



На правах рукописи

КРАСАВИН МИХАИЛ ЮРЬЕВИЧ

**СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ
1,2,4-ТРИОКСАНОВЫХ АНАЛОГОВ АРТЕМИЗИНИНА**

02.00.03 - Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Москва - 2006

Работа выполнена в ООО «Исследовательский Институт Химического Разнообразия»

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Дорогов Михаил Владимирович

Официальные оппоненты: доктор химических наук, профессор
Ненайденко Валентин Георгиевич
доктор химических наук, профессор
Шахгельдян Ирина Владимировна

Ведущая организация: Российский государственный
педагогический университет
им. А. И. Герцена (г.Санкт-Петербург)

Защита состоится «___» _____ 2006 г. в ___ час. в аудитории _____ на
заседании Диссертационного совета Д212.200.12 при Российском
государственном университете нефти и газа им. И. М. Губкина по адресу:
119991, Москва, Ленинский просп., д. 65.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-технической библиотеке РГУ
нефти и газа им. И. М. Губкина.

Автореферат разослан «_____» _____ 2006 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат технических наук, доцент



Иванова Л. В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В разработке новых лекарственных средств исследователи полагаются на широкий арсенал методов органической химии, позволяющий получать разнообразные типы новых соединений, обладающих биологической активностью. В настоящее время наиболее популярным методом поиска биологически активных веществ является биологическое тестирование больших коллекций структурно разнообразных веществ. Плодотворным источником идей для построения фармакологически активных молекулярных структур остаются природные вещества. Одним из таких веществ является артемизинин, который был выделен в 1971 году из растения *Qinghao* (согласно современной таксономии, разновидности полыни *Artemisia annua*). Его настои китайские знахари тысячелетиями использовали для лечения малярийной лихорадки. Несмотря на то, что выделение артемизинина из растительного сырья по-прежнему является основным источником данного препарата, выход последнего, в расчете на сухую массу, довольно низок, что приводит к дороговизне артемизинина. Поэтому в последние 10-15 лет усилия исследователей были направлены на поиск путей химического синтеза легкодоступных, структурно более простых аналогов артемизинина, в которых сохранялась бы антималярийная активность. Несмотря на существенный прогресс в этом направлении, по сей день ни одно из таких соединений не было введено в клиническую практику, и поиски в этом направлении продолжаются. Кроме того, интерес к артемизинину возрос в связи с обнаруженной в 1990-х годах антипролиферативной активностью димеров артемизинина и его структурно простых аналогов.

Данная работа является частью систематических научных исследований, проведенных в ООО «Предприятие Контакт Сервис» в период 1997-2003 гг. и проводимых в ООО «Исследовательский Институт Химического Разнообразия» в период 2004-2005 гг. в рамках программы «Биоскрининг активных веществ для создания готовых лекарственных средств и защиты растений на базе ООО «Исследовательский Институт Химического Разнообразия»», включенной в Федеральные целевые программы Министерства образования и науки РФ

«Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники (2002-2006 годы)» и «Развитие медицинской промышленности в 1998-2000 гг. и на период до 2005 года».

Цель работы. Разработка синтеза новых аналогов артемизинина из легкодоступных веществ и подтверждении их биологической активности, а также оптимизации существующих синтетических подходов к аналогам, антималярийная активность которых установлена.

Научная новизна.

Апробирована методология синтеза 1,2,4-триоксановых аналогов артемизинина из енолэфирных кетонов с использованием трифенилфосфитозонида в качестве синтетического эквивалента синглетного кислорода.

Показана возможность использования изомерных енолэфирных кетонов в синтезе триоксановых аналогов артемизинина и разработан эффективный метод синтеза последних.

Разработан метод синтеза ранее не описанного C_3-C_3 -(*n*-фенилиден)-связанного 1,2,4-триоксанового димера.

Разработаны синтетические подходы к новым 1,2,4-триоксановым аналогам артемизинина, структура которых позволяет варьировать свойство липофильности. Проведена разработка улучшенного метода синтеза одного из 1,2,4-триоксановых аналогов артемизинина.

Разработана новая синтетическая схема, позволяющая получать принципиально новый тип структур: S_{12} -сульфид- и сульфонзамещенные 1,2,4-триоксановые аналоги артемизинина.

Практическая значимость. Все синтезированные в данной работе 1,2,4-триоксаны были протестированы в отношении их противопаразитарной активности на чувствительной к хлорохину культуре *Plasmodium falciparum* NF54 в Высшей школе медицины университета Джонса Хопкинса (г. Балтимор, США) и показали заметную антималярийную активность. Ряд синтезированных в данной работе соединений проявил биологическую активность на уровне природного артемизинина.

Апробация работы и публикации. По материалам диссертации опубликовано 2 обзорные и 5 исследовательских научных статей. Результаты работы были представлены на 48-ой Международной конференции Американского Общества тропической медицины и гигиены (28 ноября – 2 декабря 1999 г., г. Вашингтон, США) и 10-й Всероссийской научной конференции «Карбонильные соединения в синтезе гетероциклов» (20-24 сентября 2004 г., Саратов).

Положения, выносимые на защиту.

Методы синтеза 3-арилзамещенных триоксанов из енолэфирных кетонов с использованием трифенилфосфитозонида в качестве синтетического эквивалента синглетного кислорода и «изомерных» 1,2,4-триоксановых аналогов артемизинина.

Синтез C_3-C_3 -((*н*-фенилиден)-связанного 1,2,4-триоксанового димера.

Подходы к синтезу 1,2,4-триоксановых аналогов артемизинина, структура которых позволяет варьировать свойство липофильности.

Метод синтеза C_{12} -сульфид- и сульфозамещенных 1,2,4-триоксановых аналогов артемизинина.

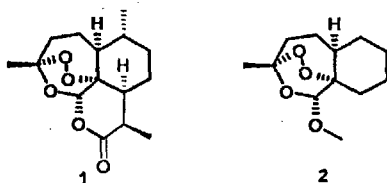
Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора, химической части, экспериментальной части, выводов и списка литературы (138 наименований), изложена на 185 страницах, содержит 9 таблиц и 109 рисунков.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы, научная новизна, практическая значимость работы, а также сформулированы цели работы и положения, выносимые на защиту.

Литературный обзор обобщает данные по химии артемизинина (1), его полному и частичному синтезу, методам получения и биологической активности упрощенных аналогов артемизинина (например, 2), механизму биологического действия артемизинина и его 1,2,4-триоксановых аналогов, а

также описанным за последние 10 лет антипролиферативным свойствам димеров и тримеров артемизицина.

