

УДК 547.541.3, 547.542.7

DOI: 10.34824/VKNPIRAN.2022.10.2.013

## ПРОИЗВОДНЫЕ НОРБОРНЕНА В КАЧЕСТВЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

© Мамедбейли Эльдар Гусейнгулу оглу (a), Гасанов Ариф Гасан оглу (b),  
Аюбов Ильгар Гаджи оглу (c), Гаджиева Гюльсум Энвер гызы (d),  
Гурбанова Фидан Сахиб гызы (e)

- (a) Институт Нефтехимических процессов НАН Азербайджана, Азербайджан, г. Баку; доктор хим. наук, зав. лаб. «Изучение антимикробных свойств и биоповреждений» ИНХП НАНА, eldar\_mammadbeyli@mail.ru
- (b) Институт Нефтехимических процессов НАН Азербайджана, Азербайджан, г. Баку; доктор химических наук, профессор, зав. лаб. «Циклоолефины» ИНХП НАНА, заслуженный деятель науки Азербайджанской Республики, aqasanov@mail.ru
- (c) Институт Нефтехимических процессов НАН Азербайджана, Азербайджан, г. Баку; д.х.н., вед.н.с. лаб. «Циклоолефины», ilgar.ayubov@mail.ru
- (d) Институт Нефтехимических процессов НАН Азербайджана, Азербайджан, г. Баку; к.х.н., вед. н.с. лаб. «Изучение антимикробных свойств и биоповреждений» ИНХП НАНА, gulsum.mete@mail.ru
- (e) Институт Нефтехимических процессов НАН Азербайджана, Азербайджан, г. Баку; н.с. лаб. «Циклоолефины», fidanqurbanzadeh@mail.ru

**Аннотация.** В представленной статье рассмотрены результаты научных исследований в области применения норборнена и его различных функционально замещенных производных в качестве лекарственных препаратов. Показано, что норборненсодержащие соединения могут быть использованы в фармакологии и медицинской практике не только в качестве лекарственных средств, но и наноразмерных носителей для доставки лекарств. В статье также отражены результаты собственных исследований авторов, в частности в области получения моноэфиров норборнендикарбоновой кислоты, синтезированных как в рацемической, так и в хиральной форме на основе классической и асимметрической реакции Дильса-Альдера с участием циклопентадиена и неполных эфиров малеиновой кислоты. Показано, что синтезированные соединения обладают высокой антимикробной и антифунгальной активностью в отношении различных патогенных микроорганизмов. Результаты исследований показывают, что полученные нами производные норборнена могут быть рекомендованы для применения в качестве местных антисептических препаратов.

**Ключевые слова:** норборнен, лекарственные препараты, моноэфиры норборнендикарбоновой кислоты, микроорганизмы, грамм-положительные бактерии.

NORBORNENE DERIVATIVES AS MEDICINES DRUGS

© **Mammadbayli Eldar Khuseyngulu (a), Gasanov Arif Gasan (b), Ayubov Ilgar Khaji (c), Khajiyeva Gulsum Enver (d), Qurbanova Fidan Sahib (e)**

(a) Institute of Petrochemical Processes of the National Academy of Sciences of Azerbaijan, Azerbaijan, Baku; doctor of chem. sciences, head of lab. "Study of antimicrobial properties and biodamages" Institute of Petrochemical Processes of the National Academy of Sciences of Azerbaijan, eldar\_mammadbeyli@mail.ru

(b) Institute of Petrochemical Processes of the National Academy of Sciences of Azerbaijan, Azerbaijan, Baku; doctor of chem. sciences, head of lab. "Cycloolefins" Institute of Petrochemical Processes of the National Academy of Sciences of Azerbaijan, aqasanov@mail.ru

(c) Institute of Petrochemical Processes of the National Academy of Sciences of Azerbaijan, Azerbaijan, Baku; Leading researcher lab. "Cycloolefins",  
ilgar.ayubov@mail.ru

