

На правах рукописи

САЛИХОВ ШАМИЛЬ МУБАРАКОВИЧ

**ИЗОЦЕМБРОЛ И N-МЕТИЛУРОКАНОВАЯ КИСЛОТА В СИНТЕЗЕ
ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ БИОМИМЕТИКОВ**

02.00.03 - Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Уфа - 2007

Работа выполнена в Институте органической химии Уфимского научного центра РАН.

Научный руководитель:	доктор химических наук, профессор Валеев Ф.А.
Официальные оппоненты:	доктор химических наук, профессор Куковинец О.С.
	кандидат химических наук, доцент Гималова Ф.А.
Ведущая организация:	ГОУ ВПО «Уфимский государственный нефтяной технический университет»

Защита состоится "30" мая 2007 г. в 14⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 002.004.01 в Институте органической химии УНЦ РАН по адресу: 450054, Башкортостан, г. Уфа, проспект Октября, 71, зал заседаний. E-mail: chemorg@anrb.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Уфимского научного центра РАН.

Автореферат разослан "28" апреля 2007 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор химических наук, профессор

Ф.А. Валеев

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Урокановая [3-(1H-имидазол-4-ил)-проп-2-еновая] кислота, обладающая разносторонней биологической активностью, образуется в живых организмах в результате метаболизма гистидина.

В качестве кислотной компоненты ее N-метилпроизводное входит в структуру дитерпеновых эфиров элеутеробина и саркодиктиинов – метаболитов мягких кораллов *Eleutherobia aurea* и *Sarcodictyon roseum*, обладающих таксолоподобным механизмом цитотоксического действия.

В ходе создания комбинаторной библиотеки саркодиктиинов установлено, что удаление остатка N-метилурокановой кислоты или замена ее имидазольного цикла на оксазольный, тиазольный или фенильный критически сказывается на цитотоксической активности соединения. Факты проявления аналогичных свойств у валдивононов – элеутезидов, не являющихся эфирами N-метилурокановой кислоты, не известны. Можно предположить, что уникальность биологических свойств элеутеробина и саркодиктиинов может быть также следствием их природы как эфиров N-метилурокановой кислоты, что допускает вероятность существования более доступных таксольных биомиметиков.

В этом смысле, производные цефмбрана, обладающие весьма ценными и разносторонними биологическими свойствами, более того, предполагаемые биогенетические предшественники элеутезидов, представляют собой перспективные дитерпеноиды для получения цитотоксических N-метилуроканатов, а разработка методов их получения из доступных цефмбраноидов придает исследованиям в этом направлении особую актуальность.

Настоящая работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ Института органической химии УНЦ РАН по темам: "Энантоспецифические трансформации 1,6-ангидросахаров и некоторых терпеноидов в оксигенированные циклические системы и малые карбоциклы – фрагменты биологически активных метаболитов" (№ гос. регистрации 01.9.90 000199), "Стереоконтролируемые превращения первичных метаболитов в циклические системы биоактивных молекул" (№ гос. регистрации 0120.0 500682), а также программой Президиума РАН "Направленный синтез веществ с заданными свойствами и создание функциональных материалов на их основе".

Цель работы. Разработка методов получения эфиров N-метилурокановой кислоты гидроксипроизводных изоцефмброла.

Научная новизна и практическая значимость. В основу исследования положено предположение о вероятном проявлении цитотоксических свойств у эфиров N-метилурокановой кислоты и гидроксипроизводных изоцефмброла. Осуществлен синтез N-метилурокановой кислоты из гистидина элиминированием по Гофману и последующим N(τ)-метилированием. Разработаны методы регио- и стереоселективного гидроксирования изоцефмброла с использованием окислительных реагентов

m-CPBA, $\text{CrO}_3 \cdot 2\text{Py}$, t-BuOOH в присутствии SeO_2 или $\text{VO}(\text{acac})_2$. Установлен факт расщепления 3,4-дигидроксипроизводного мягким окислительным реагентом пиридинийхлорхроматом с образованием линейного кетоальдегида; показана возможность модификации в направлении высших полиеновых кислот и ацетогенинов путем его алкилирования по Реформатскому и 1,2-присоединения этиниллития. Получены N-метилуроканаты 2-, 3-, 13-гидроксипроизводных изоцемброла, проявивших высокую цитотоксическую активность.

Апробация работы. Материалы диссертационной работы доложены на конкурсе научных работ студентов ВУЗов РБ (г. Уфа, 2003 г.), III Всероссийской научной INTERNET-конференции "Интеграция науки и высшего образования в области органической и биоорганической химии и механики многофазных систем" (г. Уфа, 2005 г.), IV Всероссийской научной INTERNET-конференции "Интеграция науки и высшего образования в области органической и биоорганической химии и механики многофазных систем" (г. Уфа, 2006 г.), IV Всероссийской научной конференции "Химия и технология растительных веществ" (г. Сыктывкар, 2006 г.).

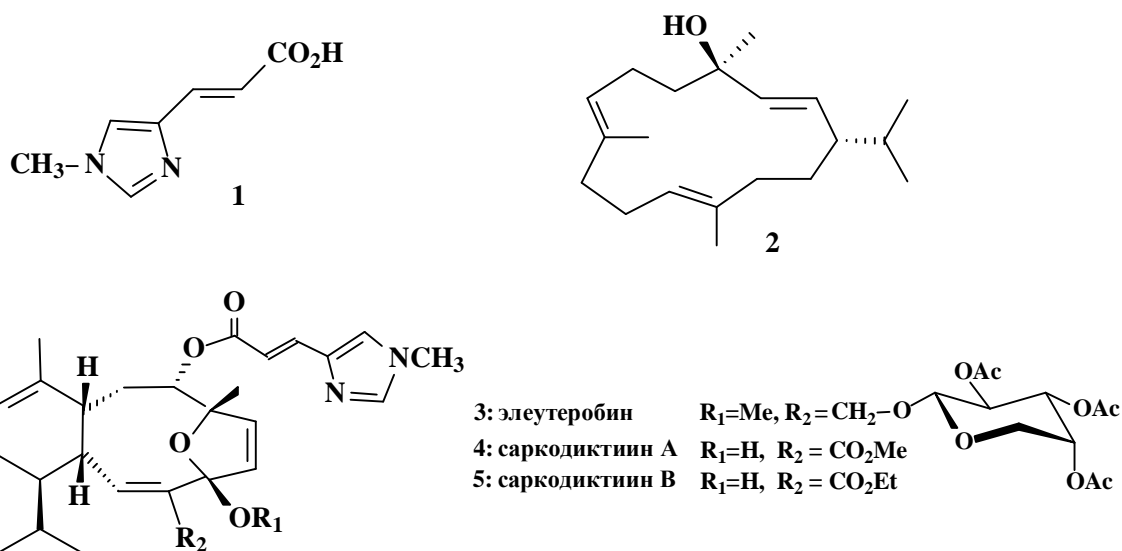
Публикации. По теме диссертации опубликованы 4 статьи и тезисы 6 докладов на конференциях.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора на тему "Цембрanoиды: источники, свойства и синтез", обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка литературы. Работа изложена на 128 страницах. Список цитируемой литературы включает 136 наименований.

Соискатель выражает глубокую благодарность академику Г.А.Толстикову за постоянное внимание и неоценимые консультации, оказанные при выполнении работы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Для выполнения цели исследования необходимо решение взаимосвязанных проблем синтеза N-метилурокановой кислоты **1**, разработки методов получения гидроксипроизводных изоцеμβрола **2** и их этерификации в соответствующие N-метилуроканаты – предполагаемые биомиметики элеутезидов **3-5**.

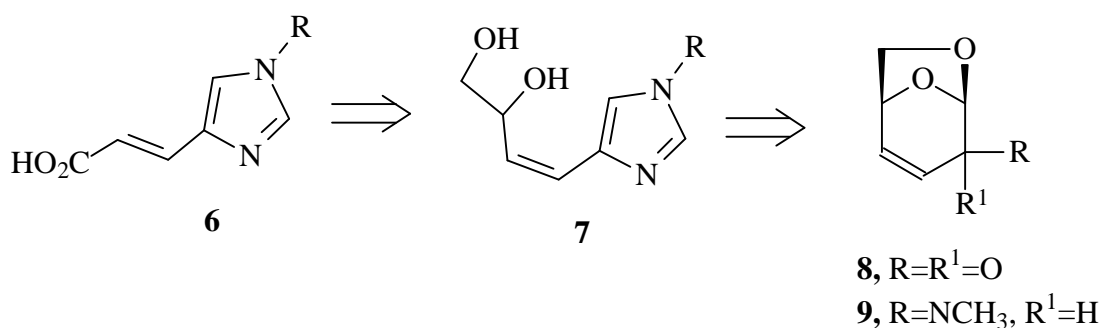


1. Разработка методов синтеза N-метилурокановой кислоты

Известные синтезы производных имидазола основаны на взаимодействии α -замещенных кетонов (заместители – галоид-, гидрокси-, amino- или изонитрозогруппы) с формамидом. Поэтому получение N-метилурокановой кислоты теоретически возможно на основе широкого арсенала простых субстратов в рамках линейного синтеза. Привлекательным путем с химической точки зрения являются возможные превращения в замещенные имидазолы доступных природных соединений. Например, один из эффективных путей синтеза производных основан на использовании углеводов.