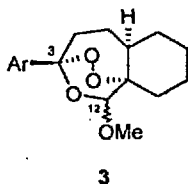


Химическая часть содержит обсуждение полученных в данной работе экспериментальных результатов, которые в сокращении изложены ниже.

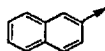
1. Синтез новых 3-арилзамещенных 1,2,4-триоксановых аналогов артемизинина с использованием трифенилфосфитозонида в качестве химического эквивалента синглетного кислорода

Нам были поставлены задачи: а) пополнение существующей базы данных по антималярийной активности C_3 -арилзамещенных 1,2,4-триоксанов 3;

б) исследование применимости трифенилфосфитозонида в качестве химического эквивалента синглетного кислорода.



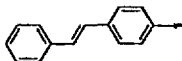
3a, Ar =



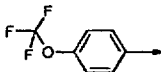
3b, Ar =



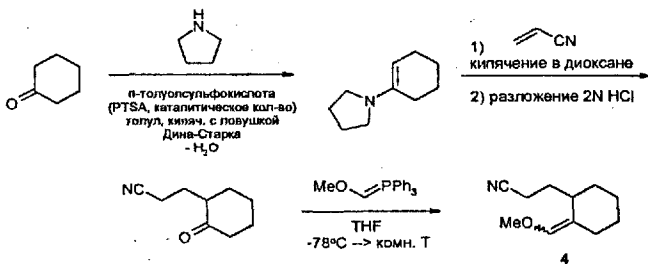
3c, Ar =



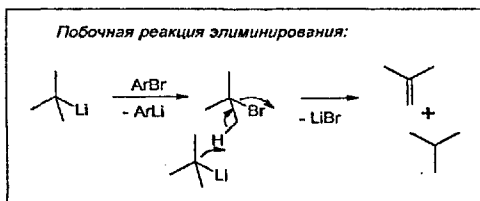
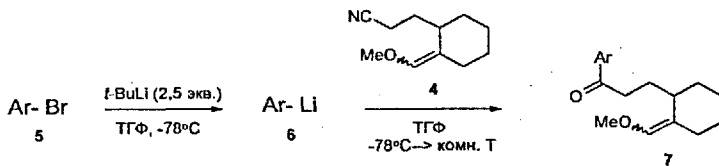
3d, Ar =



Исходный метоксиметилиден-2-(2'-цианозтил)циклогексан 4 был синтезирован по следующей схеме:

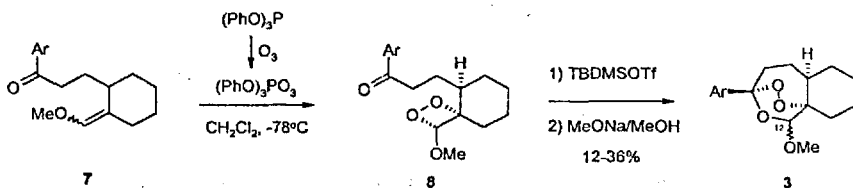


Далее, арилбромиды **5** были превращены в соответствующие литийпроизводные **6** по реакции обмена галогена на литий с участием трет-бутиллития (*t*-BuLi). Использование более двух эквивалентов *t*-BuLi важно в силу побочной бимолекулярной реакции элиминирования непрореагировавшего *t*-BuLi с образующимся в реакции трет-бутилбромидом. Полученные литийпроизводные **6** вводили в реакцию с нитрилом **4** и, после водной обработки, выделяли целевые арилкетоны **7** с выходом 59-96%.



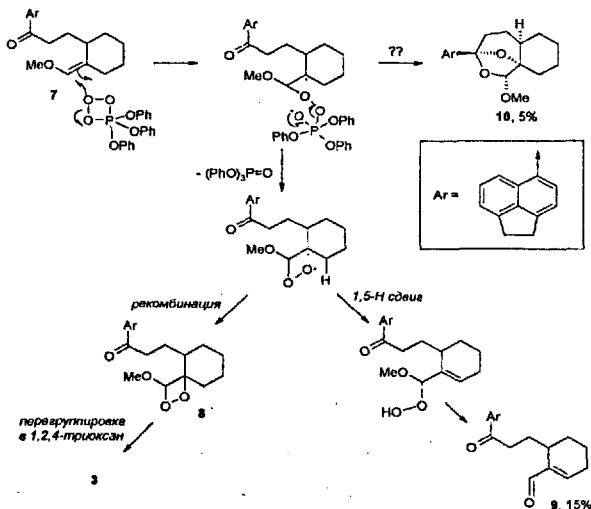
Кетоны **7** вводили в реакцию с трифенилфосфитозонидом в дихлорметане при -78°C . Конверсия в соответствующие 1,2-диоксетановые интермедиаты **8** происходила практически моментально, после чего добавляли трет-бутилдиметилсилил трифторметансульфонат (TBDMSTf) и, по прошествии 15-30 мин, реакцию гасили добавлением 25 % метанольного раствора метилата натрия. Продукты выделяли колоночной хроматографией на

силикагеле с последующей очисткой целевых продуктов методом ВЭЖХ. Суммарные выходы 1,2,4-триоксанов **3** находились в интервале 12-36 %, при различном соотношении изомеров α -C₁₂(OMe) и β -C₁₂(OMe).



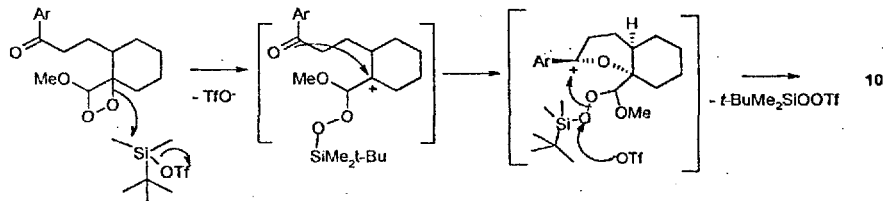
Описанные в литературе закономерности спектрального поведения C₁₂-эпимерных 1,2,4-триоксанов позволили однозначно отнести полученные триоксаны **3** либо к (α)-, либо к (β)-ряду.

В ходе исследования также установлено, что среди продуктов реакции присутствуют ожидаемый в соответствии с механизмом реакции α , β -непредельный альдегид **9** (выход 15 %) и ранее неописанный 1,3-диоксолан **10**.



