аналогичные результаты наблюдаются в спектрах соединений **16б-г** в присутствии и в отсутствие пиллар[5]арена **18**. Таким образом, более объёмный пиридиновый фрагмент синтезированных меротерпеноидов **16а-г** встраивается в полость пиллар[5]арена **18** в водных растворах с образованием супрамолекулярного амфифила по принципу «гость-хозяин».

Затем методом ДСР было проведено изучение агрегации системы **16a/18** и меротерпеноида **16a** в воде. Было показано, что при добавлении эквимольного количества пиллар[5]арена к водному раствору соединения **16a** система из полидисперсной переходит в монодисперсную с $\text{PDI} = 0.19$. При двукратном избытке макроцикла PDI уменьшился до величины 0.07, при среднем гидродинамическом диаметре 162 нм. Исследование агрегации системы **16б/18** и меротерпеноида **16б** в воде показало, что при достижении соотношения меротерпеноид/пиллар[5]арен 1:0.2 образуется монодисперсная система с $\text{PDI} = 0.15$. При этом средний гидродинамический диаметр при добавлении макроцикла увеличился на 239 нм. При достижении эквимольного соотношения меротерпеноид/пиллар[5]арен средний гидродинамический диаметр составил 374 нм, а $\text{PDI} = 0.23$. Ассоциаты геранил- и фарнезилпроизводных **16a** и **16б** предположительно имеют разную структуру: об этом свидетельствуют незначительные изменения среднего гидродинамического диаметра частиц в случае геранилпиридиновой соли, и значительные изменения среднего гидродинамического диаметра в случае фарнезилпиридиновой. Агрегаты фитилпиридиновой соли **16в** в присутствии и в отсутствие пиллар[5]арена обладают одинаковыми гидродинамическими диаметрами. По всей видимости, это связано с конформационной мягкостью фитильного фрагмента, в котором меньше двойных связей, в отличие от геранильного и фарнезильного. Размер агрегатов миртенилпиридиновой соли **16г** уменьшается при добавлении пиллар[5]арена (при концентрации 1×10^{-3} М). Это связано, по всей видимости, с тем, что не все молекулы меротерпеноида и пиллар[5]арена

объединяются в супрамолекулярный амфифил. Такое предположение подтверждается спектроскопией ЯМР ^1H .

Можно сделать вывод, что в водных растворах ациклических геранил-, фарнезилпроизводных, а также циклического миртенилпроизводного метилимидазола **17а,б,г** в присутствии пиллар[5]арена происходит замена аниона, а в водно-метанольных растворах образуются супрамолекулярные амфифилы. В случае же фитилпроизводного **17в** происходит замена аниона, как в воде, так и в водно-метанольной смеси. Подобрать условия для образования супрамолекулярного амфифила на основе фитилпроизводного нам не удалось. По всей видимости, это связано с большей липофильностью структуры на основе фитола. Также было показано, что пиридиниевый фрагмент синтезированных меротерпеноидов **16а-г** встраивается в полость пиллар[5]арена в водных растворах с образованием супрамолекулярного амфифила по принципу «гость-хозяин».

Итак, нам удалось получить супрамолекулярные амфифилы на основе синтезированных меротерпеноидов путём нековалентной самосборки с пиллар[5]ареном в различных условиях, пиридиниевых производных – в воде, а имидазольных – в водно-метанольной смеси. Образование супрамолекулярных амфифилов было подтверждено с помощью ЯМР ^1H спектроскопии, а также косвенно подтверждено методом доплеровского микроэлектрофореза.

6. Мембранотропная активность супрамолекулярных амфифилов на основе пиллар[5]арена и меротерпеноидов, содержащих пиридиниевые и имидазольные фрагменты

Далее методом турбидиметрии было изучено взаимодействие супрамолекулярных амфифилов с модельными ДПФХ везикулами. Первоначально исследовалось взаимодействие пиллар[5]арена **18** с модельной мембраной ДПФХ. Вплоть до эквимолярного соотношения пиллар[5]арен **18** / липид температура фазового перехода везикул оставалась неизменной, что свидетельствует об отсутствии каких-либо взаимодействий между макроциклом и модельными мембранами.

