

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук
(УФИЦ РАН)

Уфимский Институт химии - обособленное структурное подразделение Федерального
государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального
исследовательского центра Российской академии наук
(УФИХ УФИЦ РАН)

На правах рукописи

Загитов Вадим Венерович

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ
ПРОСТАНОИДОВ С АРОМАТИЧЕСКИМ ФРАГМЕНТОМ

04.06.01 – Химические науки
02.00.03 – Органическая химия

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД

Уфа – 2022

Работа выполнена в Уфимском Институте химии – обособленном структурном подразделении Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук

Научный руководитель:

Мифтахов Мансур Сагарьярович

доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией синтеза низкомолекулярных биорегуляторов Уфимского Института химии – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук

Рецензенты

Яковлева Марина Петровна

доктор химических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории биорегуляторов насекомых Уфимского Института химии – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук

Фаттахов Альберт Ханифович

кандидат химических наук, доцент кафедры органической и биоорганической химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный университет»

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Простагландины являются физиологически важными мессенджерами, без которых невозможно нормальное функционирование живого организма. Они содержатся в подавляющем большинстве тканей и клеток животных и человека. Природные простагландины находят применение в терапии язвенных патологий, в офтальмологии, лечении сердечно-сосудистых болезней и в гинекологии. Так, простагландины PGE₂ и PGF_{2α} используются для подготовки к родам и регуляции родовой деятельности у женщин.

Отличительной особенностью простагландинов, называемых также локальными гормонами, является их низкая стабильность из-за быстрого метаболического распада *in vivo*. Целенаправленные изменения в структуре молекулы простагландина, а именно ω-цепи позволяет значительно увеличить общую стабильность молекулы, как следствие время ее неизменного пребывания в организме, а значит и увеличить интенсивность биологического воздействия. Одним из вариантов модифицирования является введение в ω-цепь ароматических фрагментов, благодаря чему получается стабилизировать гидроксильную группу при C-15 и улучшить показатели связывания с активными центрами рецепторов.

Научно-квалификационная работа выполнена в лаборатории Синтеза низкомолекулярных биорегуляторов в соответствии с планом научно-исследовательских работ УФИХ УФИЦ РАН по теме «Дизайн и синтез биоактивных природных и неприродных циклопентановидов, гетероциклов, эптолинов и аналогов [проект № 122031400261-4]», при финансовой поддержке гранта РБ «Синтез и исследование новых простагландинов антиракового и антиглаукомного действия [проект № 11ГР]» и при финансовой поддержке гранта РФФИ «Аспиранты» «Клопростенол и производные. F/J переход и новые кросс-сопряженные циклопентановые простагландины с ω-(м-хлорфенокси)-замещением [проект № 20-33-90114]». Физико-химические анализы выполнены на оборудовании Центра коллективного пользования «Химия» УФИХ УФИЦ РАН.

Соответствие паспорту заявленной специальности. Тема и содержание научно-квалификационной работы соответствуют паспорту специальности 02.00.03 – «Органическая химия» ВАК РФ: п.1 (выделение и очистка новых соединений), п.3 (развитие рациональных путей синтеза сложных молекул), п.7 (выявление закономерностей типа «структура-свойство»).

Степень разработанности темы. Вопросы полного синтеза простагландинов активно решались в последние три декады прошлого века. За это время были описаны основные подходы, ставшие классическими для построения целевой молекулы. Новый рассвет синтез простагландинов получил ближе к началу нового столетия, когда была обнаружена цитотоксичность кросс-сопряженных циклопентеновых простагландинов

(сuPG). Практически все маститые школы полного синтеза отметились в синтезе кросс-сопряженных сuPG.

Подавляющее большинство методов, разработанных ранее, касаются направленного получения целевой молекулы простагландина исходя из простых исходных составляющих. Можно выделить лишь несколько работ, в которых был осуществлен переход от одного вида простагландинов к другому. Таким образом выходит, что данный аспект химии этих веществ является мало изученным и открывает поле для исследовательской деятельности.

Объектом исследования является молекула синтетического аналога простагландина PGF_{2α} клопростенола. Отличительной особенностью его является наличие 16-м-хлорфенокси фрагмента в ω-цепи, что привело к улучшению метаболической стабильности и улучшению лютеолитических свойств молекулы. Клопростенол нашел свое применение в ветеринарии для синхронизации охоты и индукции родов самок сельскохозяйственных животных.

Цель научно-квалификационной работы: изучение трансформации клопростенола в плане поиска новых структур, перспективных для терапии офтальмологических и онкологических заболеваний и применения в гинекологии.

В соответствии с целью работы были поставлены следующие задачи:

1. Дифференцирование гидроксильных групп исходной молекулы клопростенола для последующего направленного модифицирования.
2. Введение атома фтора в молекулу клопростенола с целью получения фторзамещенных производных и изучения их свойств.
3. Аспекты селективного окисления C9-OH и C11-OH клопростенола в подходах к соответствующим PGE₂ и кросс-сопряженным сuPG.
4. Разработка и подбор условий “сдвига” Δ¹³-двойной связи и наведения Δ^{12,14}-кросс-сопряженной системы в соответствующих производных PGJ₂.

Научная новизна. В ходе исследовательской работы разработаны методы направленного многостадийного перехода от клопростенола к его PGE₂ аналогу (5 стадий); 8α-F, 8β-F и 9β-F аналогам (5 стадий); 11-дезоксиде-Δ^{8,9} аналогу (4 стадии); Δ¹²-PGJ₂ и Δ¹²(E)-PGJ₂ аналогам (9 стадий); 15-дезоксиде-Δ^{12,14}- PGJ₂ аналогу (10 стадий).

На пути достижения цели были разработаны и отлажены новые методы, позволяющие модифицировать структуру молекулы простагландина. Так, d 9,11-дигидрокси производных клопростенола установлена возможность провести направленную защиту силановой защитной группой гидроксила в 11 положение молекулы не затрагивая гидроксил в 9 положении при комнатной температуре с помощью триэтилсилилморфолина. Установлено, что окисление гидроксила в 11 положении при одновременном присутствии легкоокисляющейся группы в 9 положении приводит к необходимой циклопентеноновой системе, благодаря тандему реакций окисления и отщепления. Исследование реакции сдвига Δ¹³ двойной связи с получением кросс-

сопряженной системы выявило, что данный процесс может быть осуществлен в условиях катализа переходными металлами, основаниями и кислотами. Необходимым условием является выдерживание концентрации реагента. Наилучшие результаты показало использование систем DABCO-MeOH и *p*TSA-CH₂Cl₂. При том в случае DABCO удалось выделить оба изомера по новообразованной Δ^{12} -двойной связи, а *p*TSA давала исключительно продукт природной конфигурации. Изучение реакции взаимодействия 11,15-дизащитенного производного клопростенола с фторирующим реагентом DAST выявило сложный характер превращения из-за образования как необходимого продукта SN₂ замещения, так и продуктов не характерных для него. Так, установлено, что промежуточный продукт элиминирования сам вступает во взаимодействие с реагентом. Применение классического метода гидролиза сложноэфирной группы метилового эфира PGE₂ аналога клопростенола было невозможно из-за высокой вероятности эимеризации. Поэтому для решения этой задачи был применен метод гидролиза с помощью липазы. Панкреатическая свиная липаза показала возможность своего применения к подобному классу соединений.