(d) Institute of Petrochemical Processes of the National Academy of Sciences of Azerbaijan, Azerbaijan, Baku; Ph.D. Leading researcher lab. "Study of antimicrobial properties and bio-damage" Institute of Petrochemical Processes of ANAS, gulsum.mete@mail.ru

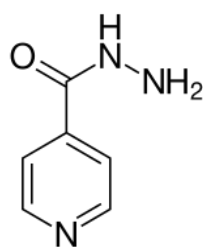
(e) Institute of Petrochemical Processes of the National Academy of Sciences of Azerbaijan, Azerbaijan, Baku; researcher of lab. "Cycloolefins",  
fidanqurbanzadeh@mail.ru

**Abstract.** The presented article discusses the results of scientific research in the field of application of norbornene and its various functionally substituted derivatives as medicines. It has been shown that norbornene-containing compounds can be used in pharmacology and medical practice not only as drugs, but also as nanoscale carriers for drug delivery. The article also reflects the results of the authors' own research, in particular, in the field of obtaining monoesters of norbornenedicarboxylic acid, synthesized both in racemic and chiral forms based on the classical and asymmetric Diels-Alder reaction involving cyclopentadiene and partial esters of maleic acids. It has been shown that the synthesized compounds have high antimicrobial and antifungal activity against various pathogenic microorganisms. The research results show that norbornene derivatives obtained by us can be recommended for use as local antiseptic preparations.

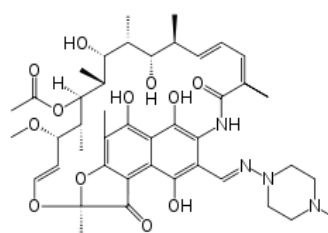
**Key words:** norbornene, drugs, norbornene dicarboxylic acid monoesters, microorganisms, gram-positive bacteria.

**Введение.** Производные норборнена имеют структурное сходство с многочисленными представителями природных соединений терпенового ряда и входят в состав некоторых лекарственных препаратов. Литературные сообщения приводят к выводу о наличии фармакологических (анальгетических, гипоксических, транквилизирующих, противосудорожных и др.) свойств норборненового фрагмента производных бицикло [2.2.1]-гепт-2-енового ряда. Наличие жестко закрепленных в пространстве заместителей у норборненовых производных создает благоприятные условия для использования этих соединений в качестве модели при изучении взаимосвязи между биологической активностью и структурой соединений. Норборненосодержащие соединения могут быть также использованы в качестве

носителей для лекарственных препаратов (пролекарства). Так, целью работы [8] было сравнение антимикробной и антифунгальной активности сополимеров изониазида и рифампицина с норборненом с простыми изониазидом и рифампицином, выявление роли наночастиц норборненового фрагмента в усилении этой активности. Содержание изониазида и рифампицина соответственно составляло 34 и 75 %. В качестве среды для микобактерий использовали бульон Миддлбука, в качестве тест-культуры использовали штамм *ТБ (МТБ) H37Rv*. Авторы определяли МИК (минимальную ингибирующую концентрацию) предложенных препаратов. Экспериментально было установлено, что МИК для сополимера норборнена и изониазида составила 0,05 мкг/мл, а для сополимера норборнена с рифампицином она составила 0 % мкг/мл. с Миддлбука. Авторы показали, что наночастицы норборнена не изменяют функциональную активность исходных препаратов, что создает прелпосылки для его использования в качестве нового носителя для лечения туберкулеза. На рис. 1. представлено химическое строение изониазида и рифампицина.