Исследование мембранотропной активности меротерпеноида **17г**, содержащего имидазольный фрагмент, с фосфолипидными везикулами показало, что это соединение вызывает понижение температуры фазового перехода. В качестве примера на рисунке 5 приведены зависимости температуры фазового перехода липидов от количества внесённых меротерпеноида **17г** и системы **17г/18**. Линейный характер зависимости для **17г** сохраняется вплоть до эквимолярного соотношения, после которого наблюдается насыщение везикул исследуемым веществом. Супрамолекулярный амфифил на основе **17г** и пиллар[5]арена **18** не влиял на температуру фазового перехода липида (Рис. 5), что свидетельствует об отсутствии взаимодействия супрамолекулярного амфифила **17г/18** с фосфолипидной мембраной. Аналогичным образом складывается ситуация для пиридиниевого производного миртенола – **16г**, которое вызывает линейное понижение температуры фазового перехода, а система **16г/18** не вызывает понижения температуры фазового перехода везикул.

Пиридиниевая соль **16а**, содержащая геранильный фрагмент, вызывает линейное понижение температуры фазового перехода везикул липида в зависимости от концентрации вещества вплоть до соотношения вещество / липид 0.5:1. Далее, до соотношения вещество / липид 1:1 при увеличении количества внесённого вещества **16а** температура фазового перехода остаётся неизменной, и нарушается линейная зависимость температуры фазового перехода от мольного соотношения, что свидетельствует о насыщении везикул веществом **16а**. Аналогичные исследования для системы **16а/18** показали, что в этом случае не происходит заметного понижения температуры фазового перехода везикул. Отсутствие заметного изменения температуры фазового перехода везикул ДПФХ в присутствии смесей меротерпеноид/пиллар[5]арен указывает на то, что супрамолекулярный амфифил **16а/18** находится в агрегированном состоянии. Аналогичные эксперименты для соединения **17а**

показали, что имидазолиевое производное гераниола **17a** вызывает линейное понижение температуры фазового перехода везикул, тогда как система **17a/18** не вызывает изменения температуры фазового перехода везикул, что свидетельствует об отсутствии взаимодействия супрамолекулярного амфифила **17a/18** с модельной фосфолипидной мембраной.

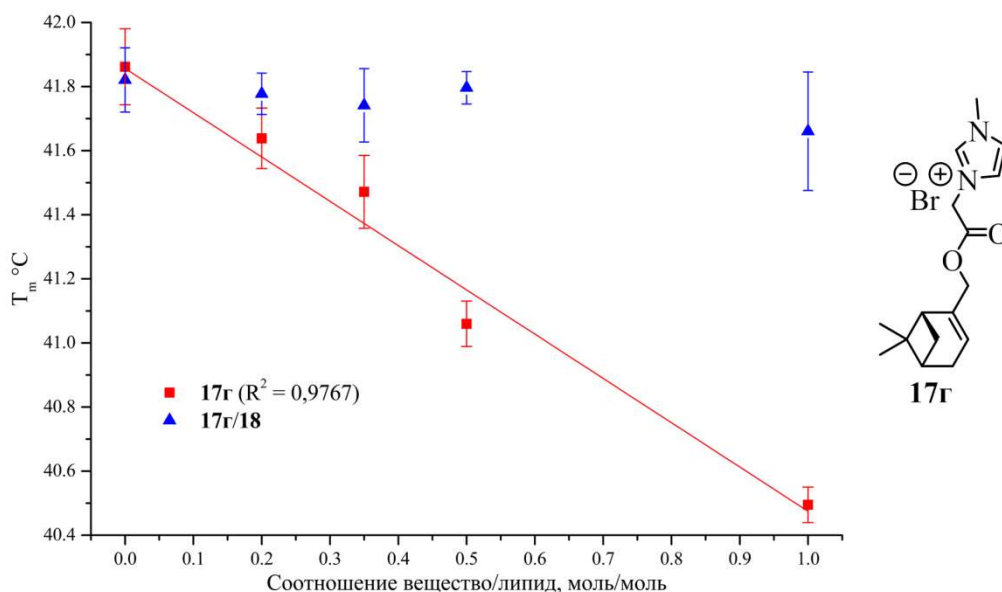


Рисунок 5. График изменения температуры фазового перехода T_m липида (ДПФХ) в зависимости от количества внесённого вещества **17г** (квадраты), и от количества внесённой эквимольной смеси **17г/18** (треугольники).

