

**ОРИГИНАЛЬНЫЙ КАТАЛИТИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ МАКРОДИОЛИДОВ,
СОДЕРЖАЩИХ 1Z,5Z-ДИЕНОВЫЙ ФРАГМЕНТ И ИЗУЧЕНИЕ ЕГО
ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ IN VITRO**

*Черникова Е.С., магистрант,
Башкирский государственный университет*

Аннотация: разработана оригинальная стратегия синтеза важных непредельных макроциклических лактонов – макродиолидов, содержащих 1Z,5Z-диеновый фрагмент с выходами 57-79% и стереоселективностью (>98%) межмолекулярной этерификацией алифатических α,ω -дикарбоновых кислот с α,ω -алка- $nZ,(n+4)Z$ -диендиолами (1,12-додека-4Z,8Z-диендиол, 1,14-тетрадека-5Z,9Z-диендиол, 1,18-октадека-7Z,11Z-диендиол), катализируемой трифлатом гафния $Hf(OTf)_4$. Диолы получены гомо-цикломагнированием тетрагидропирановых эфиров *O*-содержащих 1,2-диенов с помощью $EtMgBr$ в присутствии металлического Mg и катализатора Cp_2TiCl_2 (10 мол%). Синтезированные макродиолиды проявляют высокую цитотоксическую активность *in vitro* в отношении опухолевых клеточных линий Jurkat, K562, U937, Hek293 and HeLa.

Разобрана проблема стереоселективных методов синтеза макроциклических соединений, содержащих в своей структуре 1Z,5Z-диеновую группировку, с использованием на ключевой стадии синтеза реакции каталитического гомо-цикломагнирования 1,2-диенов (реакции Джемилева) с помощью алкилгалогенидных производных Mg ($RMgX$) действием Ti -содержащих комплексных катализаторов. Полученные макрокарбоциклы, представляют интерес в качестве новых синтетических биологически активных прекурсоров для создания современных препаратов для лечения онкологических заболеваний.

Ключевые слова: макроциклы, синтез, макролиды, активность, диеновый фрагмент

**ORIGINAL CATALYTIC SYNTHESIS OF MACRODIOLIDES CONTAINING 1Z, 5Z-DIENE
FRAGMENT AND THE STUDY OF ITS ANTITUMOR ACTIVITY IN VITRO**

*Chernikova E.S., Master Student,
Bashkir State University*

Abstract: an original strategy was developed for the synthesis of valuable unsaturated macrocyclic lactones, macrodiolides, containing a 1Z,5Z-diene moiety in 57-79% yields and >98% stereoselectivity by hafnium triflate $Hf(OTf)_4$ -catalyzed intermolecular esterification of aliphatic α,ω -dicarboxylic acids with α,ω -alka- $nZ,(n+4)Z$ -dienediols (1,12-dodeca-4Z,8Z-dienediol, 1,14-tetradeca-5Z,9Z-dienediol, 1,18-octadeca-7Z,11Z-dienediol). The diols were obtained by homo-cyclomagnesiation of tetrahydropyran ethers of oxygenated 1,2-dienes with $EtMgBr$ in the presence of Mg metal and Cp_2TiCl_2 catalyst (10 mol. %). The resulting macrodiolides exhibit high cytotoxic activity *in vitro* against Jurkat, K562, U937, Hek293 and HeLa tumor cell lines.

The problem of stereoselective methods for the synthesis of macrocyclic compounds containing 1Z, 5Z-diene grouping in their structure was analyzed, using 1,2-dienes (Cemilev reaction) using alkyl halide derivatives of Mg (RMgX) by Ti- action at a key stage of the synthesis, containing complex catalysts. The resulting macrocycles are of interest as new synthetic biologically active precursors for the creation of modern drugs for the treatment of cancer.

Keywords: macrocycles, synthesis, macrolides, activity, diene fragment

На протяжении многих лет макроциклические соединения являются предметом пристального и все возрастающего интереса со стороны исследователей, занятых поиском и разработкой современных высокоэффективных лекарственных препаратов. И это не удивительно, так как известно, что довольно большое число макроциклических соединений проявляют широкий спектр биологических активностей [1]. Так, у представителей этого класса соединений выявлена высокая антибактериальная, противоопухолевая, противовоспалительная, противомикробная и фунгицидная активности [2].

Неуклонно возрастающий интерес к полифункциональным макрокарбоциклам обусловлен, проявляемым данным классом соединений, широким спектром полезных свойств. Так, макрокарбоциклы находят применение в качестве высококачественных душистых веществ, феромонов, экстрагентов, ионофоров и высокоэффективных лекарственных препаратов.

