

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
ИНСТИТУТ ЭЛЕМЕНТООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ИМ. А.Н. НЕСМЕЯНОВА  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК



005054371

*На правах рукописи*

*Срост*

ЛАСЬКОВА ЮЛИЯ НИКОЛАЕВНА

СИНТЕЗ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ КЛОЗО-ДОДЕКАБОРАТНОГО  
АНИОНА ДЛЯ ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В БОР-  
НЕЙТРОНОЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ РАКА.

02.00.03 – Органическая химия

02.00.08 – Химия элементоорганических соединений

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

- 1 НОЯ 2012

Москва – 2012

Работа выполнена в Лаборатория алюминий- и борорганических соединений  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института  
элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук  
(ИНЭОС РАН).

Научные руководители: Кандидат химических наук  
**Семношкин Андрей Анатольевич**  
ИНЭОС РАН, г. Москва

Доктор химических наук, профессор  
**Брегадзе Владимир Иосифович**  
ИНЭОС РАН, г. Москва

Официальные оппоненты: Доктор химических наук, профессор  
**Чижевский Игорь Тимофеевич**  
(Лаборатория Металлакарборанов  
переходных металлов ИНЭОС РАН)

Доктор химических наук, профессор  
**Вацадзе Сергей Зурабович**  
(МГУ им. М.В. Ломоносова)


Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт  
органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук (ИОХ РАН),  
г.Москва.

Защита диссертации состоится 15 ноября 2012 г. в 10 часов на заседании  
Диссертационного совета Д 002.250.01 при Федеральном государственном бюджетном  
учреждении науки Институте элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова  
Российской академии наук по адресу: 119991, Москва, ул. Вавилова, д. 28.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИНЭОС РАН.  
Автореферат разослан 12 октября 2012 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета Д 002.250.01  
кандидат химических наук

 Ольшевская В.А.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы.

Современная нейтронозахватная терапия (НЗТ) рака имеет чрезвычайно высокую привлекательность за счет избирательного воздействия непосредственно на клетки злокачественных опухолей. Наибольшее применение в нейтронозахватной терапии нашли вещества на базе изотопа  $^{10}\text{B}$  (19.8% - распространенность в природе), поскольку изотоп  $^{10}\text{B}$  не радиоактивен, нетоксичен и при захвате нейтрона превращается в возбужденное ядро  $^{11}\text{B}$ , которое немедленно расщепляется на высокоэнергетичные  $\alpha$ -частицу и ядро лития обладающих коротким, сравнимым с размерами клетки, пробегом, что позволяет селективно разрушать клетки опухоли, не затрагивая окружающую здоровую ткань<sup>1</sup>. Еще одним аспектом применения именно элемента бора в НЗТ является разнообразие известных соединений на его основе.

На сегодняшний день в качестве агентов для бор-нейтронозахватной терапии (БНЗТ) в клинической практике используют два препарата - ВРА и BSH (рис 1). Однако ни один из них не отвечает всему списку требований, предъявляемых современной медициной.

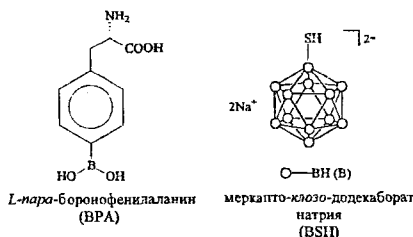


Рисунок 1.

Эти препараты не обладают высокой селективностью накопления в опухоли и механизм их накопления, несмотря на многочисленные исследования, окончательно не ясен.

Еще одним требованием, предъявляемым современной медициной к ряду лекарственных средств является их водорастворимость. Натриевая соль меркапто-клозо-додекаборатного дианиона прекрасно растворима в воде, в то время как ВРА для повышения его водорастворимости используют в комплексе с фруктозой.

Терапевтическая концентрация изотопа  $^{10}\text{B}$  в клетках опухоли составляет 20-35 мкг/г опухоли, что приблизительно соответствует  $10^9$  атомам  $^{10}\text{B}$  на клетку.

<sup>1</sup> Hawthorne M.F. The Role of Chemistry in the Development of Boron Neutron Capture Therapy of Cancer // *Angew. Chem. Int. Ed.* - 1993. - V. 32. - P. 950-984

ВРА содержит лишь один атом бора в составе, что является существенным недостатком и усложняет его использование в качестве БНЗТ агента. BSH относится к классу полиэдрических гидридов бора и имеет в своем составе 12 атомов бора, то есть его использование в качестве агента для БНЗТ позволяет с большей вероятностью достигать необходимой терапевтической концентрации изотопа  $^{10}\text{B}$  в клетках опухоли. Очевидно, что использование стабильных полиэдрических гидридов бора для синтеза лекарственных препаратов третьего поколения является наиболее целесообразным.

Из всех известных на сегодняшний день стабильных гидридов бора именно *клозо*-додекаборатный дианион зарекомендовал себя в качестве наиболее перспективного, поскольку именно его производное успешно используется в медицинской практике для лечения онкологических заболеваний методом БНЗТ. К тому же известно, что *клозо*-додекаборатный анион  $[\text{B}_{12}\text{H}_{12}]^{2-}$  и его производные хорошо растворимы в воде в виде Na и K солей.

Селективность накопления изотопа  $^{10}\text{B}$  определяется эффективностью его доставки в клетки опухоли и его внутриклеточным удержанием. Доставить борный фрагмент в опухоль способны молекулы-транспортёры. Молекула транспортёр - это жизненно необходимый компонент для деятельности любой клетки организма и, в особенности, для постоянно растущей и делящейся раковой.

Поэтому представлялось важным синтезировать конъюгаты *клозо*-додекаборатного дианиона с жизненно необходимыми для роста и деления клеток молекулами-транспортёрами, которые в будущем могут найти применение, как препараты третьего поколения для лечения рака методом БНЗТ.

