

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

имени М.В. ЛОМОНОСОВА

ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ



003484798

На правах рукописи

Баран

БАРАНОВА ТАТЬЯНА ЮРЬЕВНА

**СИНТЕЗ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ЛИГАНДОВ МЕЛАТОНИНОВЫХ
И СЕРТОНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ
ИНДОЛА, КОНДЕНСИРОВАННЫХ С БИЦИКЛИЧЕСКИМИ КАРКАСАМИ**

02.00.03 – Органическая химия

20 НОЯ 2009

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Москва - 2009

Работа выполнена на кафедре органической химии в лаборатории биологически активных органических соединений химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ

Кандидат химических наук, доцент
Зефирова Ольга Николаевна

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ

Доктор химических наук, профессор
Травень Валерий Федорович
(Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева)

Доктор химических наук, профессор
Семенов Виктор Владимирович
(Институт органической химии имени Н.Д. Зелинского РАН)

ВЕДУЩАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

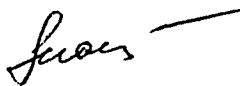
Московская государственная академия
тонкой химической технологии имени
М.В. Ломоносова

Защита диссертации состоится 2 декабря 2009 года в 11 часов в аудитории 446 на заседании Диссертационного совета Д.501.001.69 при МГУ имени М.В. Ломоносова: 119991, Москва, Ленинские горы, д.1, стр. 3, МГУ, Химический факультет.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

Автореферат разослан 2 ноября 2009 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета
Д.501.001.69 при МГУ имени М.В. Ломоносова
доктор химических наук, профессор



Т.В. Магдесиева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Мелатонин (N-ацетил-5-метокситриптамиин) представляет собой гормон, взаимодействующий в организме человека с тремя типами белковых молекул – мелатониновых рецепторов MT₁₋₃. Синтетические аналоги мелатонина улучшают сон, способствуя восстановлению синхронности между суточной тенденцией ко сну и желаемым временем сна в тех случаях, когда этот ритм нарушен (в результате быстрого пересечения часовых поясов, слепоты, старения, сезонных депрессий и др.). Несмотря на активный поиск лигандов мелатониновых рецепторов, количество соединений, селективных по отношению к каждому конкретному подтипу, весьма ограничено, что затрудняет изучение физиологической роли указанных белковых молекул. В связи с этим фундаментальной задачей является создание новых структурных классов синтетических соединений, обладающих высокой аффинностью и селективностью по отношению к мелатониновым рецепторам. В качестве таковых в настоящей работе предложены аналоги природного гормона с ограниченной конформационной подвижностью, которая достигается необычным образом – включением аминокислотной цепи мелатонина в бициклический каркас, конденсированный с индольным ядром.

Часть работы посвящена синтезу потенциальных аналогов эндогенного нейромедиатора серотонина (5-гидрокситриптамиина), имеющего близкую с мелатонином структуру. Соединения, взаимодействующие с серотониновыми рецепторами 5-HT₁₋₁₄, обладают широким спектром физиологической активности (используются как антидепрессанты, антигипертензивные и противорвотные препараты, а также как средства для лечения нейродегенеративных расстройств) и интенсивно изучаются во всем мире.

Цель работы. Целью настоящего исследования являлся молекулярный дизайн и синтез новых классов потенциальных лигандов мелатониновых и серотониновых рецепторов на основе производных индола, конденсированных с бициклическими каркасами. Выполнение этой работы включало в себя предсказание конкретных структур с потенциальной активностью по отношению к заданным мишеням, а также разработку и синтетическую реализацию многостадийных схем их получения.

Научная новизна и практическая значимость работы. С помощью метода компьютерного молекулярного моделирования предложены аналоги эндогенных соединений мелатонина и серотонина с ограниченной конформационной подвижностью на основе производных индола, конденсированных с замещенными бицикло[3.3.1]нонановым, бицикло[3.2.1]октановым, бицикло[2.2.2]октановым и бицикло[2.2.1]гептановым каркасами.

Реализованы семь многостадийных (6–9-стадийных) схем синтеза модельных соединений. В ходе синтеза разработан удобный препаративный метод формирования индольного ядра на бицикло[3.3.1]нонановом каркасе.

Впервые осуществлен синтез производных индола, конденсированных с бицикло[3.2.1]октаном. Изучены реакции сужения одного из циклов бицикло[3.3.1]нонан-2,6-диона с образованием *экзо*- или *эндо*-изомера метил 5-оксобицикло[3.2.1]октан-2-карбоксилата. Обнаружена необычная реакция окисления N-(*экзо*-2-метокси-5,6,7,8,9,10-гексагидро-6,9-метаноциклогепта[*b*]индол-8-ил)ацетамида по связи C^{5a}-C^{10a}.

Разработана и реализована девятистадийная схема синтеза индольных производных на бицикло[2.2.2]октане с *экзо*-ориентацией заместителя в каркасе, включающая в себя эпимеризацию *эндо*-5-оксабицикло[2.2.2]октан-2-карбоксилата.

Строение некоторых не описанных ранее соединений изучено методом рентгеноструктурного анализа.

Для четырех соединений проведено биологическое тестирование по отношению к 5HT₃ подтипу серотониновых рецепторов, обнаружена их слабая антагонистическая активность.

Публикации. По материалам диссертационной работы опубликовано 3 статьи и 6 тезисов докладов на международных и всероссийских конференциях.

Апробация работы. Материалы диссертационной работы доложены на Международной конференции «Органическая химия от Бутлерова и Бейльштейна до наших дней», Санкт-Петербург, 2006; на XVIII Менделеевском съезде по общей и прикладной химии, Москва, 2007; Научной конференции «Органическая химия для медицины», Черноголовка, 2008; Всероссийской конференции «Научный потенциал XXI», Москва, 2008; Международной научной конференции «Перспективы развития химии и практического применения алициклических соединений», Волгоград, 2008; XIV Симпозиуме по межмолекулярному взаимодействию и конформациям молекул, Челябинск, 2008; Международной конференции «Новые направления в химии гетероциклических соединений», Кисловодск, 2009.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ для поддержки ведущих научных школ № НШ-2051.2003.3, грантов РФФИ №06-03-32843 и №09-03-00879 и грантов Отделения химии и наук о материалах РАН №9 и №10.

Объем и структура диссертационной работы. Диссертационная работа изложена на 125 страницах машинописного текста и состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части и выводов; содержит 2 таблицы, 19 рисунков и список цитируемой литературы из 149 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Теоретический дизайн структур потенциальных лигандов мелатониновых и серотониновых рецепторов.