Теоретическая значимость. Установлена возможность дифференцирования гидроксильных групп в молекуле простагландина, как следствие проведение синтетических манипуляций с каждой спиртовой функцией в отдельности. Выполнена оптимизация реакции изомеризации $\Delta^{13,14}$ -двойной связи молекулы простагландина.

Практическая значимость. Разработаны методы направленного синтетического перехода от простагландина PGF_{2 α} типа к простагландинам PGE₂, PGJ₂, Δ^{12} -PGJ₂ и 15-дезоксид- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂. Осуществлено получение новых F-замещенных простагландинов с ароматическим фрагментом. В ряду кросс-сопряженных аналогов клопростенола выявлено соединение лидер (15-дезоксид-16-(*m*-хлорфеноксид)-17,18,19,20-тетранор- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂) для дальнейшего поиска противораковых структур.

Методология и методы исследования. Стандартные методы многостадийного органического синтеза. Очистку растворителей проводили методами фракционной перегонки, вакуумной перегонки и ректификации. Для очистки полученных веществ применяли методы экстракции, колоночной хроматографии, перекристаллизации и вакуумной перегонки. Интерпретацию полученных результатов проводили с привлечением методов физико-химического анализа, таких как ИК-спектроскопия, ¹H и ¹³C ЯМР спектроскопия, хроматомасс-спектрометрия, ГЖХ, ВЭЖХ, тонкослойная хроматография и др.

Положения, выносимые на защиту. Синтез новых 9 β -F и эимерных 9-дезоксид-8 α , β -F аналогов клопростенола. Проведение направленного синтетического перехода от простагландина F-типа клопростенола к соответствующим E₂, J₂, Δ^{12} -J₂ и 15-дезоксид- $\Delta^{12,14}$ -J₂ типа простагландинам. Исследование и оптимизация реакций перемещения $\Delta^{13,14}$ -двойной связи и дегидратации гидроксильных групп при C9 и C15.

Личный вклад автора состоит в поиске и изучении литературы по теме научного исследования; осуществлении синтетических экспериментов; разработке и оптимизации методик синтеза; подготовке образцов полученных соединений для дальнейших исследований методами физико-химического анализа; интерпретация данных анализов; подготовка результатов экспериментов к публикации в научных журналах; представление работы на научных конференциях. Все данные и результаты, представленные в научно-квалификационной работе, принадлежат автору и получены им лично.

Степень достоверности. Достоверность представленных результатов гарантируется высоким методическим уровнем выполнения работы и базируется на значительном объеме экспериментальных данных, полученных с использованием современного аналитического оборудования, и скрупулёзного анализа полученных результатов.

Апробация работы. Данные научной работы представлены на конкурсе на лучшие научно-исследовательские работы Уфимского института химии УФИЦ РАН (Уфа, 2019), на V Всероссийской молодежной конференции «Достижения молодых ученых: химические науки» (Уфа, 2020), VI междисциплинарной конференции «Молекулярные и биологические аспекты химии, фармацевтики и фармакологии» (Нижний Новгород, 2020), молодежном Международном форуме «Ломоносов - 2021» (Москва, 2021), VII Междисциплинарной конференции «Молекулярные и биологические аспекты химии, фармацевтики и фармакологии» (Москва, 2021), 5-ой Российской конференции по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2021» (Волгоград, 2021)

Публикации. По материалам научного исследования опубликовано 4 статьи, рекомендованные ВАК РФ, в том числе 4 публикации, входящие в международные базы цитирования Web of Science и Scopus, тезисы 5 докладов на Международных и Всероссийских конференциях.

Структура и объем научно-квалификационной работы. Научно-квалификационная работа состоит из введения, обзора литературы на тему «Синтезы и биологическая активность некоторых природных и синтетических простагландинов», обсуждения результатов, экспериментальной части, заключения, выводов и списка цитируемой литературы (74). Объем работы составляет 117 страниц машинописного текста. Работа содержит 38 схем, 20 рисунков и 7 таблиц.

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность д.х.н., проф. Мифтахову М. С. и к.х.н. Вострикову Н.С. за неоценимые наставления в научных изысканиях, поддержку в ведении эксперимента и ценный исследовательский опыт.

Основное содержание работы

Во введении обоснована актуальность, сформулированы цель и задачи работы, определена научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования.

Литературный обзор (глава 1) состоит из 7 подглав, в которых рассмотрены вопросы, касающиеся общей информации о природных простагландинах (биосинтез и биологическая активность), данных о простагландинах с ароматическим фрагментом и кросс-сопряженных циклопентеноновых простагландинах, включая разработанные на данный момент вариации синтезов.

В главе 2 (обсуждение результатов), состоящей из 3 подглав, представлены результаты синтезов, проделанных в плане поиска F-замещенных аналогов клопростенола (3 соединения), трансформации молекулы в PGE типа простагландин (2 соединения) и направленного перехода к суPG аналогам клопростенола (4 соединения). Для всех целевых молекул проведены необходимые биологические испытания, соответствующие предполагаемому профилю биологической активности.

В третьей главе приведены методики блокировки гидроксильных групп с помощью силановых и мезилатных защитных групп, введения атома F в молекулу, снятия защитных групп со спиртовых функций, окисления гидроксильных групп, изомеризации двойной связи. Приведены физико-химические характеристики полученных соединений.

Синтез фторированных аналогов клопростенола

В решении задачи модифицирования структуры исходной молекулы клопростенола важным моментом стало дифференцирование трех гидроксильных групп стартовой молекулы **1**. В развитом подходе к целевым фторсодержащим соединениям 11,15-дизащищенный блок **2**, стал базовой молекулой, позволяющей провести направленную атаку гидроксила в 9 положении. Интересным моментом явилось то, что блок **2** получался в одну стадию, при действии двухкратного избытка защищающего реагента. уже этот факт говорил нам о разнице в химической активности между 9 и 11 гидроксильными группами.

Атом фтора планировали ввести замещением незащищенной гидроксильной группы действием диэтиламиносульфотрифторида (DAST). Как известно, DAST реагирует со вторичными спиртами по схеме S_N2 -замещения, однако в ряде случаев наблюдаются и побочные направления, ведущие к продуктам перегруппировки, элиминирования и эпимеризации.

В синтезе **2** вначале 11,15-гидроксильные группы **1** селективно блокировали в виде бис – TBDPS эфира медленным, по мере израсходования хлорсилана (контроль ТСХ), прикапыванием раствора TBDPSCl в CH_2Cl_2 к перемешиваемому раствору **1** и имидазола в CH_2Cl_2 .