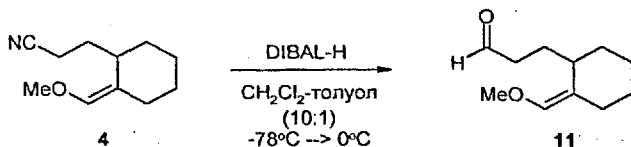
Структура **9** и **10** была установлена на основании детального анализа спектров ¹H и ¹³C ЯМР этих соединений, а также данных масс-

спектрометрии высокого и низкого разрешения. Предлагаемый гипотетический механизм образования 1,3-диоксолана **10** представлен ниже.

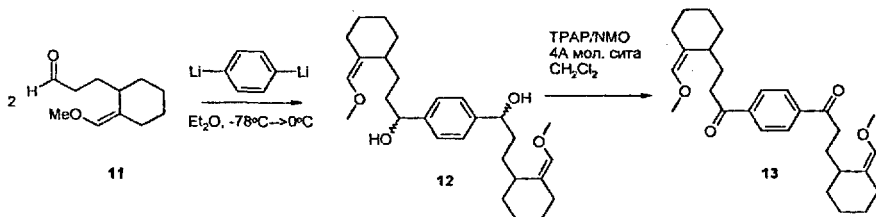


2 Синтез диастереомерно чистого, рацемического 1,2,4-триоксанового димера, сходного с димерами природного артемизинина, обладающими антипролиферативной активностью

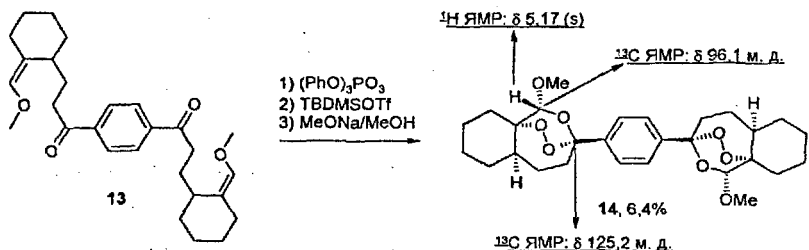
В качестве одного из синтонов в этой части работы использовался альдегид **11**, получаемый из нитрила **4** восстановлением диизобутоксалиюминий-гидридом (DIBAL-H):



Альдегид **11** был введен в реакцию с *n*-фенилендилитием. После обработки реакционной смеси и фракционирования колоночной хроматографией, был получен диол **12** в виде смеси диастереомеров. Для окисления этого диола в дикетон **13** был выбран метод мягкого окисления, использующий в качестве стехиометрического окислителя *N*-метилморфолин-*N*-оксид (NMO), а в качестве катализатора – перрутенат тетра(*n*-пропил)аммония (TPAP). После очистки колоночной хроматографией **13** был получен с выходом 31 % в расчете на **11**.



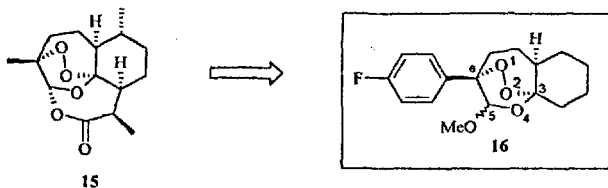
Полученный димерный енолфирный кетон **13** был приведен во взаимодействие с трифенилфосфитозонидом. В продукте, выделенном из реакционной массы, после соответствующей обработки был зафиксирован только один ожидаемый сигнал, отвечающий ацетальному протону O-C₁₂(OMe)-H.



Выделенный продукт был подвержен последовательному фракционированию колоночной хроматографией. Фракции, обогащенные, согласно данным ¹H ЯМР, целевым димером **14**, были в дальнейшем подвергнуты разделению методом ВЭЖХ. Димер **14** (подтверждено масс-спектром высокого разрешения) был выделен с выходом 6,4 %.

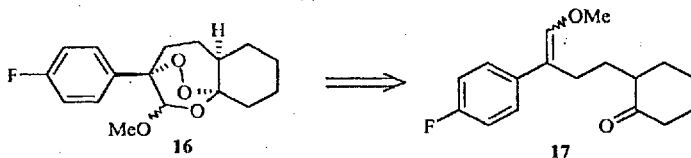
3. Синтез рацемических трициклических 1,2,4-триоксанов, изомерных упрощенным аналогам артемизинина

Описанный более двух десятилетий назад встречающийся в природе изомер артемизинина **15** обладает практически той же антималярийной активностью, что и сам артемизинин (**1**). Следовательно, взаимная перемена положения ацетального атома углерода и атома кислорода (формально O-4 1,2,4-триоксанового цикла) не влияет на биологические свойства данного типа соединений.

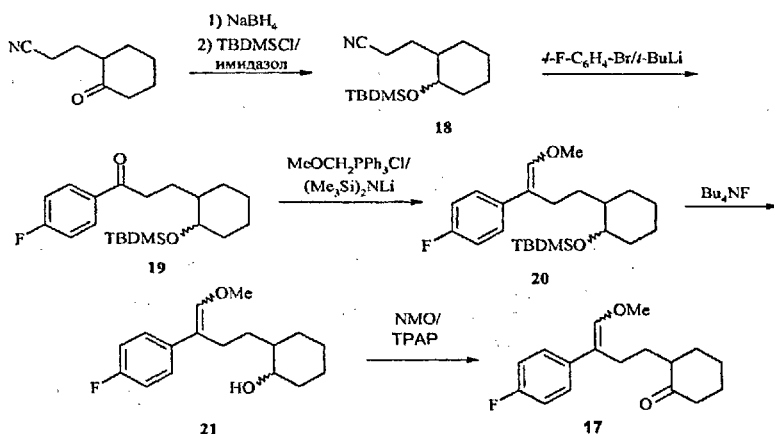


Этот факт вызвал интерес к разработке синтеза упрощенных структур **16**. *p*-Фторфенильный заместитель был включен в целевые структуры на основании имеющихся литературных данных по химиотерапевтическим свойствам аналогов артемизинина.

Ретросинтетический структур типа **16** приводит к синтетическим предшественникам **17**.