Настоящая работа посвящена созданию нового класса потенциальных лигандов мелатониновых и серотониновых рецепторов. Особенностью этого класса является ограничение конформационной подвижности боковой цепи эндогенных соединений (мелатонина и серотонина), которое достигается включением ее в бицикло[3.3.1]нонановый, бицикло[3.2.1]октановый, бицикло[2.2.2]октановый и бицикло[2.2.1]гептановый каркасы (рис. 1).

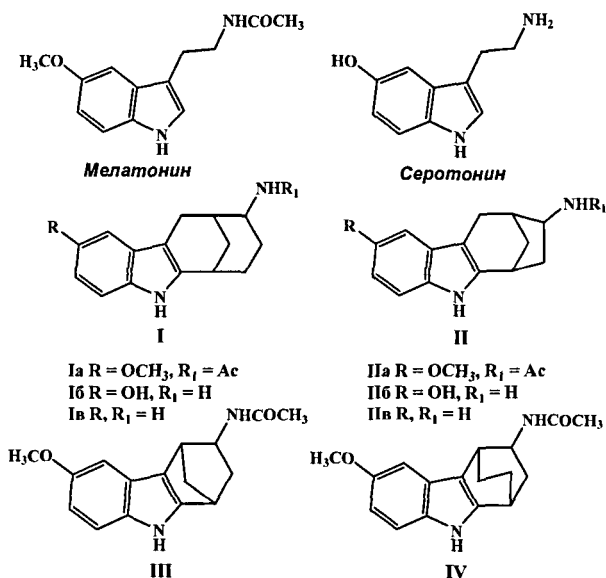


Рис. 1. Предложенные аналоги мелатонина и серотонина с ограниченной конформационной подвижностью.

Для подтверждения возможности связывания предложенных аналогов мелатонина (рис. 1, Ia, IIa, III и IV) с молекулой рецептора, был проведен их докинг¹ в молекулярную модель МТ₁ подтипа мелатониновых рецепторов (рис. 2). Это исследование показало, что

¹ Исследование по докингу лигандов проведено совместно с к.х.н. А.А. Ивановым (ИФАВ РАН).

допустимый размер каркаса в лиганде не должен превышать такого для бицикло[3.3.1]нонанового фрагмента. По данным моделирования для лигандов **Ia** и **IIa** лучшее связывание с белком наблюдается в случае *эндо*-ориентации ацетамидной группы (за счет образования водородных связей между карбонильным атомом кислорода лиганда и аминокислотным остатком Ser110 и между NH-группой амидной группировки лиганда и остатком Ser114, рис. 2, 3); для лигандов с меньшими циклами **III** и **IV** лучшее связывание наблюдается для изомеров с *экзо*-конфигурацией заместителя в бициклическом каркасе (рис. 2).

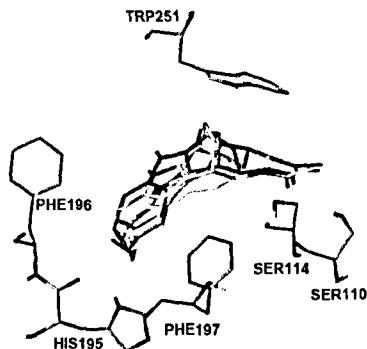


Рис. 2. Компьютерное наложение лигандов: оранжевый - *эндо*-**Ia**; зеленый - *экзо*-**III**; голубой - *экзо*-**IV**; желтый - мелатонин, в полости MT_1 рецептора (большинство атомов водорода не показаны).

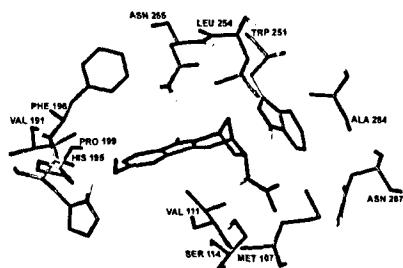
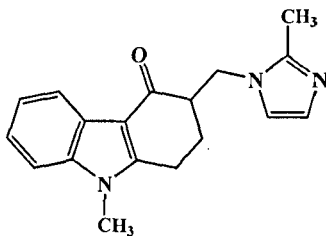


Рис. 3. Докинг *эндо*-**IIa** в сайт связывания MT_1 рецептора (большинство атомов водорода не показаны).

Таким образом, на основании результатов компьютерного моделирования для последующего синтеза нами были предложены N-(*эндо*-2-метокси-6,7,8,9,10,11-гексагидро-5H-6,10-метаноциклоокта[b]индол-9-ил)ацетамид (*эндо*-**Ia**), N-(*эндо*-2-метокси-5,6,7,8,9,10-гексагидро-6,9-метаноциклогепта[b]индол-8-ил)ацетамид (*эндо*-**IIa**), N-(*экзо*-6-метокси-2,3,4,9-тетрагидро-1H-1,4-метанокарбазол-3-ил)ацетамид (*экзо*-**III**) и N-(*экзо*-6-метокси-2,3,4,9-тетрагидро-1H-1,4-этанокрбазол-3-ил)ацетамид (*экзо*-**IV**) как потенциальные лиганды MT_1 подтипа мелатониновых рецепторов.

Структуры аналогов серотонина с ограниченной конформационной подвижностью (рис. 1, **Iб,в** и **IIб,в**) были выбраны на основании компьютерного наложения индол-каркасных «шаблонов» на структуры серотонина и **ондансетрона** – одного из наиболее активных антагонистов серотониновых рецепторов, обладающего высокой селективностью к 5-HT₂ подтипу и используемого в клинической практике. Наложение

структур **Iб,в** и **IIб,в** на ондансетрон, проведенное в программе Hyperchem (Release 6.01), показало, что независимо от ориентации аминогруппы (*эндо*-, *экзо*-) в бициклических каркасах структур **I** и **II**, ее атом азота оказывается в области между двумя атомами азота (пиррольным и иминным) имидазольного кольца ондансетрона.



Ондансетрон

Поскольку по данным наложения ориентация заместителя в бициклическом каркасе предлагаемых структур серотониновых аналогов не играет важной роли, в настоящей работе получали такие изомеры по аминогруппе, которые оказывались более доступными синтетически. Кроме того, для синтетической реализации нами были выбраны структуры как с гидроксильным заместителем в положении С⁵ индола **I,IIб**, так и без него **I,IIв**, поскольку, как показало изучение литературных данных по созданию аналогов серотонина, гидроксильная группа не является обязательной для связывания с некоторыми подтипами 5-НТ рецепторов.