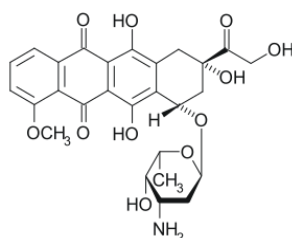
изониазид



рифампицин

**Рис. 1.** Химическое строение изониазида и рифампицина

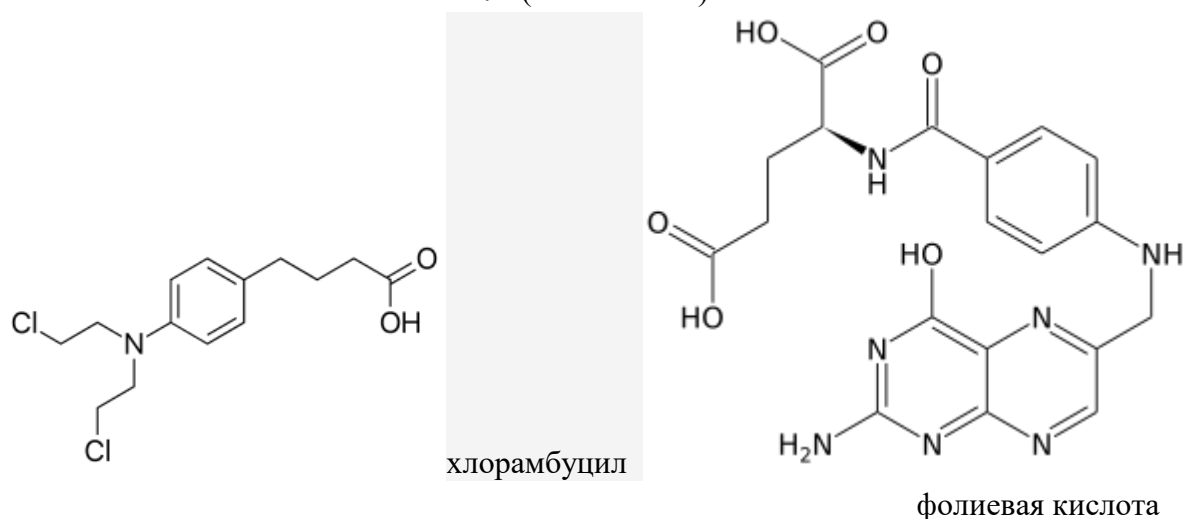
В работе [4] описана метатезисная полимеризация с раскрытием цикла для получения блок-сополимера на основе доксорубина, полиэтиленгликоля и производных норборнена, а также свойства полученного полимера. Тщательный дизайн этих конъюгатов демонстрирует хорошо защищенные фрагменты лекарственного средства, хорошую растворимость в воде и в другой биологической среде, а также способностью к высвобождению лекарств при изменении рН-среды (в умеренной кислой среде). Такая среда напоминает рН раковых клеток и в этом процессе большую роль играет лекарства, содержащие гидразоновой линкер. Физико-химические методы анализа показали, что мицеллы синтезированного сополимера легко могут усваиваться живыми клетками и обладают высокой противораковой активностью в отношении раковых клеток (анализ МТТ). Результаты, полученные в ходе проведенных исследований, демонстрируют, что эти полимерные мицеллы имеют большое применение в биомедицине, и являются многообещающими носителями для внутриклеточной запускаемой рН доставки гидрофобных противоопухолевых препаратов



доксорубин

**Рис. 2.** Химическое строение доксорубина

Чувствительный к раздражителям наноноситель был синтезирован в работе [9] путем конъюгации доксорубина, хлорамбуцила, фолиевой кислоты с основной цепью норборненового полимера. Мономеры, а именно конъюгат норборнена с доксорубицином (1), норборнена с хлорамбуцилом (2) и поли(этиленгликоль)-фолат с привитым норборненом (3), соединены с основной цепью норборнена сложноэфирными связями, для возможности контроля рН среды. Предложенные наноносители были исследованы для применения в химиотерапии рака. В предложенном авторами наноносителе исходные мономерные фрагменты конъюгированы с одним и тем же полимером. Наличие ПЭГ-ФОЛ функциональности делает систему водорастворимой, а также адаптированной к конкретному месту. Возможности наноносителей проверяются методами динамического светорассеяния, а также методами электронной микроскопии. Отмечается, что высвобождение лекарства связано с наличием сложноэфирных связей, позволяющих регулировать рН среды. В условиях умеренно кислой среды предложенный наноноситель проявляет высокую противоопухолевую активность в отношении клеток *4T* (анализ МТТ).