Мы изучили некоторые возможности такого перехода на основе левоглюкозенона **8**. Структура этого енона содержит в латентной форме α -ацеталькетонный фрагмент, при конденсации которого в классических условиях (а именно, уксусная кислота, формальдегид, ацетат аммония) вероятность получения близкого к урокановой кислоте производного **7** достаточно велика. К сожалению, наши попытки в этом направлении приводили к образованию большого числа продуктов различной хроматографической полярности.

Схема 1

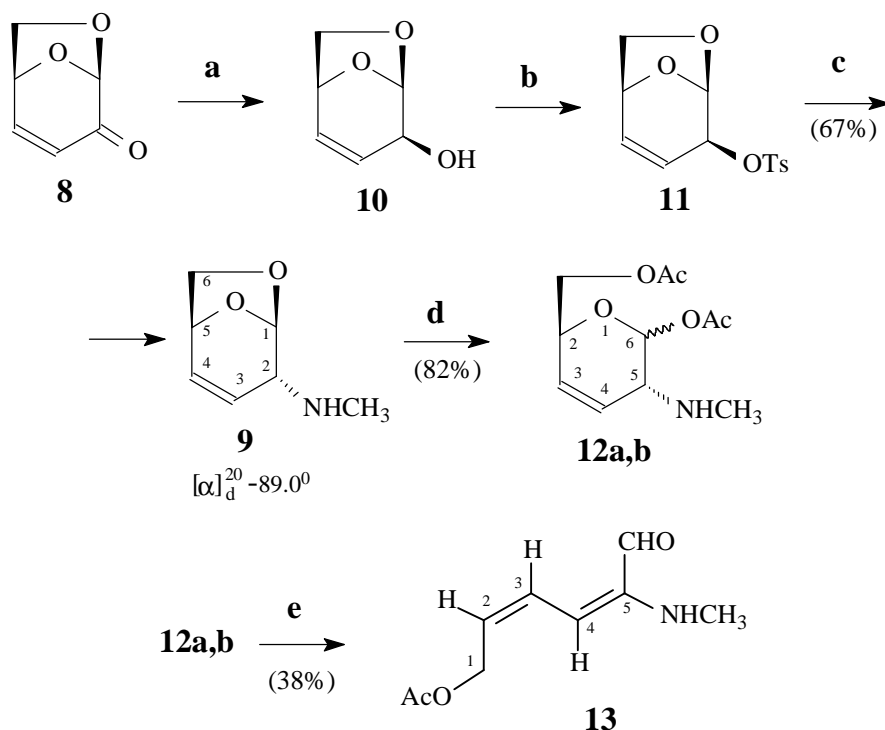


Подобный результат, по всей вероятности, является следствием высокой реакционной способности еноновой системы левоглюкозенона **8**.

С целью исключения осложнений, вызванных свойствами левоглюкозенона как акцептора Михаэля, а также изучения возможностей непосредственного получения метилированного имидазольного цикла мы разработали способ получения N-метилпроизводного **9**.

Так, борогидридным восстановлением левоглюкозенона **8** получили трео- спирт **10**, тозилат **11** которого при выдерживании в запаянной ампуле с метиламином привел к получению N-метиламина **9**.

Схема 2



Реагенты и условия: а) NaBH₄, H₂O; б) TsCl, Py; в) CH₃NH₂, ампула; д) Ac₂O, H₂SO₄; е) анионит АН-31, CH₃OH.

Наиболее характеристичными сигналами в спектрах ЯМР ^1H N-метиламина **9** являются синглетные пики протонов метильной группы и протона при атоме азота, проявляющиеся при 2.53 м.д. и 3.60 м.д. соответственно. Следует отметить отсутствие КССВ C^1H и C^2H , что указывает на R-конфигурацию нового асимметрического центра.

В спектрах ЯМР ^{13}C на наличие метильной группы и углеродного атома, связанного с атомами азота, указывают сигналы в области 33.78 м.д. и 51.78 м.д. соответственно.

Первые попытки трансформации 1,6-ангидропиранозного цикла N-метиламина **9** в N-метилимидазольный не увенчались успехом – по всей вероятности, вследствие недостаточно низкой pH для раскрытия 1,6-ангидромостика. С целью смягчения условий конденсации 1,6-ангидромостик предварительно раскрыли действием $\text{As}_2\text{O}_3\text{-H}_2\text{SO}_4$. Следует отметить, что реакция протекает стереоселективно с преимущественным образованием α -аномера **12** в соотношении с β -эпимером 4:1.

Спектр ЯМР ^1H полученных аномеров **12a,b** характеризуется сдвигом сигнала ацетального протона в более слабое поле к 6.30 м.д. и появлением взаимодействия C^5H и C^6H с КССВ 4.3 Гц. Кроме того, в спектре наблюдаются синглетные сигналы метильных протонов ацетатных групп при 2.10 м.д. и 2.12 м.д. для α -, а так же 2.11 м.д. и 2.17 м.д. для β -эпимеров.

В спектре ЯМР ^{13}C изменения в структуре отражаются в сдвиге сигнала C^1 в более сильное поле к 89.57 (α) и 89.47 (β), а также появлением сигналов ацетильных групп 170.76 (170.93), 21.85 (21.43), 169.06 (170.64), 21.09 (20.98) м.д.

Введение аномерной смеси диацетатов **12a,b** в формаимидный синтез в описанных выше условиях привело к образованию сложной смеси соединений.

Попытка гидролиза смеси **12a,b** действием анионита привела к раскрытию пиранового цикла с образованием нетривиального каптодативного диена **13**, к сожалению, с неприемлемым для продолжения синтеза выходом (38%).

В спектре ЯМР ^1H диена **13** наблюдаются синглетный сигнал альдегидного протона при 9.48 м.д. и дублетные сигналы протонов C^2H и C^3H при 6.68 м.д. и 7.08 м.д. с КССВ 10.0 Гц, что свидетельствует о цис-геометрии этой двойной связи. Протон в β -положении к альдегидной группе регистрируется в виде синглетного сигнала при 6.62 м.д. Интересно отметить, что аллильные протоны детектируются в виде синглетных сигналов при 4.39 м.д. и 4.41 м.д.

В спектре ЯМР ^{13}C сигнал альдегидного углеродного атома проявляется при 189.08 м.д., сигналы двойной связи – 121.85 м.д., 140.90 м.д., 147.06 м.д., 148.60 м.д. соответственно.

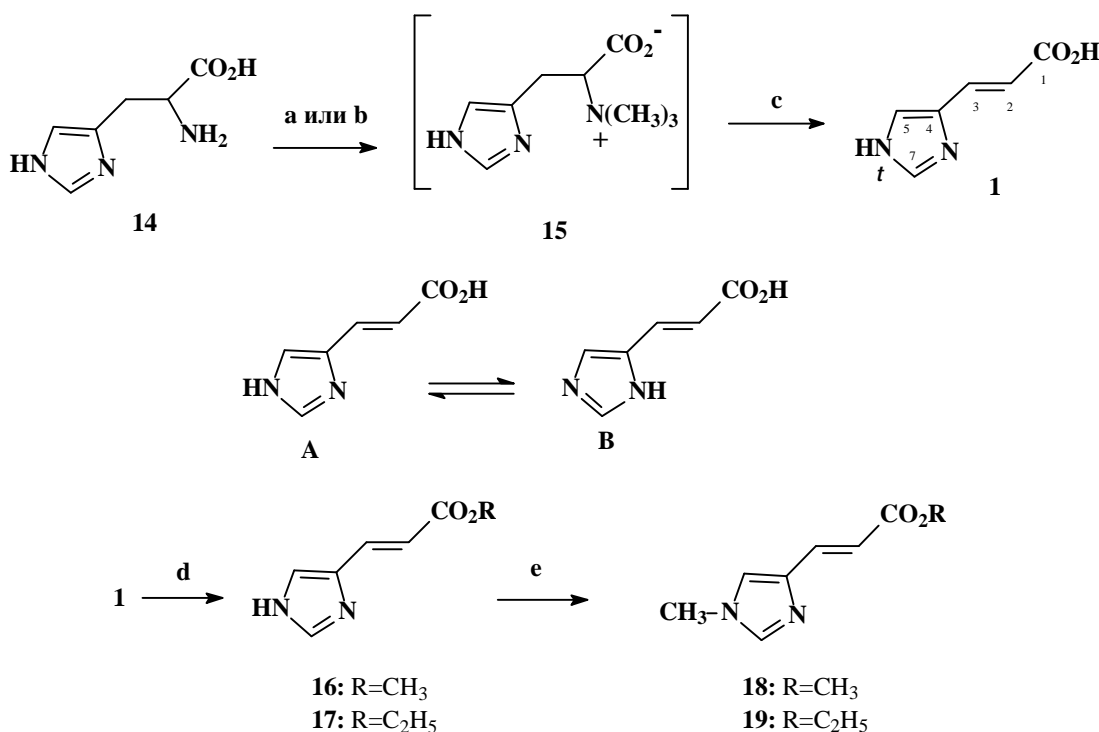
Таким образом, изучены новые превращения левоглюкозенона, получен ряд новых его производных. Показано, что прямая транскрипция в производные имидазола проблематична.