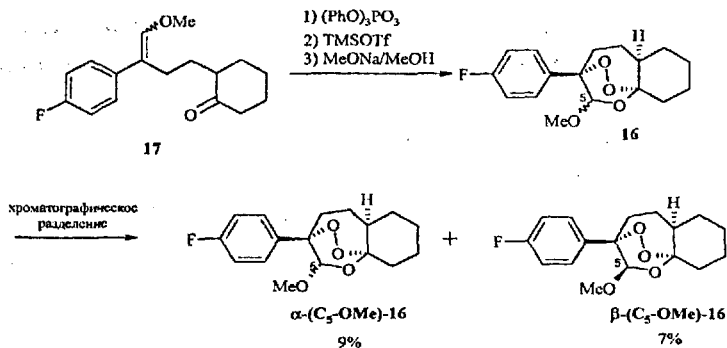


Синтез енолэфирного кетона **17** представлен ниже. Мы исходили из уже использовавшегося ранее 2-(2'-цианозтил)циклогексанона. Кетогруппу последнего последовательно восстанавливали бодидридом натрия в соответствующий спирт и обрабатывали *tert*-бутилдиметилсилилхлоридом (TBDMSCl) в присутствии основания с получением диастереомерной смеси силиловых эфиров **18**. Далее, к нитрильной группе **18** присоединяли парафторфениллитий и с высоким выходом получали кетон **19**, в виде смеси диастереомеров. Олефинирование кетогруппы **19** по Виттигу дало смесь четырех диастереомеров бис-эфира **20**.

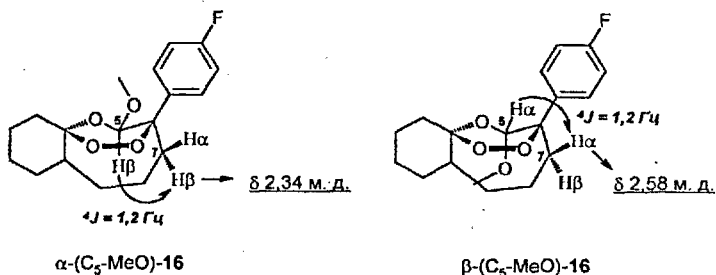


Последний без предварительной очистки, был переведен в диастереомерную смесь вторичных спиртов **21** через расщепление силилового эфира тетрабутил-аммонийфторидом с выходом 25 % в расчете на **19**. Окисление диастереомерной смеси спиртов **21** в целевой энolzфирный кетон **17** проводили с использованием системы перрутнат тетрапропиламмония – N-морфолин-N-оксид.

Конечные 1,2,4-триоксаны **16** получали по реакции энolzфиров **17** с трифенилфосфитозонидом. Реакционную смесь после водной обработки фракционировали колоночной хроматографией и подвергали окончательной очистке методом ВЭЖХ, после которой получали оба эписмера целевого триоксана с выходами 9 % и 7 % для α -(C₅-MeO)-**16** и β -(C₅-MeO)-**16** соответственно.



Стереохимическое отнесение α -(C₅-MeO)-**16** и β -(C₅-MeO)-**16** было проведено на основании анализа их спектров ¹H ЯМР.

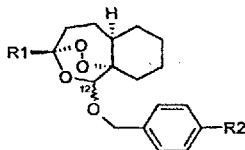


Было замечено, что ацетальный протон $\text{MeO-C}_5\text{-H}$ в обоих изомерах расщеплен в дублет с малой константой $^4J = 1,2$ Гц. Такое расщепление возможно только за счет W-расщепления с одним из метиленовых протонов при C-7, - тем из них, который и находится в пространственной W-ориентации с ацетальным протоном. В случае $\alpha\text{-(C}_5\text{-MeO)-16}$ изомера – это протон $\text{C}_7\text{-H}_\beta$, в случае $\beta\text{-(C}_5\text{-MeO)-16}$ изомера – протон $\text{C}_7\text{-H}_\alpha$. В стереохимическом отношении мы воспользовались тем обстоятельством, что в силу полярного влияния пероксидного мостика, один из метиленовых протонов при C-7 – тот, что пространственно близок к фрагменту O-O (т. е. $\text{C}_7\text{-H}_\alpha$) должен быть дезэкранирован в большей степени, чем другой. Поэтому изомеру, в котором ацетальный протон $\text{MeO-C}_5\text{-H}$ W-расщеплен с константой $^4J = 1,2$ Гц с протоном, резонирующем в более слабом поле, была присвоена стереохимия $\beta\text{-(C}_5\text{-MeO)-16}$.

4. Синтез 12-бензилоксизамещенных 1,2,4-триоксановых аналогов артемизинина с широким профилем липофильности

В настоящее время нет систематической информации о требованиях к профилю липофильности антималярийных соединений, чтобы обеспечивался их эффективный транспорт внутрь эритроцитов. Поэтому была поставлена задача разработки структурно модифицированной серии 1,2,4-триоксанов, в которой существовала бы возможность оперативного варьирования липофильности через превращения некой функциональной группы.

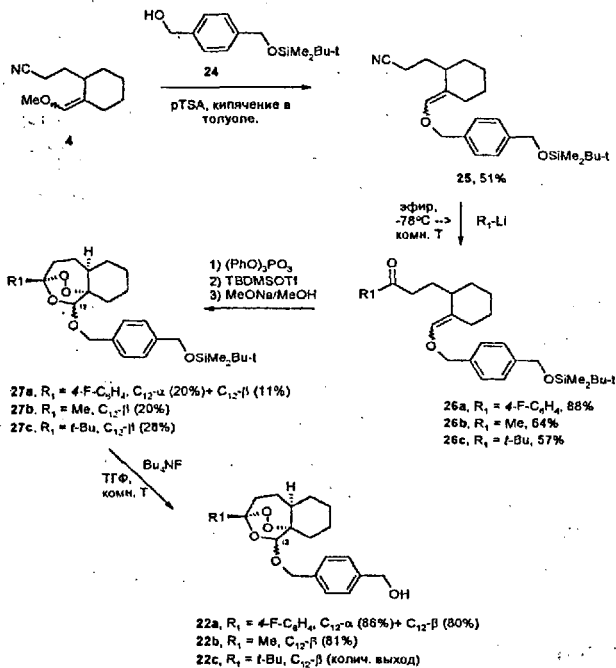
Для реализации такой задачи были выбраны *n*-замещенные C_{12} -бензилокси триоксаны общей формулы 22-23.