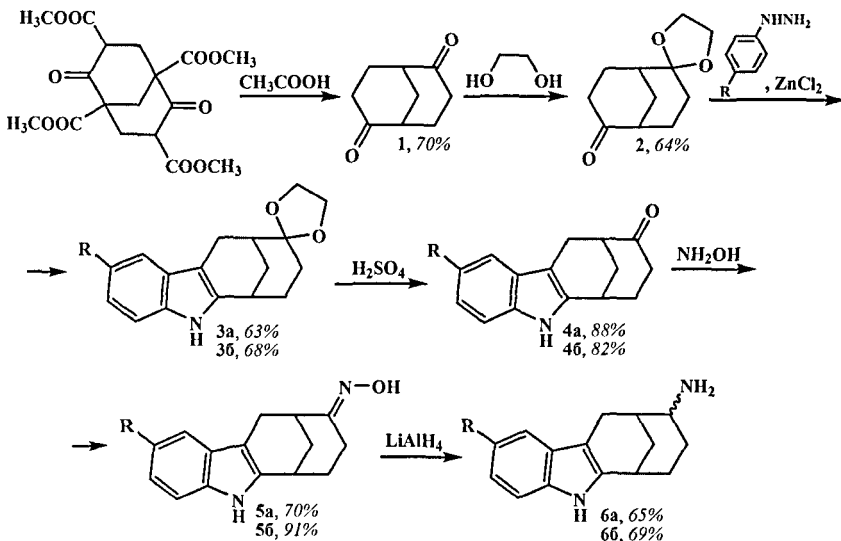
Основная часть работы посвящена разработке и синтетической реализации многостадийных схем получения предварительно смоделированных и наиболее перспективных структур.

2. Синтез потенциальных лигандов мелатониновых и серотониновых рецепторов на основе производных индола, конденсированных с бициклическими каркасами.

2.1. Синтез индолов, конденсированных с бицикло[3.3.1]нонановым каркасом.

Первый этап синтетической части настоящей работы посвящен разработке препаративного метода синтеза производных индола, конденсированных с бицикло[3.3.1]нонановым каркасом. Отметим, что количество работ, посвященных синтезу подобных систем, весьма ограничено. В данной работе формирование индольного ядра на бициклическом каркасе проводили по реакции Фишера. Для получения целевых соединений нами была реализована семистадийная схема превращений с использованием в качестве исходного соединения эфира Меервейна (схема 1).

Схема 1



Здесь и далее в схемах
 $\text{R}=\text{H}$ (а), OCH_3 (б)

В результате декарбокслирования эфира Меервейна был получен бицикло[3.3.1]нонан-2,6-дион **1**. Одну из кетогрупп соединения **1** преобразовали в 1,3-диоксолан, чтобы исключить формирование второго индольного ядра на бицикло[3.3.1]нонановом каркасе. Для стадии формирования индольного ядра на бициклическом каркасе нами был разработан удобный препаративный метод, который заключается в проведении реакции Фишера в метаноле в присутствии безводного хлорида цинка. Полученные производные индола **3a**, **3б** в ходе реакции выпадают в осадок и легко отделяются фильтрованием. Введение аминогруппы в бициклический каркас проводили через стадию образования оксимов **5a**, **б**.

Исследование структуры оксима **5a** методом рентгеноструктурного анализа (РСА)² показало, что она имеет типичную для бицикло[3.3.1]ноненон конформацию *полукресло-кресло* (рис. 4; здесь и далее нумерация атомов на рисунках с данными РСА отличается от соответствующей номенклатуре IUPAC нумерации атомов в структурах в тексте). В кристалле соединения **5a** реализуются два типа межмолекулярных водородных связей.

² Автор выражает благодарность сотруднику Владимирского государственного педагогического университета д.х.н. К.А. Потехину за проведение рентгеноструктурных исследований.

Первый тип реализуется между атомом водорода гидроксильной группы и атомом азота оксима NOH соседней молекулы. В результате образуется центросимметричный димер (рис. 4а). Другой тип водородной связи N-H...O приводит к образованию бесконечной ленты вдоль винтовой оси второго порядка (рис. 4б).

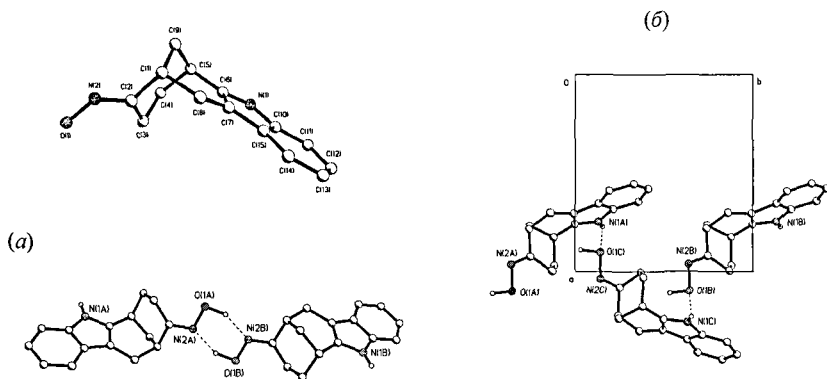
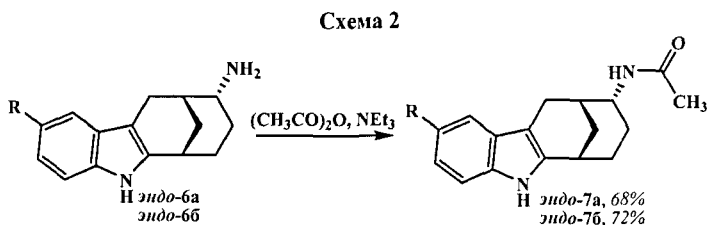


Рис. 4. Молекулярное строение **5a** в кристалле и фрагменты его молекулярной упаковки: (а) Центросимметричный димер, (б) Бесконечная лента (большинство атомов водорода не показаны).

Восстановление соединений **5a,б** алюмогидридом лития приводит к образованию смесей изомерных аминов, в которых соотношение *эндо*- и *экзо*-изомеров составило ~6:1 для **6a** и ~5:1 для **6б**. Оба изомера аминов **6a, 6б** были выделены в индивидуальном виде методом колоночной хроматографии. Основному изомеру приписана *эндо*-конфигурация на основании литературных данных (здесь и далее конфигурация бициклических производных индола является относительной). Полученные амины *эндо*-**6a**, *эндо*-**6б** далее ввели в реакцию N-ацетилирования уксусным ангидридом и получили ацетамиды *эндо*-**7a** и *эндо*-**7б** (схема 2).



В результате было получено модельное соединение N-(*эндо*-2-метокси-6,7,8,9,10,11-гексагидро-5H-6,10-метаноциклоокта[*b*]индол-9-ил)ацетамид *эндо*-**7б**.

Строение соединения **76** подтверждено методом рентгеноструктурного анализа³ (рис. 5).