Целью настоящей работы является разработка эффективных методов синтеза новых конъюгатов *клозо*-додекаборатного дианиона с биологически активными молекулами, в качестве потенциальных препаратов для диагностики и лечения рака методом БНЗТ.

#### **Научная новизна и практическая ценность.**

В результате работы синтезирован широкий спектр новых конъюгатов аниона  $[\text{B}_{12}\text{H}_{12}]^{2-}$  с биомолекулами различного типа.

Впервые синтезированы конъюгаты *клозо*-додекаборатного дианиона с L-тирозином. Производные содержат свободные amino- и карбоксильную группы, необходимые для ферментативного узнавания и дальнейшего участия в пептидном синтезе. Полученные конъюгаты являются аналогами ВРА, при этом наличие 12-и вершинного борного полиэдра в его составе позволяет с большей вероятностью достичь необходимой терапевтической концентрации изотопа  $^{10}\text{B}$  в клетках опухоли.

Разработан новый, чрезвычайно удобный в исполнении подход к функционализации *клозо*-додекаборатной системы производными глицерина. Полученные соедипения являются базовыми для синтеза липидов с целью изучения липосоомообразования и их применения в качестве БНЗТ агентов. Показана возможность синтеза таких производных с различным зарядом клетки, что позволяет получать на их основе липосомы с заданными физико-химическими и биологическими свойствами.

Синтезированы ранее не описанные конъюгаты аниона  $[B_{12}H_{12}]^{2-}$  с порфиринами хлоринового и бактериохлоринового ряда. Для этой цели получены новые строительные блоки на базе *клозо*-додекаборатного дианиона, функционализированные остатками ароматической и алифатической карбоновых кислот. Для синтеза конъюгата с хлориновым производным впервые применительно к *клозо*-додекаборатной системе был отработан и применен подход реакций «click»-химии.

Впервые получены конъюгаты *клозо*-додекаборатного дианиона с нуклеозидами. Показана возможность применения двух различных подходов для региоселективного синтеза конъюгата с тимидином. Для синтеза конъюгата с гуанозином был отработан и применён эффективный метод, основанный на реакции нуклеофильного раскрытия оксониевого цикла производного аниона  $[B_{12}H_{12}]^{2-}$  S-нуклеофилами.

Отработан метод региоселективного синтеза дизамещенного производного 1-йод-7-диоксоний-декагидро-*клозо*-додекабората. На его основе впервые синтезированы конъюгаты дизамещенного производного аниона  $[B_{12}H_{12}]^{2-}$  с каноническими нуклеозидами тимидином и с гуанозином. Подход позволяет получать биологически активные конъюгаты, меченые радиоактивным йодом, которые в дальнейшем могут найти применение в диагностике злокачественных опухолей.

**Апробация работы.** Результаты диссертационной работы были представлены на международной конференции по химии бора EUROBORON IV (Бремен, Германия, 2007), Международной конференции «Проблемы металлоорганической и координационной химии» (Разуваевские чтения, Нижний Новгород, 2008), Международной конференции по химии бора IMEBORON XIII (Платья Д'аро, Испания, 2008), Международной конференции по неорганической химии FIGIPAS 10<sup>th</sup> (Палермо, Италия, 2009), 15-ом Международном конгрессе по нейтронозахватной терапии рака ICNCT-15 (Цукуба, Япония, 2012).

**Публикации.** По теме диссертационной работы опубликованы 13 научных работ (в том числе: 9 статей в научных журналах, рекомендованных ВАК, 4 тезиса в сборниках докладов научных конференций).

**Гранты и программы.** Диссертационное исследование выполнено в Лаборатория алюминий- и борорганических соединений ИНЭОС РАН при финансовой поддержке Президиума Российской академии наук (Программа П-7) и Российского Фонда Фундаментальных Исследований (гранты № 06-03-32459, 08-03-00463, 08-03-91951, 09-03-00504, 09-03-00701, 11-03-00746).

**Структура работы.** Диссертация состоит из оглавления, введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка используемой литературы. Работа изложена на 140 страницах машинописного текста, содержит 71 схему, 21 рисунок и 3 таблицы. Библиография содержит 82 литературные ссылки.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Литературный обзор.

В литературном обзоре подробно рассмотрены основные подходы к созданию реакционных центров аниона  $[B_{12}H_{12}]^{2-}$  и приведены все синтезированные на сегодняшний день биоконъюгаты на его основе.

### Обсуждение результатов.

#### *Синтез клозо-додекаборат содержащих аминокислот.*

Тирозин ( $\alpha$ -амино- $\beta$ -( $p$ -гидроксифенил)-пропионовая кислота) - природная аминокислота, содержащая функциональную гидроксильную группу в боковой цепи. Мы использовали особенность строения тирозина для синтеза конъюгатов на его основе, обладающих потенциальной биологической активностью. Наличие свободной амино и карбоксильной группы в таких конъюгатах является обязательным условием для их использования в качестве БНЗТ агентов, поэтому на первой стадии мы защитили ключевые амино и карбоксильную группы тирозина и синтезировали этиловый эфир  $N$ -(трифторацетил)- $L$ -тирозина. Реакцией нуклеофильного раскрытия 1,4-диоксанового и тетрагидрофуранового цикла производных клозо-додекаборатного аниона **1** и **2** фенокси группой полученного защищенного тирозина в присутствии поташа в ацетонитриле впервые синтезированы соответствующие производные **3** (**a,b**), которые после снятия трифторацетильной и сложноэфирной защиты привели к целевым конъюгатам – производным клозо-додекаборатного дианиона с  $L$ -тирозином **4** (**a,b**) (схема 1).

