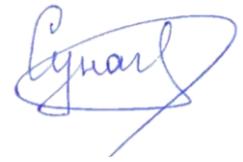


На правах рукописи



СУНАГАТУЛЛИНА ГУЛЬНАЗ РАЗИЛЕВНА

**СИНТЕЗ НОВОГО С¹⁵-С³-МОДИФИЦИРОВАННОГО С¹⁰-С¹¹-
ДЕГИДРОАНАЛОГА ЭПОТИЛОНА D**

1.4.3. Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Уфа – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении Уфимском федеральном исследовательском центре Российской академии наук (в лаборатории синтеза низкомолекулярных биорегуляторов Уфимского Института химии – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук (УФИХ УФИЦ РАН)).

- Научный руководитель: **Мифтахов Мансур Сагарьярович**
доктор химических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории синтеза низкомолекулярных биорегуляторов Уфимского Института химии – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук
- Официальные оппоненты: **Злотский Семён Соломонович**
доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой общей, аналитической и прикладной химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Уфимский государственный нефтяной технический университет» (УГНТУ)
- Тухватшин Вадим Салаватович**
кандидат химических наук, доцент кафедры органической и биоорганической химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Уфимский университет науки и технологий» (УУНиТ)
- Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Пермский Федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» (ПФИЦ УрО РАН), г. Пермь

Защита диссертации состоится «21» февраля 2024 года в 12 часов 00 минут на заседании диссертационного совета 24.1.218.02 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук по адресу: 450054, Республика Башкортостан, г. Уфа, проспект Октября, 69 (УФИХ УФИЦ РАН, зал заседаний). Тел./факс: (347) 2356066. E-mail: dissovetioh@gmail.com.

С диссертацией и авторефератом диссертации можно ознакомиться в научной библиотеке Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук и на официальном сайте Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук (ufaras.ru) по адресу:

http://ufaras.ru/wp-content/uploads/2023/10/2023_7_SunagatullinaGR_Dissertaciya.pdf

Автореферат разослан «__» _____ 202__ г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор химических наук, профессор



Шарипов Г.Л.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Раковые заболевания, вызываемые нерегулируемым делением клеток, остаются одной из главных проблем медицины в последние десятилетия. Проблема глобальна, ежегодно в мире число заболевших раком людей достигает 7 и более миллионов. Поэтому вполне понятна актуальность не прекращающегося поиска действенных антинеопластических средств.

В 1971 году был выделен дитерпеноид природного происхождения – таксол. Он открыл новую эру в лечении опухолевых заболеваний благодаря принципиально отличающемуся от известных механизму действия на субклеточном уровне. Однако таксол, введенный в клиническую практику, не оказался идеальным лекарством; многие виды рака не поддавались лечению этим препаратом.

В начале 90-х годов был обнаружен новый класс соединений природного происхождения с таксолоподобным механизмом действия – эпотилоны (Ер). В тестах они показали противоопухолевую активность, намного превосходящую активность таксола и его производных. Кроме этого, эпотилоны проявляли активность и по отношению к резистентным к таксолу видам опухолей. В настоящее время в ведущих научных центрах занимаются изучением эпотилонов и их свойств. Были успешно синтезированы природные эпотилоны, а в последние годы получены многочисленные аналоги, значительно превосходящие природные молекулы по активности.

В настоящее время в клинической практике успешно применяются иксабепилон и утиделон при лечении рака молочной железы с тройным негативным фенотипом. Обнаружено, что лечение трижды негативного рака молочной железы (ТНВС) улучшается при использовании иксабепилона в сочетании с капецитабином или утиделона в комбинации с капецитабином. В последние годы новаторские синтетические стратегии привели к синтезу новых производных эпотилона с улучшенной активностью в отношении рефрактерных опухолей с лучшей активностью по сравнению с иксабепилоном или таксолом. Эти соединения вместе со специфическими механизмами доставки могут быть использованы в противораковых препаратах.

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 циклопентаноидов, гетероциклов, эпотилонов и аналогов [проект № 122031400261-4]» и при финансовой поддержке гранта РФФИ «Аспиранты» «Новые подходы в синтезе и модифицировании эпотилонов [проект № 20-33-90039]». Физико-химические анализы выполнены на оборудовании Центра коллективного пользования Уфимского института химии УФИЦ РАН.

Степень разработанности темы. Химиотерапия на основе таксола неэффективна при лечении некоторых опухолей, таких как рак предстательной железы, легких, яичников и молочной железы, из-за развития множественной лекарственной устойчивости, что указывает на острую необходимость разработки новых противоопухолевых препаратов. Эпотилоны индуцируют стабилизацию микротрубочек с механизмом действия, сходным с таксанами, с тем преимуществом, что они сохраняют свою цитотоксическую активность в

отношении резистентных клеточных линий, в которых сверхэкспрессируют «efflux-pump-механизмы» множественной лекарственной устойчивости.

Химия эпотилонов разработана достаточно хорошо, были предложены сотни аналогов Еро, некоторые из которых оказались немного более активными, чем Еро В, Иксабепилон или таксол. Иксабепилон и утиделон в настоящее время используются в клинической практике в сочетании с классическими противоопухолевыми препаратами, улучшая терапию рака и прогноз у пациентов. Однако для Еро проблемными остаются аспекты селективности действия и *in vivo* стабильность. В поиске улучшенных соединений, кроме дорогостоящих подходов таргетной химиотерапии с эпотилонами, возможны варианты целеноправленных структурных изменений Еро и синтез новых модификатов. Предлагаемый нами аналог эпотилона D, прежде всего, представляет интерес методологическими аспектами синтетического подхода, а также в плане оценки влияния проведенного «глубокого структурного модифицирования» на биоактивность и стабильность молекулы.

Цель работы. Разработка синтеза модифицированного в C¹⁵-C³-участке C¹⁰-C¹¹-дегидроаналога эпотилона D, разработка блоков для синтеза высокоактивных 12,13-азиридинилпроизводных и макролактамов топологии природного эпотилона В.

Задачи работы:

В соответствии с целью работы поставлены следующие задачи:

1. Разработка новых ключевых предшественников для использования в подходах к природным ЕроВ, аза ЕроВ и новому диеновому аналогу ЕроD.
2. Разработка синтеза C¹-C⁵ фрагмента аналога эпотилона D из R(-)-пантолактона; наработка в оптимизированных вариантах блок-синтонов: верхнего сегмента из R(-)-карвона и хирального Me-содержащего C⁶-C⁹ фенилтетразольного блока из простых исходных с наведением хиральности по технологии Эванса.
3. Синтез ациклических C¹-C⁹ и C¹-C²¹ предшественников аналога эпотилона D, изучение реакции альдольной конденсации, подбор оптимальных условий реакций.
4. Разработка подходов к макролактонизации: классической по Ямагучи, альтернативных по Джулиа-Кочински и метатезисной реакцией (RCM) с катализатором Граббса 2-го поколения. Выход к целевой структуре и изучение его противораковых свойств.

Научная новизна. Разработан полный синтез нового C¹⁵-C³ модифицированного аналога эпотилона D из R(-)-карвона в 16 стадий с общим выходом 1.1%. В ходе выполнения проекта полного синтеза предложен простой и эффективный 9-ти стадийный синтез C¹-C⁵ фрагмента из R(-)-пантолактона; ключевой стадией подхода является реакция нуклеофильного циклораскрытия R(-)-пантолактола меркаптанами. При построении C¹-C²¹ и C¹-C⁹ ациклических блоков найдены оптимальные условия енолизации (1R)-1-(1,3-дителилан-2-ил)-2,2-диметил-1-мет-оксиметокси-пентан-3-она и проведения альдольной конденсации с C⁶-C²¹ и C⁶-C⁹ альдегидами. Апробированы классические и альтернативные варианты макролактонизации. Реакцией метатезисной макролактонизации по Граббсу получен продукт циклизации – предшественник C¹⁵-C³ модифицированного аналога эпотилона D.

Теоретическая и практическая значимость. Разработан полный синтез нового метоксиметильного аналога Еро D в 16 стадий с общим выходом 1.1%. В результате изучения его биоактивности выявлена цитотоксическая активность в отношении условно-нормальных и опухолевых клеточных линий (эмбриональной почки человека Нек23, карциномы молочной железы MCF-7, нейробластомы человека SH-SY5Y и карциномы легкого человека A549) в интервале IC₅₀ от 30.88 до 62.59 мкМ *in vitro*.

Методология и методы исследования. Методология настоящего исследования заключается в постановке и проведении химических экспериментов с использованием современных методов органической химии. Выделение и очистка продуктов проводились методами осаждения, экстракции, колоночной хроматографии, перекристаллизации. Для установления структур и характеристики полученных соединений использовались современные физико-химические методы: спектроскопия ядерного магнитного резонанса, в том числе двумерные корреляционные эксперименты, ИК-спектроскопия, масс-спектрометрия, элементный анализ.

Положения, выносимые на защиту:

Разработка *one-pot* метода для синтеза C¹-C⁵-фрагмента аналога Еро D. Синтез C¹-C⁹, C¹-C²¹ ациклических предшественников Еро D альдольной конденсацией C¹-C⁵ блока с C⁶-C⁹, C⁶-C²¹ альдегидами, соответственно. Разработка подходов к синтезу макролактонов с использованием классического (Ямагучи) и альтернативных (Джулиа-Кочински, метатезис (RCM)) методов. Выход к целевой структуре и изучение противораковых свойств. Разработка C¹¹-C²¹ блок-синтонов для синтеза природных эптоилонов из R(-)-карвона и получение C¹⁵-аминопроизводных.

Степень достоверности результатов и апробация работы. Высокая достоверность результатов достигнута тщательностью проведения экспериментов и применением современных физико-химических методов анализа для установления структуры и чистоты полученных соединений: данными ИК-, ¹H и ¹³C ЯМР спектроскопии, включая двумерные корреляционные эксперименты, масс спектрометрии, элементного анализа. Основные результаты диссертационной работы докладывались на III и IV Всероссийских молодежных конференциях "Достижения молодых ученых: химические науки" (Уфа, 2017 и 2018 г.), II Всероссийской молодежной конференции "Проблемы и достижения химии кислород- и азотсодержащих биологически активных соединений» (Уфа, 2017), "Первой всероссийской школе для молодых ученых по медицинской химии MEDCHEMSCHOOL2021" (Новосибирск, 2021 г.), XXVIII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов" (г. Москва, 2021 г.), 3-м выпуске вебинара по химии (3th Edition of Webinar on Chemistry, международная конференция, 2022 г.), III Всероссийской молодежной научно-практической конференция «Вершины науки – покорять молодым! Современные достижения химии в работах молодых ученых» (Уфа, 2023 г.).

Публикации. Основное содержание диссертационного исследования опубликовано в 18 работах, из них 9 статей в рецензируемых научных журналах, определенных ВАК РФ и

входящих в международные базы Scopus и Web of Science, а также тезисы 9 докладов на всероссийских и международных конференциях.

Соответствие паспорту заявленной специальности. Тема и содержание диссертационной работы Сунагатуллиной Г.Р. соответствуют паспорту специальности 1.4.3. «Органическая химия»: п.1 «...выделение и очистка новых соединений», п.3 «...развитие рациональных путей синтеза сложных молекул», п.7 «...исследование стереохимических закономерностей химических реакций и органических соединений...».

Личный вклад автора. Автором выполнена синтетическая экспериментальная часть работы, сбор и обработка литературных данных, проведена интерпретация, анализ и участие в обсуждении полученных результатов, подготовка научных статей и тезисов докладов к публикации.