Соединения **16б,в** и **17б,в**, содержащие сесквитерпеновые (фарнезильные) и дитерпеновые (фитильные) фрагменты, вызывают сольubilизацию фосфолипидных везикул уже в соотношении вещество / липид 0.1:1, также соединения **16б,в** и **17б,в** в присутствии пиллар[5]арена **18** (соотношение 1:1) вызывали сольubilизацию липосом в мольном соотношении вещество / липид 0.1:1 и выше. Это может указывать на наличие взаимодействия супрамолекулярных амфифилов на основе синтезированных сескви- и дитерпеноидов с фосфолипидным бислоем.

Можно сделать вывод, что монотерпеноидные пиридиниевые и имидазолиевые производные, содержащие геранильный **16a** и **17a** и миртенильный **16г** и **17г** фрагменты, взаимодействуют с модельной фосфолипидной мембраной, не вызывая сольubilизации, даже после насыщения везикул исследуемым веществом. Меротерпеноиды, содержащие пиридиниевые фрагменты **16a,г**, вызывают большее понижение температуры, в отличие от аналогичных имидазолиевых производных **17a,г**. По всей видимости, это связано с большей полярностью имидазолиевого фрагмента. Также можно сделать вывод о том, что ациклические монотерпеноидные производные (с геранильным фрагментом) **16a** и **17a** вызывают большее понижение температуры фазового перехода, в отличие от аналогичных бициклических монотерпеноидных (с миртенильным фрагментом) **16г** и **17г**. Скорее всего, это связано с объёмом липофильного заместителя: геранильный фрагмент, имеющий практически линейное строение, может эффективнее встраиваться между ацильных цепочек липида, в отличие от бициклического фрагмента миртенола.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведённых исследований сделаны следующие выводы:

1) Синтезировано 25 новых короткоцепочечных аналогов липидов архей на основе аминоклициринов и гераниола и макроциклических меротерпеноидов на платформе тиакаликс[4]арена в конфигурациях конус и 1,3-альтернат. Структура полученных

соединений подтверждена комплексом физических методов (ЯМР ^1H , ^{13}C , и ИК-спектроскопией, масс-спектрометрией (ESI) высокого разрешения), а состав – элементным анализом.

2) Разработаны подходы к синтезу ряда новых немакроциклических меротерпеноидов на основе аминоклициринов и гераниола, основанные на образовании фрагментов простых эфиров.

3) Установлено, что для нивелирования протекания побочных реакций (изомеризации и олигомеризации терпеноидных фрагментов) в реакции Меншуткина с изученными реагентами необходимо использовать температуру не выше 35°C .

4) Разработаны методики синтеза меротерпеноидов на основе пиридина или метилимидазола, содержащих фрагменты терпеновых спиртов (гераниола, миртенола, фарнезола и фитола), и получен ряд новых амфифильных меротерпеноидов.

5) Показано, что синтезированные аминоклицириды встраиваются в фосфолипидный бислой вплоть до соотношения вещество/липид 0.5:1, при дальнейшем насыщении исследуемым веществом везикул не происходит солюбилизации последних.

6) Разработаны подходы к созданию супрамолекулярных амфифилов на основе комплексов включения по принципу «гость-хозяин» немакроциклических меротерпеноидов с пиллар[5]ареном. Образование супрамолекулярных амфифилов подтверждено методами одномерной и двумерной спектроскопии ЯМР. Установлено, что природа монотерпеноидного фрагмента в синтезированных пиридиновых и имидазольных производных оказывает существенное влияние на способность взаимодействовать с фосфолипидными везикулами: в случае фрагментов гераниола и миртенола происходит встраивание в бислой, а для сескви- и дитерпеноидных (фарнезол и фитол) фрагментов наблюдается солюбилизация везикул при концентрации 7×10^{-5} М и выше.