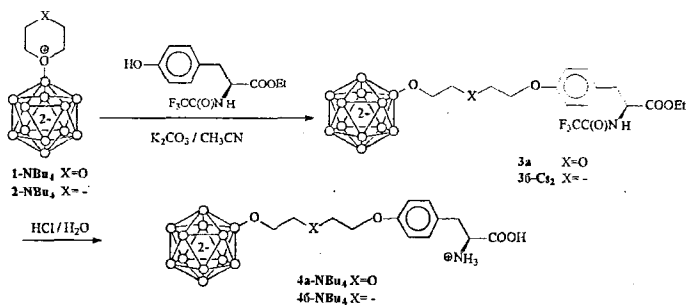


Схема 1.

### Синтез клозо-додэкаборат содержащих глицеринов.

В настоящей работе мы расширили спектр функциональных производных аниона  $[B_{12}H_{12}]^{2-}$ , на базе которых в дальнейшем реакции ацилирования могут быть синтезированы различные липиды заданного строения и изучено их липосомообразование. Для синтеза глицеринового производного клозо-додэкаборатного дианиона **6** была проведена реакция раскрытия диоксониевого цикла соединения **1** свободной гидроксильной группой соответствующего солкетеля в присутствии эквимолярного количества гидроксида натрия в ацетонитриле с образованием простого эфира **5**. Снятие ацетальной защиты привело к целевому диолу **6**. Взаимодействие диоксониевого производного **1** с 2-фенил-1,3-диоксан-5-олом в тех же условиях привело к соответствующему продукту раскрытия **7**, который после кислотного гидролиза привел к новому глицериновому производному клозо-додэкаборатного дианиона **8**, содержащему две первичные гидроксильные группы (схема 2).

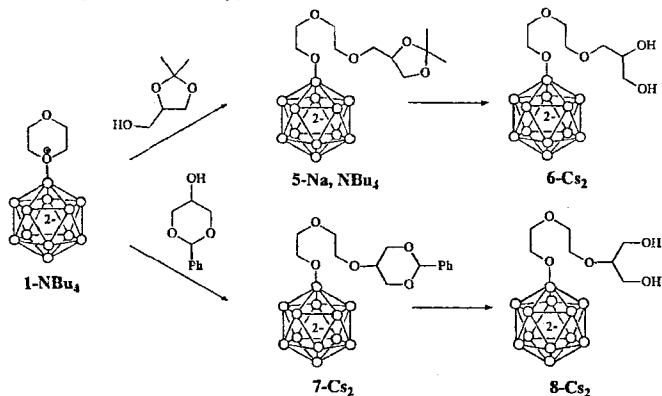


Схема 2.

Для синтеза диолов производных аниона  $[B_{12}H_{12}]^{2-}$  с различными зарядами борсодержащей части мы провели реакции раскрытия оксониевого цикла 1 3-диэтиламино-пропан-1,2-диолом с образованием 9 и производным пиперазина с образованием аддукта 10, который после подкисления привел к новому производному 11 (схема 3).

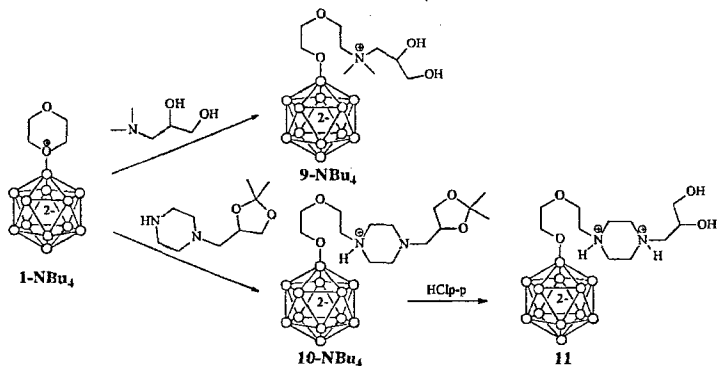


Схема 3.

Как и ожидалось, соединение 9 представляет собой моноанион и выделено в виде моно тетрабутиламмонийной соли. Соединение 11 является первым, структурно охарактеризованным заряд-компенсированным (цвиттерийным) производным *клозо*-додекаборатного аниона (рисунок 2).

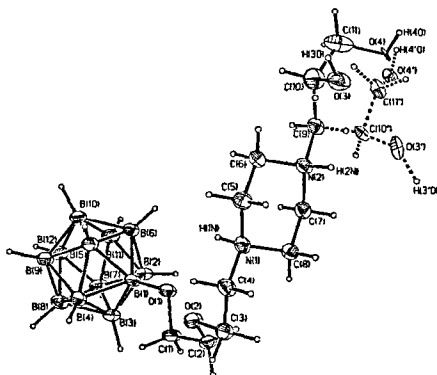


Рисунок 2. Молекулярная структура заряд компенсированного производного *клозо*-додекаборатного дианиона 11.





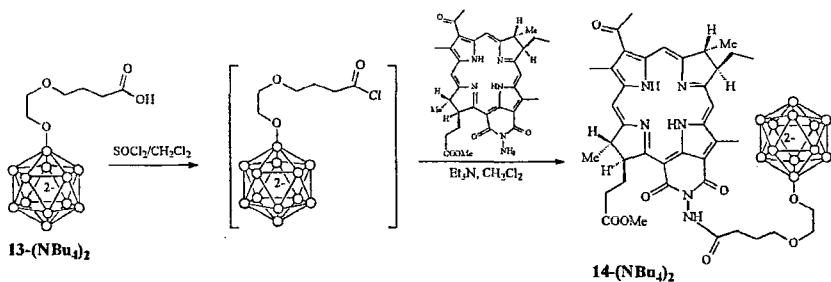


Схема 5.

В результате был впервые выделен конъюгат *клозо*-додекаборатного аниона с порфирином бактериохлоринового ряда **14** в виде тетрабутиламмонийной соли.