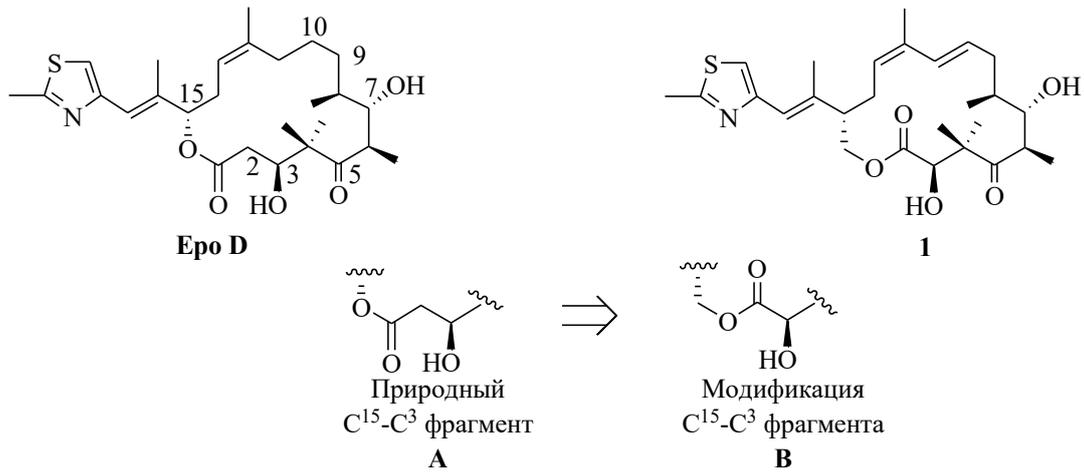
Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 149 страницах машинописного текста, состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, заключения, списка сокращений и списка цитируемой литературы (150 наименований), приложения. Диссертация содержит 58 схем, 14 рисунков, 14 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Результаты данной диссертационной работы изложены в трех основных разделах. Во **введении** к диссертации обоснована актуальность научного исследования, определены цели диссертационной работы. Глава 1 «**Литературный обзор**» посвящена синтезу и изучению цитотоксических свойств эпотилонов и аналогов. Здесь основное внимание уделено синтезу наиболее перспективных высокотоксичных аналогов Еро, пригодных для последующего использования в «таргетной химии» с эпотилоновой «начинкой» (payload). Приведены данные по цитотоксичности, а также рассмотрены примеры крупномасштабных синтезов эпотилонов. Собранный материал полезен при планировании и реализации проектов по таргетной химиотерапии рака эпотилонами. В главе 2 – «**Обсуждение результатов**» представлены результаты выполненного исследования. Глава 3 «**Экспериментальная часть**» содержит методики синтеза и физико-химические характеристики полученных соединений.

Целью данной работы является разработка оригинального синтетического подхода и получение нового Еро-аналога **1** с проведением первичных биоиспытаний. Новый аналог Еро **1** содержит «глубоко» модифицированный C¹⁵-C³-изостерный фрагмент **В**, замененный на участке **А** природного Еро **Д** (Рисунок 1).

Преобразование C¹⁵-аллилово-спиртового фрагмента **А** в Еро **Д** на гомоаллиловый фрагмент **В** в **1** должно привести к заметному увеличению химической устойчивости последнего. Кроме того, наличие в структуре **1** Δ^{10,11}-двойной связи повлияет на антираковую активность и открывает возможность функционализации по одной из двойных связей диеновой системы (азиридины, эпоксида, циклопропаны).

Рисунок 1 – Модификация C¹⁵-C³ фрагмента Epo D

1 Синтез C¹-C⁵ фрагмента аналога Epo D

С целью поиска подходящего блок-синтона для построения C¹-C⁵-фрагмента эпотилона **1**, была исследована возможность дециклизации *R*-(-)-пантолактона тиолами. В планируемом подходе получаемый тиоацеталь **2** должен был одновременно сыграть роль подходящей защитной группы при дальнейшей функционализации.

Вначале гидроксильная группа пантолактона была блокирована в виде TBDMS-эфира **3**. Затем низкотемпературным восстановлением DIBAL-H соединение **3** было превращено в лактол **4** (Схема 1).

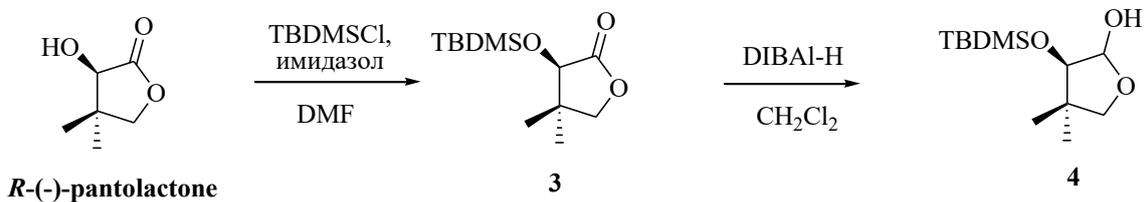
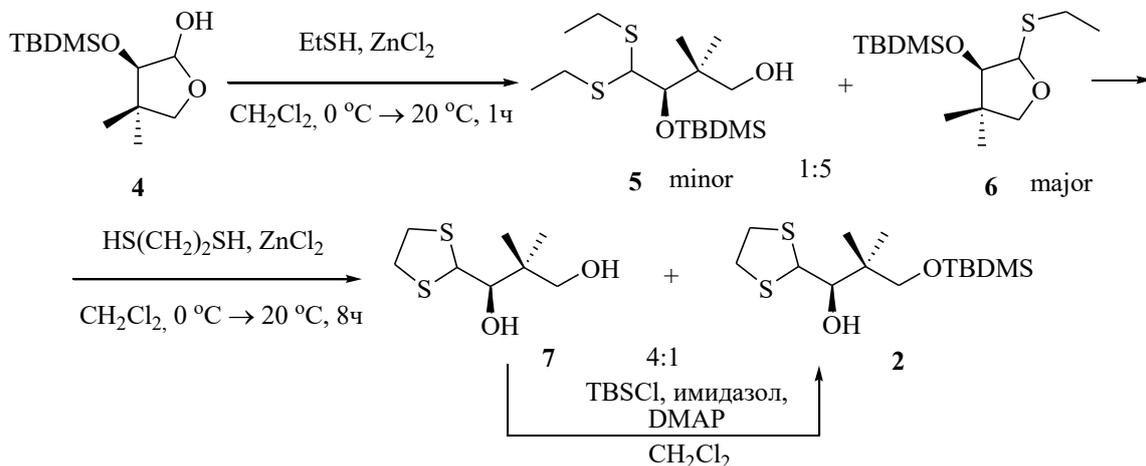


Схема 1

Нуклеофильное циклоаскрытие лактола **4** была осуществлено действием избытка этилмеркаптана в присутствии хлорида цинка. В ходе реакции наблюдали образование 2-х продуктов. Согласно спектрам ЯМР, синтезированные продукты соответствовали структурам **5** и **6** (Схема 2).



Полученный циклический тиоацеталь **6** был введен в реакцию с этандитиолом в условиях, описанных выше. Методом ТСХ детектировали медленное образование двух продуктов. Выделенные колоночной хроматографией соединения соответствовали структурам **7** и **2** (ЯМР) в количественном соотношении 4:1. В ходе реакции раскрытия цикла тиопроизводного **6** одновременно протекает 1,5-миграция диметилтретбутилсилильной защитной (TBDMS) группы. Образующийся первичный силан **2** неустойчив в кислой среде, вследствие чего и происходит десилилирование с образованием диола **7**. Далее диол **7** подвергли силилированию действием TBDMSCl в присутствии имидазола в CH₂Cl₂. Указанное взаимодействие протекало региоселективно с образованием исключительно моно-блокированного силана **2**.

На основе полученных в ходе экспериментов результатов, была разработана *one-pot* методика превращения лактола **4** в синтетически полезный хиральный блок **2** с целью повышения эффективности его наработки при масштабировании процесса.

Первоначально лактол **4** был введен в реакцию циклораскрытия действием этилмеркаптана, детектируя по ТСХ образование индивидуального тиопроизводного **6**. Затем добавляли в реакционную смесь этандитиол, выдерживая реакцию до полного израсходования промежуточного соединения **6**. После обработки реакционной массы и силилирования (TBDMSCl-имидазол) получили спирт **2** с выходом 76% в расчете на исходный лактол **4** (Схема 3).

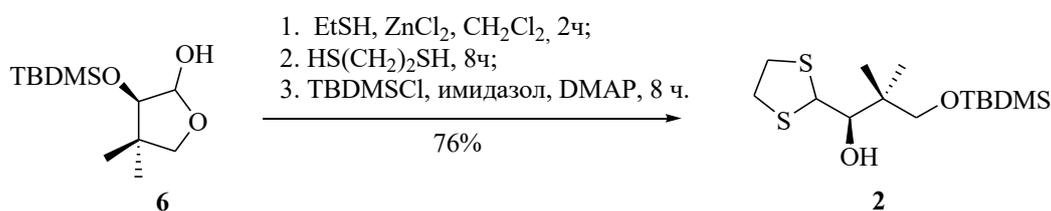
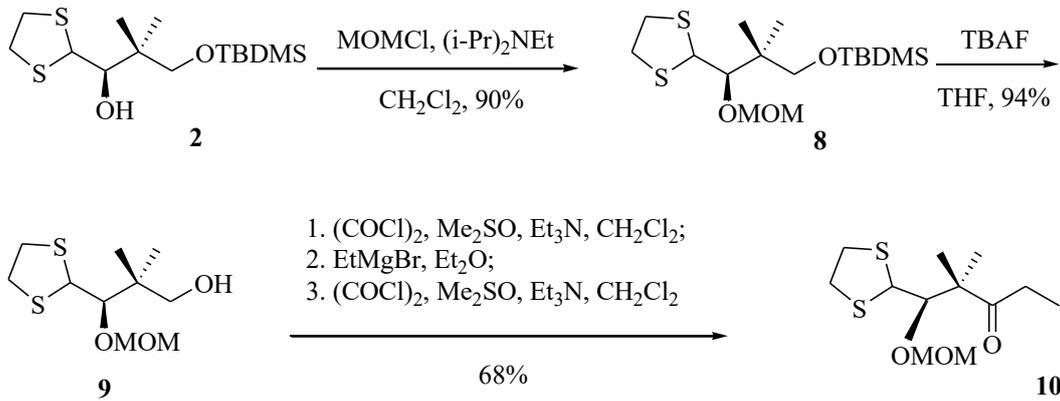