7) Установлено, что синтезированные макроциклические меротерпеноиды образуют монодисперсные системы в водном растворе в диапазоне концентраций от 1×10^{-4} до 1×10^{-7} М с индексом полидисперсности вплоть до значений $\text{PDI} = 0.04$ и гидродинамическим диаметром 112-200 нм, а также вызывают солюбилизацию фосфолипидных везикул ДПФХ (концентрация липида 7×10^{-4} М) в этом концентрационном диапазоне.

8) Установлено, что супрамолекулярные амфифилы на основе немакроциклических меротерпеноидов, содержащих пиридиновые или имидазольные фрагменты, образуют в водных и водно-метанольных растворах монодисперсные агрегаты с индексом полидисперсности вплоть до $\text{PDI} = 0.1$ в диапазоне концентраций от 1×10^{-3} до 1×10^{-5} М. Установлено, что супрамолекулярные амфифилы на основе немакроциклических меротерпеноидов (содержащих пиридиновые или имидазольные фрагменты) не взаимодействуют с фосфолипидным бислоем в диапазоне концентраций от 7×10^{-4} до 7×10^{-5} М (при концентрации липида 7×10^{-4} М).

Введение терпеноидных фрагментов в структуру различных соединений, в том числе и макроциклических, позволило увеличить сродство конструируемых наноконтейнеров к липидному бислою. Стоит отметить, что варьирование заместителей в полифункциональных пара- и метациклофанах (тиакаликс[4]аренах и пиллар[5]аренах) позволило получить серию новых амфифильных производных макроциклов, способных к самоассоциации и самоагрегации в воде и в буферных растворах.

Объединение уникальных характеристик макроциклических и терпеновых производных может найти применение при конструировании систем стабилизации и направленного транспорта терапевтических агентов, что будет способствовать решению ряда проблем, связанных с применением различных фармацевтических препаратов для лечения тех или иных заболеваний.