Другим перспективным объектом для получения урокановой кислоты является гистидин.

Образование урокановой кислоты **1** из гистидина **14** под действием микроорганизмов хорошо описано в литературе. Тем не менее, информации о ее синтезе химическим путем нам найти не удалось. Эти посылки направили наши исследования по разработке способа получения урокановой кислоты из наиболее близкой по строению и доступной аминокислоты гистидина **14**.

В ходе синтеза изучены два способа дезаминирования гистидина. По первому – действием CH_3I в присутствии окиси серебра в воде гистидин перевели в соль **15**, кипячение которой в 30%-ном водном растворе NaOH привело к образованию урокановой кислоты **1** с выходом 40%. Другой более практичный путь состоял в обработке гистидина CH_3I - KOH в метаноле, в этом случае выход кислоты **1** составил 66%.

Схема 3



Реагенты и условия: а) Ag_2O , CH_3I , H_2O ; б) CH_3I , KOH , CH_3OH ; в) 30% NaOH , кипячение; д) CH_3OH или $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, HCl ; е) CH_3I , K_2CO_3 , ацетон.

В спектрах ЯМР ^1H соединения **1** наблюдается появление двух дублетных сигналов при 6.30 и 7.45 м.д. с КССВ 15.6 Гц, которые относятся к C^2H и C^3H . Большое значение КССВ указывает на транс-геометрию двойной связи. Характеристичными являются также два синглетных сигнала при 7.48 и 7.78 м.д., относящиеся к протонам C^5H и C^7H . Спектр ЯМР ^{13}C в режиме JMOD подтверждает структуру соединения **1**. Так, сигналы двойной связи

регистрируются при 116.34 и 134.44 м.д., а углерода карбоксильной группы – при 168.80 м.д.

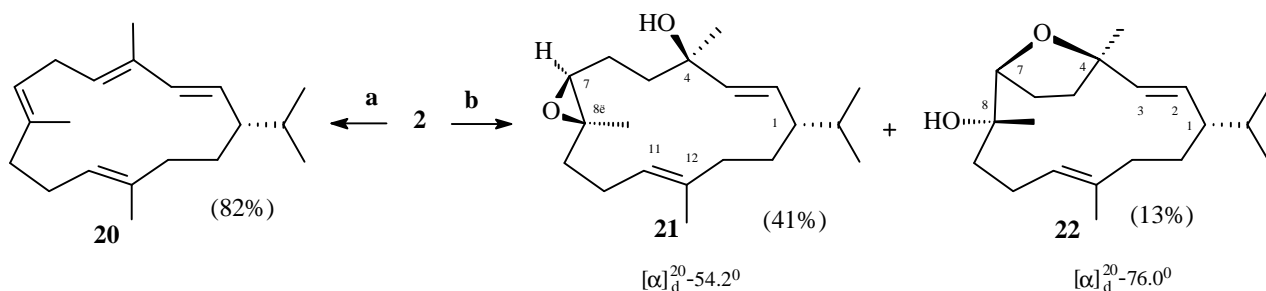
С целью метилирования урокановой кислоты только по N(τ) атому, мы этерифицировали урокановую кислоту **1** в метиловый **16** и этиловый **17** эфиры, которые обработали иодистым метилом в присутствии эквимолярного количества K_2CO_3 в ацетоне. За 20 ч перемешивания при комнатной температуре получили желаемый метиловый и этиловый эфир N(τ)-метилюрокановой кислоты **18** и **19**.

В спектрах ЯМР 1H соединения **18** кроме синглетного сигнала при 3.78 м.д., соответствующего метильным протонам сложноэфирной группы, появляется другой синглетный сигнал при 3.69 м.д., который относится к метильной группе при N(τ). Спектр ЯМР ^{13}C в режиме JMOD подтверждает структуру соединения **18**. Так, сигнал метильной группы при N(τ) – регистрируется при 33.73 м.д., другой сигнал метильной группы – при 51.50 м.д., двойная связь – при 115.20 и 130.08 м.д., а углерод карбоксильной группы – при 168.09 м.д.

2. Окислительные превращения изоцемброла

Известно, что в результате фотоокисления изоцемброла образуется ряд его гидроксипроизводных, но при этом не наблюдалось образования продуктов дегидратации. С целью получения эпоксидов для их последующего раскрытия в гидроксипроизводные и выяснения возможности влияния на селективность процесса раствор изоцемброла **2** в $CHCl_3$ подвергли воздействию ультрафиолетового света в инертной атмосфере. Оказалось, что в этих условиях гладко образуется цембрен **20** – продукт дегидратации изоцемброла **2** с выходом 82%.

Схема 4



Реагенты и условия: а) УФ, $CHCl_3$; б) *m*-CPBA, CH_2Cl_2 , $NaHCO_3$, $0^\circ C$.

Достаточно мягким и селективным методом гидроксирования олефинов является реакция гидроборирования-окисления. Тем не менее, попытки гидроксирования изоцемброла **2** действием $B_2H_6 \cdot THF / H_2O_2 - NaOH$

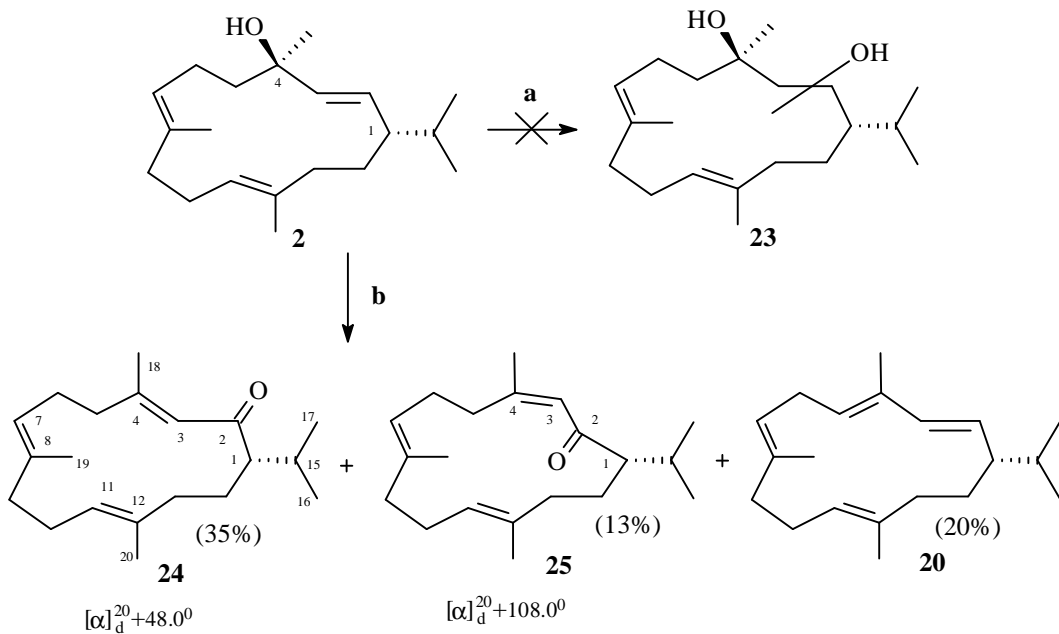
оказались безуспешны – происходило образование хроматографически неразделимых высокополярных продуктов.

Более эффективным оказались окислительные реагенты. В результате эпоксицирования *m*-CPBA мы получили два продукта **21** и **22**, которые хорошо разделяемы хроматографированием. Анализ спектров ЯМР ^1H и ^{13}C показал различие полученных продуктов и известных эпоксидов, образующихся при окислении изоцемброла **2** надуксусной кислотой. В то же время, известно, что *m*-CPBA региоспецифично эпоксицирует саркофитол по Δ^7 , приводя к образованию диастереомерных *E*-эпоксидов, а окисление цебраноида, имеющего при C^4 гидроксильную группу, сопровождается 4,7-оксациклизацией. Исходя из этих фактов и на основе спектральных данных доказана структура соединений **21** и **22**.

В спектре ЯМР ^1H оксирана **21** наблюдается дублет-дублетный сигнал C^7H при 2.82 м.д. с $J_{6,7}=3.9$ Гц и 6.6 Гц; при этом сигнал протонов $\text{C}^8\text{-CH}_3$ регистрируются в области 1.32 м.д. В отличие от оксирана **21** в 1,4-эпоксиде **22** химический сдвиг C^7H проявляется в более слабом поле – 3.90 м.д. в виде дублет-дублетного сигнала с КССВ 6.1 Гц и 6.7 Гц, что согласуется с известными литературными данными.

Полученные результаты отражают общее свойство подобных систем, когда в результате сближенности реагирующих центров достаточно легко протекает 1,4-оксациклизация при возможности реализации атаки с тыла и один из первоначально образовавшихся оксиранов не удается выделить.