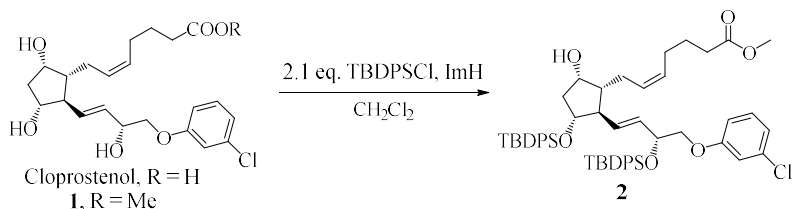


Схема 1. Получение базового блока в синтезе фторированных аналогов клопростенола

Реакцию **2** с двумя эквивалентами DAST в CH_2Cl_2 начинали при -78°C с постепенным (~ 1 ч) подъемом температуры до комнатной. После израсходования **2** (контроль ТСХ), реакционную массу разбавили равным объемом воды, органический слой отделили и промыли водным NaHCO_3 , сушили MgSO_4 и упарили в вакууме.

Хроматографированием остатка на колонке с SiO_2 выделили два соединения, детектируемые по ТСХ как хорошо сформированные одиночные пятна. Более полярному соединению, которое согласно спектральным данным оказалось индивидуальным была приписана структура $\Delta^{8,9}$ -производного **3**. Последний обработкой Bu_4NF превратили в диол **4**. Аналогичный гидролиз второго пятна **5** Bu_4NF привел к смеси трех диолов (Схема 2). Из них методом полупрепаративной HPLC удалось выделить индивидуальное минорное соединение **7**, которому по данным ЯМР соответствовала структура 8- β F изомера **7**. Смесь **6+8** разделить не удалось.

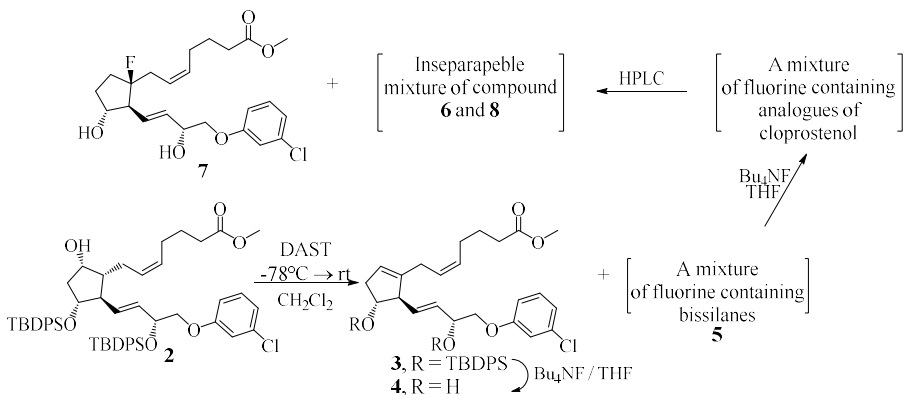


Схема 1. Схема получения 8 β -F аналога клопростенола ВЭЖХ разделением смеси фторированных аналогов клопростенола

Напротив, смесь бис-силанов **5** была успешно разделена на соответствующие **9**, **10** и **11** методом полупрепаративной HPLC. Последние действием Bu_4NF были превращены в индивидуальные PG **6-8** (Схема 3).

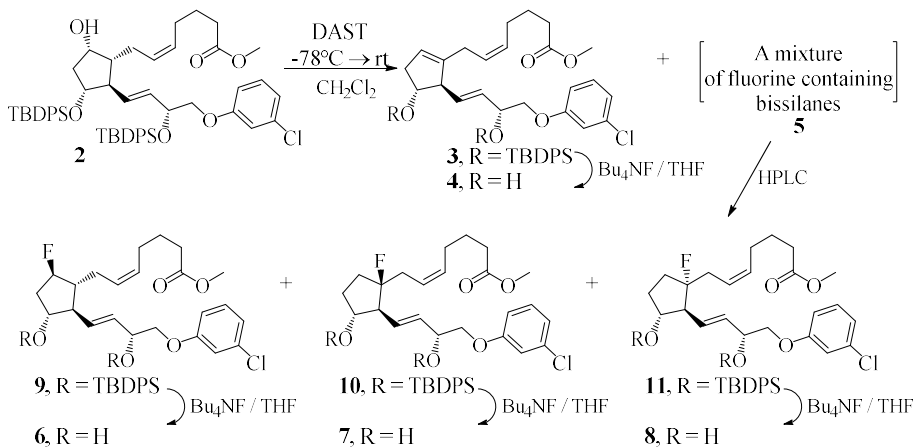


Схема 3. Схема получения индивидуальных фторированных аналогов клопростенола

Таким образом нами был осуществлен синтез 3 новых фторсодержащих простагландинов и 1 нового $\Delta^{8,9}$ -производного клопростенола.

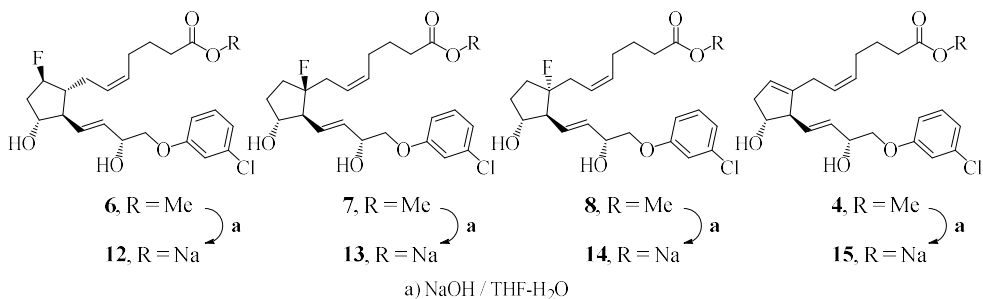


Схема 4. Щелочной гидролиз фторированных аналогов клопростенола

Как известно простагландины серии $\text{F}_{2\alpha}$ проявляют антиглаукомные свойства, что как агонисты рецепторов $\text{PGF}_{2\alpha}$, и при этом антиглаукомные свойства соединений в значительной степени коррелируют с другими видами активности, такими как антиагрегационная и утеротоническая. Поэтому было принято решение в первую очередь оценить именно этот вид биологической активности полученных молекул

Для улучшения растворимости соединений были проделаны небольшие манипуляции со структурой, а именно проведен гидролиз сложноэфирной группы в щелочных условиях (Схема 4).

По данным исследований биологической активности фторпроизводных клопростенола, клопростенол в концентрации 10^{-8} мкг/мл снижал уровень максимальной амплитуды агрегации тромбоцитов, вызванной индуктором агрегации АДФ (2×10^{-5} М/л), на 63,8% ($p < 0,036889$, U-критерий Манна-Уитни) по отношению к контрольной группе. Из

испытанных в равных концентрациях новых производных клопростенола наибольшую антиромбоцитарную активность проявляло соединение **4**, снижавшее максимальную амплитуду агрегации тромбоцитов на 27,4% по отношению к контролю. Соединения **10**, **9** и **8** снижали этот показатель на 18,9% (10^{-6} г/мл), 13% (10^{-10} г/мл) и 6,5% (10^{-10} г/мл) соответственно относительно контроля.