**Рис. 3.** Химическое строение хлорамбуцила и фолиевой кислоты.

В работе [6] по реакции метатезисной полимеризации с раскрытием цикла был синтезирован поли(норборнен-метиламин), аналог хитозана. Аминозащищенный продукт, 5-норборнен-2-(N-метил) фталимид, получали реакцией 5-норборнен-2-метиламина с фталевым ангидридом, который затем подвергали реакции ROMP в присутствии катализатора Ховейды второго поколения с получением поли(норборнен-(N-метил) фталимида). Целевой продукт – поли(норборнен-метиламин) получали реакцией снятия защиты с поли(норборнен-(N-метил) фталимида). Продукты на каждом этапе характеризовали с помощью FTIR и <sup>1</sup>H-ЯМР, а их термическую стабильность определяли с помощью ТГ-анализа. Влияние молярного соотношения между мономером ( $[M]/[I]$ ) и катализатором на среднюю относительную молекулярную массу ( $M_n$ ) и молекулярно-массовое распределение полученных полимерных продуктов определяли с помощью гель-проникающей хроматографии (ГПХ). Было обнаружено, что  $M_n$  поли(норборнен-(N-метил)-фталимида) можно контролировать и он имеет узкий индекс полидисперсности (PDI) (~1,10). Условия синтеза 5-норборнен-2-(N-метил) фталимида оптимизировали путем определения выхода при различных

температурах реакции и времени реакции. Наибольший выход был получен при температуре реакции 130°C и времени реакции 20 мин. Эта работа предлагает новую стратегию синтеза полимеров с контролируемой структурой и свободными группами -NH<sub>2</sub> с помощью ROMP.

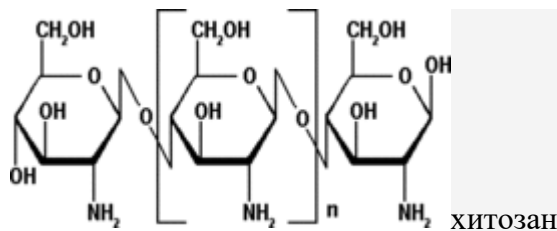


Рис. 4. Химическое строение хитозана

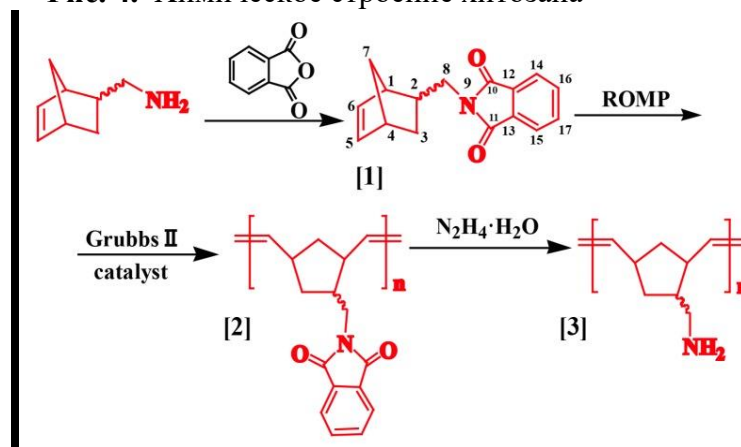
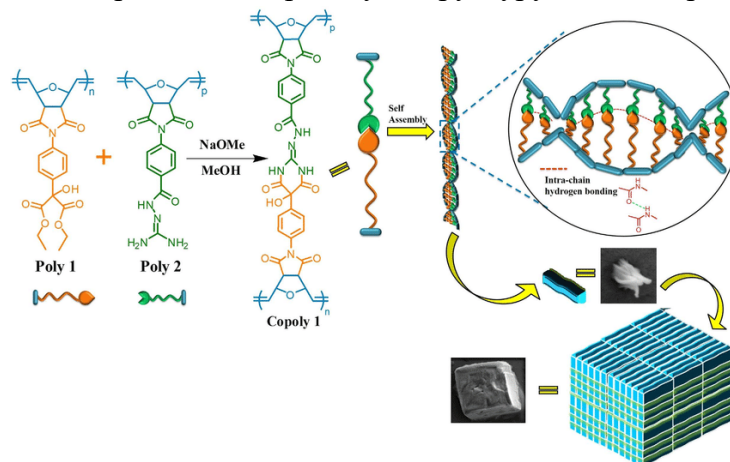


Схема 1. Синтез и метатетзская полимеризация 5-норборнен-2-(N-метил) фталимида.