Схема 5



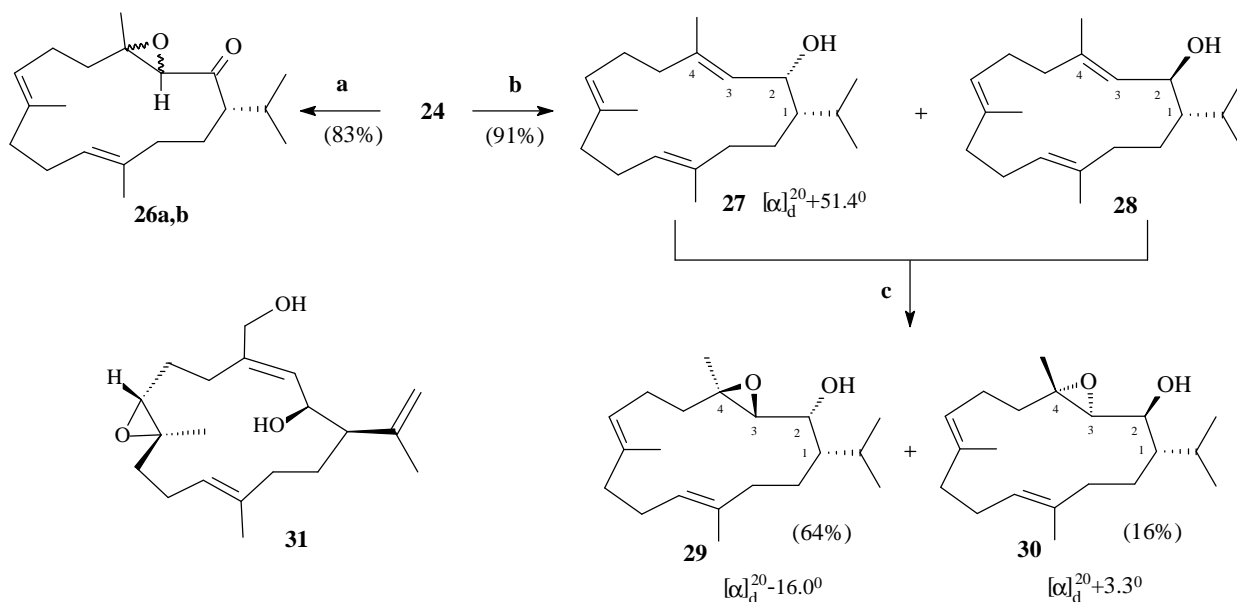
Реагенты и условия: а) $\text{B}_2\text{H}_6 \cdot \text{THF} / \text{H}_2\text{O}_2 - \text{NaOH}$; б) $\text{CrO}_3 \cdot 2\text{Py}, \text{CH}_2\text{Cl}_2$.

Аллильное окисление **2** действием $\text{CrO}_3 \cdot 2\text{Py}$ сопровождается образованием трех продуктов: преимущественно енона **24**, его цис-изомера **25** и цембрена **20**. По всей вероятности, реакция протекает через стадию дегидратации изоцемброла и уже образующиеся 3,4 – цис- и – транс-триены окисляются в соответствующие сопряженные еноны, причем, отсутствие в реакционной смеси 3,4-цис-цембрена указывает на его большую реакционную способность.

Строение полученных соединений установлено на основе их спектральных характеристик. Следует отметить, что основное различие в спектрах ЯМР ^1H соединений **24** и **25** состоит в том, что сигналы протонов при C^{18} цис-изомера детектируются в более сильной при 1.82 м.д., а C^3H , наоборот, – в более слабой при 6.06 м.д. областях. Для транс-изомера химические сдвиги этих протонов регистрируются при 2.11 м.д. и 5.90 м.д. соответственно, что согласуется с известными закономерностями.

Образование кетона **24** открывает возможность региоспецифического эпоксицирования сопряженной двойной связи действием $\text{H}_2\text{O}_2\text{-NaOH}$. Реакция гладко привела к получению диастереомерной смеси эпоксидов **26a,b** в соотношении 8:1.

Схема 6



Реагенты и условия: **a)** H_2O_2 , 2N NaOH ; **b)** $(i\text{-Bu})_2\text{AlH}$, Et_2O , -78°C или LiAlH_4 , THF ; **c)** $t\text{-BuOOH}$, C_6H_6 , $\text{VO}(\text{acac})_2$.

Идентификацию полученных эпоксидов осуществили на основании спектральных характеристик. Следует отметить, что в результате 1,4-син- взаимодействия метильной и изопропильной групп в β -эпимере **26b** сигналы C^1 и C^4 в спектре ЯМР ^{13}C сдвигаются в более сильное поле и регистрируются при 52.39 м.д. и 63.37 м.д. соответственно, в отличие от

сигналов аналогичных атомов углерода α -эпимера при 52.85 м.д. и 64.03 м.д. Кроме того, в α -эпимере **26a** происходит дезэкранирование карбонильного углеродного атома и его сигнал регистрируется в более слабом поле при 210.56 м.д.

В спектре ЯМР ^1H α -эпоксида **26a** синглетный сигнал C^3H наблюдается в более сильном поле при 3.58 м.д., тогда как для его β -диастереомера **26b** этот сигнал регистрируется в слабом поле при 3.76 м.д.

Кетон **24** является непосредственным синтетическим предшественником известного дитерпенового спирта мукулола **27** – ценного компонента смолы *Commiphora mukul*. О значимости этого соединения свидетельствуют разработанные схемы его синтеза. Установлено, что мукулол **27** крайне лабилен и даже при 0°C медленно разлагается.

В нашем случае задача получения мукулола **27** свелась к разработке метода селективного восстановления карбонильной группы в кетоне **24**.

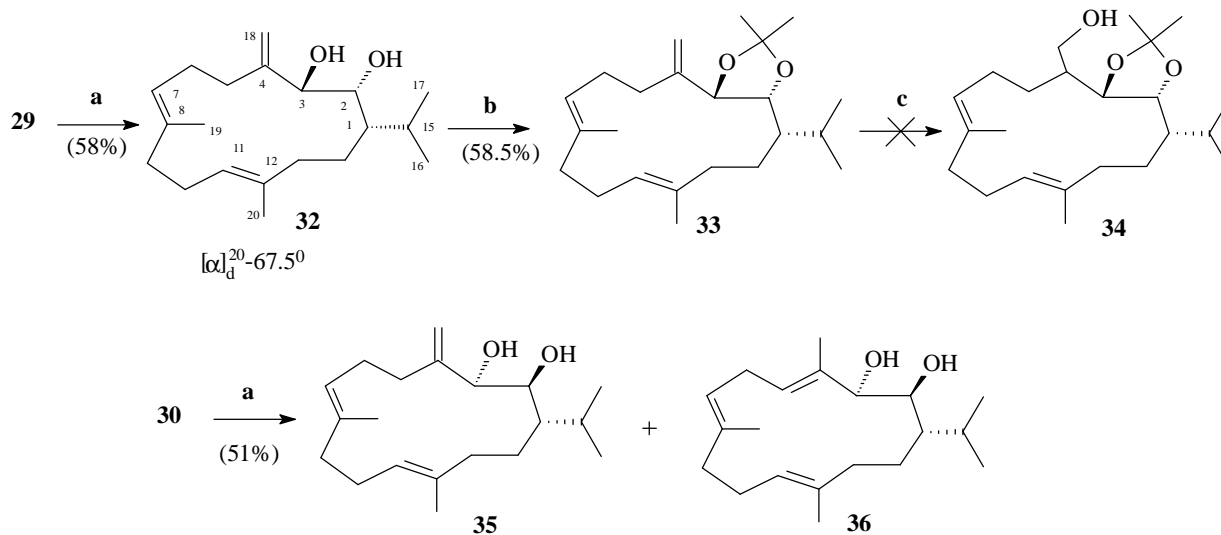
Так, попытки восстановления енона **24** действием NaBH_4 не привели к желаемому результату. Восстановление кетона **24** LiAlH_4 в ТГФ при комнатной температуре протекает с образованием эпимерных спиртов **27** и **28** в соотношении 3:1 в пользу мукулола **27**. В результате восстановления кетона **24** действием $(i\text{-Bu})_2\text{AlH}$ в диэтиловом эфире при -78°C с высоким выходом получили смесь диастереомерных спиртов мукулола **27** и его S-эпимера в соотношении 4:1.

Спектральные характеристики полученных эпимерных спиртов **27** и **28** полностью согласуются с литературными данными. Наиболее характеристичным критерием отнесения мукулола к 1S,2R-ряду в спектре ЯМР ^1H является сигнал C^2H в области 4.60 м.д., расщепляющийся с $J_{2,3}=8.8$ Гц (лит. $J_{2,3}=9.0$ Гц).

Разработаны пути региоспецифического создания экзоциклической двойной связи при C^4 и изучены возможности синтеза аналога **34** аспердиола **31** – цембраноида, выделенного из кораллов *Eunicea asperula* и *Eunicea tourneforti* и проявляющих *in vitro* цитотоксическую активность против некоторых видов раковых клеток.