Схема 3 – Схема *one-pot* синтеза C¹-C⁵ фрагмента эпотилона

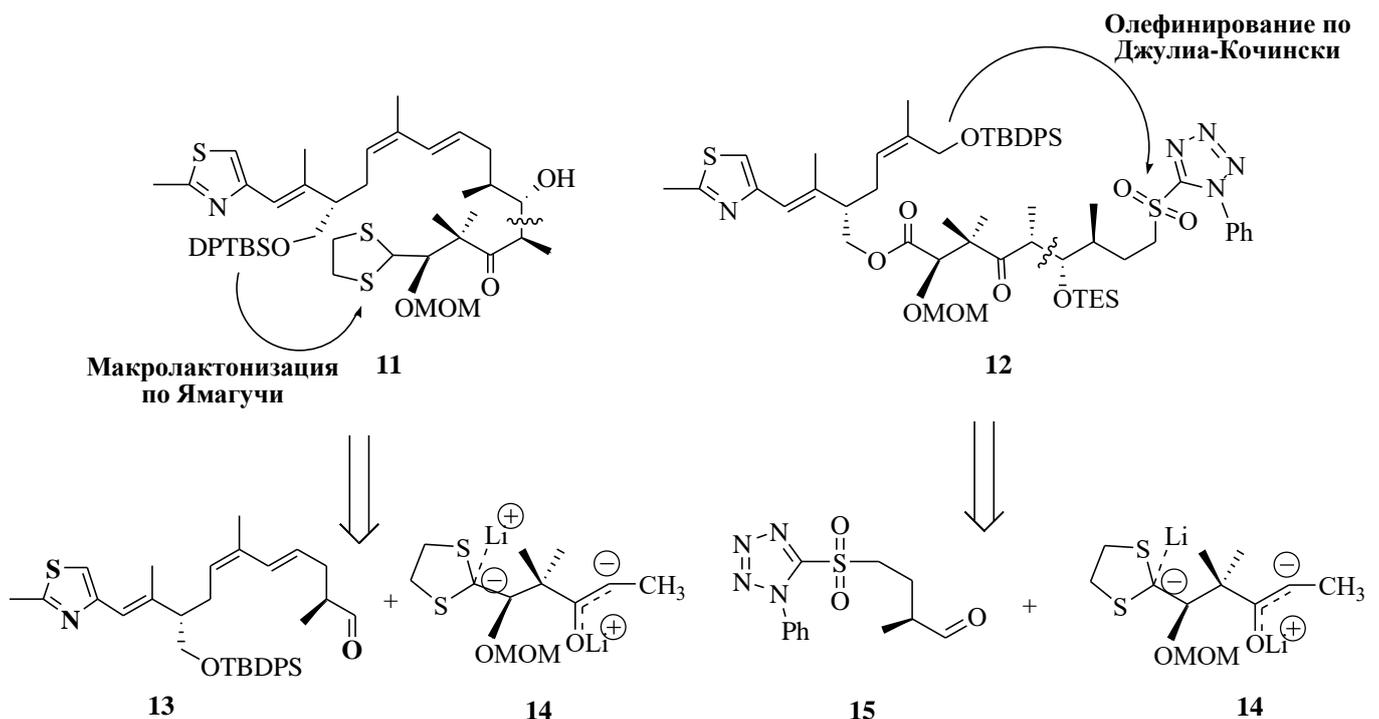
Для дальнейшей работы необходимо было защитить свободную спиртовую группу **2**. Доступ к присутствующей в спирте **2** вторичной гидроксильной группе стерически затруднен, что осложняло постановку защитной группы. Это удалось сделать в жестких условиях кипячением **2** с избытком метоксиметилхлорида в CH₂Cl₂ в течение 16 часов в присутствии диизопропилэтиламина (Схема 4). Селективный гидролиз *трет*-бутилдиметилсилильной защитной группы был осуществлен обработкой соединения **8** тетрабутиламмонийфторидом.



Далее спирт **9** был введен в 3-х стадийную синтетическую последовательность без очистки промежуточных продуктов (Схема 4). На первой стадии спирт **9** ввели в реакцию окисления в условиях Сверна и после стандартной обработки неочищенный альдегид обработали EtMgBr при $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ в Et₂O. Затем образующийся вторичный спирт вводили в реакцию окисления по Сверну и после очистки на SiO₂ выделили целевой продукт **10** с выходом 68% в расчете на исходный спирт **9**.

2 Синтез C¹-C⁹ и C¹-C²¹ ациклических блоков аналога Ерo D

Полученный C¹-C⁵- фрагмент использовали в синтезе ациклических предшественников эпотилонов **11** и **12** (Рисунок 2) для отработки двух запланированных вариантов циклизации: внутримолекулярной циклизации ациклического предшественника соответствующей кислоты из **11** по Ямагучи 2,4,6-трихлорбензоилхлоридом и внутримолекулярной циклизации альдегидосульфонового предшественника из **12** по Джулиа-Кочински.



2.1 Реакции альдольной конденсации C¹-C⁵ блока с C⁶-C²¹ и C⁶-C⁹ альдегидными составляющими

Для формирования C¹-C²¹-участка цепи Еро альдегид **13** ввели в реакцию альдольной конденсации с генерируемым *in situ* енолятом кетона **10**. Реакцию проводили по стандартной методике. Сначала кетон **10** обработали эквимолярным количеством LDA при $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 1 ч, затем добавили к реакционной смеси альдегид **13**. Реакцию контролировали методом ТСХ, который в нашем случае указывал на отсутствие продуктов взаимодействия. Варьирование условий проведения реакции (температура, время выдержки) так же не приводило к образованию продукта конденсации **11**.

Для установления вероятных причин, препятствующих протеканию конденсации, проведена модельная реакция получения енолсилилового эфира **18** из кетона **10** (Схема 5).

Отметим, что при проведении реакции в описанных выше условиях вместо ожидаемого продукта **17** выделяли исходный кетон **10**. Однако при добавлении небольшого избытка основания (~ 1.3 экв.) в результате реакции был выделен только енолсилиловый эфир **17**. Его отделяли от исходного соединения **10** колоночной хроматографией на SiO₂. Введение в реакцию двукратного избытка LDA позволило достичь полной конверсии кетона **10** и получить соединение **17** выходом 84% после очистки на SiO₂.

Описанные результаты можно объяснить протеканием конкурирующей реакции замещения подвижного тиацетального протона в процессе енолизации кетона **10**.

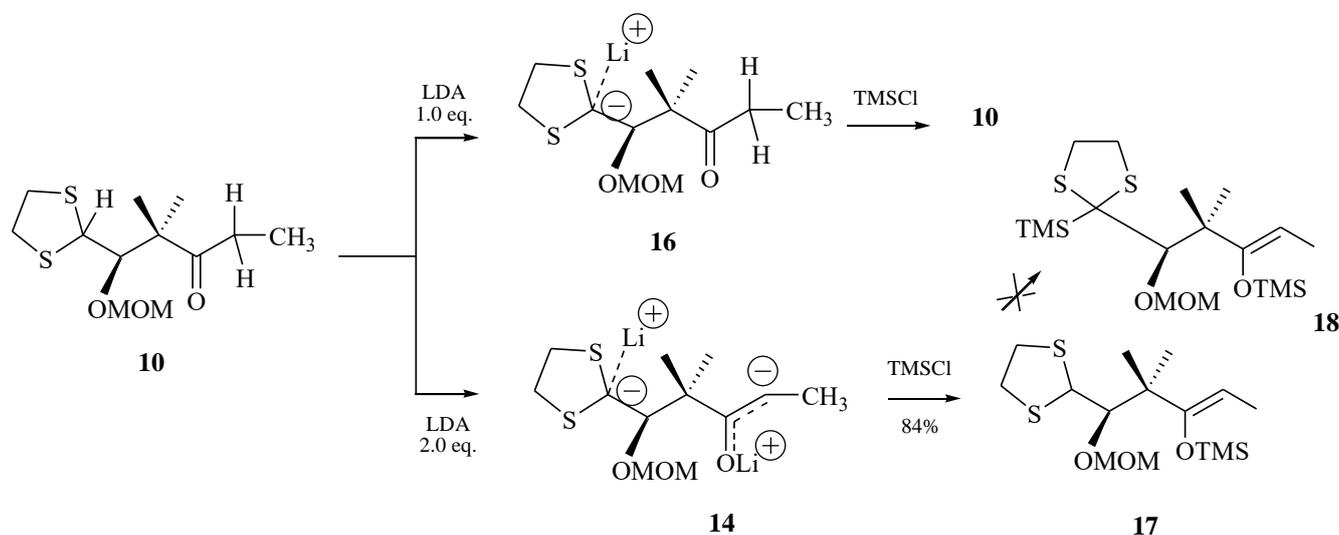


Схема 5

Полученные данные учтены при дальнейшем исследовании реакции конденсации и формирования C⁶-C²¹-участка цепи Еро (Схема 6). Положительный результат получен в эксперименте № 4 (Таблица 1).

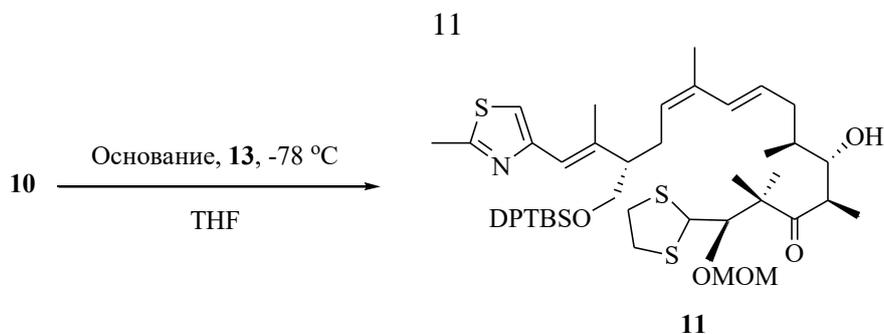


Схема 6

В качестве основания для енолизации кетона **10** также испытаны NaHMDS и LiHMDS. При использовании NaHMDS в условиях № 6 (Таблица 1) реакция протекала без образования побочных продуктов (ТСХ). Однако стереоселективность реакции существенно снизилась (*dr* 4:1), и увеличить выход целевого соединения **11** в данном эксперименте не удалось.

При использовании в качестве основания LiHMDS выход продукта **11** увеличивался с повышением температуры генерирования енолята. Наилучший результат достигнут при выдерживании кетона с LiHMDS при температуре +5 °С в течение 2.5 ч. Обработав полученный *in situ* енолят альдегидом, детектировали (ТСХ) образование единственного продукта **11** без примеси минорного изомера. После очистки на SiO₂ выход целевого продукта **11** достиг 68%.

Таблица 1 – Условия проведения альдольной конденсации **11**

№ Эксперимента	Основание	Основание, экв. к 10 (время выдержки)	Температура генерирования енолята, °С	Выход продукта 11 , % (<i>dr</i>)
1	LDA	1:1 (1 ч)	-78	-
2	LDA	1:1 (1.5ч)	-60	-
3	LDA	2:1 (2ч)	-78	20(10:1)
4	LDA	2:1 (1.5 ч)	-60	47 (10:1)
5	LDA	2:1 (1.5 ч)	-40	28 (10:1)
6	NaHMDS	2:1 (1.5 ч)	-60	43 (4:1)
7	LiHMDS	2:1 (1.5ч)	-60	-
8	LiHMDS	2:1 (2ч)	-20	44 (-)
9	LiHMDS	2:1 (2.5ч)	+5	68 (-)

В аналогичных условиях удалось стереоселективно осуществить альдольную конденсацию кетона **10** с альдегидом **15** (Схема 7). После очистки на SiO₂ выделено соединение **19**, выход которого составил 72%.

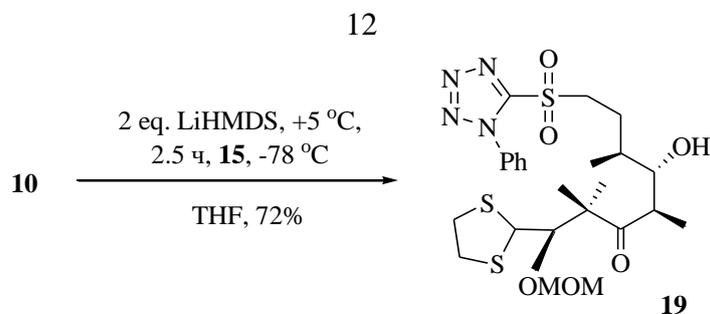


Схема 7

2.2 Классический вариант макроциклизации по Ямагучи

В подходе к **1** внутримолекулярная макролактонизация по Ямагучи не увенчалась успехом. Установлено, что в случае первичных спиртов, вовлекаемых в процесс внутри- или межмолекулярной этерификации, классический подход малоэффективен из-за преобладания побочной конкурирующей реакции ацилирования спирта самим реагентом. Так, реакция внутримолекулярной циклизации соответствующей гидроксикислоты из **11** протекает преимущественным образованием побочного продукта ацилирования первичной спиртовой группы реагентом Ямагучи соединения **20** (Схема 8).



Схема 8

3 Вариант макроциклизации по Джулиа-Кочински

В альтернативном подходе запланировали провести макролактонизацию по Джулиа-Кочински альдегидосульфонового предшественника аналога эпотилона D **12** (Рисунок 2). В синтезе **12** (Схема 10) использовали соединение **23** (Схема 9), полученное из **19** после постановки защитной группы, деблокирования дитиолана и окисления до кислоты **23**.