22, $\text{R}_2 = \text{CH}_2\text{OH}$ (a - $\text{R}_1 = 4\text{-FC}_6\text{H}_4$, b - $\text{R}_1 = \text{Me}$, c - $\text{R}_1 = t\text{-Bu}$)

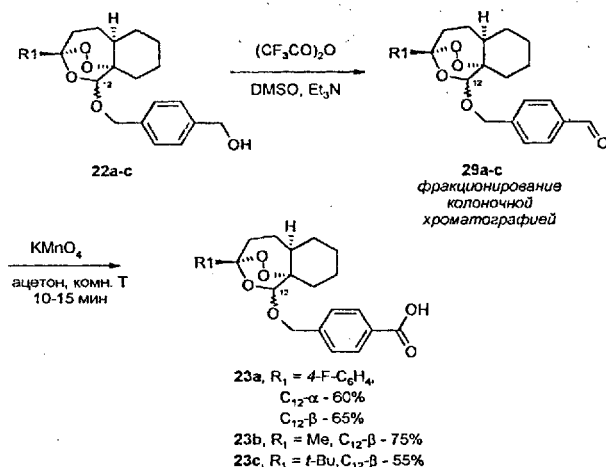
23, $\text{R}_2 = \text{COOH}$ (a - $\text{R}_1 = 4\text{-FC}_6\text{H}_4$, b - $\text{R}_1 = \text{Me}$, c - $\text{R}_1 = t\text{-Bu}$)

Разработанный синтез триоксанов **22a-c** приведен ниже. Ключевой стадией данного синтеза является первая: катализируемая протонной кислотой (*m*-толуолсульфокислотой, pTSA) замена метоксигруппы в енолэфире **4** на бензилоксигруппу. Кипячение в толуоле вели с ловушкой Дина-Старка, в результате азетропная отгонка образующегося метанола является движущей силой реакции.



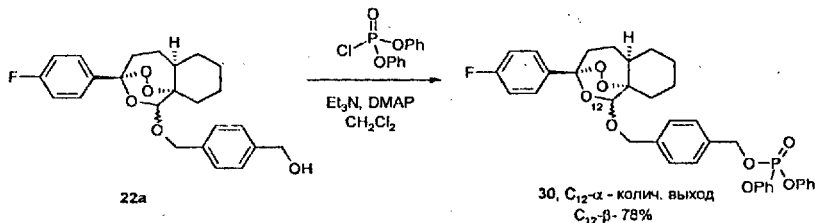
Первая попытка окисления гидроксиметильной группы в карбоксильную проводилась при обработке триоксанов **22a-c** в ацетоне перманганатом калия при комнатной температуре. Однако полученный продукт был сильно загрязнен примесями неизвестного происхождения. Очистка колоночной хроматографией или ВЭЖХ на обратной фазе приводила в лучшем случае к 25 %-ному выходу карбоновых кислот **23a-c**. Поэтому было принято решение проводить окисление гидроксиметильной группы в триоксанах **22a-c** в две стадии,

т. е. через соответствующий альдегид **29а-с**. Первое окисление спиртов **22а-с** в альдегиды **29а-с** проводилось с использованием модифицированной процедуры окисления по Сверну.



Указанные выходы – в расчете на исходный спирт **22а-с**, т.е. разработанная двустадийная методика окисления оказалась достаточно эффективной.

С целью получить также производные триоксанов **22** с высокой липофильностью, из двух эписмерных триоксановых спиртов **22а** были с высоким выходом получены соответствующие дифенилфосфаты **30**.



Все описанные триоксаны были проанализированы в отношении возможности отнесения их C_{12} -ОМе конфигурации на основании данных спектроскопии 1H и ^{13}C ЯМР и правил определения относительной стереохимии в 1,2,4-триоксанах, описанных в литературе. Как следует из Таблицы 1,

положение и мультиплетность характеристических сигналов этих аналогов артемизинина позволили провести однозначное отнесение полученных структур либо к α -(C₁₂-OMe), либо к β -(C₁₂-OMe) ряду.

Таблица 1. Данные ¹H и ¹³C спектроскопии, используемые для стереохимического отнесения простых триоксанов 22, 23, 27 и 30 к изомерным C₁₂-ацетальным рядам

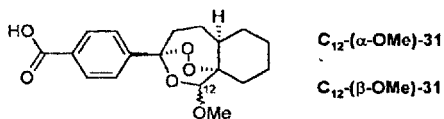
Триоксан	β -C ₁₂ (OMe)			α -C ₁₂ (OMe)		
	C ₃ , δ	C ₁₂ , δ	H ₁₂ , δ	C ₃ , δ	C ₁₂ , δ	H ₁₂ , δ
27a	104.8	102.6	5.33 (d)	103.7	93.2	5.26 (s)
27b	105.0	102.0	5.14 (d)	--	--	--
27c	108.7	102.0	5.05 (d)	--	--	--
22a	104.8	102.0	5.33 (d)	103.8	93.4	5.28 (s)
22b	105.0	102.1	5.13 (d)	--	--	--
22c	108.7	102.1	5.04 (d)	--	--	--
23a	106.3	104.5	5.33 (d)	105.2	95.4	5.38 (s)
23b	106.4	103.9	5.15 (d)	--	--	--
23c	109.6	104.1	5.06 (d)	--	--	--
30	104.9	102.8	5.33 (d)	103.8	93.7	5.28 (s)

Антималерийное тестирование синтезированных данной работе 1,2,4-триоксанов 22, 23, 27 и 30 показало, что все полученные триоксаны проявили заметную антималярийную активность. В диссертационной работе приведены рассуждения о возможной связи между липофильностью и наблюдаемой антималярийной активностью этих соединений.

