

029526

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ

УДК 547.92.057

ПАВЛОВСКИЙ НИКОЛАЙ ДМИТРИЕВИЧ

Стероидные нитрилоксиды и циклоаддукты в синтезе биологически важных
природных стероидов и их аналогов

02.00.03 - Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ
Диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

МИНСК 2000

Работа выполнена в Институте биоорганической химии Национальной Академии наук Беларусь.

Научные руководители:

член-корреспондент НАНБ
доктор химических наук
профессор Хрипач В.А.,

кандидат химических наук
ведущий научный сотрудник
Жабинский В.Н.

Официальные оппоненты:

доктор химических наук
Кабердин Р.В.
кандидат химических наук
Рубинов Д.Б.

Оппонирующая организация -

Белорусский государственный
университет

Защита состоится " " 2000г. в " " часов на заседании
Совета по защите диссертаций Д 01.21.01 при Институте биоорганической
химии НАНБ по адресу: 220141, г.Минск, ул.Купревича, 5/2, тел. 264-85-63.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИБОХ НАНБ.

Автореферат разослан " "

2000г.

Ученый секретарь Совета по защите диссертаций
кандидат химических наук

Н.М.Литвинко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. Изучение стероидных соединений, содержащих боковую цепь с функциональными заместителями, выявило большую группу стероидов, играющих важную роль в регулировании процессов жизнедеятельности человека и животных. В последнее время эта группа значительно расширилась за счет ряда полиоксистероидов со сложнофункционализированными боковыми цепями, таких как гормоны растений - брассиностероиды, метаболиты витамина D, гормоны линьки насекомых (экдизоны), стерины морских организмов и другие. Структура боковой цепи этих соединений в значительной степени определяет тип и уровень их биологической активности. Учитывая малую доступность такого рода соединений, их систематическое изучение возможно только при наличии достаточно эффективных методов их химического синтеза. Особую сложность представляет проблема построения полифункционализированных цепей, содержащих несколько хиральных центров. С решением этой проблемы тесно связаны возможности практического использования стероидных биорегуляторов, природные источники которых крайне ограничены. В этой связи разработка новых препаративных методов регионального и стереоизбирательного построения боковых цепей стероидов представляет собой актуальную задачу, имеющую большое научное и практическое значение.

Связь работы с крупными научными программами, темами. Работа выполнялась в рамках научно-исследовательских программ: "Оргсинтез" по теме "Разработка методов направленного регионального и стереоселективного синтеза стероидов, простаноидов, феромонов (кайромонов) насекомых, других биоактивных веществ и их синтонов на основе производных 1,3-дикетонов, продуктов нитрилоксидного синтеза и элементоорганических соединений" (1991-1995 гг., № ГР 19941416); с 1996 г "Биооргсинтез" по теме "Разработка методов синтеза и структурной модификации природных стероидов, их аналогов и других биоактивных соединений с комплексом ценных свойств для сельского хозяйства и медицины" (№ ГР 19961094), научного гранта Фонда фундаментальных исследований Республики Беларусь (1995-1999 гг., № ГР 996307, проект № Б96-185).

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы является разработка методов синтеза стероидов, содержащих изоксазольный или изоксазолиновый фрагменты в боковой цепи, и формирование на основе полученных гетероциклических интермедиатов производных с набором функциональных группировок, характерных для брассиностероидов и витаминов D.

Объект и предмет исследования. Объектом настоящего исследования являются производные стероидов, содержащие полифункционализированную боковую цепь. Разработка методов синтеза соединений, составляющих объект исследования, представляет собой предмет настоящего исследования. Предметом исследования являются также реакции 1,3-диполярного нитрилоксидного циклоприсоединения, реакции восстановительного расщепления получаемых

гетероциклов и их последующая трансформация в соединения, содержащие в боковой цепи необходимую функциональность.

Гипотеза. Создание нитрилоксидного подхода, основанного на реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения низкомолекулярной окиси нитрила к терминальным стероидным ацетиленам и олефинам, внесло значительный вклад в методологию построения боковых цепей стероидов, как развернутых, так и содержащих гетероциклический фрагмент. В работе предложен и осуществлен альтернативный путь к решению проблемы, заключающейся в том, что для реакции циклоприсоединения могут быть использованы низкомолекулярные алкены и алкины и стероидные нитрилоксиды. Осуществление этого подхода открыло новые возможности в синтезе боковых цепей, имеющих кислородсодержащие группировки при атомах C²², C²³, C²⁵, и обеспечивает выход к новым производным стероидов.