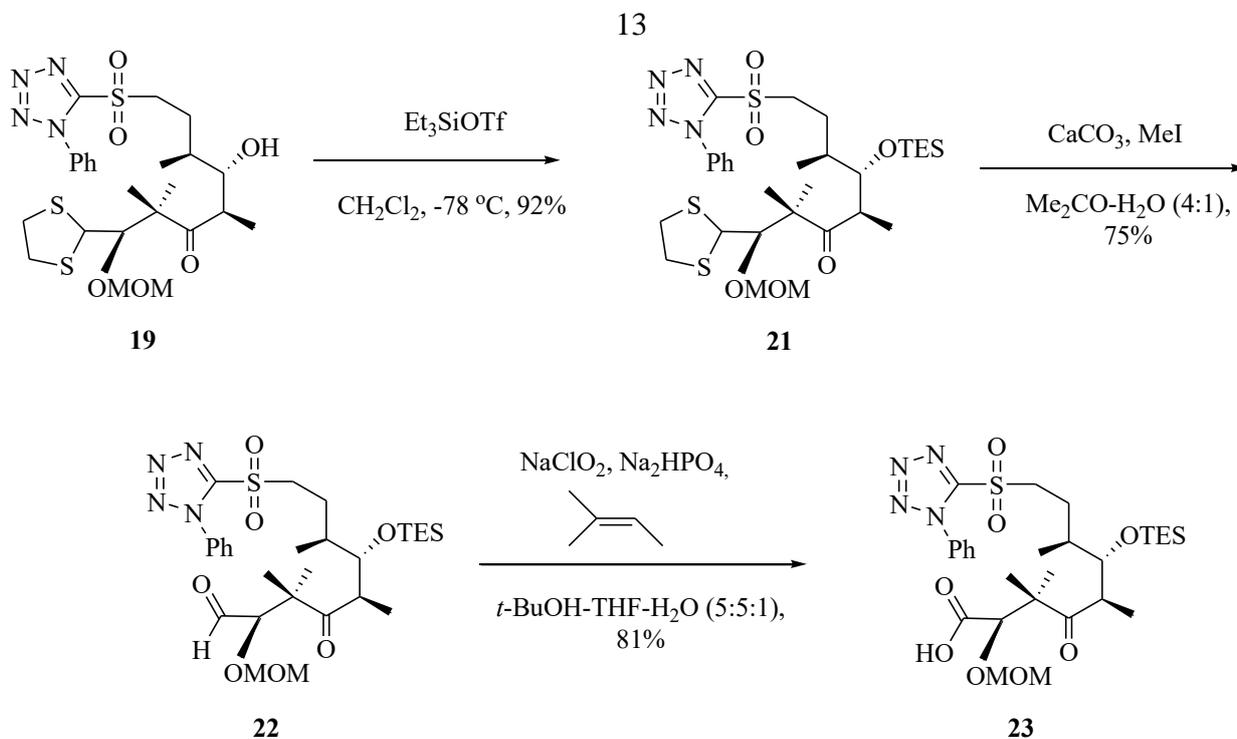


Схема 9

При поэтапном введении блоков **23** и **24** в межмолекулярную реакцию Ямагучи удалось достичь хорошего выхода целевого эфира **12**, несмотря на образование побочного трихлорбензоата **25** (Схема 10).

Однако, альтернативный вариант макроциклизации по Джулия-Кочински оказался трудно реализуемым. На стадии снятия защитной группы в **12** действием ТВАФ после стандартной обработки было выделено производное тетрабутиламмония предположительной структуры **26**. В кислых условиях происходило осмоление, в следовых количествах был выделен диол **27**. Аналогичный подход был отработан с дитиолан блокированным C¹⁰-C²¹-соединением **28**, в котором провести селективное деблокирование также оказалось сложной задачей (Схема 11).

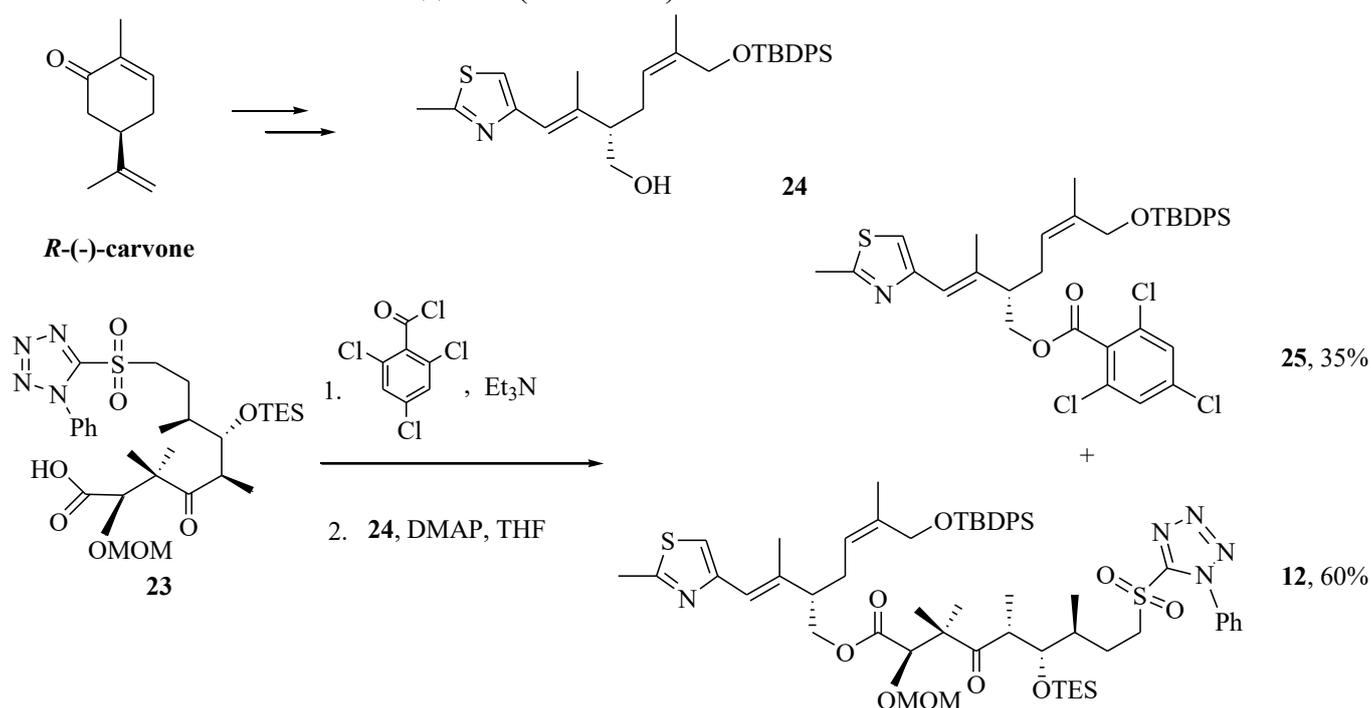


Схема 10

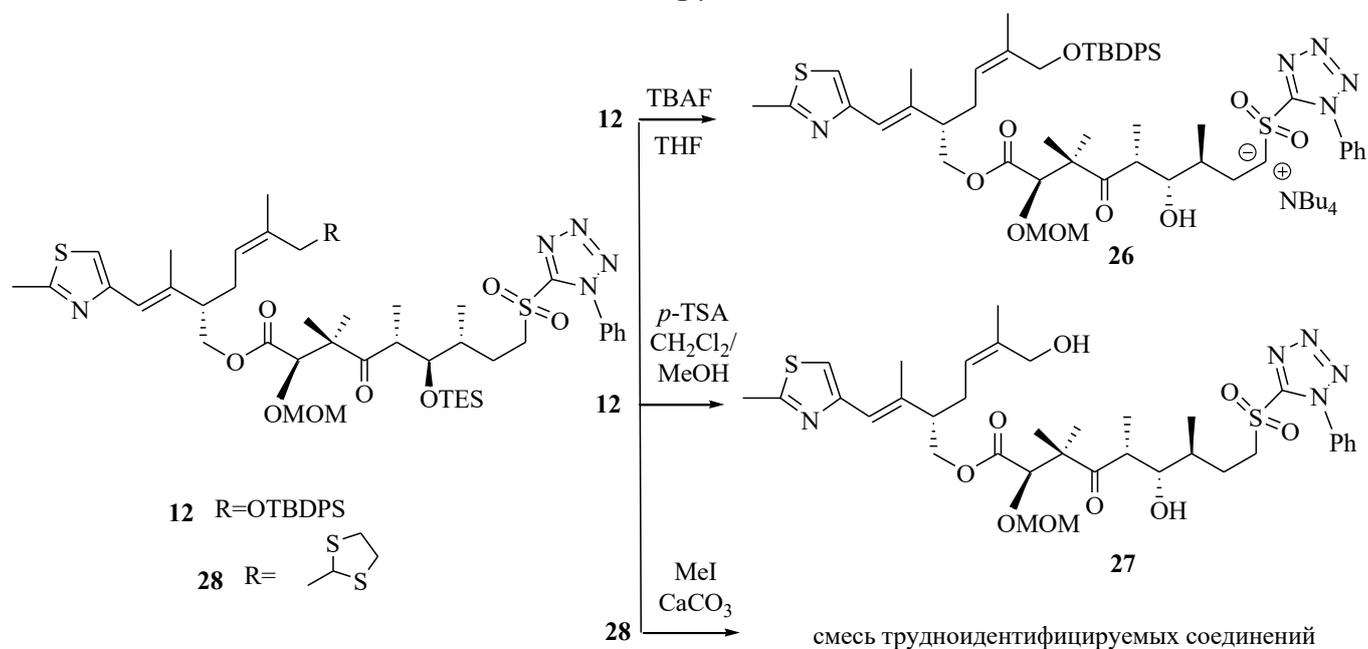


Схема 11

Далее запланировали синтез аналога эпотилона D из ациклического блока **29** для его последующей макролактонизации по Джулиа-Кочински (Схема 12). В свою очередь к **29** можно было выйти этерификацией по Ямагучи альдегидоспирта **30** с содержащей фенилтетразолсульфонильную группу кислотой **23**.

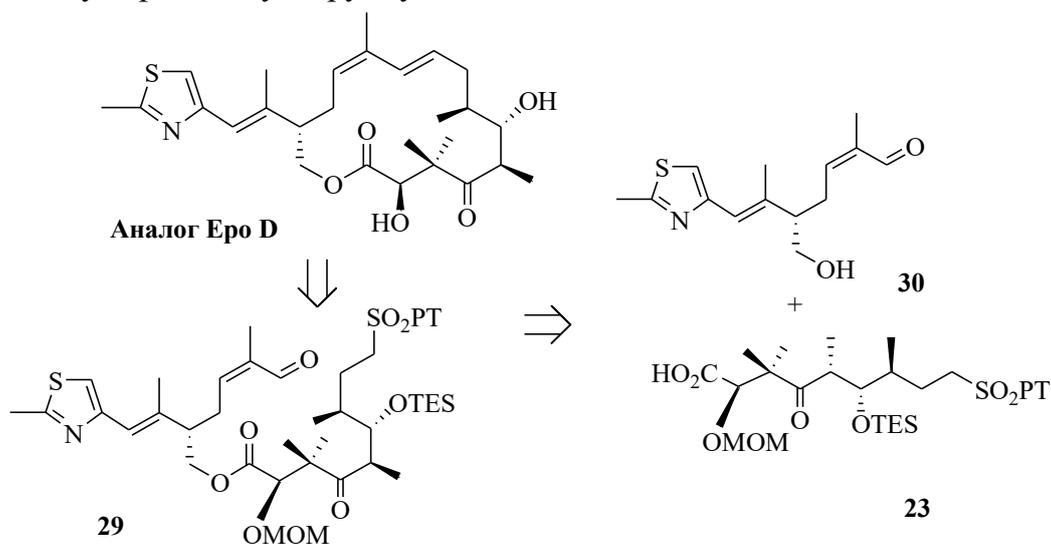


Схема 12

На пути к альдегидоспирту **30** первоначально провели деблокирование гидроксильной группы в соединении **31**, а затем региоселективное окисление диола **32** (Схема 13). Реакция протекала с изомеризацией с образованием неразделимой на SiO_2 смеси изомеров **30** и **33** в соотношении 1:1 (ЯМР¹H) и промежуточного продукта предположительной структуры **34**, который также превращался в *транс*-изомер **33** в среде хлороформа. Отнесения еналей **30** и **33** с *цис*- и *транс*- конфигурацией C²-C³ двойной связи сделано на основании данных спектров ЯМР¹H по характерным различающимся сигналам альдегидных протонов. Так, сигнал альдегидного протона в случае *цис*- еналя **30**

наблюдался при 10.1 м.д., в то время как у *транс*-изомера **33** - в более сильном поле при 9.4 м.д., что находится в соответствии с известными данными для аналогичных еналей¹.