Следующим объектом был выбран порфирин хлоринового ряда – хлорин *еб*. Хлорин *еб* содержит терминальную ацетиленовую группу поэтому для синтеза биоконъюгатов с таким порфирином мы применили методологию реакций «click»-химии и обработали ее на *клозо*-додекаборатной системе.

В литературе был описан двухстадийный синтез азидопроизводного на базе *клозо*-додекаборатного дианиона **15**<sup>3</sup>. Авторы на первой стадии получали азид тетрабутиламмония по реакции Bu<sub>4</sub>NHSO<sub>4</sub> с NaN<sub>3</sub> с последующим взаимодействием с **1**. Мы же синтезировали **15** в одну стадию реакцией раскрытия оксониевого цикла **1** азидом натрия и выделили твердый продукт **15** с выходом 98% (схема 6).

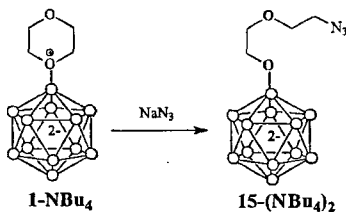


Схема 6.

Далее мы изучили взаимодействие **15** с широкодоступными алкил- и ариладетиленами в присутствии катализатора CuI и основания – NEt<sub>3</sub> в этиловом спирте (Схема 7).

<sup>3</sup> A.V. Orlova, N.N. Kondakov, B.G. Kimel, L.O. Kononov, E.G. Kononova, I.B. Sivaev, V.I. Bregadze, Synthesis of novel derivatives of *closo*-dodecaborate anion with azido group at the terminal position of the spacer, *Appl.Organomet.Chem.*, 2007, 21, 98-100.

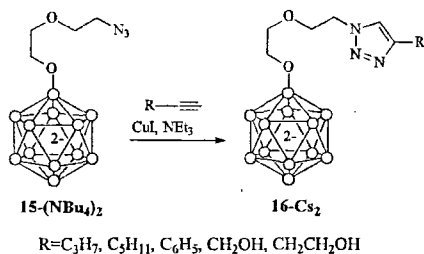


Схема 7.

Соединения **16** выделены в виде бесцветных цезиевых солей с хорошими выходами (64-72%)

Далее отработанный метод мы применили для синтеза конъюгата аниона  $[\text{V}_{12}\text{H}_{12}]^{2-}$  с порфирином и провели «click» реакцию соединения **15** с хлорином  $e_6$  в виде свободного основания. Однако в условиях  $\text{CuI}/\text{Et}_3\text{N}$  в ацетонитриле происходит комплексообразование порфирина с атомом меди, и образуется достаточно стабильный металлокомплекс, что усложняет последующее удаление металла. Поэтому для синтеза конъюгата с хлорином  $e_6$  был взят его цинковый комплекс, синтезированный согласно описанной методике<sup>4</sup>. Реакция «click»-химии цинкового комплекса хлорина  $e_6$  с азидом **15** привела *in situ* к соответствующему цинковому комплексу, который после обработки реакционной смеси 1N раствором соляной кислоты с последующей нейтрализацией раствором соды привёл к продукту **17** в виде свободного основания с выходом 60% (схема 8).

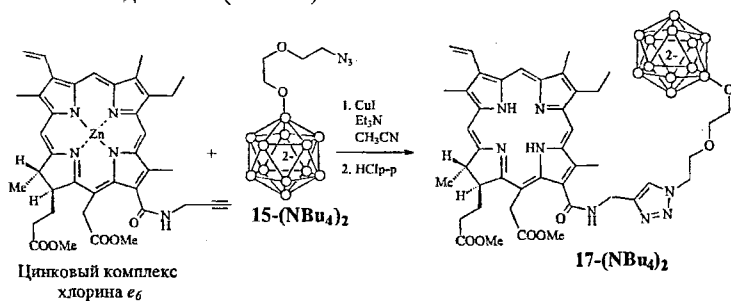


Схема 8.

Биологические испытания конъюгата **17** проводились на клетках аденокарциномы легкого человека A549, используя в качестве растворителя

<sup>4</sup> M.A. Grin, I.S. Lonin, A.I. Makarov, A.A. Lakhina, F.V. Toukach, V.V. Kachala, A.V. Orlova, A.F. Mironov, Synthesis of chlorin-carbohydrate conjugates by 'click chemistry', *Mendeleev Commun.*, 2008, N 18, p. 135-137.

эмульсию 5% кремофора (СгЕL) в воде. Найдено, что вещество проникает сквозь клеточную мембрану и накапливается преимущественно в цитоплазме. Однако, для повышения эффективности препарата требуется, чтобы его коэффициент накопления (отношение концентрации вещества в клетке к концентрации в межклеточной среде) был максимальным. Конъюгат **17** показал низкое значение коэффициента накопления (<1). То есть для дальнейшего использования полученного конъюгата в качестве БНЗТ агента необходима его дальнейшая модификация.

**Синтез клозо-додэкаборат содержащих нуклеозидов.**

Нами впервые синтезированы конъюгаты клозо-додэкаборатного дианиона с каноническими нуклеозидами. В настоящей работе представлено три основных подхода к их синтезу.

Реакцией раскрытия оксониевого цикла клозо-додэкаборатного производного **1** защищенным тимидином был выделен соответствующий конъюгат **18**, который после снятия диметилтретбутилсилильной защиты привел к целевому продукту **19** (схема 9).