Методология и методы проведённого исследования. В методологическом отношении настояще исследование является комбинацией известных и разработанных автором методов решения поставленной задачи. Значительное внимание в работе уделено нитрилоксидному подходу. Он лежит в основе получения интермедиатов синтеза БС, витаминов D, производных, содержащих фурановый гетероцикл в боковой цепи. Из числа методов, представленных в настоящей работе, можно выделить новый подход к получению ключевых интермедиатов синтеза брассинолида - Δ²³-22-кетонов и Δ²³-22-гидроксипроизводных. Методы проведенного исследования включают реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения, восстановительного расщепления полученных циклоаддуктов, реакции получения и раскрытия эпоксидов, реакции с участием металлоорганических реагентов. Для выделения и очистки полученных соединений использовались методы перекристаллизации, тонкослойной и колоночной хроматографии. Установление структуры синтезированных соединений проводилось методами ЯМР, ИК, масс-спектроскопии, РСА.

Научная новизна полученных результатов.

Впервые синтезирован стероидный C²³-нитрилоксид, не содержащий при C²² функциональных группировок. С использованием реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения C²³-нитрилоксида к низкомолекулярным диполярофилам получены циклоаддукты, трансформация которых привела к 23-енамино-25-кетонам - потенциальным интермедиатам в синтезе витаминов D.

Разработан новый подход к получению 25-гидрокси-23-кетонов - потенциальных интермедиатов в построении боковых цепей метаболитов витамина D₃ и их аналогов, функционализированных по C²³, основанный на трансформациях 22-изоксазолинилстериоидов, образующихся при 1,3-диполярном циклоприсоединении окиси ацетонитрила к Δ²³-стериоидным олефинам.

Разработан новый способ получения ключевых интермедиатов в синтезе брассинолида - Δ²³-22-кетонов и Δ²³-22-гидроксипроизводных с использованием

стериоидных C²²-нитрилоксидов и низкомолекулярных диполярофилов - пропаргилбромида и аллилбромида. Осуществлена трансформация полученных 20-изоксазолилстериоидов в соединения, содержащие боковую цепь с R-конфигурацией центра C²⁰.

Обнаружено необычное протекание реакции восстановительного расщепления бромметиленизоксазолинов, приводящее к образованию пирролов, а не β-кетолов.

Впервые с использованием C²²-стериоидных нитрилоксидов синтезированы соединения, содержащие боковую цепь брассинолида - (20S,22R,23R,24S)-6β-метокси-3α,5-цикло-24-метил-5α-холест-22,23-диол - ключевой интермедиат синтеза брассинолида и (22R,23R,24S)-24-метил-5α-холест-3β,6α,22,23-тетраол - биосинтетический предшественник брассинолида.

Практическая и экономическая значимость полученных результатов состоит в: а) осуществлении синтеза новой группы аналогов стероидов - стериоидных C²³-нитрилоксидов и потенциальных интермедиатов в построении боковых цепей метаболитов витаминов D и их аналогов - 22-изоксазолилстериоидов; б) получении производных, содержащих в боковой цепи, гидроксильную группу при C²⁵, характерную для метаболитов витамина D₃, а также кетогруппу при C²³, что дает возможность получения 23,25-дигидроксипроизводных витамина D₃, проявляющих высокую антипrolиферативную активность; в) разработке нового подхода к синтезу Δ²³-22-кетонов и Δ²³-22-гидроксипроизводных - ключевых интермедиатов в синтезе гормона роста растений- брассинолида.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

Синтез и использование в реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения к низкомолекулярным диполярофилам стериоидного C²³-нитрилоксида, нефункционализированного по C²², что позволило получить 23-енамино-25-кетоны - потенциальные интермедиаты в синтезе витаминов D и их аналогов, функционализированных по C²³.

Синтез 23-оксо-25-гидроксипроизводного - потенциального интермедиата в синтезе метаболитов витаминов D и их аналогов, в результате трансформации 22-изоксазолин-5'-ил-стериоида, образующегося при 1,3-диполярном циклоприсоединении окиси ацетонитрила к Δ²³-стериоидному олефину.

Методы построения боковой цепи брассинолида с использованием в качестве интермедиатов 20-изоксазолилстериоидов и 20-изоксазолинилстериоидов, полученных циклоприсоединением C²²-нитрилоксида к пропаргилбромиду и аллилбромиду.