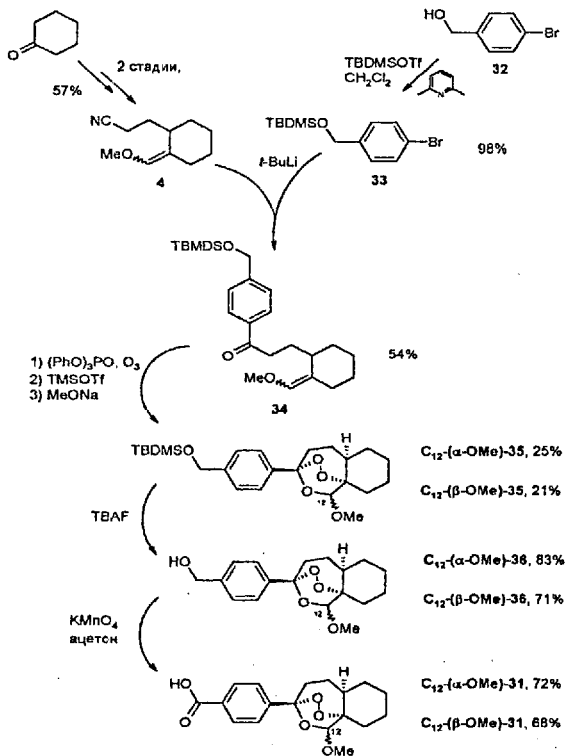
5. Поиск оптимального подхода к синтезу 3-(*n*-карбоксифенил)-замещенных 1,2,4-триоксанов для доклинического испытания на грызунах

Ранее синтезированные 3-(*n*-карбоксифенил)замещенные триоксаны 31 были отобраны для тестирования в грызунах на основании положительных

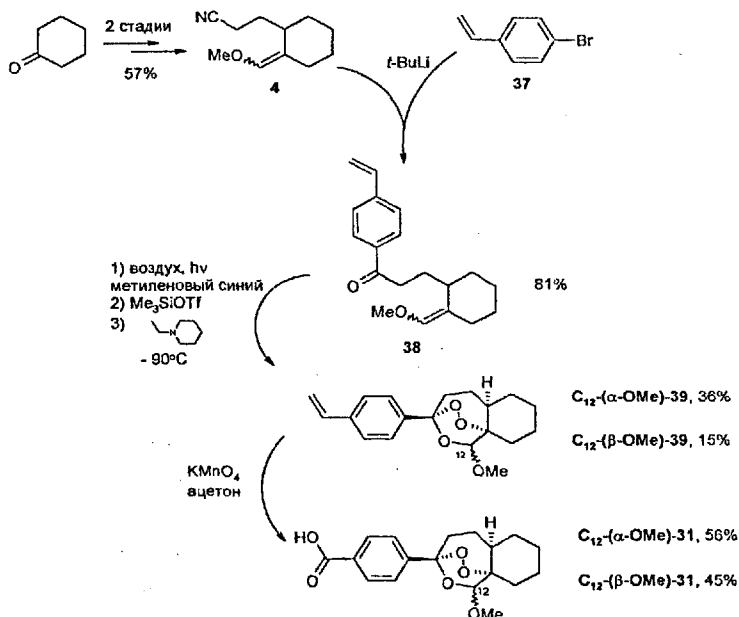
результатов их антималярийного тестирования *in vitro*. Поскольку в ходе исследований также выяснилось, что в случае C_{12} -(β -OMe)-31 сложнее добиться высокой чистоты после хроматографической очистки, для тестирования *in vivo* был выбран изомер C_{12} -(α -OMe)-31.



Нам требовалось найти синтетический путь к этим молекулам, который давал бы лучший выход и требовал бы меньшего числа стадий, чем существовавший уже первоначальный (так называемый «медицинско-химический») путь:



С использованием последнего, получение триоксана C_{12} -(α -OMe)-31 возможно в 7 стадий (исходя из коммерчески доступных циклогексанона и арилбромида 32) с общим выходом 4,5 %. Кроме низкого выхода, выбранный способ маскирования карбоксифенильной группы (в виде *трет*-бутилдиметилсилилоксиметил производного) требует проведения двух операций по демаскированию, а при производстве такого триоксана в килограммовых масштабах (в случае продвижения его в клиническую стадию разработки и, следовательно, возникновения потребности в именно таких количествах тестируемого соединения) отходы, содержащие производные фосфора и кремния, будут представлять серьезную проблему с точки зрения их утилизации или выброса.



После апробирования различных альтернативных синтетических подходов к C_{12} -(α -OMe)-31, которые обеспечивали бы более высокий суммарный выход, требовали бы проведения меньшего числа химических опе-

раций, а также генерировали бы меньшее число токсичных отходов, была отработана приведенная выше схема синтеза.

Основными преимуществами данного подхода в сравнении с использовавшимся ранее подходом являются следующие:

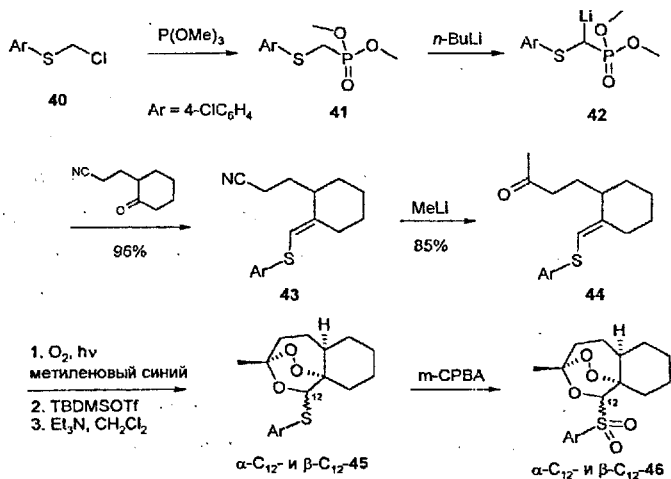
- исходя из коммерчески доступных циклогексанона и арилбромида **37**, получение триоксана C_{12} -(α -OMe)-**31** возможно в 5 стадий с общим выходом 9,3 % (т. е. синтетический путь был сокращен на 2 стадии и суммарный выход увеличен в 2 раза);
- *n*-карбоксифенильная группа маскируется в виде *n*-стирильного фрагмента и демаскируется простым окислением перманганатом калия, которое не приводит к получению никаких токсичных отходов кроме не растворимого и легко отделяемого диоксида марганца;
- на стадии образования 1,2,4-триоксанового ядра, в качестве источника синглетного кислорода для введения пероксидного мостика в молекулу используется обычный воздух, а не дорогостоящий кислород или озон; кроме того, среди отходов не фигурируют токсичные соединения фосфора. Разработка данного метода синтеза 1,2,4-триоксанов позволяет получать важные с медицинско-химической точки зрения эндопероксидные молекулы без привлечения дорогостоящего фотохимического (или озон-генерирующего) оборудования.

6. Новые 1,2,4-триоксановые аналоги артемизинина, содержащие сульфидный и сульфоновый фрагменты при C-12.

В настоящей работе мы поставили перед собой задачу расширить круг синтетически доступных триоксановых аналогов, синтезировав новые структуры, включающие в себя сульфидные и сульфоновые фрагменты, помня об описанном в литературе положительном влиянии таких групп на антималярийную активность эндопероксидов.