Так, действием t-BuOOH в присутствии $\text{VO}(\text{acac})_2$ смесь енолов **27** и **28** стереоспецифично окислили в эпоксипроизводные **29** и **30**, которые разделили хроматографированием на SiO_2 .

Стереохимическое строение полученных эпимерных эпоксидов **29** и **30** установили на основании спектральных данных. Так, в спектре ЯМР ^1H эпоксида **29** на транс-расположение протонов C^2H и C^3H , регистрируемых при 3.56 м.д. и 2.78 м.д., указывает $J_{2,3}=8.9$ Гц; при этом не наблюдается взаимодействие с C^1H вследствие того, что, по всей вероятности, торсионный угол $\text{H}^1\text{-C}^1\text{-C}^2\text{-H}^2$ близок к 90°C . Таким образом, эпоксидное кольцо занимает транс-положение по отношению к гидроксильной группе. В спектре ЯМР ^1H 3S,4R-эпимера **30** сигналы аналогичных протонов детектируются при 3.60 м.д. и 2.80 м.д. с КССВ 3.2 и 6.5 Гц соответственно. Такое взаимодействие C^2H с вицинальными протонами возможно, при их транс-расположении по отношению к нему, что согласуется с известными данными.



Реагенты и условия: а) $\text{Ti}(\text{i-OPr})_4$, PhCH_3 , 80°C ; б) $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$, CuSO_4 ; в) $\text{B}_2\text{H}_6 \cdot \text{THF}/\text{H}_2\text{O}_2\text{-NaOH}$.

Раскрытие оксиранового цикла в 3*S*,4*R*-эпимере **29** действием $\text{Ti}(\text{i-OPr})_4$ привело к региоспецифичному образованию соединения **32** с экзоциклической метиленовой двойной связью. Об этом свидетельствует наличие характеристичных синглетных сигналов терминальных протонов при 4.88 м.д. и 5.09 м.д. в спектре ЯМР ^1H , а также 133.64 м.д. и 113.63 м.д. атомов углерода C^4 и C^{18} в спектре ЯМР ^{13}C .

В отличие от этого, аналогичная операция с 3*R*,4*S*-эпимером **30** сопровождается образованием пары изомеров с экзо- **35** и эндо- **36** циклическими двойными связями в соотношении 1:8.

В спектре ЯМР ^1H о наличии эндоциклической двойной связи в соединении **36** свидетельствуют синглетные сигналы протонов трех метильных групп у двойной связи при 1.53, 1.57, 1.63 м.д., а в спектре ЯМР ^{13}C появляется сигнал пятой метильной группы при 23.20 м.д.

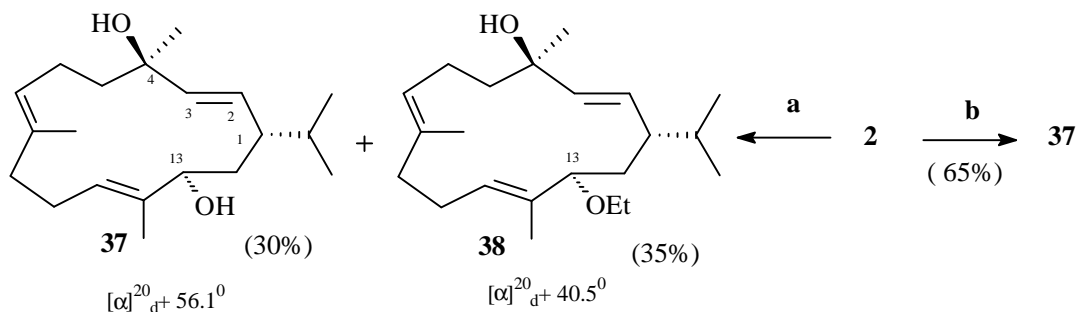
После блокирования гидроксильных групп попытка гидроборирования-окисления экзометиленовой двойной связи в ацетониде **33** с целью введения первичной гидроксильной группы привела к его деструкции.

Аллильное окисление изоцеμβрола **2** действием SeO_2 в кипящем этаноле протекает регио- и стереоспецифично. В результате реакции с выходом 30% образуется диол **37** и продукт его этерификации – этоксипроизводное **38** (35%). Окисление изоцеμβрола **2** гидроперекисью трет-бутила в присутствии каталитических количеств SeO_2 приводит к образованию лишь одного продукта – диола **37** с выходом 65%.

Конфигурация нового асимметрического центра в диоле **37** установлена на основании данных ЯМР ^1H . Так, сигнал C^{13}H регистрируется при 3.74 м.д. и дает дублет-дублетный сигнал с $J_{13,14} = 10.8$ Гц и $J_{14,1} = 1.7$ Гц. Взаимодействия подтверждены методом двойного резонанса. Таким образом,

учитывая заложенную 1*S*-конфигурацию, стереохимическое строение C¹³-центра относится также к *S*-ряду.

Схема 8

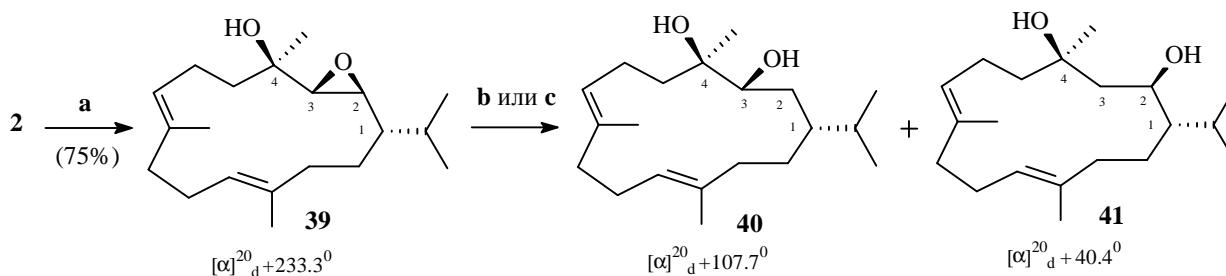


Реагенты и условия: а) SeO₂, EtOH, кипячение; б) t-BuOOH, SeO₂, CH₂Cl₂, 0°C.

Аналогичную картину в спектре ЯМР ¹H можно наблюдать для этоксипроизводного **38**, с той лишь разницей, что происходит небольшое смещение сигналов протонов C¹³H – 3.72 м.д. с КССВ 4.3 и 10.6 Гц, протона C¹⁴H – 1.90 м.д. с КССВ 1.6, 10.7 и 12.4 Гц и протона C¹H – 2.48 м.д. с КССВ 1.6, 5.3, 8.7 и 9.4 Гц. Сигналы этокси группы наблюдаются: квартетный сигнал – при 3.22 м.д. и триплетный сигнал – при 1.08 м.д. Таким образом, строение C¹³ – центра соответствует *S*-конфигурации, как и в соединении **37**.

Эффективным и региоспецифичным путем модификации изоцеμβрола **2** оказалось эпоксицирование действием t-BuOOH в присутствии VO(acac)₂. При этом региоселективно и стереоспецифично образуется эпоксид **39**. Стереохимическое строение этого соединения **39** установлено на основании спектральных данных. Так, на β-ориентацию оксиранового цикла в спектрах ЯМР ¹H указывает большая КССВ J_{1,2}=9.1 Гц. В спектре ЯМР ¹³C сигналы C² и C³ проявляются при 62.8 м.д. и 57.4 м.д. соответственно.

Схема 9



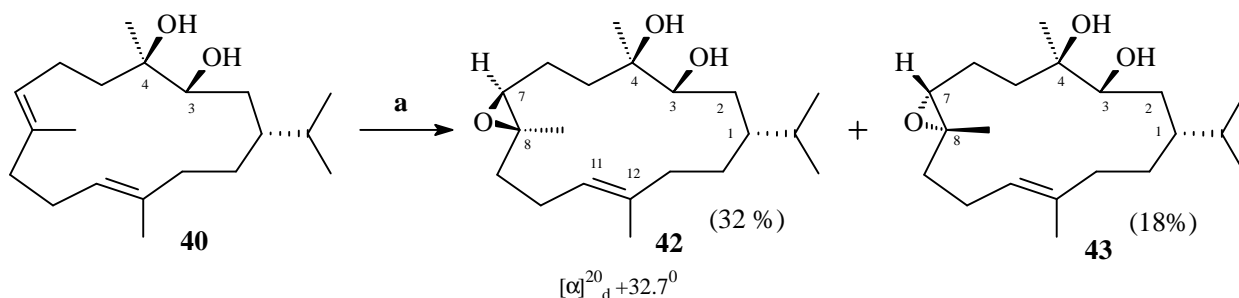
Реагенты и условия: а) t-BuOOH, C₆H₆, VO(acac)₂; б) LiAlH₄, THF; кипячение; в) (i-Bu)₂AlH, PhCH₃, 75°C.