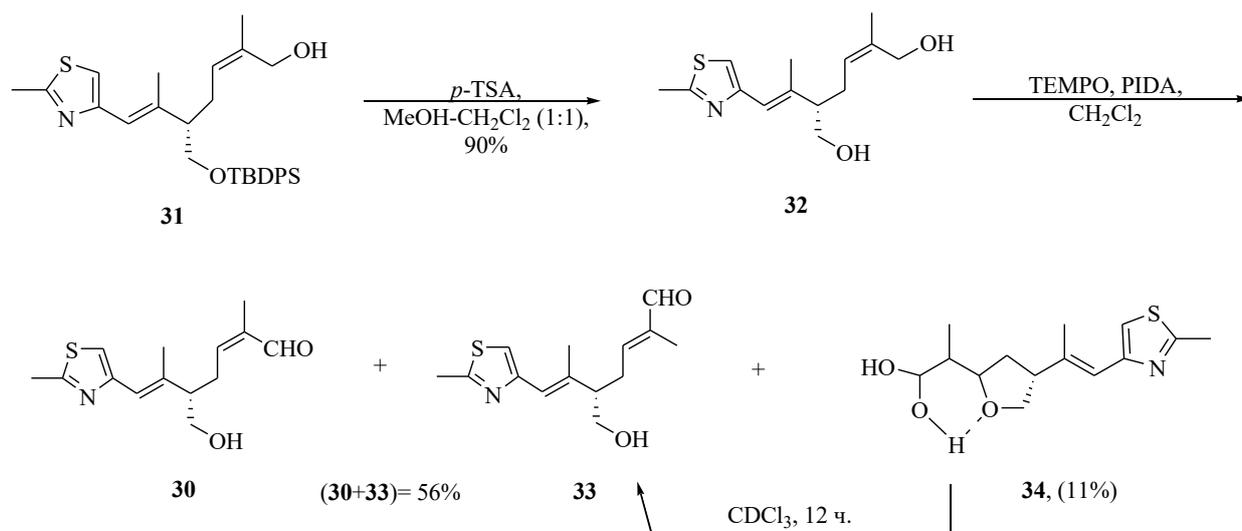


Схема 13

На заключительном этапе выделенную после колоночной хроматографии смесь изомеров **30** и **33** сразу же ввели в реакцию сочетания по Ямагучи с кислотой **23** (Схема 14). В результате были получены соответствующие изомерные эфиры **29**, **35** и побочные продукты **36**, **37**, возможные в реакции Ямагучи при использовании первичных спиртов. Все продукты оказались легко разделимы на SiO₂, и необходимый для целевого синтеза *цис*-изомер **29** был исследован во внутримолекулярной реакции по Джулия-Кочински.

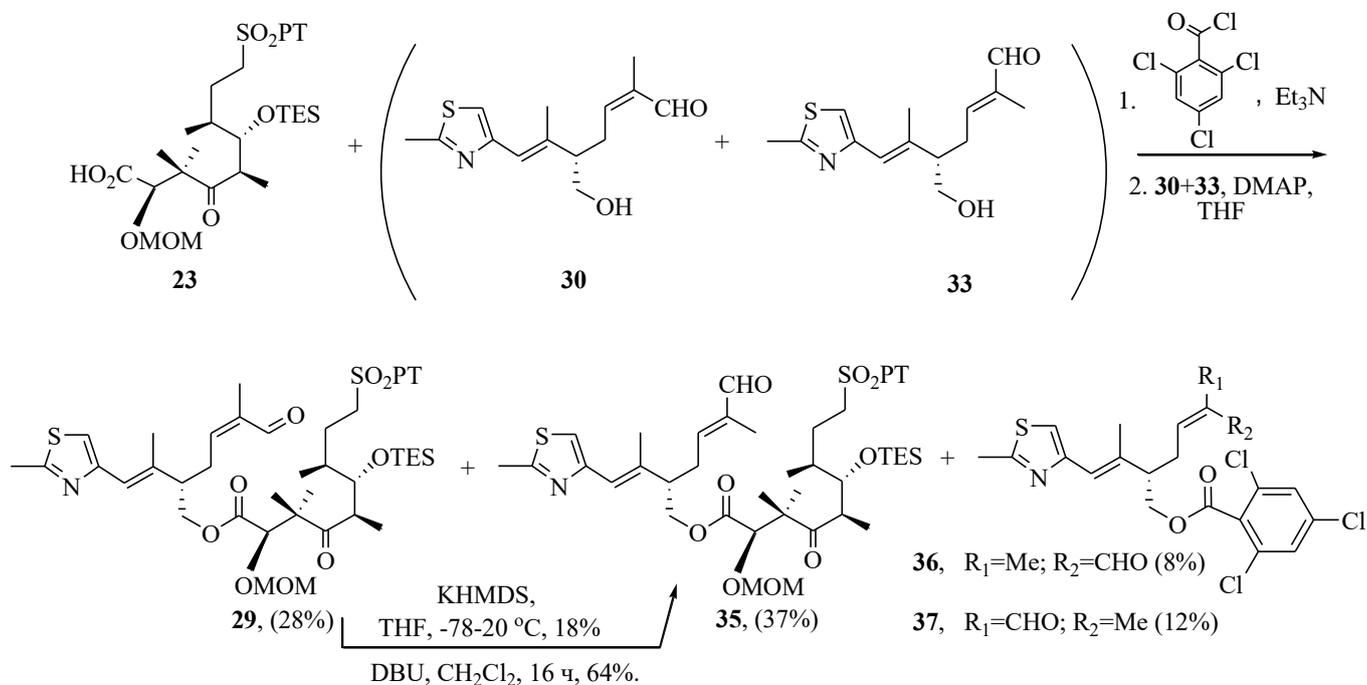


Схема 14

¹ Dash, U. A Concise and efficient total synthesis of militarinone D / U. Dash, S. Sengupta, T. Sim. – DOI 10.1002/ejoc.201500380 // Eur. J. Org. Chem. – 2015. – V. 18. – P. 3963-3970.

Все проведенные попытки получения макроцикла не привели к ожидаемому результату. Металлорганические основания (LDA, Na-, K-HMDS), так же как и катализ диазабициклоундеценом (DBU), приводили лишь к изомеризации альдегидной части молекулы с образованием *транс*- изомера. Вероятно, протекающая в условиях Джулия-Кочински *Z-E*-изомеризация в енальной части **29** с образованием неблагоприятного для макроциклизации *E*-изомера и есть одна из причин, препятствующих процессу циклизации.

4 Метатезисное циклозамыкание с использованием катализатора Граббса 2-го поколения

Для достижения поставленной цели апробировали метод Ru-катализируемого метатезисного циклозамыкания с использованием катализатора Граббса 2-го поколения (RCM).

Блок **41**, предназначенный для использования при построении верхней полусферы аналога Еро D, синтезировали из *R*-(-)-карвона через ациклическое моно-ТВДМС-производное соответствующего диола – спирт **38**. Далее на пути к **41** тиазолсодержащий спирт **38** ввели в реакцию ТЕМПО-катализируемого окисления $\text{PhI}(\text{OAc})_2$, и с высоким выходом получили альдегид **39**. Триен **40** был получен с хорошим выходом в условиях олефинирования по Джулия-Кочински. Снятие ТВДПС-защитной группы в **40** гладко протекает в системе CH_2Cl_2 -MeOH-*p*-TSAcat., давая один из ключевых блоков **41** (Схема 15).

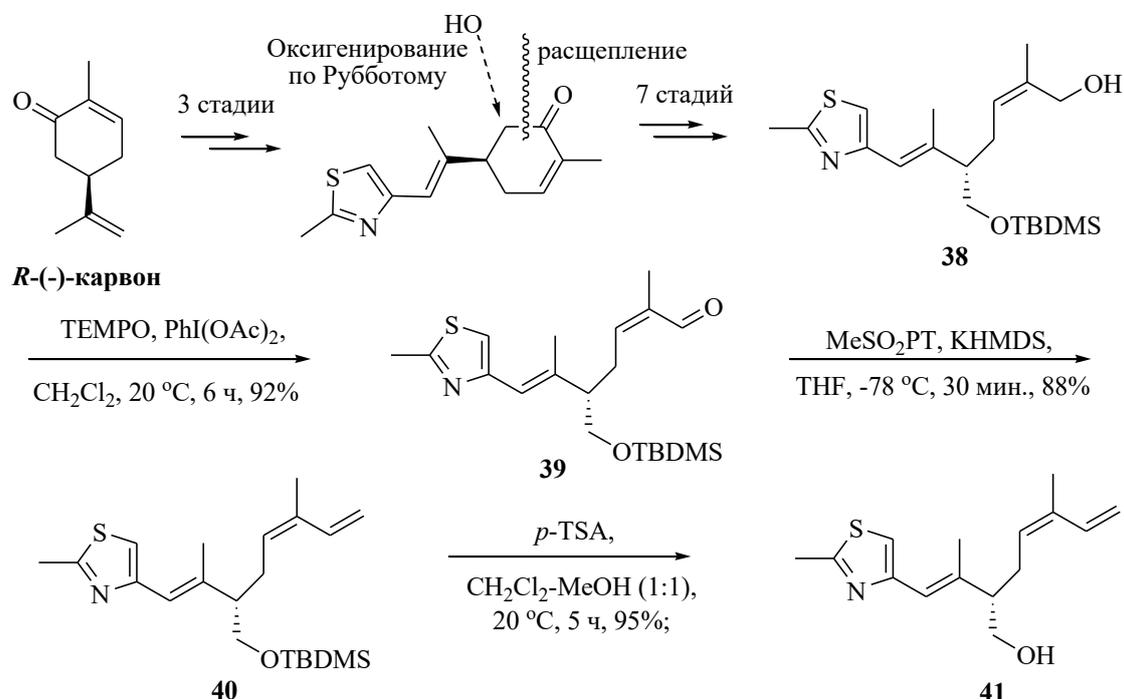


Схема 15

Кислота **44** синтезирована из **19** (Схема 16). Продвижение из **19** в направлении к **44** включало стадии блокировки свободной гидроксильной группы **19** в виде TES-эфира **20** и олефинирования **20** по Джулия-Кочински с ацетальдегидом. Далее, переход **42**→**43**→**44** выполнен без осложнений по известным методикам.

Полученные спирт **41** и кислота **44** были испытаны в стандартных условиях межмолекулярной этерификации по Ямагучи (Схема 17). По ТСХ наблюдали образование двух соединений, которые были выделены колоночной хроматографией на SiO₂. Минорный продукт (~5%) по структуре соответствовал аутентичному образцу **46**, полученному ацилированием спирта **41** трихлорбензоилхлоридом в стандартных условиях. Выход основного продукта **45** оказался на уровне 40%.