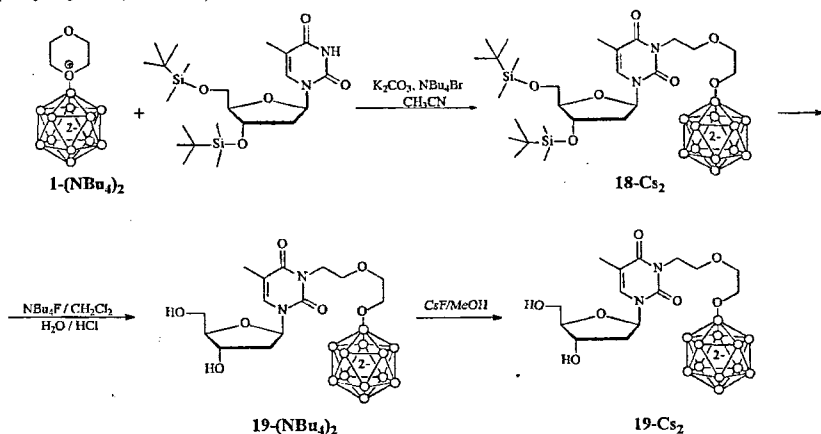


Схема 9.

Ранее подобная реакция была проведена на базе диоксониевого производного бис-дикарболлида кобальта в толуоле в присутствии гидрида натрия. В результате была получена смесь 3-х изомеров: O(2)-, O(4)-изомеры и N(3)-изомер, которые были разделены хроматографически. Мы провели взаимодействие **1** с защищенным тимидином в тех же условиях, но в нашем случае была получена смесь трех изомеров, которые не разделялись хроматографически. Однако, мы обнаружили, что при использовании более слабого основания – поташа реакция протекает региоселективно с образованием

продукта N(3)-алкилирования. Структура полученного силилированного аддукта **18** подтверждено методами спектроскопии ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $^{11}\text{B}$ ,  $^{13}\text{C}$  и методами гомоядерной ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) и гетероядерной ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) двумерной спектроскопии. Факт получения именно N(3)-, а не O(2) или O(4)-изомера мы доказали сравнением спектра ЯМР  $^{13}\text{C}$  нашего конъюгата со спектрами ЯМР  $^{13}\text{C}$  для уже описанных конъюгатов защищенного тимидина с бисдикарболлидом кобальта (рисунок 3).

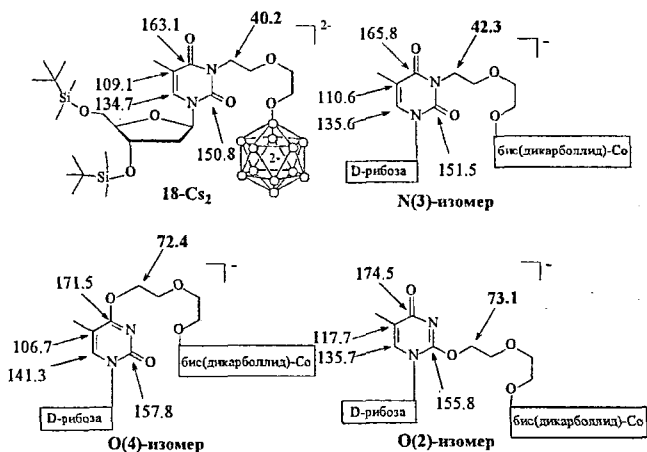


Рисунок 3. Сравнение химических сдвигов пуринового кольца в спектрах ЯМР $^{13}\text{C}$  производного **18** с O(2)-, O(4)-, N(3)-изомерами конъюгатов бис(дикарболлида) кобальта с тимидином.

Конъюгат **19** был переведен в Cs соль для повышения водорастворимости, и для него измерен коэффициент распределения  $K$  между фазами октапол-вода. Коэффициент  $K$  представляет собой отношение количества вещества в органической фазе к количеству вещества в водной фазе. Соответственно, чем выше коэффициент  $K$ , тем ниже водорастворимость конъюгата. Конъюгат **19** показал хорошую растворимость в воде (коэффициент распределения  $K=0.016\pm 0.002$ ), которая лишь слегка уступает водорастворимости природного тимидина.

«Click»-реакцией азид-содержащего производного *клозо*-додекаборатного дианнона **15** с ацетилен-содержащим производным тимидина мы синтезировали ранее не описанный гидрофильный конъюгат **20** (схема 10).

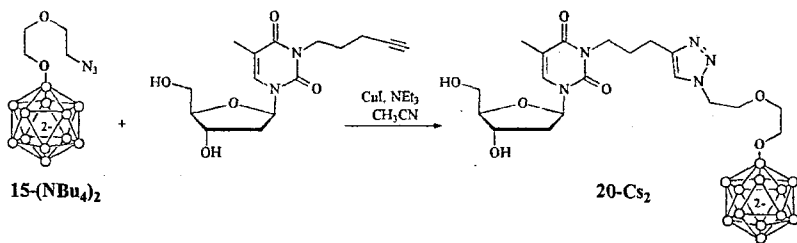


Схема 10.

Соединение **19** является первым, синтезированным конъюгатом *клозо*-додекаборатного дианиона с нуклеозидом, а **20** первым примером конъюгата *клозо*-додекаборатного аниона с нуклеозидом, связь в котором осуществляется по- средством триазольного цикла. Важным преимуществом метода «click»-химии для синтеза конъюгатов с нуклеозидами по сравнению с методом, основанном на реакции раскрытия оксониевого цикла производного **1**, заключается в отсутствии необходимости защищать гидроксильные группы остатка дезокси-D-рибозы, что значительно упрощает реакцию схему.