С целью получения гидроксипроизводных изоцеμβрола, раскрытие оксиранового цикла осуществили в условиях взаимодействия соединения **39** с LiAlH_4 в кипящем ТГФ или $(i\text{-Bu})_2\text{AlH}$ в толуоле при 75°C . В обоих случаях реакция протекает региоселективно и стереоспецифично с образованием β -спиртов **40** и **41** в соотношении 7:1 или 10:1 соответственно. Строение выделенных региоизомеров подтверждено их спектральными характеристиками. Так, в спектре ЯМР ^1H диола **40** C^3H имеет две константы спин-спинового взаимодействия с протонами при C^2 . Двумерным спектром $\text{HNCOsY } 90^\circ$ найдены химические сдвиги протонов при C^2 1.95 и 1.40 м.д. Протон с химическим сдвигом 1.95 м.д. имеет сигналы, накладывающиеся на сигналы аллильных протонов и его КССВ рассмотреть невозможно. Протон 1.40 м.д. хорошо наблюдаем, и он имеет транс-константу спин-спинового взаимодействия 8.9 Гц с протоном C^3H и цис-константу 3.2 Гц с протоном при C^1 . Таким образом, гидроксильная группа ориентирована в противоположном изопропильной группе направлении. В спектре ЯМР ^{13}C , снятом в режиме JMOD, на наличие вторичной спиртовой группы диола **40** указывает сигнал C^3 при 73.8 м.д., проявляющийся с отрицательной амплитудой.

Для региоизомера **41** методом двойного резонанса установлены вицинальные константы взаимодействия $\text{C}^2\text{H} - 5.7, 6.4$ Гц с протонами при C^3 . Большая $J_{2,1}=10.7$ Гц указывает на их транс-диаксиальное расположение – отсюда следует R-конфигурация C^2 -центра.

С целью изучения реакций эпексидирования действием м-хлорнадбензойной кислоты на диол **40** региоспецифично и диастереоселективно получены эпексиды **42** и **43**, которые идентифицировали на основе спектральных и известных литературных данных.

Схема 10



Реагенты и условия: а) м-СРВА, NaHCO_3 , CH_2Cl_2 , 0°C .

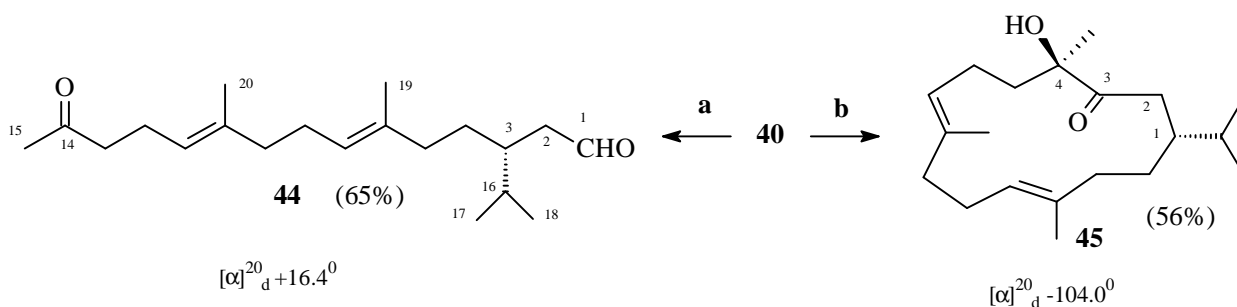
Так, в спектре ЯМР ^1H исчезновение при 1.52 м.д. и наличие при 1.64 м.д. синглетных сигналов метильных протонов в обоих соединениях **42** и **43** свидетельствует об окислении Δ^7 . Отнесение E-эпексидов **42** и **43** осуществили по характеру взаимодействия C^7H . Эпексид **42**, имеющий

дублет-дублетный сигнал C^7H при 2.74 м.д. с близкими КССВ 6.4 Гц и 7.1 Гц (лит. 2.79 т, $J=6.0$ Гц), отнесли к β -ряду, а эпимер **43**, в спектре которого C^7H регистрируется при 2.58 м.д. с КССВ 2.5 Гц и 10.4 Гц (лит. 2.76 дд, $J=3.5$ Гц, 8.5 Гц) – α -ряду.

Известно, что окисление цембрена и саркофитола-В реагентом Джонса приводит к фрагментации цикла и образованию секопроизводных.

Мы попытались провести окисление диола **40** в более мягких условиях действием РСС. Тем не менее, реакция и в этом случае протекает с расщеплением C^3-C^4 – связи и, образованием кетоальдегида **44** с выходом 65%.

Схема 11



Реагенты и условия: а) РСС, CH_2Cl_2 или $Pb(OAc)_4$, C_6H_6 ; б) $(COCl)_2$, DMSO, Et_3N , CH_2Cl_2 , -60^0C .

Расщепление вицинального диола **40** действием $Pb(OAc)_4$ привело к тому же кетоальдегиду **44** с высоким выходом 91%.

Окисление спирта **40** в соответствующий кетон **45** удалось осуществить в условиях реакции Сверна. В отличие от известного факта, образования сопряженного енона в нашем случае не наблюдалось.

Наиболее характерными сигналами кетоальдегида **44** в спектре ЯМР 1H являются химические сдвиги протонов терминальной метильной группы при 1.92 м.д. и дублетного сигнала альдегидного протона при 9.55 м.д. ($J^3=2.1$ Гц). Сигналы углеродных атомов карбонильных групп в спектрах ЯМР ^{13}C регистрируются при 204.88 м.д. и 200.19 м.д.

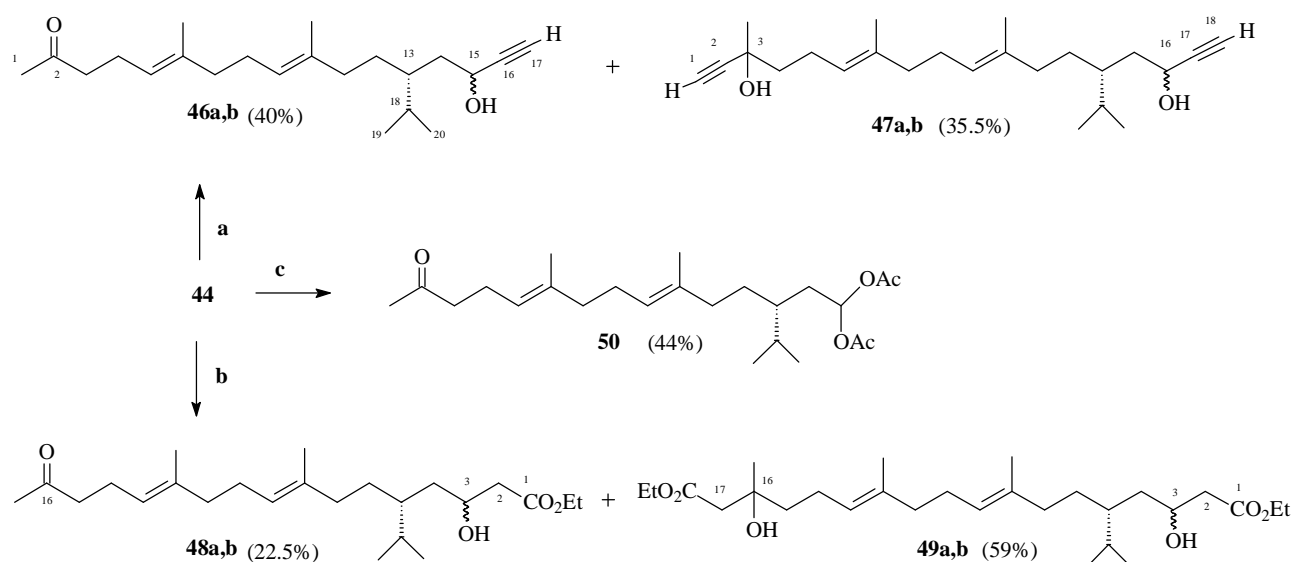
Полученное секопроизводное **44** является перспективной основой для определения возможного перехода к ацетогенинам, а также источника полиненасыщенных жирных кислот. В этом направлении изучены реакции 1,2-присоединения к **44** ацетиленида лития и Реформатского.

Первое превращение протекает достаточно гладко, но, как и следовало ожидать, даже при эквимольном соотношении реагирующих веществ образуются диастереомерные продукты моно – **46a,b** и диприсоединения **47a,b**.

О присоединении ацетиленового фрагмента свидетельствуют появление синглетного сигнала в спектрах ЯМР H^1 в области 2.46 м.д. Следует подчеркнуть, что при спектральной идентификации

диастереомерных ацетиленов **46a,b** мы столкнулись с известными для ацетогенинов трудностями. Поэтому можно лишь отметить, что в спектрах ЯМР ^{13}C о наличии двух диастереомеров свидетельствуют дублирующиеся сигналы продукта моноприсоединения **46a,b** 12-17-атомов углерода при 28.52 (28.86), 39.28 (39.10), 37.31 (37.26), 78.33 (78.51), 85.48 (85.30), 60.81 (61.31) м.д. соответственно, т.е. атомов углерода, находящихся в непосредственной близости к стереогенному центру. В диэтинилированном продукте **47a,b** это различие в спектрах сохраняется, но, как и следовало ожидать, вследствие удаленности от ассиметрического центра на противоположном конце молекулы оно не наблюдается.