Синтез биосинтетического предшественника брассинолида - (22R,23R,24S)-24-метил-5α-холест-3β,6α,22,23-тетраола и (20S,22R,23R,24S)-6β-метокси-3α,5-цикло-24-метил-5α-холест-22,23-диола - ключевого интермедиата в синтезе брассинолида, содержащих боковую цепь брассинолида.

Личный вклад соискателя состоит в проведении экспериментальной работы, в осуществлении теоретического и практического поиска путей достижения цели, в интерпретации результатов и подготовке материалов для научных публикаций на основе исследований, проведенных в лаборатории химии стероидов ИБОХ НАНБ под руководством д.х.н., профессора Хрипача В.Н. и к.х.н., в.н.с. Жабинского В.Н. Физико-химические исследования синтезированных соединений выполнены в лаборатории физико-химических методов анализа под руководством к.х.н. Гарбуза Н.И., рентгеноструктурные исследования выполнены к.х.н. Ляховым А.С.

Апробация результатов диссертации. Основные результаты диссертации представлены на XVII Конференции по изопреноидам (Краков, 1997), IV Международной конференции "Регуляторы роста и развития растений" (Москва, 1997), Международной конференции по природным продуктам и физиологически активным соединениям (Новосибирск, 1998), XII Международной конференции по органическому синтезу (Венеция, 1998), Первой республиканской конференции по органической химии "Органическая химия Беларуси на рубеже XXI века" (Минск, 1999), 1-ой Всероссийской конференции по химии гетероциклов памяти А.Н. Коста (Сузdalь, 2000).

Опубликованность результатов. По теме диссертации опубликовано три статьи и семь тезисов докладов. Общее количество опубликованных материалов составляет 22 страницы.

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, трёх глав, выводов и списка литературы, включающего 175 наименований.

В первой главе приведены литературные данные по регио- и стереохимии реакций межмолекулярного и внутримолекулярного 1,3-диполярного нитрилоксидного циклоприсоединения.

Во второй главе изложены полученные по теме диссертации результаты и их обсуждение. При этом рассматриваются способы получения интермедиатов синтеза витаминов D и боковых цепей брассиностероидов с использованием нитрилоксидного подхода.

Третья глава представляет собой экспериментальную часть исследования, в которой изложены методики синтеза соединений, способы выделения и анализа, а также физико-химические характеристики продуктов изученных реакций.

Работа изложена на 107 страницах машинописного текста, содержит 8 таблиц и 25 рисунков.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1.1. СИНТЕЗ СТЕРОИДНЫХ 23-ЕНАМИНО-25-КЕТОНОВ [1,5]

С целью выхода к соединениям с боковой цепью метаболитов витаминов D, прежде всего функционализированным по C²³ и C²⁵, изучена реакция 1,3-диполярного циклоприсоединения C²³-стериодного нитрилоксида к низкомолекулярным ацетиленам - пропаргилбромиду и пропаргиловому спирту (схемы 3,4). Енаминокетоны 11 и 17 рассматривались нами в качестве ключевых полупродуктов для синтеза данных соединений.

В качестве исходного соединения для получения C²³-нитрилоксида был взят доступный стигмастерин 1. Тозилирование стигмастерина, i-стериоидная перегруппировка и последующий озонолиз привели к C²²-альдегиду 2 (схема 1).

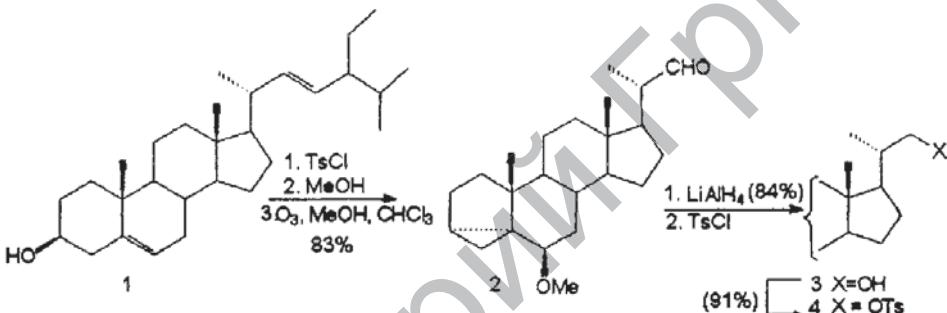


Схема 1.