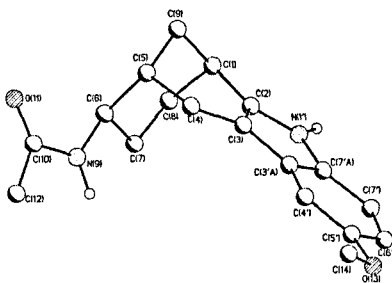
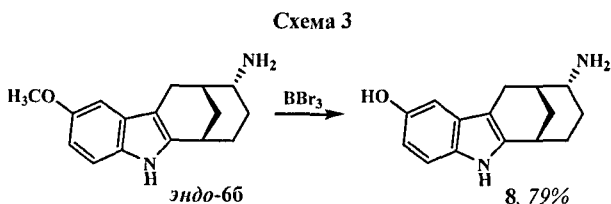


Рис. 5. Молекулярное строение амида *эндо-76* в кристалле (большинство атомов H не показаны).

В рамках работы по созданию лигандов серотониновых рецепторов помимо амина *эндо-66* был получен также гидроксизамещенный в индольном фрагменте амин **8**. Расщепление простого эфира осуществляли под действием трибромида бора (схема 3).



Соединение *эндо-76* передано на испытания биологической активности по отношению к мелатониновым рецепторам. Для испытания соединений *эндо-6а* и **8** на 5-HT₃ серотонинэргическую активность они были предварительно преобразованы в соли для придания им водорастворимости.

Обработка аминов *эндо-6а* и **8** раствором хлороводорода в сухом эфире привела к осмолению данных соединений, однако замена хлороводорода на уксусную кислоту позволила получить соответствующие ацетаты. Результаты испытаний представлены в разделе 3 (стр. 19).

³ Автор выражает благодарность сотруднику Института элементоорганических соединений имени Н.А. Несмеянова РАН д.х.н. К.А. Лысенко за проведение рентгеноструктурных исследований.

2.2. Синтез индолов, конденсированных с бицикло[3.2.1]октаном.

На следующем этапе настоящего исследования был проведен синтез аналогов мелатонина и серотонина, содержащих меньший, а именно бицикло[3.2.1]октановый каркас. Отметим, что синтез индолов, конденсированных с бицикло[3.2.1]октановым фрагментом, в литературе не описан. Возможность использования несимметричного бицикло[3.2.1]нонан-2,6-диона в качестве исходного соединения (аналогично схеме 1) была отвергнута нами ввиду трудоемкости его синтеза. Поэтому важной задачей явился подбор и синтез исходного производного бицикло[3.2.1]нонана с кетогруппой в положении 2 и группировкой в положении 6, пригодной для дальнейшей модификации. В качестве такого соединения был выбран метил 2-оксобицикло[3.2.1]октан-6-карбоксилат (**9**, схема 4).

Особое внимание мы уделили выбору изомера этого соединения по сложноэфирной группе, поскольку в данном случае строение исходного субстрата определяет ориентацию заместителя в целевых соединениях. Как указывалось выше, согласно данным моделирования предпочтительным для связывания с мелатониновым рецептором является *эндо*-изомер структуры **II** (рис. 3). Однако, в качестве аналогов серотонина интересны соединения как с *эндо*-, так и с *экзо*-ориентацией заместителя в бициклическом фрагменте.

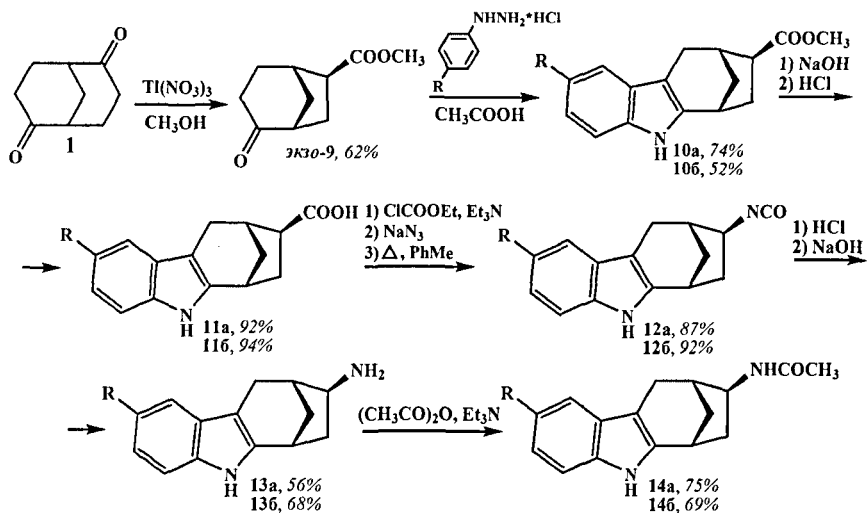
Изначально поиск и оптимизацию условий формирования индольного фрагмента на бицикло[3.2.1]октановом каркасе и дальнейших превращений мы выполнили на *экзо*-изомере *экзо-9* ввиду его большей доступности по сравнению с соответствующим *эндо*-изомером.

2.2.1. Синтез индольных производных бицикло[3.2.1]октана с *экзо*-ориентацией заместителя.

Соединение *экзо-9* было синтезировано сужением одного из циклов бицикло[3.3.1]нонан-2,6-диона **I** под действием нитрата таллия (**III**) (схема 4). Реакция протекает стереоселективно с образованием единственного изомера с *экзо*-ориентацией сложноэфирной группы.

Синтез соединений **14a** и **14b** был осуществлен по шестистадийной схеме превращений (схема 4). Проведение реакции Фишера для кетона *экзо-9* с гидроклоридом фенилгидразина в ледяной уксусной кислоте при нагревании привело к образованию индолов **10a,б** с хорошими выходами.

Схема 4



Введение аминогруппы в бициклический каркас осуществляли через стадию образования изоцианата. Синтез изоцианатов **12a,б** из карбоновых кислот **11a,б** осуществляли с помощью нескольких проведенных «one-pot» стадий, ключевой из которых является перегруппировка Курциуса. Обработка изоцианатов водным раствором соляной кислоты привела к образованию аминов **13a,б**. Для изучения полученных аминов **13a,б** методом рентгеноструктурного анализа было проведено их N-ацетилирование с образованием амидов **14a,б**.