В эксперименте по изучению утеротонической активности два производных клопростенола: **9** (10^{-8} г/мл) и **10** (10^{-6} г/мл) увеличивали величину (AUC), силу и частоту сокращений роговых полосок маточно-беременных крыс по отношению к спонтанным сокращениям.

Что касается клопростенола (концентрация 10^{-8} г/мл), то его особенностью является увеличение таких показателей, как частота сокращений (161,7%) и тонус (40%) относительно исходных сокращений. При этом сила сокращения снижена на 24% и, соответственно, величина сокращений (AUC) составляет 38,4% относительно исходных сокращений.

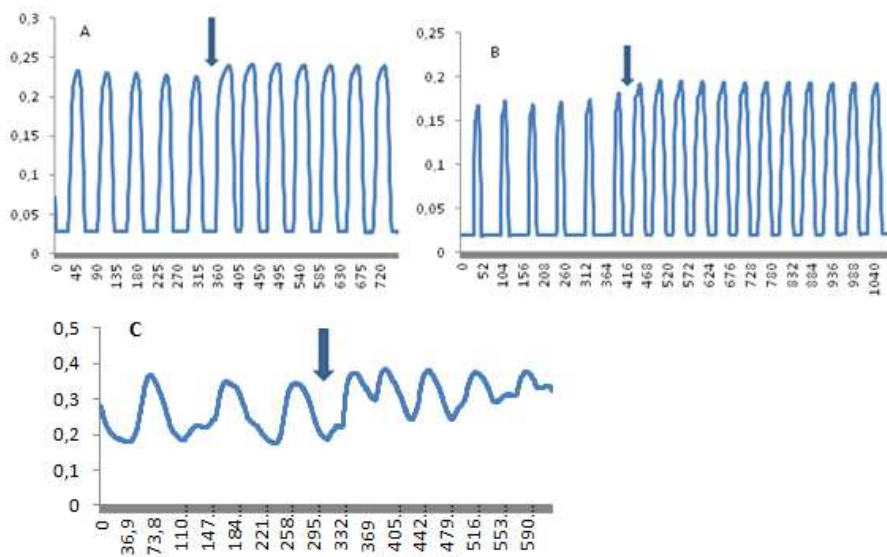
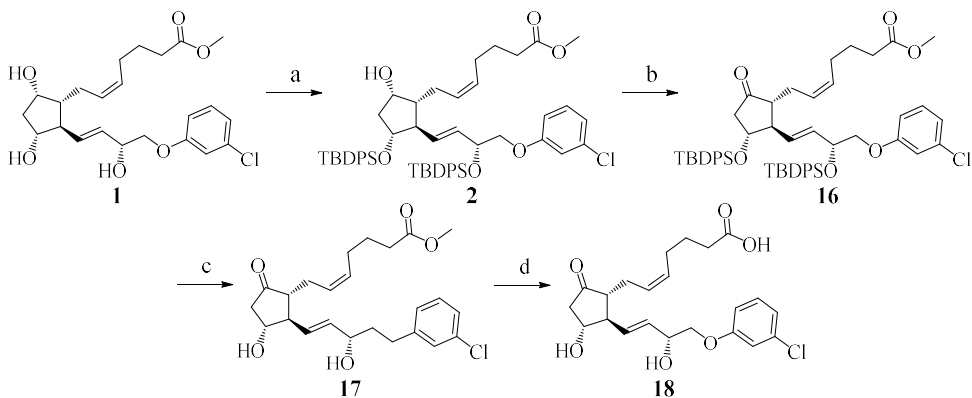


Рисунок 1. Влияние производных клопростенола: А. **8** (10^{-6} г/мл), Б. **7** (доза 10^{-8} г/мл) и С. Клопростенола (10^{-8} г/мл) на сократительную способность матки крыс (ось ординат - вольты, по оси абсцисс - время (с), стрелки указывают на добавление исследуемых соединений)

Синтез PGE₂ аналога клопростенола

Синтез PGE₂ аналога клопростенола **18** проведен по схеме 5. Исходным послужил метиловый эфир клопростенола **1**, который, уже по примененной ранее методике, обработкой 2.1 eq. TBDPSCl-ImH в CH₂Cl₂ трансформировали в 11,15-бис TBDPS производное **2** с выходом 73%. Следующие стадии окисления 11-ОН группы соединения **2** с помощью системы PCC-AcONa с получением кетона **16** и удаления TBDPS- защитных групп с последнего соединения действием n-Bu₄NF протекали без осложнений и приводили к метилому эфиру PGE₂ аналога клопростенола **17**.

Для гидролиза сложного эфира **17** было решено применить ферментативный метод, так как наличие оптического центра в α-положении к кетогруппе давало высокую вероятность эпимеризации при гидролизе в основных средах. Ферментативский (Lipase PPL, Sigma, EC 3.1.13) гидролиз с использованием панкреатической свиной липазы эфира **17** дал целевую кислоту **18** с хорошим выходом.



a) 2.1 eq. TBDPSCl, ImH, CH₂Cl₂; b) PCC, AcONa, CH₂Cl₂; c) NBu₄F, Ar, 0°C, THF; d) Lipase,

Схема 5. Получение PGE₂ аналога клопростенола

Получение PGE₂ аналога клопростенола **18** важно в поиске соединений мягкого действия для гинекологии с более стабилизированными утеротоническими и лютеолитическими свойствами. С этой целью изучены сравнительные с клопростенолом, его метиловым эфиром **1** и метиловым эфиром полученного PGE₂ аналога **17** утеротонические свойства, в частности влияние **17** и **18** на амплитуду и частоту сокращений отрезка рога матки крысы.

При изучении влияния новых производных клопростенола в диапазоне концентраций от 10⁻¹¹ до 10⁻⁵ г/мл на матки небеременных крыс в условиях *in vitro*, метиловые эфиры **2** и **17** показали активность при меньших концентрациях введения, по сравнению с соответствующими кислотами **1** и **18** (таблица 1).

Таблица 1. Эффективная концентрация [EC₅₀] производных клопростенола в условиях *in vitro*

	12	13	КР	1
EC ₅₀ (г/мл)	$5,1 \times 10^{-10}$	$1,0 \times 10^{-4}$	$1,0 \times 10^{-9}$	$2,8 \times 10^{-10}$
[95% Confidence Intervals]	$[9,3 \times 10^{-14}$ to $2,8 \times 10^{-09}]$	$[7,6 \times 10^{-6}$ to $8,9 \times 10^{-3}]$	$[2,5 \times 10^{-11}$ to $2,5 \times 10^{-7}]$	$[4,7 \times 10^{-12}$ to $5,2 \times 10^{-6}]$

Среди изученных соединений, Е-типа метиловый эфир **17** в два раза эффективнее, чем клопростенол, соединения **1** и **18** влиял на частоту сокращений, при этом, увеличивая тонус матки и незначительно влияя на амплитуду ее сокращений. Метиловый эфир **1** не увеличивал частоту сокращений, увеличивая амплитуду в 1,8 раз по сравнению со спонтанными сокращениями.