Схема 12



Реагенты и условия: а) BuLi , $\text{HC}\equiv\text{CH}$, THF, -78°C ; б) $\text{Zn}/\text{BrCH}_2\text{CO}_2\text{Et}$, THF; в) ИПА, *p*-TsOH.

В отличие от этинилирования, реакция Реформатского может проводиться в региоконтролируемых условиях. Так, при эквимольном соотношении реагентов при 0°C региоспецифичное присоединение по альдегидной группе идет с образованием диастереомерного продукта моноприсоединения **48a,b**. При двухкратном избытке реагента и 20°C образуется диастереомерная смесь продуктов моно- **48a,b** и диприсоединения **49a,b**.

При идентификации полученных эфиров наблюдаются те же эффекты, что и в вышеприведенном случае, поэтому установление строения соединений **48a,b** и **49a,b** осуществили аналогичным путем.

При действии на кетон **44** изопрпенилацетата (ИПА) в присутствии *p*-TsOH неожиданно произошло образование диацетоксиацетала **50** с выходом 44%.

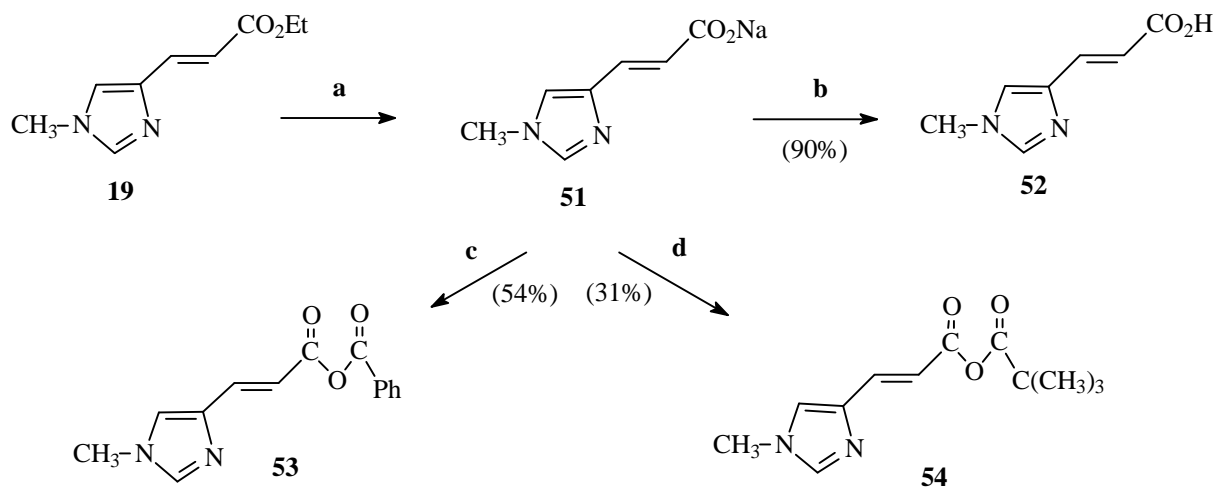
Как ациклические аналоги цембраноидов полученные соединения представляют интерес для изучения взаимозависимости структура-активность.

3. Синтез N-метилуроканатов

Для синтеза N-метилуроканатов цембраноидов – вероятных биомиметиков элеутезидов использованы 2-, 3- и 13-гидроксипроизводные изоцемброла **41**, **40** и **37** соответственно. Кроме того, для отработки метода этерификации в качестве модельного соединения и одного из возможных открытоцепных аналогов использован продукт моноприсоединения по реакции Реформатского эфир **48a,b**.

Широко применяемые в органическом синтезе методы этерификации карбоновых кислот в случае N-метилурокановой кислоты не эффективны вследствие ее амбифильной природы. Известны два способа получения N-метилуроканатов, используемых в синтезе элеутезидов, это кипячение раствора спирта и N-метилурокановой кислоты в хлороформе в присутствии дициклогексилкарбодиимида – 4-диметиламинопиридина и алкоголиз смешанного ангидрида N-метилурокановой кислоты и неактивной в реакции этерификации пивалевой кислоты.

Схема 13



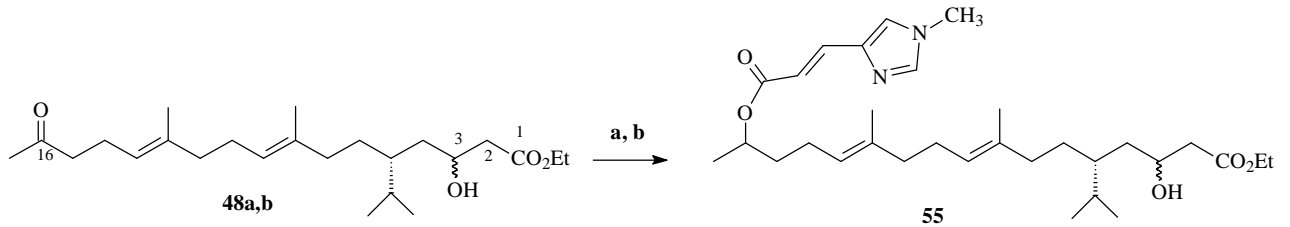
Реагенты и условия: а) 1 экв NaOH, THF-H₂O; б) 1 экв HCl; в) BzCl, THF; г) PivCl, THF.

Исходные реагенты приготовили следующим образом. Гидролизом эфира **19** действием NaOH получили натриевую соль **51**, часть которой использовали для получения кислоты **52** действием 1 эквивалента HCl.

Для сравнения активности бензойной и N-метилурокановой кислоты в реакциях этерификации синтезировали бензоил-N-метилуроканат **53**

перемешиванием соли **51** с хлористым бензоилом в течении 22 ч – выход 54%. Аналогичным способом получен пивалоил-N-метилуроканат **54** с выходом 31%.

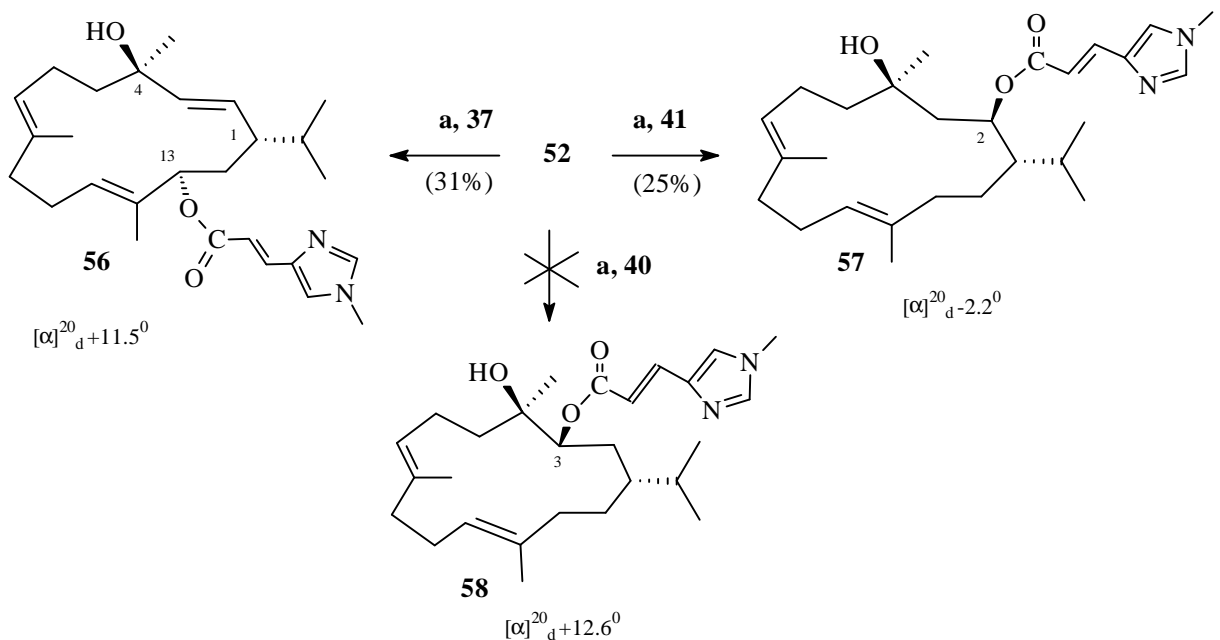
Схема 14



Реагенты и условия: а) NaBH_4 , CH_3OH ; б) **52**, DCC, 4-DMAP, CHCl_3 .

Для изучения условий этерификации кетоэфир **48a,b** восстановили действием NaBH_4 и полученный спирт обработали кислотой **52** кипячением в растворе хлороформа в присутствии DCC и 4-DMAP. К сожалению, выход N-метилуроканата **55** оказался невысоким (17%).