Восстановление альдегида 2 алюмогидридом лития дало спирт 3. Необходимо отметить, что использование NaBH₄ в данном случае для проведения реакции восстановления неприемлемо, так как в этих условиях происходит эпимеризация по центру C²⁰, вызываемая енолизацией карбонильной группы. Далее спирт 3 действием тозилхлорида был превращен в тозилат 4. Нитрил 5 был получен в результате реакции нуклеофильного замещения тозильной группы на цианид-ион. Восстановление нитрила дизобутилалюмогидридом дало C²³-альдегид 6 (схема 2).

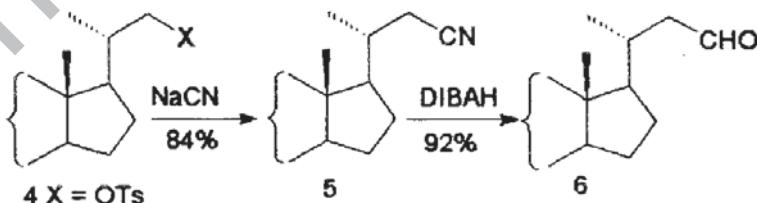


Схема 2.

Полученный альдегид 6 был превращен в смесь син- и анти-оксимов 7. Генирирование C²³-нитрилоксида 8 достигалось в результате последовательных стадий хлорирования оксима 7 и дегидрогалогенирования образующегося хлорангидрида гидроксамовой кислоты под действием триэтиламина (схема 3).

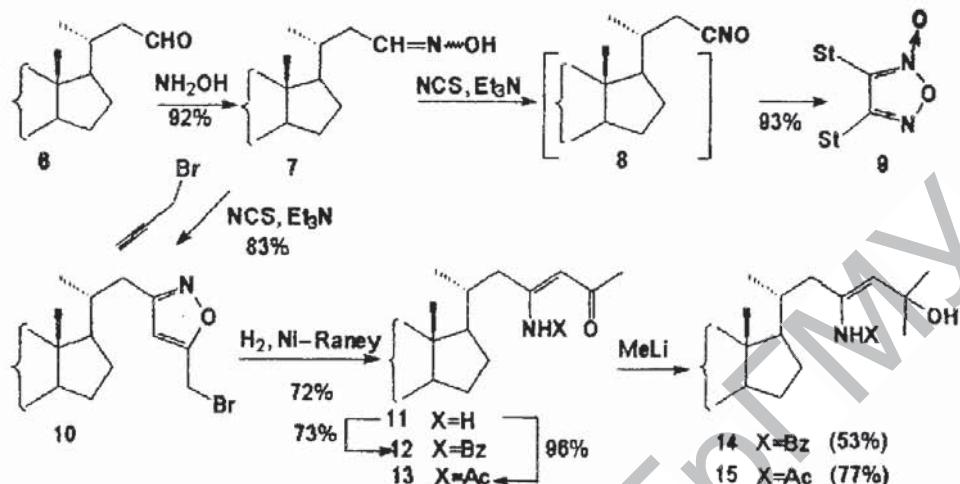


Схема 3.

При попытке выделить в свободном состоянии окись нитрила 8 единственным продуктом, выделенным из реакционной смеси при проведении реакции без диполярофилла, был продукт димеризации C²³-нитрилоксида - фуроксан 9 (в отличии от диоксадиазина, образующегося из C²²-нитрилоксида при аналогичных условиях). Полученные результаты свидетельствуют, что C²³-нитрилоксидная группа пространственно не затруднена, что обуславливает её высокую реакционную способность по сравнению с гомологичным C²²-нитрилоксидом, который был выделен в свободном виде и охарактеризован. Структура фуроксана 9, содержащего два стерондных фрагмента, находится в соответствии с его спектральными характеристиками. Спектр ПМР соединения 9 содержит ряд удвоенных или уширенных сигналов. Так, сигналы 18-метильной группы представлены синглетами с δ 0.74 и δ 0.76 м.д.