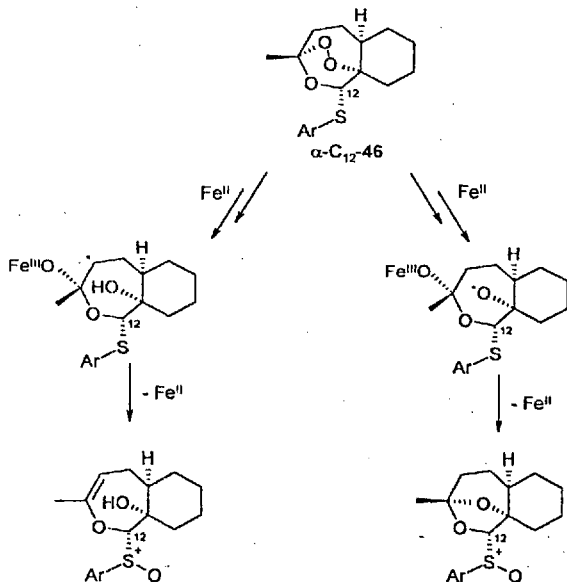
Наиболее релевантной позицией для введения сульфонового фрагмента в структуру 1,2,4-триоксанов, подобных артемизинину, представля-

лась С-12. Тиолсодержащий фосфонат **41** получали по реакции Арбузова с участием хлорметилсульфида **40**. Соответствующее литиопроизводное **42** вводили в реакцию Водсворта-Хорнера-Эммонса с 2-(2-цианоэтил)циклогексаноном и с высоким выходом получали винилсульфид **43**. Присоединение метиллития протекало также с высоким выходом и давало кетон **44**, который подвергали стандартной, описанной выше процедуре фотоокислительной циклизации в 1,2,4-триоксан. Диастереомерные сульфидсодержащие триоксаны **45** разделяли методом ВЭЖХ и подвергали окислению *m*-хлорпербензойной кислотой (*m*-CPBA), которое протекало селективно, с высоким выходом и без разрушения пероксидного фрагмента, давая целевые триоксаны **46**.



Интересное открытие, позволяющее сделать выводы относительно механизма действия данного типа структур, было сделано в результате измерения антималярийной активности синтезированных диастереомерных пар триоксанов **45** и **46**. В то время как оба изомера сульфонов **46** являются почти столь же активными, как и сам артемизинин (IC_{50} для α - и β - C_{12} -изомера составила 25 и 23 нМ соответственно), активность диастереомерных сульфидсодержащих триоксанов **45** различается колоссально: в то время, как

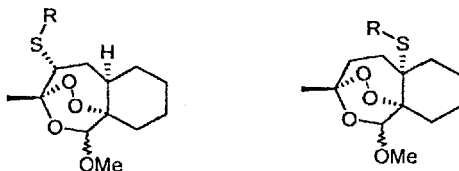
β -изомер лишь на порядок менее активен, чем артемизинин (IC_{50} первого и последнего составили 110 и $9,4 \pm 1,3$ нМ соответственно), α -изомер вообще не обладает детектируемой активностью! Очевидно, что если постулируемое в механизме биологического действия как чрезвычайно важное для проявления эндопероксидными соединениями антималярийной активности направление, ведущее к образованию высоковалентных окислов, действительно имеет место, то внутримолекулярный «перехват» частиц «Fe=O» в момент их образования должен привести к тому, что активность соответствующих соединений вообще не будет проявляться. Скорее всего, наблюдаемое нами различие в антималярийной активности α - и β - C_{12} -изомеров 45, имеет место как раз в силу того, что неокисленный атом серы сульфидного фрагмента в α - C_{12} -45 (и только α !) способен нейтрализовать окислительную (а значит, крайне летальную для малярийных паразитов) способность «Fe=O».



Этот факт, несомненно, является серьезным аргументом в пользу фундаментальной правильности предложенного ранее другими исследовате-

лами механизма. Тем не менее, для окончательного подтверждения гипотезы о причинах наблюдаемого явления необходимо проведение дополнительных экспериментов, в частности: а) подтверждения того, что среди продуктов Фериндуцированной деградации триоксана α -C₁₂-45 присутствуют продукты с окисленной (в сульфоксид или сульфон) серой;

б) демонстрации того, что и в других аналогах, содержащих сульфидный атом серы в *син*-ориентации относительно пероксидного фрагмента (т. е., на α -стороне молекулы) антималярийная активность также существенно снижена по сравнению с таковой для аналогов с анти-ориентированным (т. е., β -) сульфидным фрагментом.



Отнесение C₁₂-эпимеров триоксанов 45 и 46 к α - или β -ряду, в отличие от их C₁₂-метокси аналогов, возможно только на основе мультиплетности сигналов ацетального протона H₁₂ в спектре ¹H ЯМР: в β -изомере этот сигнал расщеплен в дублет с малой константой (~ 1,2 Гц) за счет слабого W-расщепления с угловарным протоном H_{5a} (Таблица 2).

Таблица 2. Данные ¹H и ¹³C спектроскопии синтезированных в данной работе C₁₂-сульфид- и сульфозамещенных триоксанов 125 и 126

Триоксан	β -C ₁₂ (OMe)			α -C ₁₂ (OMe)		
	C ₃ , δ	C ₁₂ , δ	H ₁₂ , δ	C ₃ , δ	C ₁₂ , δ	H ₁₂ , δ
125	105.7	87.1	5.5 (d)	105.1	85.7	5.6 (s)
126	106.4	92.8	5.0 (d)	105.3	90.8	5.0 (d)

7. Биологическая активность синтезированных соединений

Все полученные в данной работе соединения были протестированы в отношении их антималярийной активности. Результаты такого тестирования приведены в Таблице 3. В диссертационной работе проведен ряд обобщений в отношении связи «структура-активность» данного типа соединений.

Таблица 3. Антималярийная активность синтезированных в данной работе соединений, измеренная в хлорохин-чувствительной культуре *P. Falciparum* NF54 с использованием артемизинина (1) в качестве стандарта.