Гуанозин - природный нуклеозид пуринового ряда, который достаточно легко подвергается модификации по 8-ому положению пуринового основания. Таким образом, опираясь на литературные данные, мы в две стадии синтезировали 8-тиогуанозин. Для дальнейшего синтеза конъюгата *клозо*-додекаборатного дианиона с 8-тиогуанозином мы отработали методологию реакций раскрытия оксониевого цикла производного **1** тиомочевинной и рядом доступных тиолов. Следует отметить, что ранее в литературе (в тезисах на международной конференции по неорганической химии RACI 2007<sup>5</sup>) упоминалось о синтезе меркаптана реакцией раскрытия тетрагидрофуранового производного аниона  $[B_{12}H_{12}]^{2-}$ -тиолятом натрия. Поэтому, сначала, по аналогии, мы провели взаимодействие **1** с тиолятом натрия. Однако целевой меркаптан образовывался в минорных количествах, основным же продуктом был зафиксирован соответствующий сульфид.

Мы нашли, что реакция раскрытия диоксониевого цикла производного **1** тиомочевинной с последующим основным гидролизом и подкислением приводит к новому меркапто-производному **21** с суммарным выходом 65%(схема 11).

<sup>5</sup> E.L. Crossley, L.M. Rendina, RACI Inorganic Conference, Hobart (Tasmania), February 2007.



диолом и может найти применение в синтезе липидов и, впоследствии, липосом содержащих *клозо*-додекаборатный дианион. Здесь следует отметить, что для синтеза аддукта **22в** нет необходимости в использовании защитных групп для 3-меркапто-1,2-диола, в отличие от синтезированного нами аддукта с глицерином **6,8**.

Отработанный метод мы применили для синтеза конъюгата с гуанозином (схема 13).

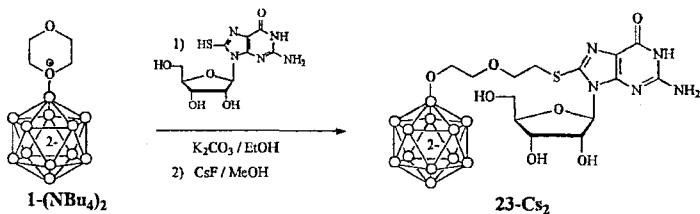


Схема 13.

Реакцию проводили в этиловом спирте в присутствии поташа. Полная конверсия была достигнута по истечении 16 часов кипячения. Надо отметить, что при комнатной температуре реакция не идет. Условия реакции сильно разнятся с данными, полученными при описании синтетической схемы 12, так как взаимодействие **1** с S-нуклеофилами согласно схеме 12 протекает при комнатной температуре. Это связано, возможно, с низкой растворимостью 8-тиогуанозина в этиловом спирте при комнатной температуре. Мы предприняли попытки осуществить реакцию по схеме 13 в ацетонитриле в присутствии поташа, однако, в таких условиях реакция не идет. Использование в качестве растворителя диметилформамида привело к продукту, который не удалось выделить из реакционной среды и идентифицировать. Мы так же предприняли попытку синтезировать **23** реакцией нуклеофильного замещения 8-бромгуанозина меркаптопроизводным **21** в системе поташ/этанол. Однако нам не удалось подобрать условия, в которых реакция протекала бы со 100% конверсией, в результате чистый продукт замещения выделить не удалось. Отметим, что метод синтеза конъюгатов с природными нуклеозидами, основанный на реакции раскрытия оксониевого цикла *клозо*-додекаборатного дианиона S-нуклеофилами, обладает теми же преимуществами, что и метод, основанный на реакции «click»-химии - не требует введения и последующего снятия защитных групп.

Соединение **23** является первым примером конъюгата аниона [B<sub>12</sub>H<sub>12</sub>]<sup>2-</sup> с рибонуклеозидами, в общем, и первым примером конъюгата с гуанозином, в частности.



Обособленный интерес в химии полиэдрических соединений бора представляет региоселективный синтез дизамещенных производных и изучение их реакционной способности. Мы показали, что реакция монозамещенного производного *клозо*-додекаборатного дианиона  $[B_{12}H_{11}I]^{2-}$  **24** в диоксане в присутствии комплекса борфтористоводородной кислоты с эфиром приводит региоселективно к 1-йод-7-диоксоний-декагидро-*клозо*-додекаборатному аниону **25** (схема 14). Оптимизация условий реакций показала, что наиболее целесообразно использование четырех кратного избытка комплекса  $HBf_4 \cdot Et_2O$  в качестве кислоты Льюиса, в результате полная конверсия достигается по истечении 1 часа кипячения в 1,4-диоксане.

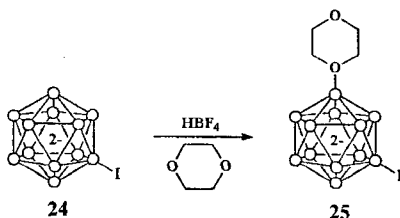


Схема 14.

Строение дизамещенного производного **25** подтверждено методами одномерной  $^1H$ ,  $^{13}C$ ,  $^{11}B$  и двумерной  $^{11}B$ - $^{11}B$ -COSY спектроскопии ЯМР (рисунок 4).

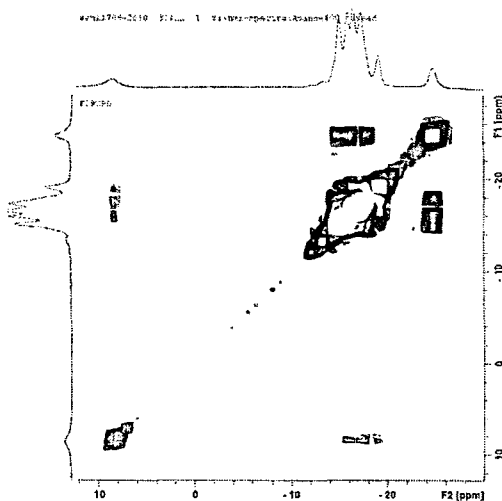


Рисунок 4. Спектр ЯМР  $^{11}B$ - $^{11}B$ -COSY.

Строение **25** как 1,7-изомера подтверждено так же методом РСА (рисунок 5).