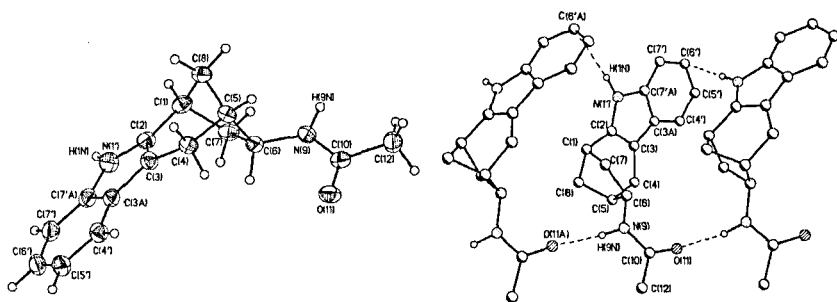
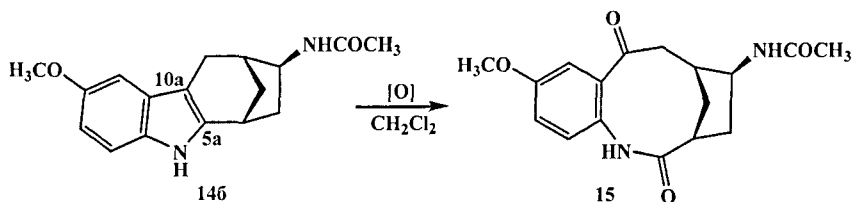


Рис. 6. Молекулярное строение соединения **14a** в кристалле. N-H...π контакты в кристалле соединения **14a** (показана проекция вдоль оси *b*).

Молекулярное строение ацетамида **14a** в кристалле, изображенное на рис. 6, однозначно подтверждает структуру синтезированного вещества (ацетамидная группа имеет, как и ожидалось, *экзо*-конфигурацию)⁴. Проведенное исследование показало интересные особенности молекулярной упаковки **14a**. Молекулы в кристалле этого соединения благодаря образованным между амидными группами водородным связям N-H...O сгруппированы в цепи, направленные вдоль кристаллографической оси *b*. Но помимо этих водородных связей в цепях наблюдаются весьма необычные N-H... π контакты: NH группа индола из-за отсутствия подходящего акцептора водородной связи участвует в образовании контактов с атомом C(6') индола другой молекулы (2.40Å) (рис. 7).

Строение метоксилпроизводного **14b** было доказано с помощью данных ЯМР и ИК спектроскопии, масс-спектрометрии, а состав подтвержден элементным анализом. Далее мы попытались изучить строение соединения **14b** с помощью метода рентгеноструктурного анализа. Однако в процессе подготовки образца медленной кристаллизацией из хлористого метилена в молекуле ацетамида **14b** произошло неожиданное окисление по связи C^{5a}-C^{10a} с образованием кетоамина **15** (схема 5), которое было идентифицировано методом рентгеноструктурного анализа⁵ (рис. 7).

Схема 5



Следует особо подчеркнуть, что обнаруженная реакция, учитывая, что в качестве окислителя в ней может выступать только молекулярный кислород, не характерна для подобных систем. В связи с этим, нами было проведено специальное исследование указанной реакции, и в первую очередь доказана ее воспроизводимость. Более того, попытка выращивания кристалла соединения **14b** из другого растворителя – тетрагидрофурана – также привела к структуре **15** (по данным РСА).

⁴ Автор выражает благодарность сотруднику Института элементоорганических соединений имени Н.А. Несмеянова РАН д.х.н. К.А. Лысенко за проведение рентгеноструктурных исследований.

⁵ Автор выражает благодарность сотрудникам химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова д.х.н. Ю.Л. Словохоту и м.н.с. А.М. Банару за проведение рентгеноструктурных исследований.

В ИК-спектре кристаллов **15** (после PCA) присутствуют полосы поглощения при $3600\text{--}3100\text{ см}^{-1}$ ($-\text{NH}-\text{C}=\text{O}$), 1693 см^{-1} ($\text{Ar}-\text{C}=\text{O}$), 1652 см^{-1} и 1637 см^{-1} ($-\text{NH}-\text{C}=\text{O}$), 1504 см^{-1} и 1538 см^{-1} (ароматические углерод-углеродные связи). В масс-спектре полученного соединения присутствует пик молекулярного иона с m/z 316. Состав соединения **15** подтвержден с помощью элементного анализа. Данные спектра ЯМР ^1H подтверждают разрушение индольной системы в ходе рассматриваемой реакции.

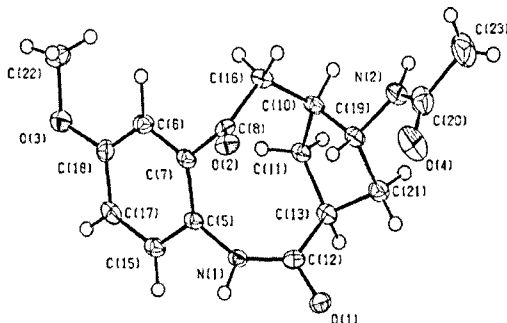
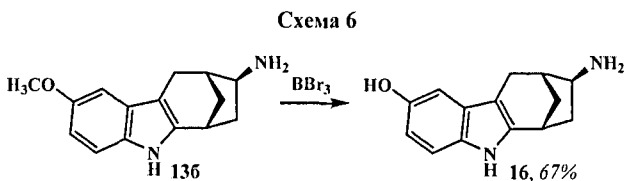


Рис. 7. Молекулярное строение соединения **15** в кристалле.

Для получения аналога серотонина структурного типа **II**, содержащего гидроксильную группу в индольном ядре, расщеплением метилового эфира **136** был получен амин **16** (схема 6).

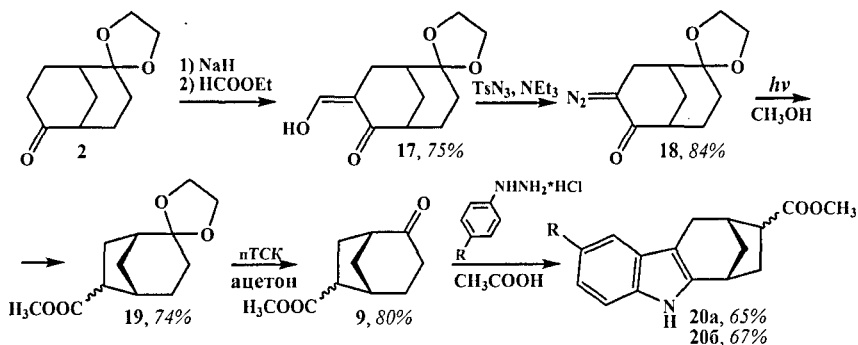


2.2.2. Синтез производных индола, конденсированных с бицикло[3.2.1]октаном, с *эндо*-ориентацией заместителя в каркасе.

На следующем этапе мы разработали и осуществили схемы синтеза производных индола с *эндо*-расположением заместителя в бицикло[3.2.1]октановом каркасе. Для этого нами была реализована четырехстадийная схема получения метил *эндо*-2-оксобицикло[3.2.1]октан-6-карбоксилата **20** (схема 7). Ключевой стадией синтеза является фотохимическая перегруппировка Вольфа α -диазокетона **18**. Соединение **18** было получено из кетала **2** формилированием и реакцией диазопереноса с *para*-тозилазидом.