Соединение	Стереохимия при C-12	IC ₅₀ , nM	Соединение	Стереохимия при C-12	IC ₅₀ , nM
3a	α	17	22b	β	57
3a	β	29	22c	β	13
3b	α	63	23a	α	47
3c	α	22	23a	β	40
3c	β	48	23b	β	1600
3d	α	13	23c	β	72
3d	β	16	30	α	37
10	α	>2500	30	β	54
14	α	38	45	α	>2500
16	α	180	45	β	110
16	β	1100	46	α	23
22a	α	12	46	β	25
22a	β	22	Артемизинин (1)	--	9.4±1.3

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ И ВЫВОДЫ

1. Апробирована методология синтеза 1,2,4-триоксановых аналогов артемизинина из енолэфирных кетонов с использованием трифенилфосфитониида в качестве синтетического эквивалента синглетного кислорода. Полученные 3-арилзамещенные триоксаны показали высокую антималярийную активность на уровне природного артемизинина. Выделены и идентифицированы побочные продукты реакции: ожидаемый в рамках известного механизма α , β -непределельный альдегид, а также неожиданный 1,3-диоксолановый продукт, возможный механизм образования которого предложен.
2. Показана возможность использования изомерных енолэфирных кетонов в синтезе триоксановых аналогов артемизинина и разработан эффективный метод синтеза последних. Разработанный синтетический подход к «изомерным» 1,2,4-триоксанам расширяет круг синтетически доступных триоксановых структур. Несмотря на низкие значения антималярийной активности, наблюдаемые для данных (впервые синтезированных) соединений, полученные результаты открывают возможности для установления взаимоотношений «структура-активность» в ряду «изомерных» триоксанов, которые могут быть совершенно иными, чем для «нормальных» 1,2,4-триоксанов, исследовавшихся ранее.
3. Разработан метод синтеза C_3-C_3 -(*n*-фенилиден)-связанного 1,2,4-триоксанового димера, обладающего заметной антималярийной активностью. Установлено, что получение двух триоксановых единиц перегруппировкой 1,2-диоксетанового интермедиата возможно внутри одной молекулярной структуры. Разработанный метод синтеза позволяет получать антипролиферативные димеры подобной структуры путем варьирования типа и размеров «межтриоксанового» связующего фрагмента.
4. Разработаны синтетические подходы к новым 1,2,4-триоксановым аналогам артемизинина, структура которых позволяет варьировать свойство липофильности. Полученные данные имеют значение для построения теоретической модели, предсказывающей взаимосвязь «липофильность - антима-

ляринная активность» для широкого круга триоксановых аналогов артемизинина.

5. Проведена разработка улучшенного метода синтеза одного из 1,2,4-триоксановых аналогов артемизинина исходя из коммерчески доступных циклогексанона и арилбромида (5 стадий, общим выходом 9,3 %), в котором синтетический путь сокращен на 2 стадии, а суммарный выход увеличен в 2 раза по сравнению с известным методом. Разработанный метод отличается от известного использованием кислорода воздуха в качестве источника синглетного кислорода и отсутствием не улавливаемых токсичных отходов.

6. Разработана синтетическая схема, позволяющая получать принципиально новый тип структур: C_{12} -сульфид- и сульфозамещенные 1,2,4-триоксановые аналоги артемизинина. Синтез данных соединений был проведен в диастереомерно чистой форме, после разделения C_{12} -эпимеров методом ВЭЖХ.

Основное содержание диссертации опубликовано в работах:

1. Posner G.H., Ploypradith P., Krasavin, M. et al. Antimalarial, antiproliferative, and antitumor activities of artemisinin-derived, chemically robust, trioxane dimers. // *J. Med. Chem.* – 1999. – 42. – p. 4275-4280.
2. Posner G.H., Maxwell J.P., Krasavin, M. et al. Antimalarial sulfide, sulfone, and sulfonamide trioxanes. // *Bioorg. Med. Chem.* – 2000. – 8. – p. 1361-1370.
3. Posner G.H., Jeon H.B., Krasavin M. et al. Antimalarial simplified 3-aryltrioxanes: synthesis and preclinical efficacy/toxicity testing in rodents. // *J. Med. Chem.* – 2001. – 44. – p. 3054-3058.
4. М.Ю. Красавин, М.В. Дорогов. Синтез диастереомерно чистого, рацемического 1,2,4-триоксанового димера, сходного с димерами природного артемизинина, обладающими антипролиферативной активностью. // *Изв. вузов. Химия и хим. технология.* – 2004. – 47. – Вып. 10. – С. 109-113.
5. М.Ю. Красавин, М.В. Дорогов. Синтез рацемических трициклических 1,2,4-триоксанов, изомерных упрощенным аналогам природного арте-

мизинина. // Изв. вузов. Химия и хим. технология. – 2004. – 47. - Вып. 9. – С. 133-138.

6. Posner G.H., Cumming J.N., Krasavin, M. Carbon-centered radicals and rational design of new antimalarial peroxide drugs. // Biomedical Chemistry: Applying Chemical Principles to Understanding and Treatment of Disease / P. F. Torrence, Ed. – N. Y.: John Wiley & Sons, 2000. - p. 289-309.

7. Posner G.H., Krasavin M., McCutchen M. et al. New antimalarial trioxanes and endoperoxides. // Antimalarial chemotherapy: mechanisms of action, resistance, and new directions in drug discovery. / P. J. Rosenthal, Ed. – N. J.: Humana Press, 2001. - p. 255-265.

8. Posner G.H., O'Dowd H., Krasavin M. et al. Artemisinin-derived, chemically robust, C-10 non-acetal, antimalarial trioxane dimers. // Тез. докл. 48th Annual Meeting: American Society for Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH). - Washington, D.C. - USA. - 28 Nov.– 2 Dec., 1999. - Abstract № 19. - Program and Abstract Book. – Vol. 61, № 3. - 1999. p.159.

9. Maxwell J.P., O'Dowd H., Krasavin M. et al. Antimalarial sulfone trioxanes. // Тез. докл. 48th Annual Meeting: American Society for Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH). - Washington, D.C. - USA. - 28 Nov. – 2 Dec, 1999. - Abstract № 307. - Program and Abstract Book. – Vol. 61, № 3. - 1999. – p.276.

10. М.Ю. Красавин, М.В. Дорогов, Г.Г. Познер. Синтез рацемических трициклических 1,2,4-триоксанов, изомерных упрощенным аналогам природного артемизинина. // Карбонильные соединения в синтезе гетероциклов: Сб. науч. тр. / Под ред. проф. А.П. Кривенько. – Саратов, “Научная книга”, 2004. - С. 156 - 159.



Подписано в печать 5.10.05

Печать цифровая
Тираж 100 экз.

Заказ № 10197

Типография ООО “Технологии рекламы”