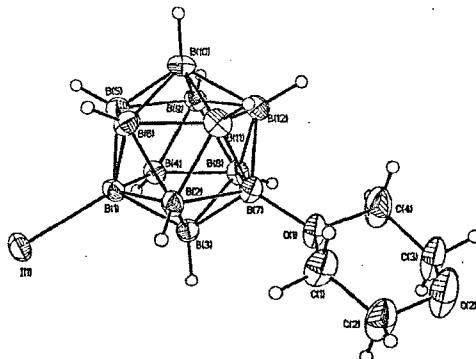


Рисунок 5. РСА 1-йод-7-диоксоний-декагидро-клозо-додекабората (**25**).

То что синтезируемое нами производное является 1,7-изомером не вызывает сомнений, однако причины его региоселективного образования нам не совсем понятны. До недавнего времени в литературе были описаны только два примера дизамещенного оксониевого производного *клозо*-додекаборатного дианиона. Оба соединения синтезированы на базе *N,N*-дибензиламино-*клозо*-додекабората в условиях катализа кислотами Люиса в ТГФ и в 1,4-диоксане. Однако, четкие доказательства 1,7-изомерии в работе представлены не были.

На базе полученного дизамещенного производного были впервые синтезированы конъюгаты дизамещенного *клозо*-додекаборатного дианиона с природными нуклеозидами - тимидином и гуанозином.

Так взаимодействием дизамещенного производного с защищенным тимидином в ацетонитриле в присутствии поташа (условия идентичные синтезу аддукта **18**) привело к соответствующему производному **26**, которое было выделено в виде дидезиевой соли. После снятия диметилтетрабутилсилильной защиты было получено производное **27** (схема 15).

Здесь следует отметить, что синтез производного **26** не требует кипячения, реакция протекает при комнатной температуре, в отличие от **18**.

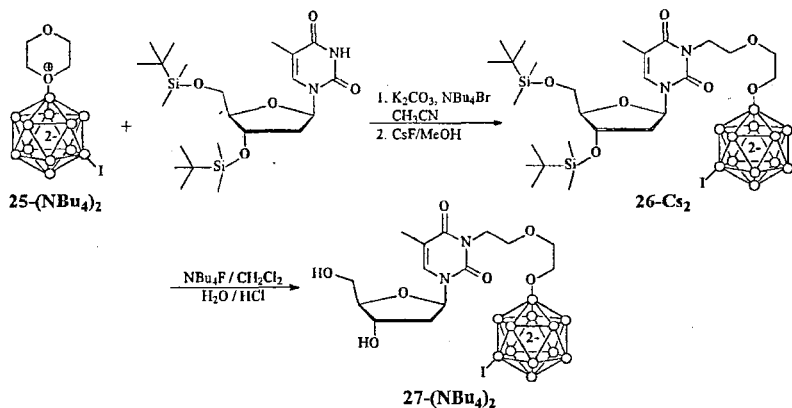


Схема 15.

Реакцией раскрытия диоксониевого цикла S-нуклеофил-8-тиогуанозинином получен соответствующий продукт алкилирования- производное **28** (схема 16).

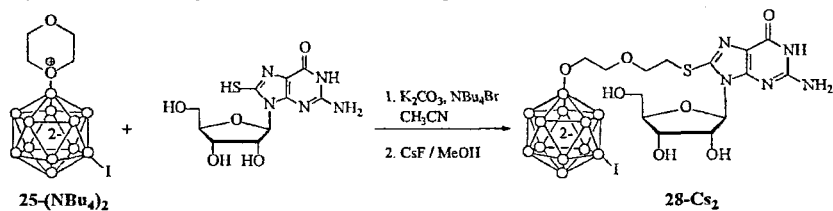


Схема 16.

Реакция также протекает при комнатной температуре в течение 2-х часов в ацетонитриле, для синтеза же коъюгата **23** потребовалось 16 часов кипячения в этиловом спирте.

Таким образом, можно сделать предположение, что наличие второго заместителя в *meta*-положении увеличивает скорость реакции нуклеофильного раскрытия цикла.

На базе производного **25** в дальнейшем целесообразно синтезировать различные биоконъюгаты с природными молекулами, используя один из предложенных выше методов. Если на первой стадии синтеза дизамещенного производного по схеме 14 использовать  $[B_{12}H_{11}^{125}]^{2-}$ , то синтезируемые впоследствии биологически активные молекулы могут найти применение в радиодиагностике раковых заболеваний.

## ВЫВОДЫ

1. Разработан ряд универсальных методов синтеза конъюгатов *клозо*-додекабората с различными биологически активными молекулами, способными избирательно доставлять борный фрагмент в клетки злокачественной опухоли.
2. Впервые синтезирован конъюгат *клозо*-додекаборатного дианиона с L-тирозином, содержащий свободные amino и карбоксильную группы. Соединение является аналогом ВРА, но только с более высокой массовой долей бора в составе и может стать более эффективным препаратом для использования в БНЗТ.
3. Разработан новый подход к синтезу ряда конъюгатов аниона  $[B_{12}H_{12}]^{2-}$  со свободными гидроксильными группами через функционализацию *клозо*-додекабората производными глицерина. Синтезированы глицериновые производные с суммарным зарядом борсодержащего фрагмента -2, -1 и 0.
4. Синтезированы производные *клозо*-додекаборатного аниона с порфиринами бактериохлоринового и хлоринового ряда. Для конъюгата с бактериохлорином *p* измерен коэффициент накопления, характеризующий способность вещества проникать сквозь клеточную мембрану. Для синтеза конъюгата с хлорином *e<sub>6</sub>* впервые применительно к *клозо*-додекаборатной системе был отработан и применен подход реакций «click»-химии.
5. Впервые синтезированы конъюгаты аниона  $[B_{12}H_{12}]^{2-}$  с природными нуклеозидами. Конъюгат с тимидином синтезирован реакцией раскрытия оксониевого цикла защищенным тимидином и показано, что использование в качестве основания поташа позволяет региоселективно получить N(3)-изомер. Для полученного изомера измерен коэффициент распределения между фазами октанол-вода и показано, что его водорастворимость лишь слегка уступает водорастворимости природного тимидина. Конъюгат с тимидином так же получен реакцией «click»-химии. Реакцией нуклеофильного раскрытия цикла 8-меркаптогуанозином впервые получен соответствующий конъюгат с рибонуклеозидом.
6. Региоселективно синтезировано одно из немногочисленных дизамещенных производных *клозо*-додекаборатного дианиона - 1-йод-7-диоксоний-декагидро-*клозо*-додекаборатный дианион. На базе этого дизамещенного производного синтезированы конъюгаты с тимидином и гуанозином. Показано, что наличие второго заместителя в *мета*-положении увеличивает скорость реакции образования этих конъюгатов.