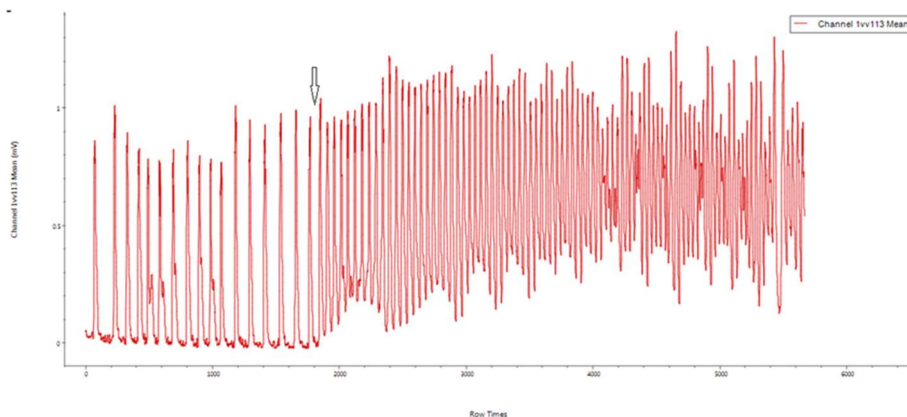
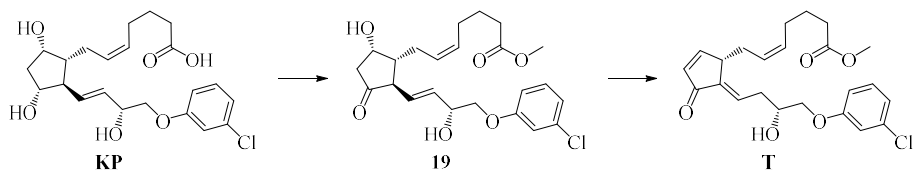


Рисунок 1. Влияние соединения **17** в концентрациях от 10^{-11} до 10^{-5} г/мл на активность сокращений матки небеременной крысы. Стрелкой показано введение **17** в концентрации 10^{-11} г/мл.

Результаты исследований однозначно свидетельствуют о влиянии структурных изменений в клопростеноле (F/E-переход) на утеротоническую активность.

Синтез кросс-сопряженных циклопентеновых аналогов клопростенола

В подходах к целевым молекулам кросс-сопряженных циклопентеновых аналогов клопростенола **КР** нами адаптирован биоинспирированный вариант. Как известно, *in vivo* сyPG образуются из PGD альбумин катализируемой реакцией сдвига C¹³-двойной связи и затем отщеплением C¹⁵-ОН. В этом плане мы запланировали получение из исходного клопростенола **КР** соответствующего PGD производного **19** с последующим генерированием системы Δ¹²- и Δ^{12,14}-двойных связей.

Рисунок 1. Предполагаемый путь осуществления превращения **KP** → **T**

На первом этапе работы важно было заложить базу для будущих превращений. Так, как уже отмечалось выше, в модифицировании исходной структуры метилового эфира клопростенола **1** важным моментом является работа с тремя гидроксильными группами молекулы. На первый взгляд все три вторичных гидроксила представляются достаточно труднодифференцируемыми по химической активности, однако структурные особенности оказывают свой вклад. Так, первоочередно, нами была осуществлена направленная защита спиртовой группы в 15 положении с помощью *tert*-бутилдифенилхлорсилана через промежуточное циклическое фенолборонатное производное **20**, которое позволило одновременно заблокировать два гидроксила в циклопентановом ядре молекулы. Таким образом нам удалось получить важный блок **22**, для дальнейших превращений.

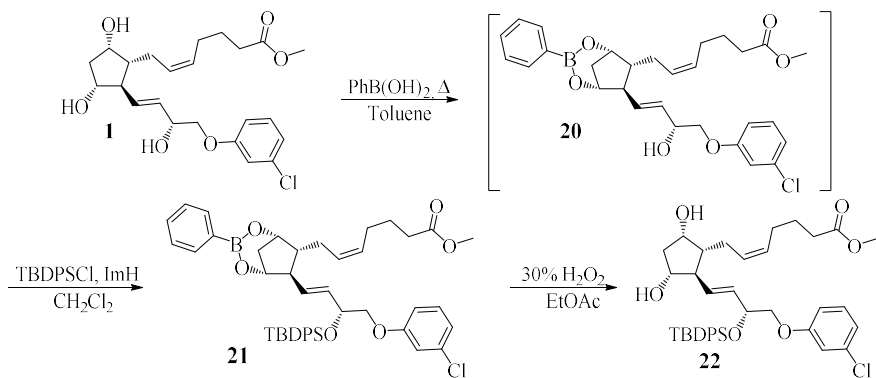


Схема 6. Селективная защита гидроксила в 15 положении

Теперь перед нами стояла задача дифференцировать спиртовые функции циклопентанового ядра молекулы. Ранее нами было обнаружено, что непосредственное взаимодействие метилового эфира клопростенола **1** с двумя эквивалентами *tert*-бутилдифенилхлорсилана приводило исключительно к единственному продукту дизамещения **2**. Это натолкнуло нас на мысль о возможном стерическом контроле, когда гидроксильная группа в 9 положении является пространственно более затрудненной. Так, нами была испытана стандартная методика блокировки диола **22** в системе триметилхлорсилан-имидазол/хлористый метилен. Однако, реакция оказалась не селективной и привела преимущественно к продукту дизамещения **23**, поэтому решено было использовать более объемистые силилирующие агенты.

Действительно, в литературе встречались прецеденты, когда осуществляли селективную защиту гидроксила в 11 положении при помощи диэтиламинотриметилсилана. Последний мы синтезировали взаимодействием триметилхлорсилана с амином в среде триэтиламина. Однако, полученный реагент **DETA-TMS** не позволил осуществить запланированного превращения. Так, взаимодействие начинали при температурах -78°C , однако накопление продукта шло крайне медленно, а при повышении температуры до комнатной произошло образование преимущественно продукта дизаменения **23**, но необходимое 11-TMS производное **24** было также обнаружено. Из-за чего мы решили несколько модифицировать вариант защищающего реагента. Вместо диэтиламина нами был применен морфолин, имеющий циклическую структуру. Морфолилтриметилсилан **Morf-TMS** был нами получен по аналогичному с **DETA-TMS** методу. Использование нового защищающего реагента позволило осуществить селективную защиту необходимого гидроксила при комнатной температуре с получением промежуточного соединения **25** (Схема 7).