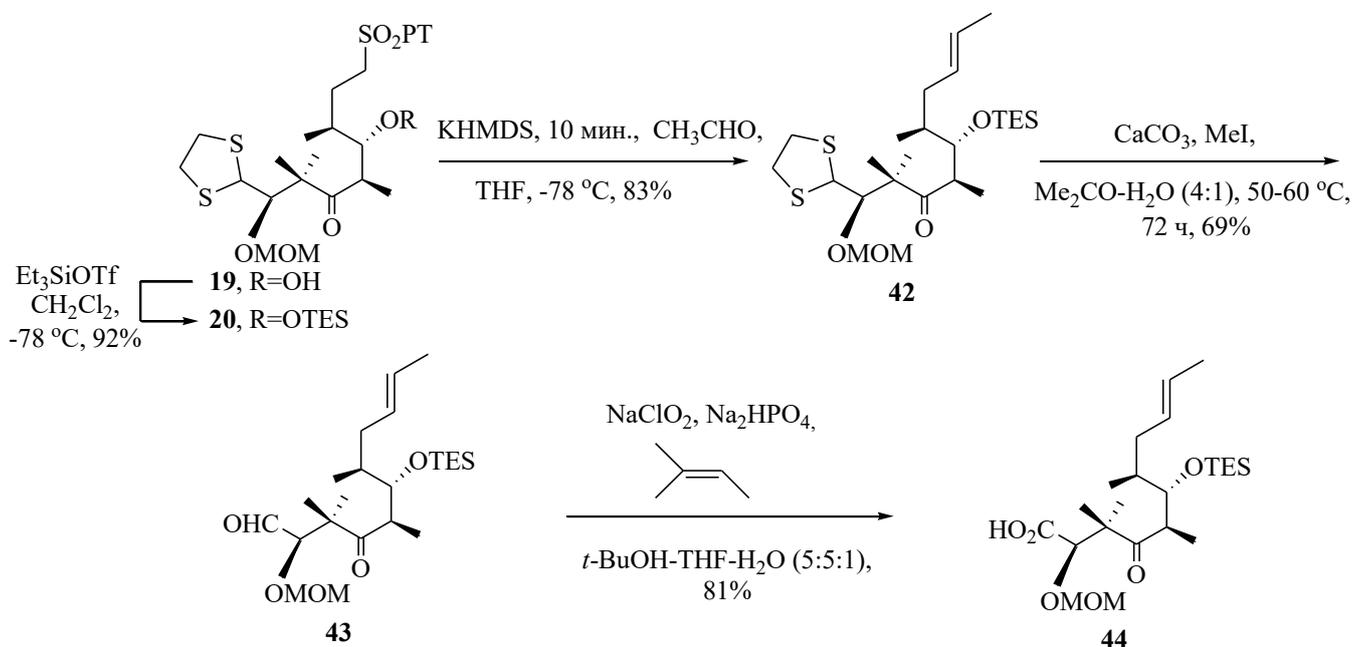


Схема 16

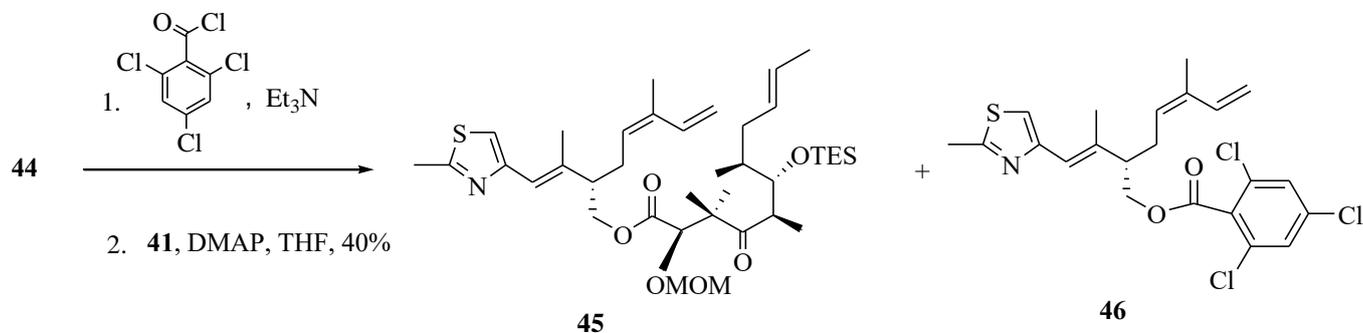


Схема 17

На следующей стадии эфир **45** вовлекали в ключевую RCM-реакцию с использованием Ru-катализатора Граббса 2-го поколения в условиях высокого разбавления (10 мМ) и, после обработки реакционной массы, ожидаемый продукт циклизации **47** выделили с выходом 45% (Схема 18).

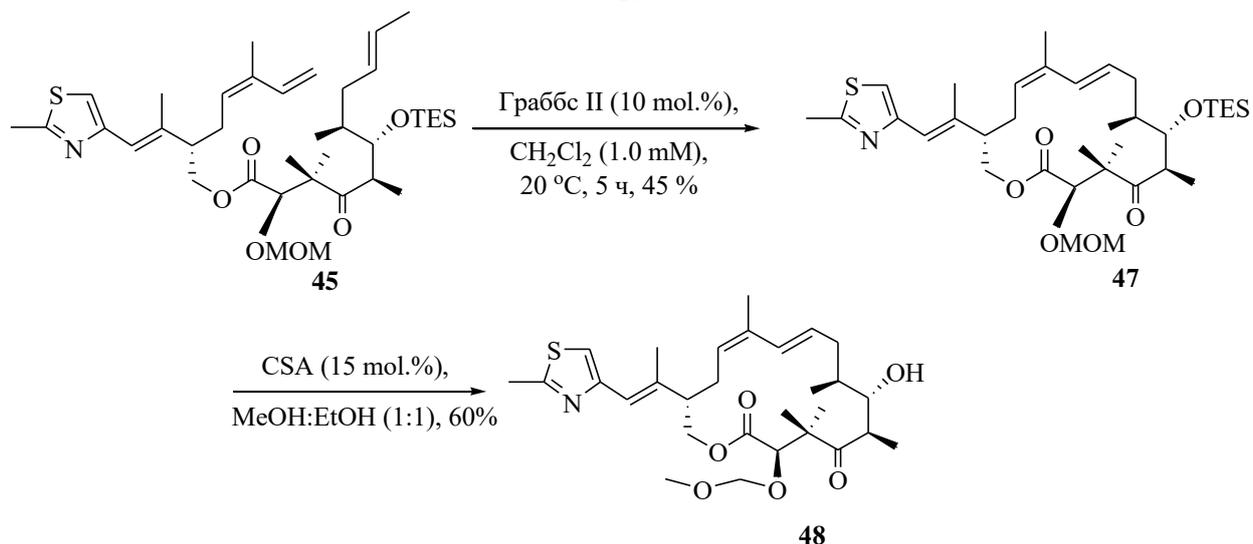


Схема 18 – Синтез целевой молекулы Еро

5 Исследование цитотоксичности аналога Еро D

Деблокирование MOM-защитной группы в **48** оказалось затруднительным, несмотря на апробацию ряда методов. Поэтому в биотестировании был испытан MOM-эфир **48**, который показал умеренную цитотоксическую активность в отношении испытанных линий раковых клеток (Hek293, SH-SY5Y, MCF-7, A549) (Таблица № 2). В то же время, новый аналог эпотилона D **48** ожидаемо отличился химической стабильностью, он не претерпевал изменений даже в достаточно жестких условиях кислотного гидролиза MOM-эфиров (MeOH, H⁺-смолы, Δ; HCl-MeOH и др.).

Таблица № 2 – Цитотоксичность нового аналога эпотилона D

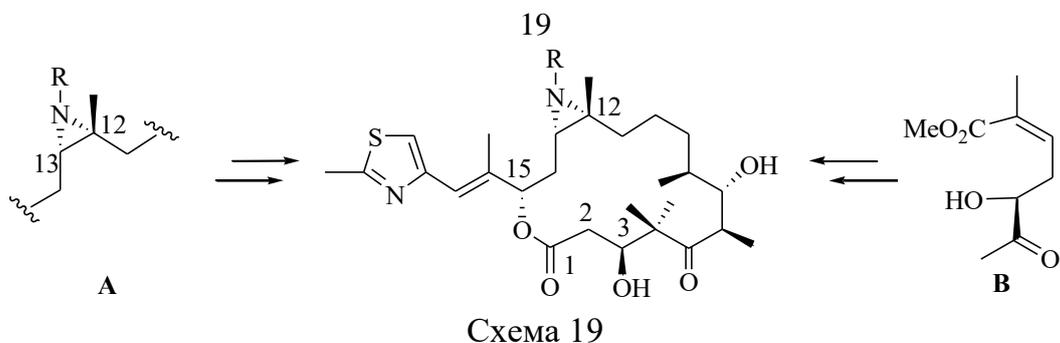
Соединение	IC ₅₀ , мкМ			
	Hek293	SH-SY5Y	MCF-7	A549
48	37.60 ± 1.74	46.80 ± 7.40	30.88 ± 2.00	62.59 ± 4.89 (p=0.0003)

6 Исследования в направлении к синтезу 12,13-азиридилил Еро В и лактамам

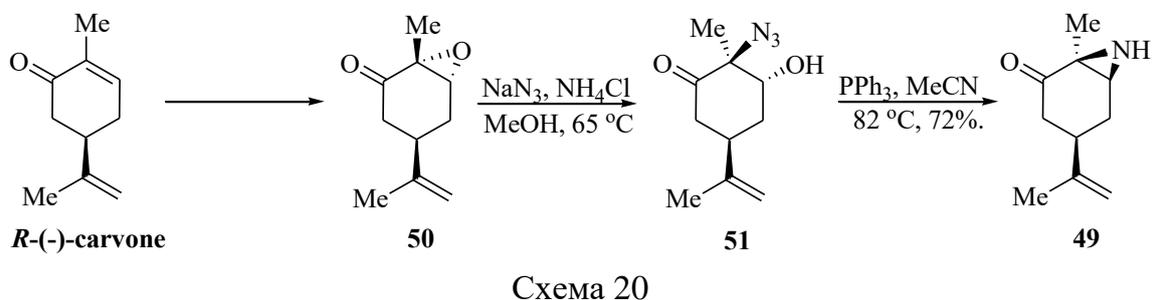
Как видно из данных цитотоксичности **48**, для усиления активности, кроме «постановки» азиридинового цикла, очевидна необходимость гидролитического удаления MOM-защитной группы, а также изъятия метилена в части C¹⁵-гидроксиметилена **48**.

6.1 Синтез 2,3-азиридилилпроизводного D-карвона

В подходах к 12,13-азиридилил Еро В прежде всего, необходимо было разработать на основе D-карвона приемлемые варианты стереоселективного получения двух блоков, содержащих фрагменты: 12,13-азиридинила **A** и функционализированного непредельного 15(*S*)-гидрокси кетоефира **B**. Оба блока снабжены с корректными природными Еро В C¹², C¹³ и C¹⁵-хиральными центрами (Схема 19).

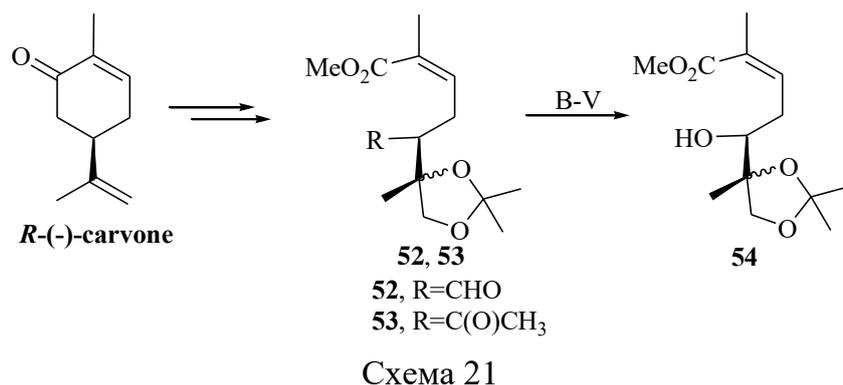


Из числа известных методов формирования системы **A** решили использовать реакцию циклозамыкания 1,2-азидоспиртов по реакции Штаудингера. Этот вариант реализовали на основе легкодоступного производного карвона-эпоксида **50**. Так, эпоксид **50** при нагревании в метанольном растворе NaN_3 , содержащем NH_4Cl , претерпевал регио- и стереоселективное раскрытие кольца с образованием вицинального азидоспирта **51**. Последний при обработке PPh_3 гладко привёл к азиридилил карвону **49** (схема 20).