Особый интерес и практическую ценность представляют макроциклические моно- и дилактоны, содержащие в своей структуре кратные углерод-углеродные связи, а также гетероатомы, которые проявляют высокую противоопухолевую, противовирусную, антибактериальную и фунгицидную активности [3, 4].

По нашему мнению, заслуживают особого внимания кислородсодержащие макроциклические соединения, которые благодаря высокой ли-

пофильности способны глубоко проникать и накапливаться в различных органах и тканях. Именно высокая липофильность позволяет создавать в тканях высокие концентрации действующего вещества, которые в десятки раз превышают концентрации препарата в плазме крови, и, благодаря этому свойству, указанные макролиды довольно часто применяются в качестве носителей для известных фармакофоров. Например, они используются при адресной доставке противоопухолевых препаратов, ингибиторов гистодиацетилаз,^[3] и гибридных молекул, проявляющих мультитаргетные свойства.

Также известно, что 12-членный макролид *Balticolide*, содержащийся в морских грибах рода *Ascomycota*, проявляет высокую активность (IC₅₀ 0.45 μM) в отношении вируса герпеса (anti-HSV) [5], Z-полиеновые макролиды *Aplyolides* A-E являются эффективными ихтиотоксинами [6, 7], полифункциональные макрокарбоциклы *Aplygonines* A-H и *Pladienolide* B оказывают цитотоксическое действие по отношению к опухолевым клеточным линиям с IC₅₀ 0.075-9.8 nM [8]. Недавно было показано, что выделенные из грибов семейства *Penicillium* макролиды *Eushearilides*, содержащие 1,5-диеновый фрагмент, обладают широким спектром фунгицидного действия против оппортунистических генерализованных микозов у людей с ослабленным иммунитетом, ВИЧ-инфицированных и онкобольных [9, 10].

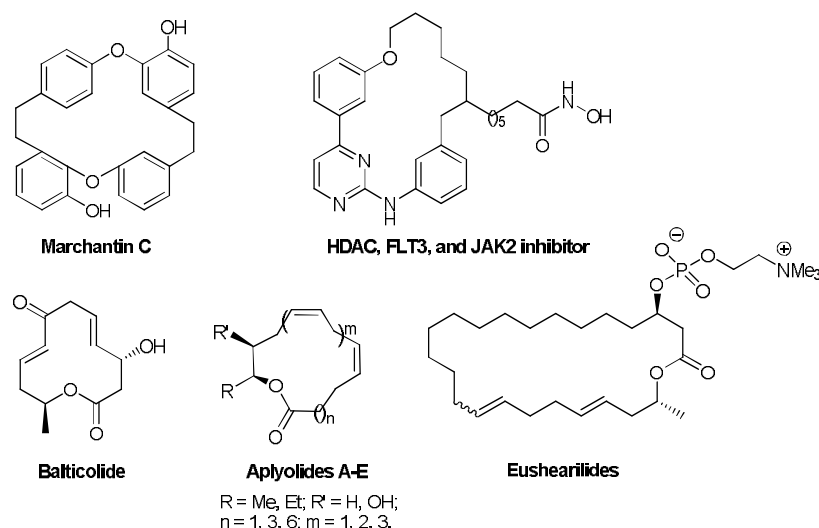


Рис. 1.

Ранее было показано, что большим потенциалом при разработке противоопухолевых препаратов обладают жирные непредельные кислоты, с различным удалением $1Z,5Z$ -диенового фрагмента от карбоксильной группы, поэтому в качестве ключевых мономеров для получения макродиолидов в рамках представленной статьи выбрали α,ω -алка- $nZ,(n+4)Z$ -диендиолы различной длины. Стратегия получения целевых макродиолидов включает последовательный синтез упомянутых выше α,ω -алка- $nZ,(n+4)Z$ -диендиолов, основанный на применении разработанных нами реакций Ti-катализируемого межмолекулярного гомоцикломагнирования O-содержащих 1,2-диенов с помощью реактивов Гриньяра, и введение последних в реакцию межмолекулярной этерификации с алифатическими α,ω -дикарбоновыми кислотами.

Учитывая вышеизложенное, а также в развитие проведенных нами исследований по разработке стереоселективных методов синтеза природных и синтетических биологически активных соединений, содержащих в своей структуре $1Z,5Z$ -диеновый фрагмент, проявляющих противовирусную, противомикробную, нейритогенную, противоопухолевую, антималярийную, противотуберку-

лезную активности [11] нами была выдвинута идея о возможности распространения накопленного опыта по синтезу указанных соединений для разработки оригинальных подходов к получению Z -ненасыщенных макродиолидов.