Сообщается [3], что в 2015 году 9,6 миллиона человек во всем мире заболели туберкулезом и 1,5 миллиона человек умерли от этой болезни. Это исследование направлено на оценку антимикробной и антифунгальной активности сополимера INH, полученного из норборнена (NOR), с полиэтиленгликолем (NOR-полиэтиленгликоль [PEG]-INH), новым наноносителем, наряду с противотуберкулезным препаратом с использованием репортерных фагов люциферазы (LRP). INH, полученный из NOR, составляет 74% INH, 24% NOR и 2% PEG. контрольный штамм H37Rv, чувствительный и резистентный штамм *Mycobacterium*. Активность препарата *in vitro* оценивали методом абсолютной концентрации. Устойчивый штамм оценивали с использованием анализа LRP для наблюдения за минимальной ингибирующей концентрацией лекарственного средства. Снижение количества световых единиц наблюдалось для резистентного штамма, подвергнутого раздельному воздействию простого INH и NOR-PEG-INH. 24% сокращение наблюдалось у штаммов, подвергшихся воздействию простого INH, тогда как снижение на 37% наблюдалось у штаммов, подвергнутых воздействию NOR-PEG-INH. Авторы заключили, что изониазид на основе NOR обладал лучшей антимикобактериальной (противогрибковой и противомикробной) активностью по сравнению с простым изониазидом и риффом. Повышается антимикобактериальная активность изониазида и рифампицина даже при очень низкой дозировке конъюгата NOR.

Новая серия спиральных сополимеров, полученных из норборнена, была синтезирована путем сочетания двух гомополимеров с помощью молекулярного подхода и использо-

вана в качестве носителя для доставки лекарственных препаратов [7]. Спиральность определяется нековалентными взаимодействиями, такими как водородные связи,  $\pi$ - $\pi$ -укладка и влияние гидрофобных и гидрофильных мотивов. Подробная характеристика сополимера была предоставлена, и суперструктуры подтверждены с помощью динамического светорассеяния, сканирующей электронной микроскопии и просвечивающей электронной микроскопии. Наблюдаемый размер агрегатов составлял около 200 нм. Теория функционала плотности поддерживает формирование предлагаемой структуры. Измерение кругового дихроизма подтвердило одностороннюю спиральную структуру сополимера.



**Схема 2.** Синтез спиральных сополимеров на основе норборнена.

Отмечается [5], что цифровой мир, в котором мы живем сегодня, наполнен инновациями и передовыми технологиями, но все же роль медицинских секторов в профилактике инфекционных заболеваний, таких как туберкулез, невелика. Одна из передовых технологий, (нанотехнология) выполняют ключевую роль в проведении исследований по диагностике и лечению туберкулеза, что способствует поиску и разработке новых высококачественных лекарственных препаратов. Настоящее исследование было направлено на оценку производного норборнена полимера изониазида Co (NOR-PEG-INH) и производного норборнена полимера Rifampicin Co (NOR-PEG-RIF), нового наночастителя вместе с лекарством от туберкулеза с направленной доставкой лекарства и более длительной биодоступностью. Наночаститель вместе с лекарственным препаратом и их свойства были изучены методом ковалентного связывания. Активность препарата *in vitro* оценивали с использованием метода абсолютной концентрации для наблюдения за ингибирующей концентрацией (МПК) препарата в отношении контрольного штамма микобактерий туберкулеза (МТВ) H37Rv и клинических изолятов микобактерий туберкулеза из образцов пациентов. Результаты показали, что NOR-ПЭГ-ИНГ и NOR-ПЭГ-РИФ, наночастители изониазида и рифампицина, способны демонстрировать более низкую МИК для ингибирования микобактерий туберкулеза.