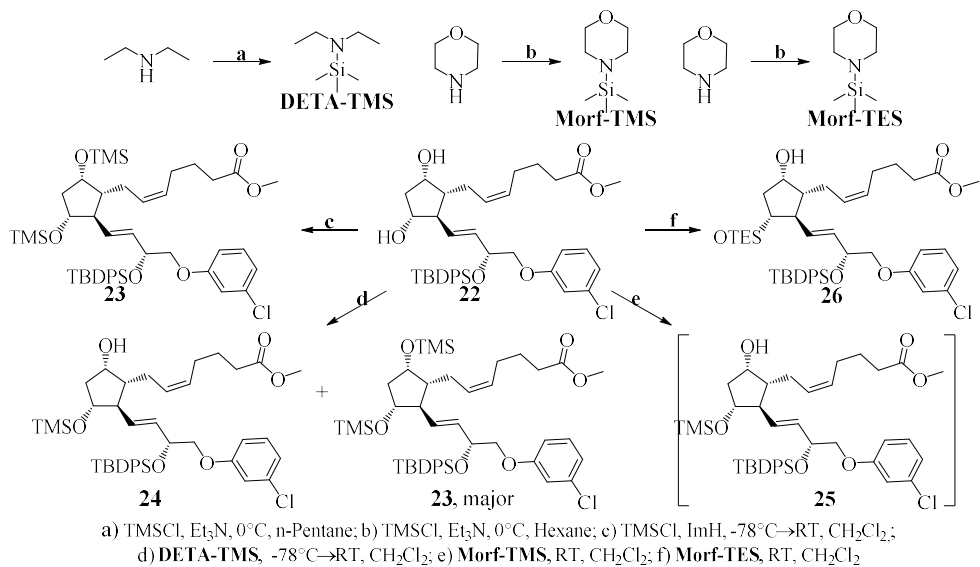


Схема 7. Подбор оптимальных условий для селективной защиты гидроксильной группы в 11 положении

Полученный блок **25** был нами вовлечен в последовательность превращений, включающих в себя мезилирование свободного гидроксила в 11 положении, с получением полностью защищенного дифференцированного соединения **27**. Из последнего был получен блок **28** щелочным гидролизом K_2CO_3 в метаноле, который был окислен системой PCC -ацетат натрия в PG_2 производное **29**.

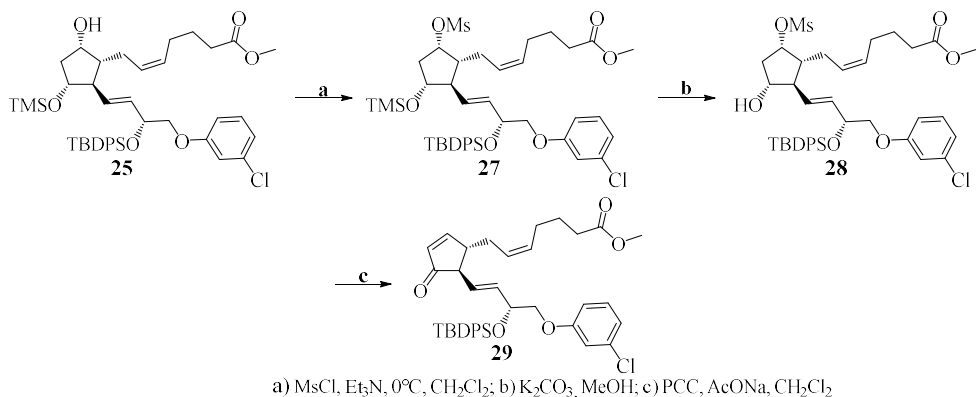


Схема 8. Синтез PGJ₂ аналога клопростенола из TMS производного **25**

Однако, выходы сразу на двух стадиях – мезилирования, с получением полностью защищенного соединения **27**, и окисления, с получением необходимого PGJ₂ производного **29**, – оказались очень низкими. Поэтому было принято решение оптимизировать данную цепочку превращений. Так, нами был синтезирован морфолилтриэтилсилан **Morf-TES** взаимодействие триэтилхлорсилана с морфолином в среде триэтиламина. Полученный реагент также при комнатной температуре обеспечивал селективное блокирование гидроксила в 11 положении (Схема 7). Стоит отметить, что полученное вещество **26** удалось выделить в индивидуальном состоянии. На его основе была повторена схема превращений, ведущая к PGJ₂ аналогу клопростенола **29**, при том на заключительной стадии окисление проводили с применением периодинана Десс-Мартина (Схема 9). Таким образом, мы добились высоких выходов на стадиях мезилирования и окисления.

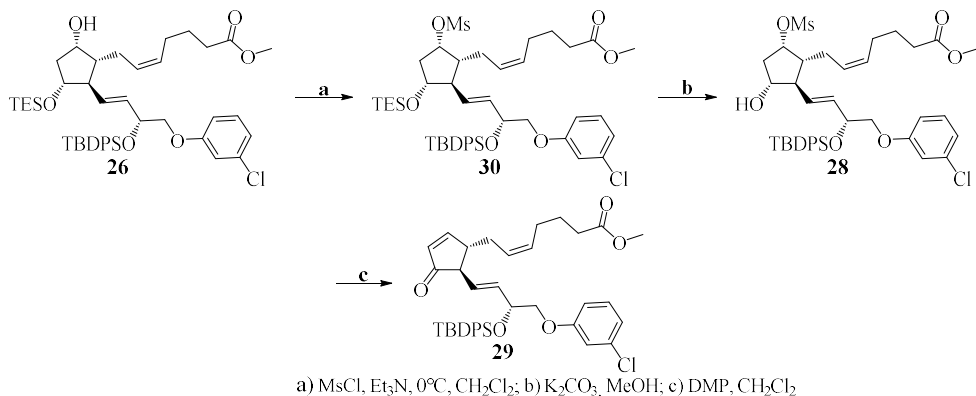


Схема 9. Синтез PGJ₂ аналога клопростенола из TES производного **26**

Далее, располагая граммовыми количествами PGJ₂ производного **29**, мы приступили к изучению реакции Δ^{12} -сдвига $\Delta^{13,14}$ - двойной связи. Как известно, сдвиг β,γ -двойной связи в сопряжение с кетогруппой может быть осуществлен действием солей металлов переходной валентности, основного и кислотного характера катализаторов, при действии света и др. Для изомеризации **29** в Δ^{12} -производное PGJ₂, были опробованы различные реагенты (Рисунок 4) (Таблица 2). В подборе условий вначале кратковременным нагреванием **29** в растворе бензола в присутствии 1 экв. DBU были получены два изомерных соединения **31** и **32**. В отнесении структур характерны триплетные сигналы 13-Н, которые более слабопольны в случае **31** из-за сдвигающего эффекта C¹¹-карбонила (13-Н попадает в конус анизотропии карбонила), (**31**: $\delta_{13-H} = 6,63$ м.д.; **32**: $\delta_{13-H} = 6,36$ м.д.).

Конфигурация двойной связи в положении C12-C13 для выделенных в индивидуальной форме Z/E-изомерных соединений (**31** (E), **32** (Z) и **39** (E), **40** (Z)) по данным NOESY спектров установлены однозначно. Так, для Z-изомеров наблюдались взаимодействия NOESY между протоном двойной связи H-13 и метиленовыми протонами в положении C7 (Рисунок 3).