Циклоприсоединение C²³-нитрилоксида к пропаргилбромиду протекает региоизбирательно, при этом образуется изоксазол 10 в качестве единственного продукта реакции. Изоксазол выделяли из реакционной смеси, содержащей также следовые количества фуроксана 9, сукцинимид и избыток диполярофилла, при помощи колоночной хроматографии на силикагеле. С целью оптимизации условий получения изоксазолов были изучены различные варианты проведения реакции циклоприсоединения. Весьма существенным условием является поддержание концентрации окиси нитрила 8 на возможно более низком уровне для предотвращения реакции димеризации, что препятствует накоплению в реакционной смеси побочного фуроксана 9. Кроме этого, для этой же цели следует использовать избыток диполярофилла. В результате восстановительного расщепления гетероцикла, протекающего одновременно с дебромированием, образуется енаминокетон 11. Попытки присоединения метиллития по кетогруппе енаминокетона 11 оказались безуспешными вследствие блокирующего действия

аминогруппы енаминооксона. Присоединение метиллития оказалось возможным после защиты аминогруппы путем её ацилирования хлорангидридами бензойной или уксусной кислот в пиридине. Образующиеся амиды 12 и 13 вступали в реакцию с метиллитием с образованием спиртов 14 и 15 соответственно.

Циклоприсоединение пропаргилового спирта к окиси нитрила 8 (схема 4) протекало региоселективно, при этом образовывался гидроксиизоксазол 16 в качестве единственного продукта.

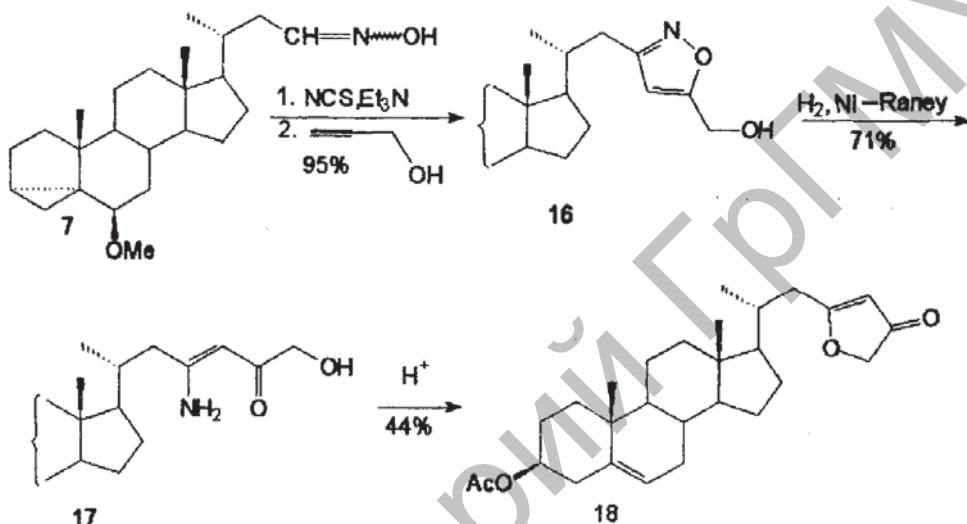


Схема 4.

Гидрирование изоксазола 16 на никеле Ренея вело к образованию енаминооксала 17, нагревание которого в уксусной кислоте приводило к замыканию боковой цепи в фуранон 18. При этом одновременно с образованием фуранона протекала реакция в циклической части молекулы, приводящая к формированию 3β -ациетокси- Δ^5 -фрагмента. Таким образом с использованием стероидных нитрилоксидов получены соединения 14, 15 и 18, содержащие набор функциональных группировок, позволяющих осуществить построение боковой цепи аналогов и метаболитов витамина D.

1.2. НИТРИЛОКСИДНЫЙ ПОДХОД К ПОСТРОЕНИЮ БОКОВОЙ ЦЕПИ МЕТАБОЛИТОВ ВИТАМИНА D₃ И ИХ АНАЛОГОВ, ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫХ ПО С²³ [3,9]

Обнаружение в восьмидесятых годах антипролиферативной активности для $1\alpha,25$ -дигидроксивитамина D₃ вызвало бурный всплеск работ по поиску соединений аналогичной структуры, перспективных в качестве противоопухолевых препаратов. Наилучшие результаты на сегодняшний день получены для соединений, содержащих модифицированную боковую цепь и неизмененные триеновую

систему и цикл A. С целью выхода к соединениям с такого рода боковыми цепями был изучен подход с использованием нитрилоксидов.

Этот подход использует для создания боковой цепи реакцию 1,3-диполярного циклоприсоединения между стероидным олефином 19 и окисью ацетонитрила. Δ^{23} -олефин 19 был получен с использованием реакции Виттига из C^{23} -альдегида 6. (схема 5).