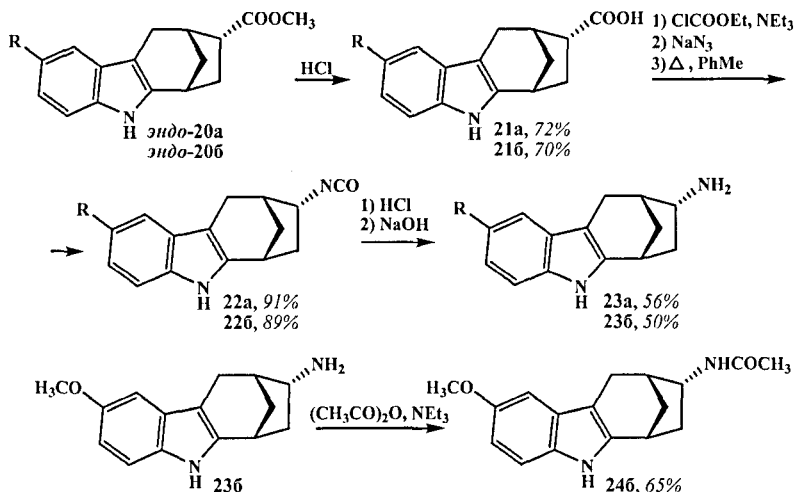
В результате фотохимической перегруппировки была получена смесь изомерных сложных эфиров **19**, в которой соотношение *эндо*- и *экзо*-изомеров составило 8:1

Схема 7



После удаления защитной группы было получено соединение **9**, при этом соотношение изомеров составило 12:1. Очистка полученного продукта методом колоночной хроматографии позволяет практически полностью избавиться от примеси *экзо*-изомера.

Схема 8



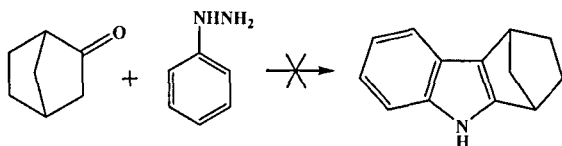
Формирование индольного ядра с образованием структур **20а,б** осуществляли по отработанной методике. Щелочной гидролиз сложных эфиров *эндо*-**20а,б** приводит к эпимеризации: образованию смеси соответствующих диастереоизомерных карбоновых

кислот в соотношении ~1:1. Проведение гидролиза действием на сложные эфиры раствора соляной кислоты позволило получить кислоты **21a,б** с нужной *эндо*-ориентацией заместителя в каркасе. Соединения **21a,б** преобразовали в амины **23a,б** через стадию образования изоцианатов **22a,б**. Ацетилированием амина **23б** получен целевой *N*-(*эндо*-2-метокси-5,6,7,8,9,10-гексагидро-6,9-метаноциклогепта[*b*]индол-8-ил)ацетамид **24б**.

2.3. Синтез индолов, конденсированных с «малыми» бициклами.

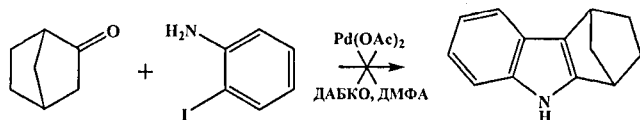
2.3.1. Попытки получения индола, конденсированного с бицикло[2.2.1]гептаном.

На следующем этапе мы попытались провести синтез соединения, в котором индольный фрагмент сконденсирован с бицикло[2.2.1]гептаном. Хотя в литературе есть указания на неудачные попытки формирования индольного фрагмента на бицикло[2.2.1]гептане по реакции Фишера, мы провели изучение широкого круга каталитических систем с целью изучения возможности проведения этой реакции на примере норкамфоры.

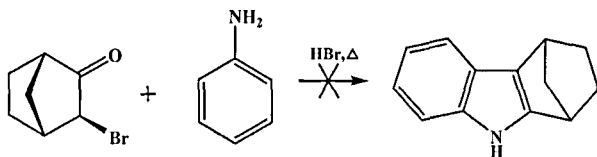


Однако получить целевой индол не удалось ни при использовании в качестве катализатора различных неорганических кислот, кислот Льюиса, ионообменной смолы (Amberlist-15), ни проведением реакции под действием микроволнового излучения.

Палладий-катализируемое взаимодействие норкамфоры с *орто*-иоданилином также не привело к желаемому производному индола:



Неудачной оказалась и попытка проведения реакции *экзо*-3-бромбицикло[2.2.1]гептан-2-она с анилином по Бишлеру:

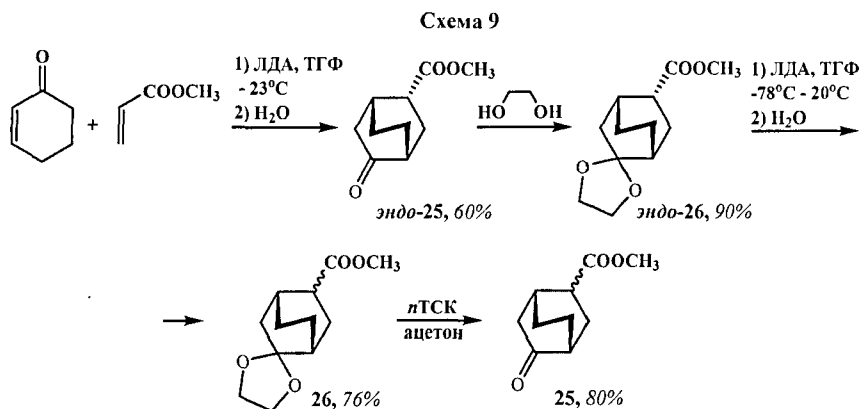


Таким образом, получение индола, конденсированного с бицикло[2.2.1]гептаном, путем

формирования индольного фрагмента на соответствующем каркасе сопряжено со значительными трудностями, связанными, по всей вероятности, с затрудненным превращением экзоциклической двойной связи гидразона или имина в эндоциклическую двойную связь бицикло[2.2.1]гептена.

2.3.2. Синтез индолов, конденсированных с бицикло[2.2.2]октаном.

Далее мы перешли к синтезу более перспективных в синтетическом плане производных индола, конденсированных с бицикло[2.2.2]октановым каркасом. Согласно данным моделирования, предпочтительной для связывания аналога мелатонина структурного типа **IV** с рецептором является экзо-ориентация амидной группы в бициклическом каркасе (рис. 2). Первоначально мы синтезировали исходный бициклический каркас с нужной экзо-конфигурацией заместителя в нем (схема 9).