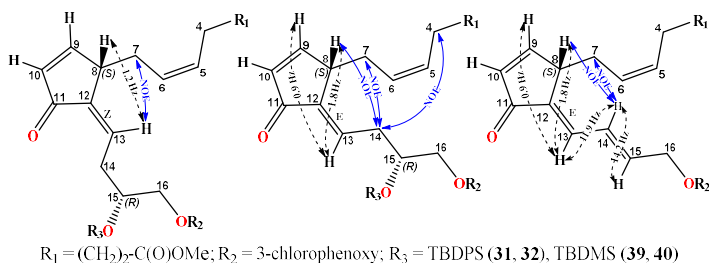


Рисунок 3. Спектральные отнесения продуктов изомеризации двойной связи

Катализируемая RhCl₃*4H₂O реакция изомеризации **29** в кипящем этиловом спирте в течении 6 часов протекала с образованием значительного количества побочных соединений. При этом выход **31** был лишь на уровне 9%. В аналогичной катализируемой Rh₂OAc₄ реакции **29** в кипящем бензоле (Таблица 2, №2), также, как и для Fe₂(CO)₉ (Таблица 2, №3), было выделено лишь неизмененное исходное соединение **29**. Далее мы опробовали основной катализ для миграции двойной связи в веществе **29**. Так, было проведено взаимодействие исходного соединения с DBU в бензоле при непродолжительном кипячении (Таблица 2, №4). После обработки и разделения на колоночной хроматографии были выделены E-изомер **31** с выходом 15% и Z-изомер **32** с выходом 6%. Отметим, что при совместном применении DBU и Fe₂(CO)₉ в кипящем бензоле произошло стремительное потемнение реакционной массы (Таблица 2, №5). При этом выход **31** составил 21% и **32** – 2%. Наилучший результат был получен при проведении реакции **29** с DABCO в метиловом спирте при комнатной температуре, что привело к смеси **31** и **32** с выходами 43% и 37% соответственно. При хранении в среде апротонного

растворителя ацетона, *Z*-изомер **32** переходит в **31** практически нацело. В итоге, переход **29** → **31** (Рисунок 4) нами удалось реализовать с общим выходом 80%.

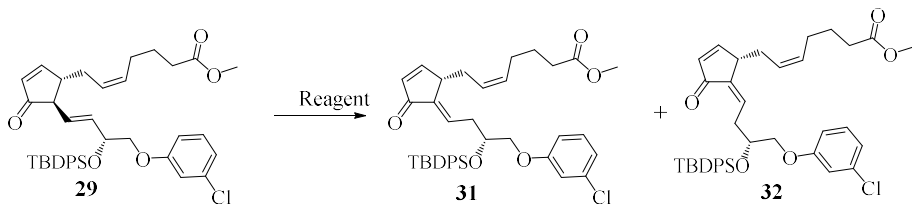


Рисунок 4. Исследование реакции изомеризации

Таблица 2. Реагенты и условия реакции изомеризации

#	PG	Реагент, eq.	Условия (Solvent, T, t)	Продукты (выход %)
1	22	RhCl ₃ ·6H ₂ O (0,2)	EtOH, Δ, 6h	31 (9)
2	22	Rh ₂ (OAc) ₄ (0,3)	C ₆ H ₆ , Δ	нет реакции
3	22	Fe ₂ (CO) ₉ (1)	C ₆ H ₆ , Δ	нет реакции
4	22	DBU (1)	C ₆ H ₆ , Δ, 10 h	31 (15)
5	22	DBU (0,5) + Fe ₂ (CO) ₉ (0,5)	C ₆ H ₆ , Δ	31 (2), 32 (2)
6	22	DABCO (1)	<i>i</i> -PrOH, RT, 24h	31 (39), 32 (31)
7		DABCO (1)	MeOH, RT, 6h	31 (43), 32 (37)
8		pTSA	CH ₂ Cl ₂	31 (79)

На завершающем этапе из защищенного Δ^{12} -PGJ₂ аналога клопростенола **31** к целевым структурам труднопроходимой оказалась стадия деблокировки TBDPS-защитной группы при C-15. Апробированные для этой цели системы Bu₄NF – THF, HF*Et₃N, HF aq, HF – MeCN, Amberlyst – MeOH [71] с варьированием температур не приводили к желаемым результатам. Лишь в системе HF – MeCN при кипячении наблюдали образование незначительных количеств целевого Δ^{12} -PGJ₂ аналога.

Поэтому решено было заменить C-15 TBDPS-защитную группу на более легко гидролизуемую TBDMS- защиту. Здесь исходным послужил блок **34**, который был получен аналогично соединению **22** с заменой TBDPSCl на TBDMSCl.

Приложив отработанную последовательность реакций, исходное соединение **34**, через 11-TES производное **35** было преобразовано в полностью защищенное дифференцированное по гидроксильным группам вещество **36**. Из последнего щелочным гидролизом мы получили свободное по 11 гидроксилу соединение **37**, окисление которого Десс-Мартина перйодинамом дало нам необходимое соединение **38**.

Как уже было отмечено 12Z, 15-OTBDPS производное **32** в растворе ацетона гладко переходит в 12E изомер **31**. Однако 12Z, 15-OTBDMS производное **40** в этих же условиях не претерпевало изменений. Благодаря этому нам удалось выделить индивидуальные соединения с неприродной конфигурацией Δ^{12} -двойной связи **40** и **42**.

Наибольшую активность на исследованных 5 линиях раковых клеток показало соединение **44** – аналог природного 15-дезокси- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂. Видно, что соединение **43** обладает более высокой токсичностью по отношению к нераковой линии *Hek293*, чем соединение **41** (в 2,6 раз). Соединение **41** проявляет сопоставимую с **43** активность, а в случае линий *Jurkat* и *A549* более активно (в 4,1 и 2 раза соответственно). Конфигурация Δ^{12} -двойной связи однозначно влияет на цитотоксичность, она выше у аналога природной конфигурации **41** в сравнении с Z-изомером **42**. Отметим, что соединение **42** в 2 раза менее токсично, чем **41**, по отношению к нераковой линии *Hek293*, а по активности против линии MCF-7 незначительно превосходит соединение **41**. При том цитотоксичность соединения **42** против раковых линий *Jurkat* и MCF-7 выше, чем против нераковой *Hek293*, в 4,25 и 2,25 раз соответственно. Наличие объемистого силанового заместителя при C-15 в **31** приводит к сильному снижению цитотоксичности.

Таблица 3. Данные цитотоксичности кросс-сопряженных аналогов клопростенола

№	IC50, μ M					
	Hek293	SH-SY5Y	HepG2	Jurkat	MCF-7	A549
31	29.61 \pm 0.38	21.22 \pm 0.28 (p=0.0001)	67.32 \pm 2.81 (p=0.000009)	10.65 \pm 2.66 (p=0.000009)	63.05 \pm 0.35 (p=0.000009)	54.68 \pm 2.11 (p=0.000009)
41	7.17 \pm 0.12	4.30 \pm 0.00 (p=0.000009)	6.60 \pm 0.18 (p=0.03)	1.74 \pm 0.25 (p=0.000009)	7.04 \pm 0.11	3.32 \pm 0.43 (p=0.000009)
42	13.90 \pm 0.36	9.29 \pm 0.41	19.58 \pm 1.42 (p=0.05)	3.27 \pm 1.67 (p=0.0006)	6.20 \pm 0.58 (p=0.008)	20.84 \pm 0.85 (p=0.0001)
43	2.78 \pm 0.26	4.42 \pm 0.11	8.39 \pm 0.38 (p=0.00002)	7.13 \pm 0.41 (p=0.0001)	6.27 \pm 1.15 (p=0.001)	6.81 \pm 1.76 (p=0.0003)
44	1.48 \pm 0.16	0.85 \pm 0.10	4.41 \pm 0.08 (p=0.00001)	0.87 \pm 0.21	2.61 \pm 0.36 (p=0.01)	2.41 \pm 0.84 (p=0.05)

Отметим, в случае природной конфигурации хиральных соединений **41-44** цитотоксичность ожидаемо будет в 2-5 раз выше, чем приведенных здесь рацематов.