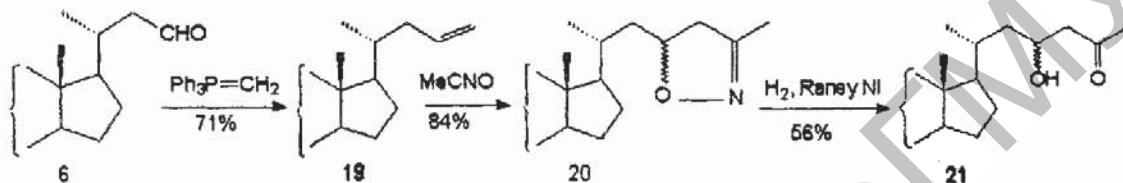


Схема 5.

Реакция циклоприсоединения алкена 19 и ацетонитрилоксида протекала региоселективно, в результате образуется смесь эпимерных по C^{23} изоксазолинов 20. Их соотношение, равное 1:1, определялось по величинам интегральной интенсивности сигналов C^{18} протонов с δ 0.72 и δ 0.75 м.д., что свидетельствует о значительном ослаблении влияния циклической части стероидной молекулы на стереоселективность протекания реакции по сравнению с гомологичным Δ^{22} -стериоидным олефином.

Скрытая функциональность гетероцикла была реализована восстановительным расщеплением изоксазолинов на никеле Ренея, что привело к образованию эпимерных по C^{23} β -кетолов 21.

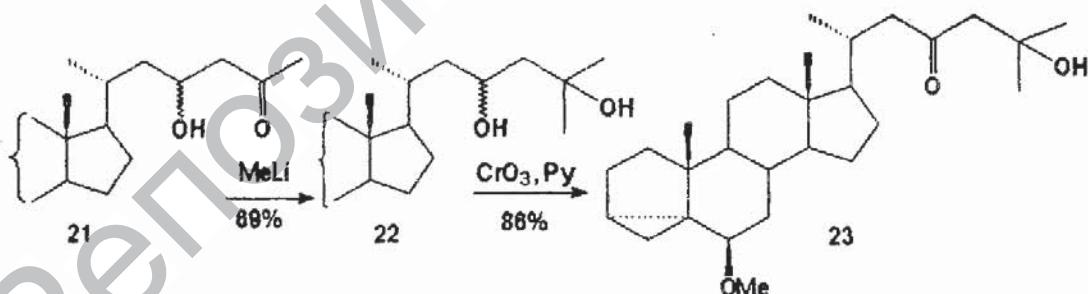


Схема 6.

Последующее присоединение метиллития (схема 6) по карбонильной группе дало β -диолы 22. Окисление диолов окисью хрома в пиридине привело к образованию β -кетола 23. Соединение 23, благодаря наличию гидроксильной группы при C^{25} , характерной для производных витамина D₃, и кетогруппы при C^{23} , может служить интермедиатом в синтезе 23,25-дигидроксипроизводных витамина D₃, обладающих высокой антипролиферативной активностью.

1.3. СИНТЕЗ ИНТЕРМЕДИАТОВ БРАССИНОСТЕРОИДОВ ЧЕРЕЗ C²²-НИТРИЛОКСИДЫ [2,4,6,7,8,10]

Δ²³-22-Кетоны и доступные в результате их гидридного восстановления Δ²³-22-гидроксипроизводные являются ключевыми интермедиатами в синтезе брассинолида.

Нами изучено получение такого рода соединений с использованием реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения стероидных нитрилоксидов и низкомолекулярных диполярофилов.

В первом подходе для получения Δ²³-22-кетонов была использована реакция между C²²-нитрилоксидом 25 и пропаргилбромидом (схема 7). В качестве исходного соединения для синтеза нитрилоксида 25 был использован C²²-альдегид 2. Обработка его гидрохлоридом гидроксиламина в пиридине дала оксим 24. Хотя нитрилоксид 25 может быть выделен в свободном состоянии, лучшие результаты даёт его использование *in situ* в следующей стадии 1,3-диполярного циклоприсоединения к пропаргилбромиду. В результате реакции в качестве единственного продукта выделен изоксазол 26. Раскрытие бромизоксазола 26 и одновременное дебромирование достигалось действием борида никеля.