Стратегия синтеза целевых макродиолидов включает синтез α,ω -алка- $nZ,(n+4)Z$ -диендиолов, основанный на применении разработанных нами реакций Ti-катализируемого межмолекулярного гомоцикломагнирования O-содержащих 1,2-диенов с помощью реактивов Гриньяра, и введение последних в реакцию межмолекулярной этерификации с алифатическими α,ω -дикарбоновыми кислотами. Ранее было показано, что наибольшим потенциалом из числа изученных $1Z,5Z$ -диеновых кислот, проявляющих противоопухолевую активность, обладают производные высших жирных кислот, содержащие две цис-двойные углерод-углеродные связи в 5- и 9-м положениях углеводородной цепи, поэтому при выборе в качестве ключевого мономера для получения макродиолидов в рамках представленной статьи мы выбрали тетрадека- $5Z,9Z$ -диен-1,14-диол.

Для реализации намеченной стратегии синтеза непредельных макроцилических соединений пер-

воначально синтезировали тетрадека-5*Z*,9*Z*-диен-1,14-диол (4). Межмолекулярное гомоцикломагнирование тетрагидропиранового эфира гепта-5,6-диенола (1) с помощью EtMgBr в присутствии металлического магния и катализатора Cp₂TiCl₂ (1:EtMgBr:Mg:[Ti] = 10:20:24:0.5; Et₂O, 6 ч, 20-22°C), привело к магнезациклопетану 2, кислотный гидролиз которого дает бис-

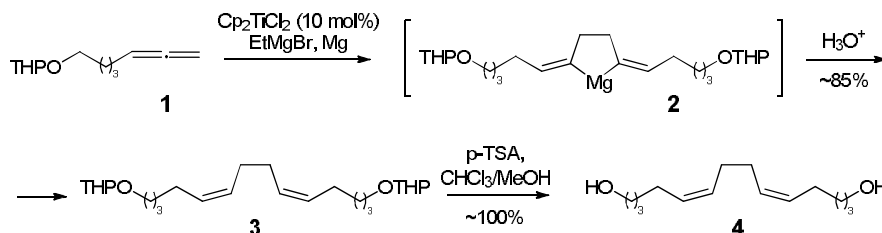
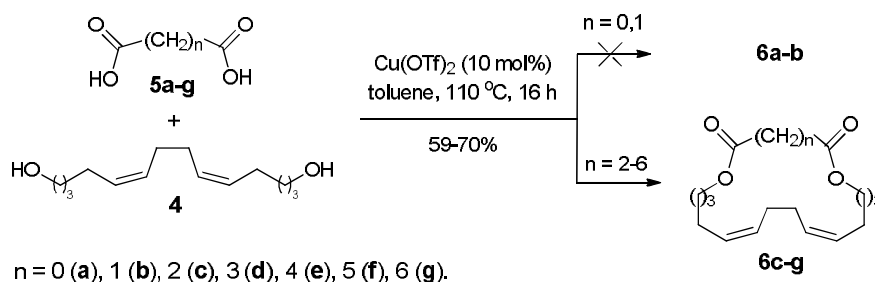


Схема 1.

Приступая к завершающему этапу сборки целевых макродиолидов, предполагающему, в соответствии с выдвинутой стратегией синтеза, проведение межмолекулярной этерификации синтезированного диола 4 с алифатическими α,ω-дикарбоновыми кислотами, проанализировав литературные данные в этой области, остановили свой выбор на разработанном Collins с соавт. препаративном подходе, основанном на взаимодействии насыщенных алифатических α,ω-диолидов с



n = 0 (a), 1 (b), 2 (c), 3 (d), 4 (e), 5 (f), 6 (g).

Схема 2.

Следует отметить, что в разработанных условиях не удается осуществить межмолекулярную этерификацию тетрадека-5*Z*,9*Z*-диен-1,14-диола (4) с щавелевой (5a) или малоновой (5b) кислотами. При этом выход макрокарбоциклов 6с-г уве-

тетрагидропирановый эфир тетрадека-5*Z*,9*Z*-диен-1,14-диола (3) с выходом ~85% и стереоселективностью (>98%) (Схема 1), на завершающем этапе синтеза обработкой соединения 3 0.1 экв. паратолуолсульфо кислоты в смеси метанол-хлороформ (1:1) при 55°C в течение 2 часов получен целевой тетрадека-5*Z*,9*Z*-диен-1,14-диол (4) с количественным выходом.