6.2 Подход к синтезу природного C^{11} - C^{21} блока из *R*-(-)-карвона реакцией Байера-Виллигера с надкислотами

С целью выхода к нор-спирту **54** и испытания в реакциях Байера-Виллигера (B-V) с надкислотами были приготовлены блоки **52** и **53** (Схема 21).



Синтез ключевого в изучении реакции Байера-Виллигера B-V метилкетона **53** представлен на схеме 22. Здесь переход из известного альдегида **52** к **53** включает стадии конденсации с MeMgI и окисления спирта **55**.

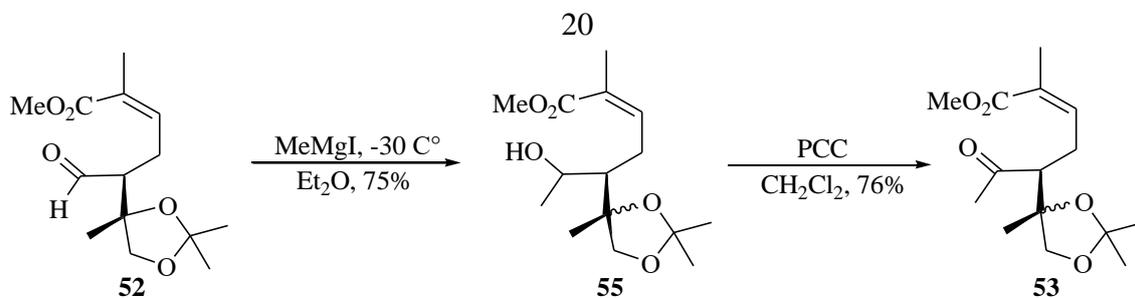


Схема 22

Экспериментальную проверку реакции В-V **53** с 1.5 экв. МСРВА в CH_2Cl_2 при $40\text{ }^\circ\text{C}$ проводили до израсходования метилкетона **53** (~24 ч.). После обработки реакционной массы и хроматографической очистки на SiO_2 выделили соединение с близким к **53** значением R_f . Спектры нового соединения были практически сходны со спектром исходного **53**, незначительные различия указывали лишь на возможную структурную изомерию в **53**. Так, если в исходном **53** изомерный состав определялся как 2:1 (по интенсивности различающихся дублетных сигналов CH_2O ацетонида), то в новом продукте это соотношение поменялось на обратное, т.е. как 1:2.

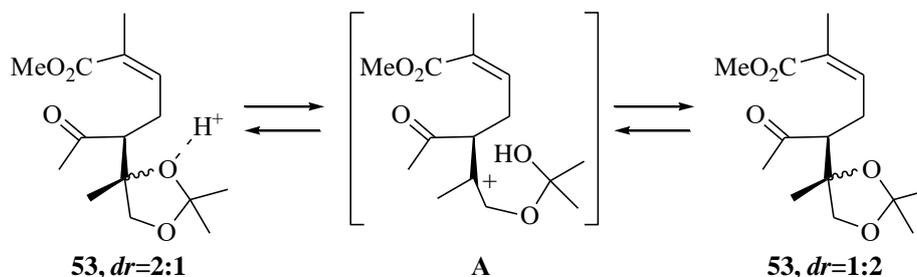


Схема 23

Изомерия в четвертичном центре вызвана катализируемой присутствующей в МСРВА *m*-хлорбензойной кислотой генерирования карбокатиона **A**, который обратно циклизуется с преимущественным образованием термодинамически более выгодного ацетонида с $dr=1:2$ (dr – diastereomeric ratio). Очевидно, наблюдаемая «равновесная изомерия» в условиях кислотного катализа при $40\text{ }^\circ\text{C}$, должна протекать с преобладанием продукта термодинамического контроля, что подтверждено расчетными методами.

Далее изучены реакции **53** в системах МСРВА- $\text{AcONa}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ и $\text{CF}_3\text{CO}_3\text{H}$ (Схема 24). Для подавления кислотно-катализируемой изомеризации ацетонида **53** реакцию Байера-Виллигера провели в системе МСРВА- AcONa . При этом, однако, был выделен с умеренным выходом эпоксид **56**.

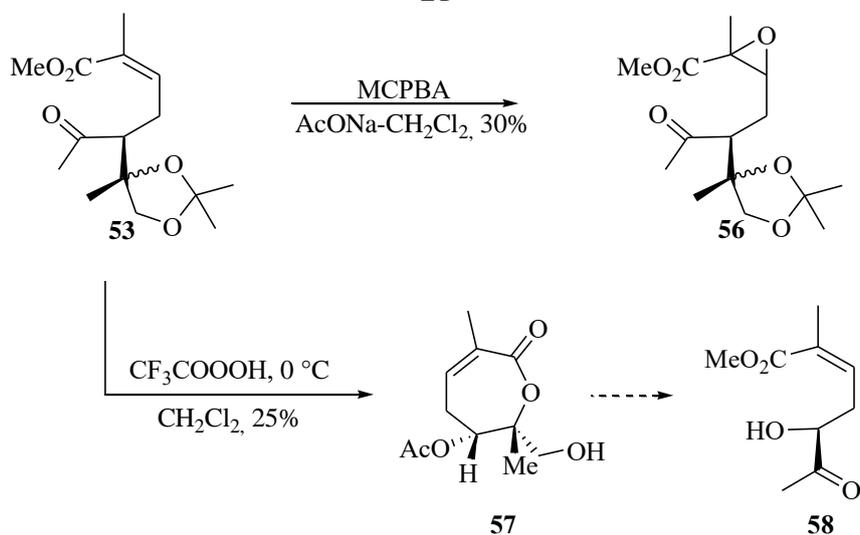


Схема 24

Обнадёживающие результаты были получены в реакции **53** с трифторнадуксусной кислотой. В реакции эквимольных количеств **53** и трифторнадуксусной кислоты происходило быстрое израсходование **53** с образованием смеси продуктов. После очистки колоночной хроматографией на SiO_2 удалось выделить основной лактон **57**, который содержит необходимые для последующей работы группы и функции, хиральный центр также соответствует таковому эпотилонового С-15. По сути **57** – это предшественник в формировании ключевого тиазолсодержащего блока Еро **58**.

Структура **57** установлена с помощью данных квантово-химических расчетов и 2D спектров ЯМР. Так, в спектре NOESY соединения **57** наблюдаются кросс-пики между метиновым протоном H^3 (δ_{H} 4.42 м.д.) и метильной группой при C^2 (δ_{H} 1.21 м.д.), что указывает на их *син*-ориентацию и подтверждает относительную стереоконфигурацию лактона **57**.

6.3 Синтез нового ключевого блока для иксабепилона из *R*-(-)-карвона

В плане разработки альтернативных вариантов использования соединения **59** в синтезе Еро поставили целью получение хирального блока для иксабепилона.

На пути к аминсодержащему фрагменту **62** исследовали возможность замены карбонильной группы на амин в альдегиде **58**, используя перегруппировку Курциуса (Схема 25).

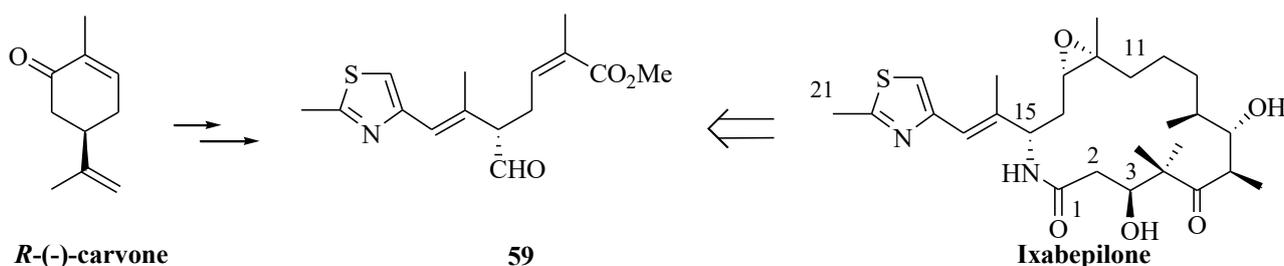


Схема 25

Сначала альдегид **59** ввели в реакцию окисления по Пиннику с получением кислоты **60**, которую затем обработали дифенилфосфорилазидом (DPPA) в присутствии Et_3N в

хлористом метиле. В результате удалось получить ацилазид **61** с выходом 76% (Схема 26).

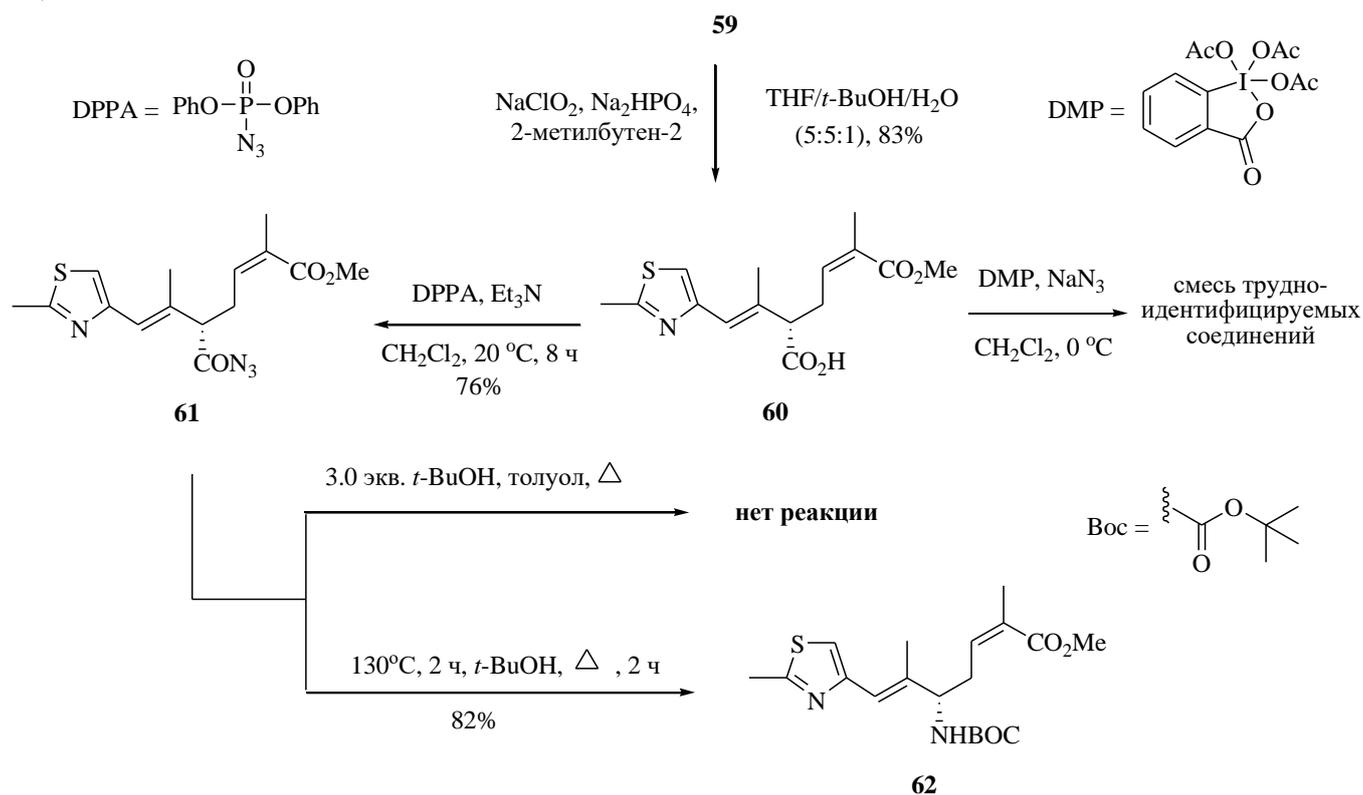


Схема 26

Перегруппировку Курциуса провели, несколько изменив условия эксперимента. Концентрированный ацилазид **61** сначала нагревали на силиконовой бане до 130°C течение 2 ч, затем, охладив реактор до 80°C , добавляли *t*-BuOH, полученную смесь выдерживали при кипячении в течение 2 ч. После удаления *трет*-бутанола и очистки остатка на SiO_2 получили целевое соединение **62** с выходом 82%. Соединение **62** представляет собой Boc-блокированный $\text{C}^{11}\text{-C}^{21}$ фрагмент иксабепилона.