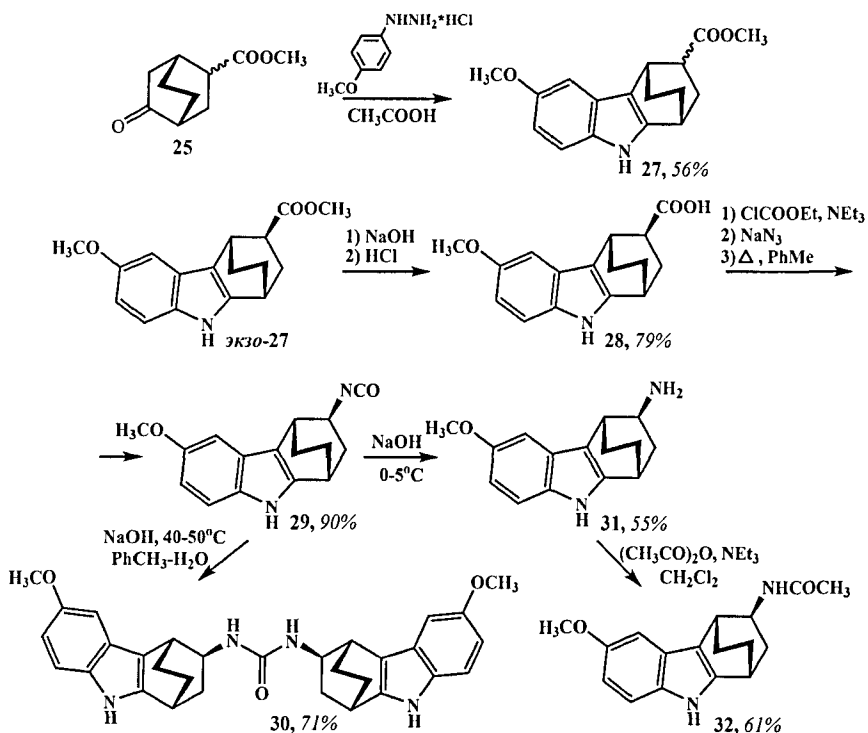


Для получения *экзо*-изомера **25** использовали реакцию эпимеризации описанного метил *эндо*-5-оксобицикло[2.2.2]октан-2-карбоксилата *эндо*-25, синтезированного взаимодействием циклогексенона и метилакрилата по известной методике. Для удобства проведения реакции кетогруппу соединения *эндо*-25 предварительно защитили превращением в кеталь *эндо*-26. После эпимеризации под действием диизопропиламида летия соотношение *эндо*-:*экзо*-изомеров **26** (и, соответственно, **25**) составило ~1:1.

Изомерные кетозфиры **25** ввели в реакцию Фишера с гидрохлоридом (4-метоксифенил)гидразина (схема 10), в результате чего была получена смесь индолов **27**, которую разделили методом колоночной хроматографии.

Дальнейшее превращение сложного эфира *экзо*-27 включало в себя щелочной гидролиз до кислоты 28 и получение изоцианата 29. Проведение гидролиза изоцианата 29 до соответствующего амина обнаружило неожиданные трудности. Так, гидролиз в кислых условиях привел к деградации индольного ядра и образованию трудноразделимой смеси продуктов. Проведение аналогичной реакции добавлением 3N раствора NaOH к раствору изоцианата в толуоле при 40-50°C нацело приводит к образованию дизамещенной мочевины 30 (схема 10).

Схема 10



Амин 31 удалось получить действием 2N водного раствора NaOH на раствор изоцианата 29 в ТГФ при 0-5°C. N-Ацелированием амина 31 получен целевой N-(*экзо*-6-метокси-2,3,4,9-тетрагидро-1H-1,4-этанокарбазол-3-ил)ацетамид 32.

Полученные аналоги мелатонина *эндо*-76, 246 и 32 переданы на испытания активности по отношению к мелатониновым рецепторам.

3. Тестирование соединений *эндо-6а*, **8**, **13а**, **16** на серотонинэргические свойства *in vivo*.

Соединения *эндо-6а*, **8**, **13а**, **16** (в виде ацетатов) были переданы на испытания аффинности по отношению к 5-НТ₃ рецептору методом радиолигандного связывания. Параллельно эти соединения были изучены на предмет выявления антагонистической активности по отношению к указанному подтипу серотониновых рецепторов на двух экспериментальных биологических моделях с использованием ондансетрона для сравнения. Результаты этого исследования (на одной модели) представлены в таблице 1.

Таблица 1. Результаты тестирования полученных соединений на 5-НТ₃-серотонинэргическую активность⁶.

Вещество	Изменение хронотропного эффекта серотонина на модели изолированных предсердий морской свинки, Δ% ²
	1×10 ⁻⁶ моль/л
<i>эндо-6а</i> ¹	-3,3
8 ¹	-3,6
13 ¹	-5,0
16 ¹	-3,0
<i>ондансетрон</i>	-35,2

1 – в виде ацетатов.

2 – изменение по отношению к контролю.

Как видно из таблицы, в микромолярных дозах рассматриваемые соединения обладают слабой антагонистической активностью по отношению к 5-НТ₃ рецепторам в тестах *in vivo*. Этот результат подтверждается и в экспериментах, учитывающих изменение спазмогенного эффекта серотонина на модели изолированной подвздошной кишки морской свинки.

Анализируя причины такого результата, подчеркнем, что активность соединения в экспериментах *in vivo* является многопараметровой величиной, зависящей не только от аффинности исследуемого вещества по отношению к рецептору, но и от его способности проникать в клетки, быть устойчивым к действию метаболических ферментов и т.п. Поэтому окончательный вывод о родстве полученных веществ можно сделать только на основании результатов экспериментов методом радиолигандного связывания.

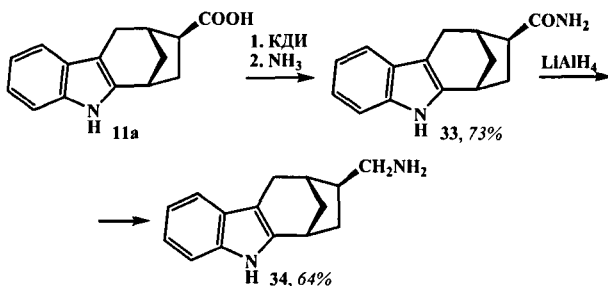
⁶ Автор выражает благодарность сотруднику ГУ «Волгоградский научный центр РАМН и АВО» к.м.н. Д.С. Яковлеву за проведение биологических испытаний.

Тем не менее, можно предположить, что одной из причин не слишком высокой антагонистической активности соединений *эндо*-**6a**, **8**, **13a**, **16** может быть недостаточное расстояние между C³ индольного ядра и аминогруппой, что не позволяет аминогруппе взаимодействовать с 5-HT₃ рецептором аналогично ондансетрону.