Схема 15



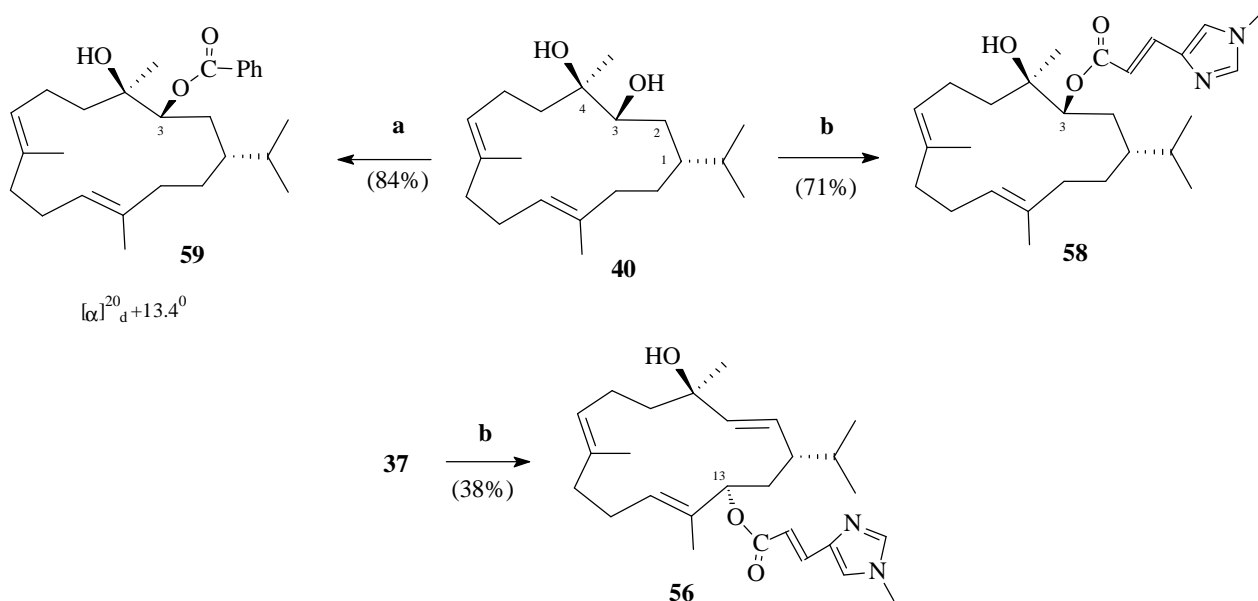
Реагенты и условия: а) 4-DMAP, DCC, CHCl_3 , 65°C .

Эта же реакция с 13- и 2-гидроксипроизводными изоцемброла **37** и **41** при длительном нагревании при 65⁰С и прочих аналогичных условиях привела к образованию соответствующих уроканатов **56** и **57** с выходами 31% и 25%. 3-Гидроксипроизводное **40** в этих условиях этерифицировать в **58** не удалось.

Попытка алкоголиза ангидрида **53** действием диола **40** привела к образованию бензоата **59**, эфира N-метилурокановой кислоты в реакционной смеси обнаружить не удалось.

Обработка диола **40** другим смешанным ангидридом – пивалоил-N-метилуроканатом **54**, привела к образованию целевого уроканата **58** с хорошим выходом. Этерификация диола **37** в этих условиях дает N-метилуроканат **56** с выходом не выше 38%. Таким образом, на ход реакции в значительной степени влияет строение используемых гидроксипроизводных.

Схема 16



Реагенты и условия: а) **53**, 4-DMAP, Et₃N, CH₂Cl₂; б) **54**, 4-DMAP, Et₃N, CH₂Cl₂.

Спектральные характеристики полученных N-метилуроканатов полностью подтверждают строение и представляют собой суммарную картину сигналов химических сдвигов углеродных атомов и протонов N-метилурокановой кислоты и соответствующих диолов с незначительными отклонениями.

Предварительные биологические испытания полученных эфиров показали высокую цитотоксическую активность.

ВЫВОДЫ

1. На основе левоглюкозенона осуществлен синтез его 2-N-метилпроизводного, раскрытие 1,6-ангидромостика которого в кислых условиях ведет к образованию нетривиального 2-N-метил-6-ацетокси-2,4(E)-диенала.
2. Разработана схема синтеза N-метилурокановой кислоты путем расщепления гистидина по Гофману и селективного N(τ)-метилирования промежуточной урокановой кислоты.
3. Установлено, что в результате окисления изоцемброла m-CPBA образуются 7,8- β -оксиран и 4,7- β -эпоксипроизводное – продукт трансаннулярного раскрытия α -оксирана.
4. Предложен способ аллильного окисления изоцемброла действием $\text{CrO}_3 \cdot 2\text{Py}$ в производное, содержащее сопряженный 3-ен-2-оновый фрагмент. Восстановлением кетогруппы действием $(i\text{-Bu})_2\text{AlH}$ получен природный дитерпеновый спирт мукулол и его энантиомер в соотношении 4:1.
5. Разработаны способы селективного аллильного окисления изоцемброла в 13-гидрокси(этокси)производное действием SeO_2 в этаноле или более эффективно – $t\text{-BuOOH} \cdot \text{SeO}_2$, а также стереоспецифического 2,3-эпоксидирования действием $t\text{-BuOOH}$ в присутствии $\text{VO}(\text{acac})_2$ и его последующего селективного восстановительного раскрытия действием LiAlH_4 или $(i\text{-Bu})_2\text{AlH}$ в 2- и 3-гидроксипроизводные.
6. Окислительным расщеплением $\text{C}^3\text{-C}^4$ -связи в соответствующем виц-диоле действием PCC и $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ синтезированы производные линейной топологии. Изучены возможности региоселективного алкилирования полученного кетоальдегида по Реформатскому и действием этиллития. Обнаружен факт блокирования альдегидной группы в диацетоксиацеталь действием изопропенилацетата в присутствии $p\text{-TsOH}$.
7. Синтезированы N-метилуроканаты 2-, 3- и 13-гидроксипроизводных изоцемброла путем кипячения с N-метилурокановой кислотой в хлороформе в присутствии DCC и 4-DMAP, а также алкоголизом пивалоил-N-метилуроканата; предварительные биологические испытания полученных эфиров показали их высокую цитотоксическую активность.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

1. Валеев Ф.А., Калимуллина Л.Х., Цыпышева И.П., Сафаров М.Г., Шитикова О.В., Салихов Ш.М. Синтез 2-аминопроизводных левоглюкозенона // Химия природных соединений. – 2004. – № 6. – С. 429-432.
2. Краснослободцева О.Ю., Шарипов Б.Т., Салихов Ш.М., Сафаров М.Г., Спирихин Л.В., Валеев Ф.А. Аддукты левоглюкозенона с диенами. Раскрытие 1,6-ангидромоностика // Бутлеровские сообщения. – 2006. – Т. 8. – № 1. – С. 27-32.
3. Салихов Ш.М., Краснослободцева О.Ю., Валеев Ф.А., Шарипов Б.Т., Толстиков Г.А. Синтез N-метилуроканатов гидроксипроизводных изоцемброла // Химия природных соединений. – 2007. – № 2. – С. 124-128.
4. Салихов Ш.М., Краснослободцева О.Ю., Шарипов Б.Т., Спирихин Л.В., Толстиков Г.А., Валеев Ф.А., Стереоконтролируемое оксигенирование изоцемброла. Открытоцепные аналоги // Башкирский химический журнал. – 2007. – Т. 14. – № 2. – С. 1-5.
5. Салихов Ш.М., Сафаров М.Г. Новый подход к хиральным циклопентаноидам на основе левоглюкозенона // Конкурс научных работ студентов ВУЗов РБ. – Уфа. – 2003. – С. 212.
6. Валеев Ф.А., Калимуллина Л.Х., Цыпышева И.П., Сафаров М.Г., Салихов Ш.М. Аминирование левоглюкозенона // XVI Международная научно-техническая конференция. – Реактив. – 2003. – Москва. – С. 65-66.
7. Салихов Ш.М., Валеев Ф.А. Синтез метилового эфира N-метилурокановой кислоты // Материалы III Всероссийской научной INTERNET-конференции. – Уфа. – 2005. С. 14-15.
8. Файзуллина Л.Х., Валеев Ф.А., Салихов Ш.М., Сафаров М.Г. Синтез оксазолина из левоглюкозенона // Материалы IV Всероссийской научной INTERNET-конференции "Интеграция науки и высшего образования в области био- и органической химии и биотехнологии". – Уфа. – 2006. – С. 48.
9. Краснослободцева О.Ю., Валеев Ф.А., Салихов Ш.М., Шарипов Б.Т., Толстиков Г.А. Подходы к созданию углеродного остова элеутезидов // Материалы IV Всероссийской научной конференции "Химия и технология растительных веществ". – Сыктывкар. – 2006. – С. 100.
10. Салихов Ш.М., Краснослободцева О.Ю., Валеев Ф.А., Шарипов Б.Т., Толстиков Г.А. Синтез N-метилуроканатов гидроксипроизводных изоцемброла // Материалы IV Всероссийской научной конференции "Химия и технология растительных веществ". – Сыктывкар. – 2006. – С.174.