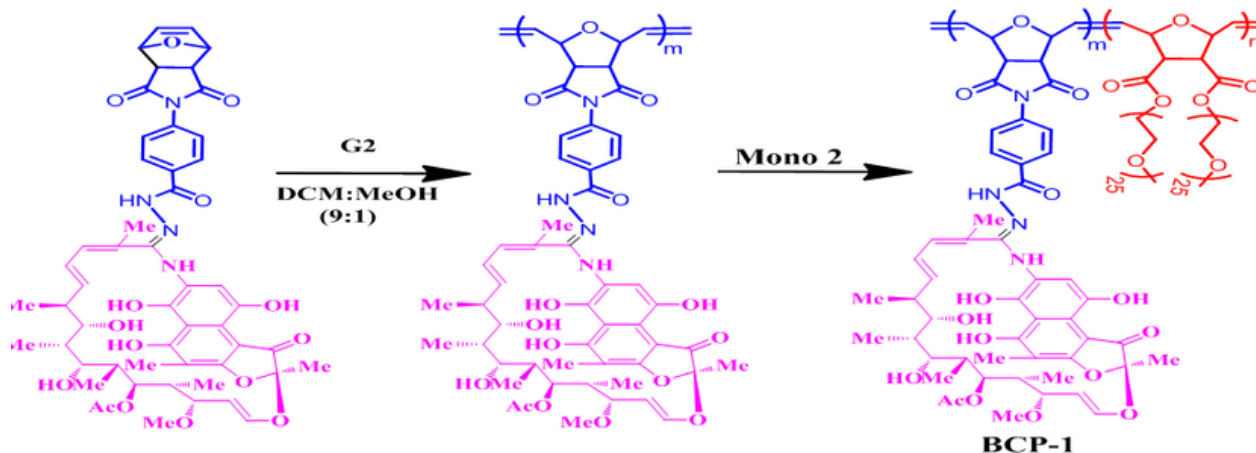
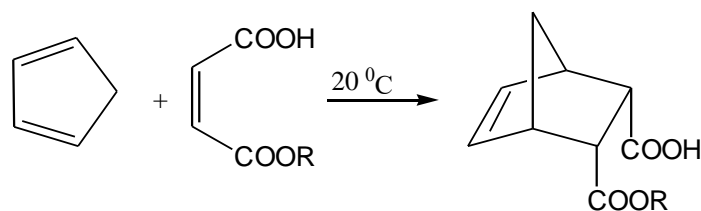


Схема 3. Синтез новых сополимеров на основе изониазида и рифампицина

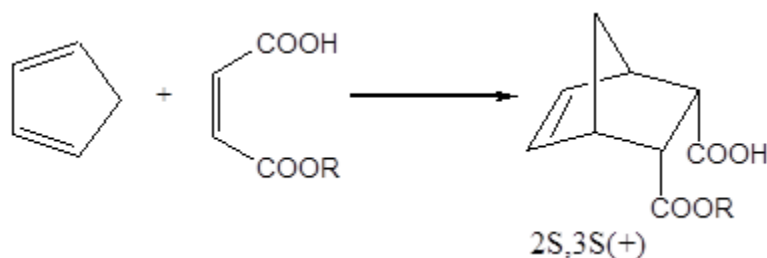
В продолжении исследований в области синтеза и изучения свойств функционально-замещенных производных норборнена нами [1,2] были получены рацемические и хиральные формы моноэфиров эндиковой кислоты по схеме 4:



R = n-Pr, i-Pr, n-Bu

Схема 4. Синтез рацемических моноэфиров эндиковой кислоты

На основе асимметрической реакции диенового синтеза в присутствии хирального катализатора (комплекса хлорида алюминия с природным ментолом) осуществлен синтез хиральных форм полученных моноэфиров по схеме:



катализатор\* -  $\text{AlCl}_2\text{OMent}$   
 растворитель -  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$   
 температура -  $-40$  до  $+20^\circ\text{C}$ .