α,ω-дикарбоновыми кислотами в присутствии каталитических количеств трифлатов переходных металлов.

Так, нами впервые было показано, что взаимодействие эквимольных количеств тетрадека-5*Z*,9*Z*-диен-1,14-диола (4) и насыщенных дикарбоновых кислот (C4-C8) 5с-ф в присутствии катализатора Cu(OTf)₂ (10 мол %) при кипячении в толуоле в течение 8-16 ч приводит к соответствующим макродиолидам 6с-ф с выходами 59-70% (Схема 2).

личивался с нарастанием длины углеводородной цепочки, начиная с янтарной кислоты (5с). Обнаруженные закономерности синтеза макродиолидов соблюдаются и при введении в реакцию 1,18-октадека-7*Z*,11*Z*-диендиола (4с). Показано, что

1,12-додека-4*Z*,8*Z*-диендиол (4а) вступает в реакции макроциклизации давая макродиолиды 6 с меньшими выходами, увеличение времени реакции практически не влияет на выходы образования конечных продуктов. Для этой линейки соединений удалось осуществить синтез целевых макродиолидов 6 начиная с глутаровой кислоты. В случае проведения реакций макроциклизации с насыщенными кислотами с длиной цепи более 10 углеродов, а также с ароматическими кислотами, в которых карбоксильная группа непосредственно связана с кольцом целевые макродиолиды были

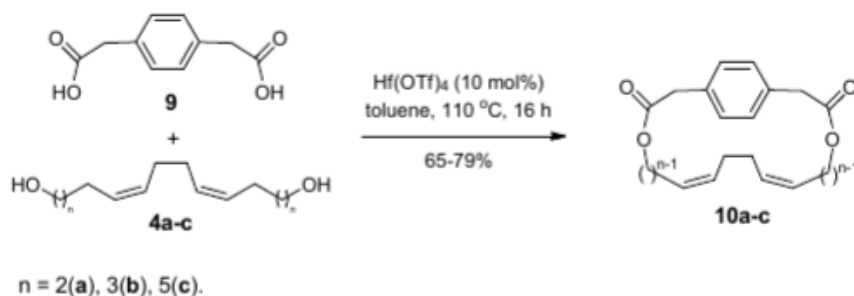


Схема 3.

Структура синтезированных макроциклов 6 установлена с помощью масс-спектрометрии и ЯМР спектроскопии ^1H , ^{13}C , а также двумерных гетероядерных корреляционных экспериментов (HSQC, HMBC). В спектрах ЯМР ^{13}C для всех макроциклов наблюдалось удвоение интенсивности сигналов атомов углерода, что свидетельствует о симметричности синтезированных молекул. О *Z*-конфигурации заместителей при двойных связях в полученных 1,5-диенах можно судить по наличию сильнополюсных сигналов внутренних аллильных углеродных атомов ~ 27 м.д. в спектре ЯМР ^{13}C , свидетельствующих о наличии *cis*-взаимодействия с внешними аллильными атомами углерода.²³

Учитывая высокий потенциал практического применения макродиолидов в качестве потенци-

обнаружены лишь в следовых количествах. В развитие этих исследований нами осуществлен синтез макродиолидов каталитической межмолекулярной этерификацией *p*-phenylenediacetic acid 9 с диолами 4а-с. Так, нами показано, что взаимодействие эквимольных количеств 1,12-додека-4*Z*,8*Z*-диендиола (4а), тетрадека-5*Z*,9*Z*-диен-1,14-диола (4b) или 1,18-октадека-7*Z*,11*Z*-диендиола (4с) с *p*-phenylenediacetic acid 9 в присутствии катализатора Hf(OTf)_4 (10 мол%) при кипячении в толуоле в течение 16 ч приводит к целевым макродиолидам 10а-с с выходами 65-79%.

альных противоопухолевых соединений для всех синтезированных макродиолидов 6-8, 10 нами впервые была проведена оценка противоопухолевой активности *in vitro* на клеточных линиях Jurkat, K562, HEK293, HELA, и U937, включающая определение IC_{50} с применением проточной цитофлуориметрии с помощью наборов реагентов Guava ViaCount (Millipore) в сравнении с камптотецином и макродиолидом 11, полученным исходя из 1,8-октандиола и 1,8-октандикарбоновой кислоты.

Цитотоксическая активность соединений 6-8, 10 *in vitro* в отношении опухолевых культур Jurkat, K562, U937, HeLa, а также клеточной линии, полученной из эмбриональных почек человека HEK293.