Заключение

В рамках научно-квалификационной работы на основе доступного аналога простагландина PGF_{2 α} клопростенола разработаны имеющие общий характер в ряду простагландинов превращения F-типа PG в соответствующие 16-(*m*-хлорфенокси)- Δ^{12} -PGJ₂ и 15-дезокси-16-(*m*-хлорфенокси)- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂ простагландины. Среди целевых соединений есть перспективные для применения в терапии глаукомы, использования в

гинекологии и потенциальные противораковые соединения. При поиске путей к целевым молекулам проведена разработка метода селективной защиты гидроксильной группы в 11 положении, не затрагивающего гидроксильную группу в 9 положении простагландиновой молекулы, не требующего температур жидкого азота, проведена оптимизация реакции изомеризации двойной связи, приводящей к переходу от PGJ_2 к $\Delta^{12}\text{-PGJ}_2$ аналогам клопростенола, осуществлена оптимизация реакции окисления гидроксильной группы, в зависимости от структуры субстрата, выполнен подбор условий гидролиза сложноэфирной группы.

Выводы

1. На примере легкодоступного аналога простагландина $PGF_{2\alpha}$ клопростенола проведены синтетические изыскания по модифицированию (введение атома F) и имеющие общие значения интерконверсии (F/J, E - переходы) в ряду простагландинов.
2. Разработаны практичные варианты селективной блокировки гидроксильных групп в базисной тригидроксикислоте (клопростенол):
 - a. Получение 11,15-бис-ОТBDPS производного метилового эфира клопростенола контролируемым силилированием метилового эфира клопростенола системой TBDPSCl/ImH в CH_2Cl_2 .
 - b. Синтез 15-ОТBDMS производного метилового эфира клопростенола через 9,11-фенилборонатные эфиры, селективное превращение его в 11-OTES эфир действием триэтилсиллилморфолина, мезилирование свободной 9-ОН группы, селективный гидролиза 11-OTES защитной группы с получением прекурсора для окисления – метилового эфира 11-гидрокси-9-мезилокси-15-*tert*-бутилдиметилсилилокси производного клопростенола.
3. Изучение реакции 11,15-бис-ОТBDPS производного метилового эфира клопростенола с диэтиламиносульфотрифторидом. Выделены и охарактеризованы ожидаемый 9β -F и аномальные стереоизомерные при четвертичном атоме углерода $8\alpha, \beta$ -F простагландины. Предложен возможный путь образования последних через $\Delta^{8,9}$ -производное клопростенола.
4. Метилловый эфир клопростенола в 5 стадий через 11,15-бис-ОТBDPS производное трансформирован в соответствующие E-типа представители. Последние протестированы на утеротоническую активность. Результаты исследований однозначно свидетельствуют о влиянии структурных изменений в клопростеноле (F/E-переход) на утеротоническую активность.
5. Изучены условия “сдвига” Δ^{13} -двойной связи в PGJ_2 типа 15-ОТBDPS производном метилового эфира клопростенола в сопряжение с C11 кетогруппой. Показано, что в системе PTSA/ CH_2Cl_2 селективно образуется соответствующее 13E-производное клопростенола, а система DABCO/MeOH приводит к 12,13-E,Z-изомерной смеси.
6. В синтезе 15-дезоксид- $\Delta^{12,14}$ - PGJ_2 производного клопростенола использовали соответствующее J-типа 15-ОТBDMS производное клопростенола, которое после гидратации силановой защитной группы и отщипления C15 –ОН по Бурджессу превращали в целевую молекулу.
7. Исследованиями на цитотоксичность синтезированных кросс-сопряженных циклопентеноновых простагландинов выявлены наиболее активные соединения - Δ^{12} - PGJ_2 и 15-дезоксид- $\Delta^{12,14}$ - PGJ_2 типа производные метилового эфира клопростенола.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

1. Vostrikov N.S., **Zagitov V.V.**, Miftakhov M.S. New 11,13-Dienone Analog of Cloprostenol // Russian Journal of Organic Chemistry, 2019, Vol. 55, No. 10, pp. 1465–1468. DOI: 10.1134/S1070428019100038
2. Vostrikov N.S., **Zagitov V.V.**, Ivanov S.P., Lobov A.N., Gabdrakhmanova, S.F., Miftakhov M.S. Fluorine containing analogues of cloprostenol // Journal of Fluorine Chemistry, 2020, Vol. 235, July, 109552. DOI: 10.1016/j.jfluchem.2020.109552
3. Vostrikov N.S., **Zagitov V.V.**, Lobov A.N., Ishmetova D.V., Vakhitova Yu.V., Miftakhov M.S. Chemical F/J-Interconversion in the Prostaglandin Family: From Cloprostenol to Its Δ^{12} -J₂ and 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -J₂ Derivatives // ChemistrySelect, 2021, Vol. 6, No. 40, pp. 11022–11028. DOI: 10.1002/slct.202102556

Тезисы докладов:

1. **Загитов В.В.**, Востриков Н.В., Мифтахов М.С. Фторсодержащие аналоги клопростенола // Тезисы докладов V Всероссийской (заочной) молодежной конференции «Достижения молодых ученых: химические науки:» / г. Уфа, 21–22 мая 2020 г. / стр. 76-77.
2. **Загитов В.В.**, Востриков Н.С. Направленный F/J-переход в ряду простагландинов на примере клопростенола // Тезисы докладов VI Междисциплинарной конференции «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии» / г. Нижний Новгород, 27-30 сентября 2020 г. / стр. 31
3. **Загитов В.В.**, Востриков Н.С. Дифференцирование гидроксильных групп для F/E,D – перехода в ряду простагландинов на примере клопростенола // Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2021» / г. Москва, 12-23 апреля 2021 г. / секция «Химия» стр. 100
4. **Загитов В.В.**, Востриков Н.С. Направленный F/E переход в ряду простагландинов на примере клопростенола // Тезисы докладов VII Междисциплинарной конференции «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии» / г. Москва, 12-14 сентября 2021 г. / стр. 84
5. Мифтахов М.С., **Загитов В.В.**, Макаев З.Р., Гимазетдинов А.М., Востриков Н.С. Некоторые аспекты химического F/J,D,E-перехода, биоизостеризм и цитотоксичность в ряду кросс-сопряженных циклопентеноновых простагландинов // Тезисы докладов 5-ой Российской конференции по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2021» / г. Волгоград, 16-19 мая 2022 г. / стр. 57