Основные результаты диссертации изложены в следующих публикациях:

Статьи в рецензируемых журналах:

1. Grin M.A., Semioshkin A.A., Titeev R.A., Nizhnik E.A., Grebenyuk J.N., Mironov A.F., Bregadze V.I. Synthesis of cycloimide bacteriochlorin *p* conjugate with the *closo*-dodecaborate anio // Mendeleev Comm. – 2007. - 17. - №1. – P. 14-15.
2. Semioshkin A.A., Osipov S.N., Grebenyuk J.N., Nizhnik E.A., Godovikov I.A., Shchetnikov G.T., Bregadze V.I. An Effective Approach to 1,2,3-triazole-Containing 12-vertex *closo*-dodecaborates // Collect. Czech. Chem. Commun. – 2007. - 72(12). – P. 1717-1724.
3. Семиошкин А.А., Ласькова Ю.Н., Жидкова О.Б., Брегадзе В.И. Синтез новых строительных блоков на основе *клозо*-додекаборатного аниона // Изв. АН, Сер. хим. – 2008. – 9. Стр. 1961-1963.
4. Semioshkin A., Laskova J., Wojtczak B., Andrysiak A., Godovikov I., Bregadze V.I., Lesnikowski Z.J. Synthesis of *closo*-dodecaborate based nucleoside conjugates // J. Organomet. Chem. – 2009. – 694. – P. 1375–1379.
5. Bregadze V.I., Semioshkin A.A., Laskova J.N., Berzina M.Y., Lobanova I.A., Sivaev I.B., Grin M.A., Titeev R.A., Brittal D.I., Ulybina O.V., Chestnova A.V., Ignatova A.A., Feofanov A.V., Mironov A.F. Novel types of boronated chlorin *e6* conjugates via “click chemistry” // Appl. Organometal. Chem. – 2009. – 23. – P. 370–374.
6. Semioshkin A., Laskova J., Zhidkova O., Godovikov I., Starikova Z., Bregadze V.I., Gabel D. Synthesis and structure of novel *closo*-dodecaborate-based glycerols // J. Organomet. Chem. – 2010. – 695. – P. 370–374.
7. Semioshkin A., Laskova J., Ilinova A., Bregadze V., Lesnikowski Z. J. Reactions of oxonium derivatives of  $[B_{12}H_{12}]^{2-}$  with sulphur nucleophiles. Synthesis of novel  $B_{12}$ -based mercaptanes, sulfides and nucleosides // J. Organomet. Chem. – 2011. – 696. – P. 539–543.
8. Semioshkin A., Bregadze V., Godovikov I., Ilinova A., Laskova J., Starikova Z. Synthesis and structure of 1-iodo-7-dioxonium-decahydro-*closo*-dodecaborate // J. Organomet. Chem. – 2011. – 696. – P. 2760-2762.
9. Приказнов А.В., Ласькова Ю.Н., Семиошкин А.А., Сиваев И.Б., Кисин А.В., Брегадзе В.И. Синтез борсодержащих производных тирозина на основе *клозо*-додекаборатного и *клозо*-додекаборатного анионов // Изв. АН, Сер. хим. – 2011. – 12. – стр. 2501-2505.

Тезисы докладов:

1. **Grebenyuk J. N., Semioshkin A.A., Osipov S.N., Bregadze V. I.** Synthesis of *closo*-Dodecaborate containing Triazoles via "Click" Chemistry Reactions // Международная конференция по химии бора EUROBORON-4, Бремен, 2-6 сентября – 2007. - 15PO. - P. 97.
2. **J.Grebenyuk, A.Semioshkin, R.Titeev, V.Bregadze,** The application of "click" methodology for the preparation of novel *closo*-dodecaborates // Международная конференция по химии бора IMEBORON XIII, Платая Д'Аро, Испания – 2008.
3. **Laskova J.N., Semioshkin A.A., Bregadze V.I., Lesnikovski Z.J.** An Effective Approach to the Conjugates of *closo*-Dodecaborate Anion with Nucleosides // Международная конференция «Проблемы металлоорганической и координационной химии, Разуваевские чтения, Нижний Новгород – 2008. - Y7.
4. **Laskova J.N., Zhidkova O.B., Ilinova A.A., Bregadze V.I., Gabel D., Semioshkin A.A.** Synthesis of the novel boronated lipids and amino acids // 10-я международная конференция по неорганической химии FIGIPAS, Палермо, Италия. – 2009. - PO94.

Подписано в печать: 09.10.2012

Заказ № 7687 Тираж - 100 экз.

Печать трафаретная.

Типография «11-й ФОРМАТ»

ИНН 7726330900

115230, Москва, Варшавское ш., 36

(499) 788-78-56

[www.autoreferat.ru](http://www.autoreferat.ru)