Таким образом, нами разработан оригинальный метод стереоселективного синтеза ранее неопи- санных макродиолидов, содержащих в своей структуре 1*Z*,5*Z*-диеновый фрагмент, с выходами 59-70% и стереоселективностью (>98%), основан- ный на последовательном применении реакции межмолекулярного гомо-цикломагнирования *O*- содержащих 1,2-диенов с последующей межмоле- кулярной этерификацией алифатических α,ω - дикарбоновых кислот с тетрадека-5*Z*,9*Z*-диен- 1,14-диолом, катализируемой трифлатом меди $\text{Cu}(\text{OTf})_2$. Мы полагаем, что в основе разработан- ной схемы синтеза заложен большой синтетиче-

ский потенциал для получения полифункциональ- ных макродиолидов путем варьирования структу- ры и длины исходных *O*-содержащих 1,2-диенов и α,ω -дикарбоновых кислот, а также возможностью введения дополнительных функциональных групп по кратным углерод-углеродным связям в полу- ченных макрокарбоциклах. Эти исследования нами активно продолжаются и в ближайшей пер- спективе планируется существенное расширение ассортимента синтезированных макродиолидов, а также их наработка и проведение испытаний на противоопухолевую, антибактериальную, проти- вовирусную и фунгицидную активности.

Литература

1. Driggers E.M., Hale S.P., Lee J., Terrett N.K. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2008. №7. P. 608 – 624.
2. Yudin A.K. *Chem. Sci*. 2015. №6. P. 30 – 49.
3. Vercruyssen J., Rew R.S., *Macrocyclic lactones in antiparasitic therapy*. 2002. CABI. 412 p.
4. Janecki T. *Natural Lactones and Lactams: Synthesis, Occurrence and Biological Activity*. 2013. John Wiley & Sons, 392 p.
5. Shushni M.A.M., Singh R., Mentel R., Lindequist U., *Mar. Drugs*. 2011. №9. P. 844 – 851.
6. Spinella A., Caruso T., Martino M., Sessa C., *Synlett*. 2001. №12. P. 1971 – 1973.
7. Bruno G., Caruso T., Peluso A., Spinella A., *Phytochemistry Reviews*. 2004. №3. P. 417 – 422.
8. Ojika M., Kigoshi H., Suenaga K., Imamura Y., Yoshikawa K., Ishigaki T., Sakakura A., Mutou T., Yamada K., *Tetrahedron*. 2012. №68. P. 982 – 987.
9. Hosoe T., Fukushima K., Takizawa K., Itabashi T., Kawahara N., Vidotto V., Kawai K., *J. Antibiot*. 2006. №59. P. 597 – 600.
10. Tono T., Kawahara R., Yoshinaga Y., Inohana T., Fujimori K., Shiina I., *Tetrahedron Lett*. 2015. №56. P. 1356 – 1359.
11. Carballeira N.M. *Prog. Lipid Res*. 2008. №47. P. 50 – 61.

References

1. Driggers E.M., Hale S.P., Lee J., Terrett N.K. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2008. №7. P. 608 – 624.
2. Yudin A.K. *Chem. Sci*. 2015. №6. P. 30 – 49.
3. Vercruyssen J., Rew R.S., *Macrocyclic lactones in antiparasitic therapy*. 2002. CABI. 412 p.
4. Janecki T. *Natural Lactones and Lactams: Synthesis, Occurrence and Biological Activity*. 2013. John Wiley & Sons, 392 p.

5. Shushni M.A.M., Singh R., Mentel R., Lindequist U., *Mar. Drugs*. 2011. №9. P. 844 – 851.
6. Spinella A., Caruso T., Martino M., Sessa C., *Synlett*. 2001. №12. P. 1971 – 1973.
7. Bruno G., Caruso T., Peluso A., Spinella A., *Phytochemistry Reviews*. 2004. №3. P. 417 – 422.
8. Ojika M., Kigoshi H., Suenaga K., Imamura Y., Yoshikawa K., Ishigaki T., Sakakura A., Mutou T., Yamada K., *Tetrahedron*. 2012. №68. P. 982 – 987.
9. Hosoe T., Fukushima K., Takizawa K., Itabashi T., Kawahara N., Vidotto V., Kawai K., *J. Antibiot.* 2006. №59. P. 597 – 600.
10. Tono T., Kawahara R., Yoshinaga Y., Inohana T., Fujimori K., Shiina I., *Tetrahedron Lett.* 2015. №56. P. 1356 – 1359.
11. Carballeira N.M. *Prog. Lipid Res.* 2008. №47. P. 50 – 61.