Основное содержание работы отражено в следующих публикациях

1. **Akhmedov, A.A.** Water-soluble meroterpenes containing an aminoglyceride fragment with geraniol residues: synthesis and membranotropic properties / A.A. Akhmedov, D.N. Shurpik, V.V. Plemenkov, I.I. Stoikov // *Mendeleev Communications*. – 2019. – V. 29. – P.29-31.
2. Plemenkov, V.V. Progress in studies on meroterpenoids / V.V. Plemenkov, D.N. Shurpik, **A.A. Akhmedov**, J.B. Puplampu, I.I. Stoikov // *Studies in Natural Products Chemistry*. – 2020. – V. 64. – P.181-216.
3. **Ахмедов, А.А.** Синтетические меротерпеноиды на основе терпеновых спиртов: синтез, самосборка и мембранотропные свойства. / А.А. Ахмедов, Д.Н. Шурпик, З.Р. Латыпова, Р.Р. Гамиров, И.И. Стойков // *Бутлеровские сообщения*. – 2020. – Т.63. – №7. – С.11-18.
4. Shurpik, D.N. Progress in the Chemistry of Macrocyclic Meroterpenoids / D.N. Shurpik, **A.A. Akhmedov**, P.J. Cragg, V.V. Plemenkov, I.I. Stoikov // *Plants*. – 2020. – V.9 – I.11 – Reg. 1582.
5. Padnya, P.L. Thiocalixarene based quaternary ammonium salts as promising antibacterial agents / P.L. Padnya, O.S. Terenteva, **A.A. Akhmedov**, A.G. Iksanova, N.V. Shtyrlin, E.V. Nikitina, E.S. Krylova, Yu.G. Shtyrlin, I.I. Stoikov // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. – 2021. – V.29. – Reg. 115905.
6. **Ахмедов, А.А.** Дизайн амфифильных аминоглицеридов, содержащих фрагменты гераниола, и изучение их мембранотропных свойств / А.А. Ахмедов, Д.Н. Шурпик // Материалы IX научной конференции молодых ученых "Инновации в химии: достижения и перспективы – 2018". – М.: Издательство «Перо», 2018. – С. 514.
7. **Ахмедов, А.А.** Дизайн мембранных якорей на платформе амфифильных триглицеридов, содержащих аммониевую группу и фрагменты гераниола / А.А. Ахмедов, Д.Н. Шурпик, И.И. Стойков // Структура и динамика молекулярных систем: Сб. тезисов докладов и сообщений на XXV Всерос. конф. – Йошкар-Ола: ПГТУ, 2018. – С. 12.
8. **Ахмедов, А.А.** Амфифильные самособирающиеся терпеноидные структуры на платформе тиакаликс[4]арена / Ахмедов А.А., Шурпик Д.Н., Падня П.Л. // Материалы XXVI Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2019», секция «Химия». – М.: Издательство "Перо", 2019. – 70 Мб. [Электронное издание], 2019 – С. 489.
9. **Akhmedov, A.A.** Merterpenoids, archaeal lipid analogues: synthesis and membrane-forming properties / Akhmedov A.A., Shurpik D.N., Stoikov I.I. // Interaction: from cell to human: abstract book of the Russian-German partnership agreement between the Justus Liebig University (Giessen) and Kazan (Volga region) Federal University, May 20-24, 2019. – Kazan: Publishing House of Kazan University, 2019. – P. 34.
10. **Akhmedov, A.A.** Amphiphilic self-assembling structures on the thiacalix[4]arenes platform containing terpenoid fragments / Akhmedov A.A., Shurpik D.N., Padnya P.L., Stoikov I.I. // Book of abstracts contains theses of plenary, oral and poster presentations which were presented on Mendeleev 2019, the XI International Conference on Chemistry for Young Scientists. – St. Petersburg, 2019. – 15 Мб. [Электронное издание], 2019. – P. 220.
11. **Ахмедов, А.А.** Супрамолекулярные контейнеры на платформе пиллар[5]арена, содержащие терпеноидный фрагмент: нековалентная самосборка / Ахмедов А.А., Шурпик Д.Н., Стойков И.И. // Биохимия – основа наук о жизни [Электронный ресурс]: материалы 2-ой Всероссийской школы-конференции молодых ученых (Казань, 7-9 ноября 2019 г.)/ под ред.З.И.Абрамовой, Н.И.Акберовой. – Электрон.текстовые данные (1 файл: 20,25 МБ). – Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2019. – С. 84-86.
12. **Ахмедов, А.А.** Дизайн меротерпеноидов на основе терпенолов и циклофанов, изучение самосборки и мембранотропных свойств / А.А. Ахмедов, П.Л. Падня, Д.Н. Шурпик, И.И. Стойков // Материалы XXVII Международной научной конференции студентов,

аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2020», секция «Химия». – М.: Издательство «Перо», 2020. – С. 694.

13. Гамиров, Р.Р. Амфифильные макроциклы на основе фитола и тиакаликс[4]аренов: синтез и изучение ассоциации / Р.Р. Гамиров, **А.А. Ахмедов**, П.Л. Падня, Д.Н. Шурпик, И.И. Стойков // Материалы XXVII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2020», секция «Химия». – М.: Издательство «Перо», 2020. – С. 731.

14. **Ахмедов, А.А.** Синтетические меротерпеноиды на основе терпеновых спиртов и циклофанов: синтез, самосборка и мембранотропные свойства / А.А. Ахмедов, П.Л. Падня, Д.Н. Шурпик, И.И. Стойков // Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии: Материалы очных докладов Международной научной конференции (18-21 ноября 2020 г., Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия) / под ред. Т. В. Глухаревой, Ю. И. Нейн, Т. А. Поспеловой, В. А. Бакулева. – Екатеринбург: ИЗДАТЕЛЬСТВО АМБ, 2020. – С. 199-201.