Схема 5. Асимметрический синтез хиральных моноэфиров эндиковой кислоты

**Материалы и методы.** В качестве тест-культур были использованы грамм-положительные (золотистый стафилококк), грамм-отрицательные (кишечная палочка, синегнойная палочка) микроорганизмы, а также дрожжеподобные грибы рода Кандида.

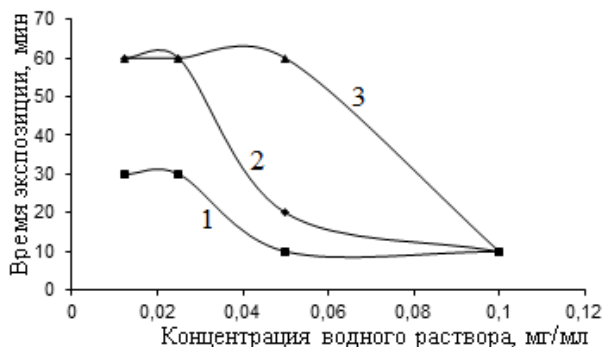
Изучение антимикробной активности вышеуказанных соединений проводились на примере изо-пропилового моноэфира норборнендикарбоновой кислоты в сравнении с кон-



трольными препаратами (этанол, риванол, хлорамин, карболовая кислота), широко применяемыми в медицинской практике. Для этого использовали дисперсионно-контактный метод, т.е. метод серийных разведений. Мясо-пептонный агар использовали в качестве среды для бактерий (рН 7.2–7.4), среду Сабуру использовали в качестве среды для грибов.

**Результаты и их обсуждение.** Построена графическая зависимость в координатах: концентрация водного раствора (мг/мл) – время экспозиции (мин).

На рис. 5 показана графическая зависимость времени экспозиции от концентрации водных растворов изопропилового моноэфира эндиновой кислоты и контрольного препарата на примере этилового спирта в отношении золотистого стафилококка.



**Рис. 5.** Сравнение антимикробной активности оптически активного (1) и рацемического (2) изопропилового моноэфира эндиновой кислоты и этилового спирта (контроля) (3) в отношении золотистого стафилококка

Как видно из рис. 5, при низких концентрациях хиральный изопропиловый моноэфир эндиновой кислоты более активен, чем его рацемический аналог и контрольный препарат, тогда как при степени разведения 1:100 активности анализируемых соединений и контрольного препарата одинаковы и время экспозиции для всех испытываемых образцов составляет 10 минут. Это говорит о том, что оптически активный изопропиловый моноэфир является более активным соединением в отношении золотистого стафилококка, чем сравниваемые с ним соединения.

Аналогичная картина наблюдается в отношении других патогенных микроорганизмов.

**Выводы.** На основании проведенных испытаний можно заключить, что хиральный изопропиловый моноэфир является более активным в отношении вышеуказанных микроорганизмов, чем его рацемический аналог и контрольный препарат на примере этилового спирта. Показано, что при концентрации 0,1 % хиральный изомер оказывает губительное воздействие на микроорганизм уже в течение 10 минут, тогда как при этой же концентрации рацемический изомер и контрольный препарат затрачивают около часа.

Таким образом, норборненсодержащие соединения на примере синтезированных моноэфиров эндиновой кислоты обладают высокой биологической активностью в отношении различных патогенных микроорганизмов и способны оказывать антимикробное и антифунгальное действие на указанные микроорганизмы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Синтез и применение моноэфиров циклогексен- и бицикло (2.2.1)-гепт-5-ен-2,3-дикарбоновой кислоты. / Бабаева Р.З. [и др.] // Журнал Органической Химии. 2008. Т. 44. № 12. С. 1782-1785.