Для проверки этого предположения мы получили соединение **34**, в котором между каркасом и аминогруппой есть метиленовая группа, переносящая ее в область, занимаемую «дальним» атомом азота в ондансетроне.

Соединение **34** синтезировали в две стадии из кислоты **11a**. На первой стадии соединение **11a** вводили в реакцию с 1,1'-карбонилдиимидазолом и аммиаком, получая амид **33** (схема 11). Восстановление последнего привело к целевому амину **34**.

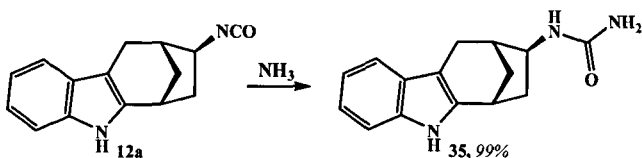
Схема 11



Кроме того, нами был осуществлен синтез монозамещенной мочевины **35**. Наличие в молекуле соединения **35** двух атомов азота на различных расстояниях по отношению к каркасу обеспечивает потенциальную возможность взаимодействия какого-либо из этих атомов с нужным аминокислотным остатком рецептора.

Производное мочевины **35** было получено взаимодействием изоцианата **12a** с аммиаком (схема 12).

Схема 12



Физиологическая активность соединений **34** и **35** по отношению к 5-HT₃ рецепторам в тестах *in vivo* и *in vitro* изучается.

ВЫВОДЫ

1. С помощью метода компьютерного молекулярного моделирования предложены структуры аналогов гормона мелатонина и нейромедиатора серотонина с ограниченной конформационной подвижностью на основе производных индола, конденсированных с бициклическими каркасами; определена конфигурация заместителей в каркасах, благоприятствующая связыванию с белком.

2. Разработаны эффективные препаративные схемы синтеза предсказанных индольных производных, конденсированных с бицикло[3.3.1]нонаном, с использованием в качестве ключевой стадии реакции Фишера в присутствии безводного хлорида цинка в качестве катализатора.

3. Изучены реакции сужения одного из циклов бицикло[3.3.1]нонан-2,6-диона с образованием *экзо*- или *эндо*-изомера метил 5-оксобицикло[3.2.1]октан-2-карбоксилата.

4. Впервые осуществлен синтез производных индола, конденсированных с бицикло[3.2.1]октановым каркасом.

5. Найдена новая необычная реакция окисления N-(*экзо*-2-метокси-5,6,7,8,9,10-гексагидро-6,9-метаноциклогепта[*b*]индол-8-ил)ацетамида по связи C^{5a}-C^{10a} в процессе медленной кристаллизации из хлористого метилена с образованием N-(10-метокси-2,8-диоксо-1,2,3,4,5,6,7,8-октагидро-3,6-метано-1-бензазепин-5-ил)ацетамида, строение которого доказано методом рентгеноструктурного анализа.

6. Разработаны эффективные препаративные схемы синтеза производных индола, конденсированных с бицикло[2.2.2]октаном.

7. В работе синтезировано и полностью охарактеризовано более 40 новых, не описанных ранее сложных полициклических соединений.

8. Для четырех синтезированных соединений в тестах *in vivo* обнаружена слабая антагонистическая активность по отношению к 5-HT₃ подтипу серотониновых рецепторов.

Основные результаты работы изложены в следующих публикациях:

1. Баранова Т.Ю., Зефирова О.Н., Аверина Н.В., Боярских В.В., Борисова Г.С., Зык Н.В., Зефиров Н.С. Синтетические подходы к созданию производных индола, конденсированных с бицикло[3.3.1]нонановым каркасом // *ЖОрХ*. 2007. Т. 43. с. 1201-1206.
2. Zefirova O.N., Potekhin K.A., Touchin A.I., Averina N.V., Baranova T.Yu., Zyk N.V., Zefirov N.S. Molecular and crystal structure of indole derivatives fused with substituted bicyclo[3.3.1]nonane // *Structural Chemistry*. 2007. Vol. 18. P. 457-460.
3. Baranova T.Yu., Averina N.V., Zyk N.V., Zefirov N.S., Lyssenko K.A., Antipin M.Yu. and Zefirova O.N.. Synthesis of indole derivatives fused with bicyclo[3.2.1]octane framework // *Mend. Commun.* 2009. Vol. 19. P. 10-11.
4. Баранова Т.Ю., Зефирова О.Н., Аверина Н.В., Боярских В.В., Борисова Г.С., Зык Н.В., Зефиров Н.С. // Межд. конф. по органической химии «Органическая химия от Бутлерова и Бейльштейна до современности» 26-29 июня 2006. Санкт-Петербург. С. 406.
5. Зефирова О.Н., Нуриева Е.В., Кирюхин М.В., Баранова Т.Ю., Аверина Н.В., Зык Н.В., Зефиров Н.С. Создание химических соединений с заданной физиологической активностью // XVIII Менделеевский съезд по общей и прикладной химии 23-28 сентября 2007. Москва. С. 229.
6. Зефирова О.Н., Нуриева Е.В., Шишов Д.В., Баранова Т.Ю., Аверина Н.В., Зык Н.В., Зефиров Н.С. Различные аспекты использования каркасных фрагментов в структурном дизайне физиологических активных веществ // Научная конференция «Органическая химия для медицины» (Орхимед-2008) 7-11 сентября 2008. Черноголовка. С. 97.
7. Зефирова О.Н., Баранова Т.Ю., Зык Н.В., Зефиров Н.С. О потенциальной биологической активности производных бициклических каркасов, конденсированных с индольным фрагментом // XI Международной научно-технической конференции «Перспективы развития химии и практического применения алициклических соединений» 3-6 июня 2008. Волгоград. С. 125.
8. Миронов А.В., Банару А.М., Зефирова О.Н., Лысенко К.А., Баранова Т.Ю., Словохотов Ю.Л., Антипов Е.В., Зефиров Н.С. Молекулярная и кристаллическая структура продукта окисления производного индола, конденсированного с бицикло[3.2.1]октановым фрагментом // XIV Симпозиум по межмолекулярному взаимодействию и конформациям молекул 15-21 июня 2008. Челябинск. С. 76.
9. Баранова Т.Ю., Иванов А.А., Зык Н.В., Зефиров Н.С., Зефирова О.Н. Синтез производных индола, конденсированных с каркасными соединениями как потенциальных лигандов мелатониновых и серотониновых рецепторов // Межд. конф. «Новые направления в химии гетероциклических соединений» 3-8 мая 2009 Кисловодск. С. 260.

Заказ № 01-а/11/09 Подписано в печать 02.11.2009 Тираж 100 экз. Усл. п.л. 1,25



ООО "Цифровичок", тел. (495) 649-83-30
www.cfr.ru ; e-mail: info@cfr.ru