Заключение

Обоснован и выполнен синтетический проект по конструированию новой топологии Еро D на основе доступных хиральных синтонов. Получены хиральные блоки для синтеза природных эптоилонов, 2,3-азиридирилкарвон и ключевой блок для Иксабепилона. При выполнении работы был разработан простой и эффективный one-pot синтез $\text{C}^1\text{-C}^5$ фрагмента из *R*-(-)-пантолактона. При синтезе $\text{C}^1\text{-C}^9$ и $\text{C}^{10}\text{-C}^{21}$ блоков оптимизирована высокостереоселективная реакция альдольной конденсации. Отработаны методы макролактонизации: классическая по Ямагучи, альтернативные по Джулиа-Кочински и метатезисная циклизация в присутствии катализатора Граббса 2-го поколения. Обнаружено, что для первичных спиртов классический метод малоэффективен из-за преимущественного побочного ацилирования первичной спиртовой группы. В реакции макролактонизации по Джулиа-Кочински выявлена неблагоприятная циклизации *Z,E*-изомеризация ациклического предшественника. Метатезисной макролактонизацией впервые получен циклический 16-членный $\text{C}^{15}\text{-C}^3$ -модифицированный аналог эптоилона D в 16 стадий из *R*-(-)-карвона с общим выходом 1.1%.

Выводы

При выполнении диссертационной работы получены следующие ключевые результаты:

1. Результатом выполнения работы стал полный синтез нового аналога эпотилона D с использованием доступных и дешевых исходных соединений (*R*-(-)-карвон, *R*-(-)-пантолактон, γ -бутиролактон) и исследование его противораковых свойств.
2. Предложена схема получения (1*R*)-1-(1,3-дителиолан-2-ил)-1-метоксиметокси-2,2-диметилпентан-3-она – хирального блока для C¹-C⁵ фрагмента эпотилона с выходом 76% на основе доступного природного *R*-(-)-пантолактона.
3. Разработан высокостереоселективный синтез C¹-C⁹ и C¹-C²¹ ациклических предшественников аналога Еро D. Найдены оптимальные условия енолизации (1*R*)-1-(1,3-дителиолан-2-ил)-2,2-диметил-1-мет-оксиметоксипентан-3-она и проведения альдольной конденсации с C⁶-C²¹ и C⁶-C⁹ альдегидами.
4. В реализации подхода макролактонизации по Джулия-Кочински этерификацией по Ямагучи (2*Z*,5*S*,6*E*)-5-(гидроксиметил)-2,6-диметил-7-(2-метил-1,3-тиазол-4-ил)гепта-2,6-диеналя с (2*R*,5*R*,6*S*,7*S*)-2-(метоксиметокси)-3,3,5,7-тетраметил-4-оксо-9-[(1-фенил-1*H*-тетразол-5-ил)сульфонил-6-[(триэтилсилил)окси]нонановой кислотой синтезирован с выходом 28 % соответствующий ациклический сложный эфир.
5. Разработан полный синтез из *R*-(-)-карвона нового 10,11-дегидроаналога эпотилона D. Ключевые этапы подхода включают оригинальный вариант дециклизации *R*-(-)-карвона с сохранением его *Z*-тризамещенной двойной связи с получением важной спиртовой компоненты сложного эфира для метатезисной циклизации; в синтезе новой топологии кислотной компоненты данного эфира задействованы *R*-(-)-пантолактон (8 стадий) и γ -бутиролактон; в финале межмолекулярная конденсация кислотной и спиртовой компонент и внутримолекулярная циклизация полученного α,ω -непредельного эфира выполнена с использованием катализатора Граббса. В итоге целевой аналог эпотилона D в виде C³-метоксиметильного эфира получен из *R*-(-)-карвона в 16 стадий с общим выходом 1.1%.
6. В плане реализации в перспективе схем синтеза высокоактивных 12,13-азиридилилпроизводных и макролактамов топологии природного Еро В проведены поисковые исследования по разработке ряда «первичных» и базисных блоков:
 - а) разработан синтез 2,3-азиридилилпроизводного *R*-(-)-карвона из эпоксикарвона через стадии регио- и стереоселективного раскрытия эпоксидного кольца NaN₃ в метанольном NH₄Cl с последующей обработкой PPh₃
 - б) разработан синтез нового 2-(гидроксиметил)-2,6-диметил-7-оксо-2,3,4,7-тетрагидрооксипин-3-ил ацетата, предшественника для формирования ключевого природного тиазолсодержащего блока Еро
 - с) на основе *R*-(-)-карвона разработан синтез (2*Z*,5*S*,6*E*)-метил-5-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-2,6-диметил-7-(2-метил-1,3-тиазол-4-ил)гепта-2,6-диеноата – ключевого синтетического блока для конвергентного синтеза иксабепилона.

Основное содержание работы изложено в следующих работах:

1. Валеев, Р.Ф. Синтез хирального блока для фрагмента C¹–C⁵ эпотилонов / Р.Ф. Валеев, Г.Р. Сунагатуллина, М.С. Мифтахов // Журнал органической химии. – 2017. – Т. 53. – № 11. – С. 1651-1654.

2. Валеев, Р.Ф. Синтез ациклического предшественника аналога эпотилона D. (1R)-1-(1',3'-дитиолан -2'-ил)-1-метоксиметокси-2,2-диметилпентан-3-он в реакциях альдольной конденсации с C⁶-C²¹ и C⁶-C⁹ альдегидными составляющими / Р.Ф. Валеев, Г.Р. Сунагатуллина, В.В. Лоза, М.С. Мифтахов // Журнал органической химии. – 2018. – Т. 54. – № 10. – С. 1535-1539.

3. Valeev, R.F. Synthesis of the acyclic precursor of an epothilone D analogue / R.F. Valeev, G.R. Sunagatullina, R.Z. Biglova // Mendeleev Communications – 2018. – V. 28. – № 6. – P. 587-588.

4. Валеев, Р.Ф. Особенности реакции этерификации по Ямагучи в подходах к предшественникам аналогов эпотилона D / Р.Ф. Валеев, Г.Р. Сунагатуллина, М.С. Мифтахов // Журнал органической химии. – 2019. – Т. 55. – № 9. – С. 1465-1468.

5. Валеев, Р.Ф. Новый ключевой блок для иксабепилона из R-(–)-карвона / Р.Ф. Валеев, Г.Р. Сунагатуллина, М.С. Мифтахов // Журнал органической химии. – 2019. – Т. 55. – № 9. – С. 1461-1464.

6. Валеев, Р.Ф. Синтез и изомеризация во фрагменте 2-метил-еняля ациклических предшественников в подходах к 9,11-диеновым аналогам эпотилонов / Р.Ф. Валеев, Г.Р. Сунагатуллина, М.С. Мифтахов // Журнал органической химии. – 2020. – Т. 56. – № 7. – С. 1014-1020.

7. Валеев, Р.Ф. Синтез нового 10,11-дидегидроаналога эпотилона D / Р.Ф. Валеев, Г.Р. Сунагатуллина, В.В. Лоза, А.Н. Лобов, М.С. Мифтахов // Журнал органической химии. – 2021. – Т. 57. – № 6. – С. 802-819.

8. Селезнева, Н.К. Синтез 2,3-азиридинилпроизводного D-карвона / Н.К. Селезнева, Г.Р. Сунагатуллина, З.Р. Валиуллина, М.С. Мифтахов // Журнал органической химии. – 2022. – Т. 58. – № 5. – С. 548-550.

9. Сунагатуллина, Г.Р. Особенности протекания реакции Байера—Виллигера в случае сложного разнотипно функционализированного субстрата / Г.Р. Сунагатуллина, С.Л. Хурсан, А.Н. Лобов, Н.К. Селезнева, М.С. Мифтахов // Известия Академии Наук. Серия химическая. – 2023. – Т. 72. – № 10. – С. 2392-2398.

Тезисы докладов в сборниках материалов конференций различного уровня:

10. Сунагатуллина Г.Р. One-pot синтез хирального блока для C¹-C⁵ фрагмента эпотилонов / Г.Р. Сунагатуллина, Р.З. Биглова, Р.Ф. Валеев // III Всероссийская молодежная конференция «Достижения молодых ученых: химические науки»: Тезисы докладов – Уфа, 2017. – С. 147-149.

11. Сунагатуллина Г.Р. Синтез ациклического предшественника аналога эпотилона D / Г.Р. Сунагатуллина, Р.Ф. Валеев // II Всероссийская молодежная конференция «Проблемы и достижения химии кислород- и азотсодержащих биологически активных соединений»: Тезисы докладов – Уфа, 2017. – С. 218.

12. Сунагатуллина Г.Р. Альтернативный подход к синтезу аналогов эпотилона D / Г.Р. Сунагатуллина, Р.Ф. Валеев // IV Всероссийская молодежная конференция «Достижения молодых ученых: химические науки»: Тезисы докладов – Уфа, 2018. – С. 210-211.

13. Валеев Р.Ф. Синтез нового 10,11-дидегидро аналога эпотилона D / Р.Ф. Валеев, Г.Р. Сунагатуллина, В.В. Лоза, А.Н. Лобов, М.С. Мифтахов // Конкурс на лучшие научно-исследовательские работы Уфимского Института химии УФИЦ РАН, 2020. – С. 21-23.

14. Сунагатуллина Г.Р. Синтез нового 10,11-дидегидро аналога эпотилона D / Г.Р. Сунагатуллина, В.В. Лоза // XXVIII Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов»: материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных, секция «Химия»: Тезисы докладов – Москва, 2021. – С. 725. [Электронное издание].

15. Сунагатуллина Г.Р. Синтез нового 10,11-дидегидроаналога эпотилона D / Г.Р. Сунагатуллина, В.В. Лоза, М.С. Мифтахов // Первая всероссийская школа для молодых ученых по медицинской химии «MedChemSchool2021»: Тезисы докладов – Новосибирск. Академгородок, 2021. – С. 196.

16. Сунагатуллина Г.Р. Особенности реакции этерификации по Ямагучи в подходах к предшественникам аналога эпотилона D / Г.Р. Сунагатуллина, В.В. Лоза, М.С. Мифтахов // Интеграция науки и высшего образования в области био- и органической химии и биотехнологии: материалы XV Всероссийской научной интернет-конференции, секция «Био- и Органическая химия»: Тезисы докладов – Уфа, 2021. – С. 79-80.

17. Сунагатуллина Г.Р. Синтез 2,3-азиридилилпроизводного D-карвона / Г.Р. Сунагатуллина, Н.К. Селезнева, П.С. Клещева // Интеграция науки и высшего образования в области био- и органической химии и биотехнологии: материалы XV Всероссийской научной интернет-конференции, секция «Био- и Органическая химия»: Тезисы докладов – Уфа, 2021. – С. 81.

18. Сунагатуллина Г.Р. Об особенностях в реакциях Байера-Виллигера с надкислотами разнотипно функционализированного блока, содержащего фрагменты эфира метакриловой кислоты, ацетонида с четвертичным центром и метилкетона / Г.Р. Сунагатуллина // III Всероссийская молодежная научно-практическая конференция «Вершины науки – покорять молодым! Современные достижения химии в работах молодых ученых»: Тезисы докладов – Уфа, 2023. – С. 30.