2. Диены C5 фракции пиролиза в термических и каталитических реакциях (4+2)-циклоприсоединения. / Гасанов А.Г. [и др.] // Нефтехимия. 2013. Т. 53. № 1. С. 58-63.
3. Luciferase reporter Mycobacteriophages for evaluating norbornene-based antituberculosis drug susceptibility testing on Mycobacterium tuberculosis / Kalaiselvi K [et al.] // Asian Journal on Pharmaceutical and Clinical Research. 2017. Vol. 10. N 9. P. 406-408.
4. Enhancing antimycobacterial activity of isoniazid and rifampicin incorporated norbornene nanoparticles / Kumarasingam K [et. al] // Inter. Journal Mycobacteriol. 2018. Vol. 7. N 1. Pp. 84-88.
5. Kumarasingam K., Babu M., Gomathi N.S. Antimycobacterial Activity of Norbornene-Polyethylene Glycol, Isoniazid and Rifampicin Nanocarrier towards Mycobacterium tuberculosis // International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 2016. Vol. 5. N 8. Pp. 394-401.
6. Synthesis of Poly(norbornene-methylamine), a Biomimetic of Chitosan, by Ring-Opening Metathesis Polymerization (ROMP) / Li N. [et. al.] // Mar. Drugs. 2017. Vol. 15. N 7. Pp. 223-230.
7. Mane S., Sathyan A., Shunmugam R. Synthesis of Norbornene Derived Helical Copolymer by Simple Molecular Marriage Approach to Produce Smart Nanocarrier // Scientific Reports. 2017. Vol. 7. N 1. Pp. 44857-44862.
8. Norbornene Derived Doxorubicin Copolymers as Drug Carriers with pH Responsive Hydrazone Linker / Vijayakameswara R [et. al.] // Biomacromolecules. 2012. Vol. 13. N 1. Pp. 221-230.
9. Smart nanocarrier from norbornene based triblock copolymers for the sustained release of multi-cancer drugs / Vijayakameswara R [et. al.] // RSC Advances. 2014. Vol. 4. N 85. Pp. 45625-45634.

#### REFERENCES

1. Synthesis and application of cyclohexene- and bicyclo (2.2.1)-hept-5-en-2,3-dicarboxylic acid monoesters. / Babaeva R.Z. [et al.] // Journal of Organic Chemistry. 2008. V. 44. No. 12. Pp. 1782-1785.
2. C5 dienes of the pyrolysis fraction in thermal and catalytic (4+2)-cycloaddition reactions. / Gasanov A.G. [and others] // Petrochemistry. 2013. V. 53. No. 1. Pp. 58-63.
3. Luciferase reporter Mycobacteriophages for evaluating norbornene-based antituberculosis drug susceptibility testing on Mycobacterium tuberculosis / Kalaiselvi K [et al.] // Asian Journal on Pharmaceutical and Clinical Research. 2017. Vol. 10. N 9. P. 406-408.
4. Enhancing antimycobacterial activity of isoniazid and rifampicin incorporated norbornene nanoparticles / Kumarasingam K [et. al] // Inter. Journal Mycobacteriol. 2018. Vol. 7. N 1. Pp. 84-88.
5. Kumarasingam K., Babu M., Gomathi N.S. Antimycobacterial Activity of Norbornene-Polyethylene Glycol, Isoniazid and Rifampicin Nanocarrier towards Mycobacterium tuberculosis // International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 2016. Vol. 5. N 8. Pp. 394-401.
6. Synthesis of Poly(norbornene-methylamine), a Biomimetic of Chitosan, by Ring-Opening Metathesis Polymerization (ROMP) / Li N. [et. al.] // Mar. Drugs. 2017. Vol. 15. N 7. Pp. 223-230.

7. Mane S., Sathyan A., Shunmugam R. Synthesis of Norbornene Derived Helical Copolymer by Simple Molecular Marriage Approach to Produce Smart Nanocarrier // Scientific Reports. 2017. Vol. 7. N 1. Pp. 44857-44862.
8. Norbornene Derived Doxorubicin Copolymers as Drug Carriers with pH Responsive Hydrazone Linker / Vijayakameswara R [et. al.] // Biomacromolecules. 2012. Vol. 13. N 1. Pp. 221-230.
9. Smart nanocarrier from norbornene based triblock copolymers for the sustained release of multi-cancer drugs / Vijayakameswara R [et. al.] // RSC Advances. 2014. Vol. 4. N 85. Pp. 45625-45634.