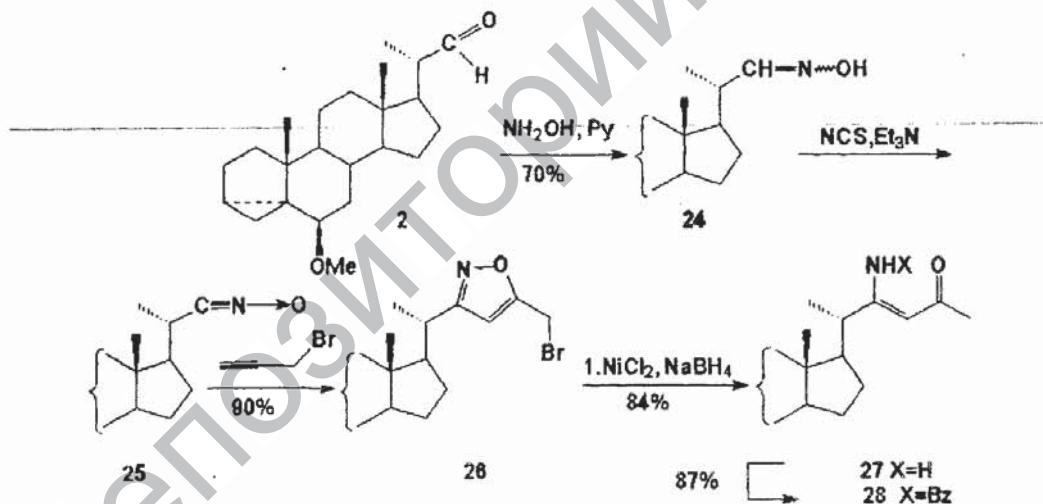


Схема 7.

Известно, что реакции с участием производных, содержащих гетероцикл в боковой цепи, могут приводить не только к частичной изомеризации по C²⁰, но и к полному обращению конфигурации этого центра. Раскрытие изоксазола 26 протекает в условиях, которые могут вызвать эпимеризацию, поэтому для решения вопроса о стереохимии центра C²⁰ был использован рентгеноструктурный анализ, как наиболее надёжный и радикальный способ решения данного вопроса. Для получения кристаллизующегося производного енаминокетон 27 действием бензоилхлорида в пиридине был превращён в бензамид 28. Абсолютная конфигурация центра C²⁰ в бензамиде 28 была установлена методом РСА.

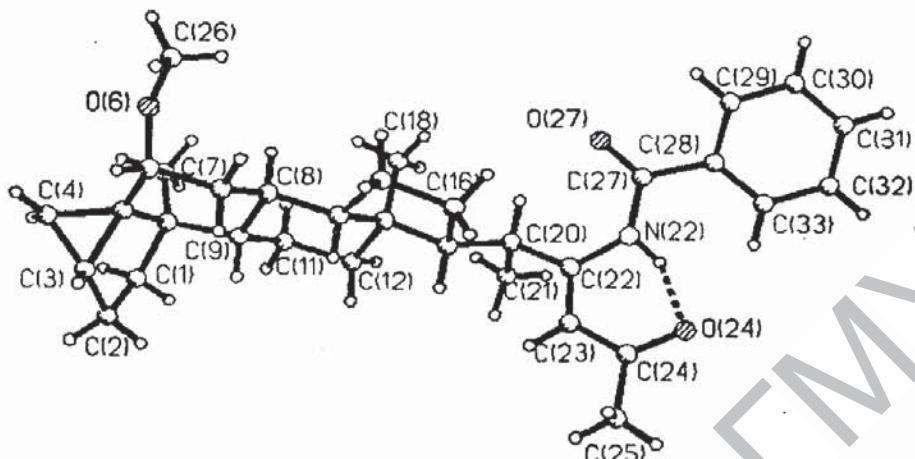


Рис.1. Геометрия молекулы (20*S*)-22-бензамидо- $\delta\beta$ -метокси-3 α ,5-цикло-5 α -26,27-биснорхолест-22-ен-24-она 28 (внутримолекулярная водородная связь показана пунктирной линией).

Полученные результаты позволяют заключить, что конфигурация асимметрического центра боковой цепи изученного соединения C²⁰ - (*S*). Таким образом, проведенные исследования показали, что при генерировании C²⁰-окиси нитрила, получении из нее изоксазолов и их последующем раскрытии конфигурация метильной группы при C²⁰ не изменяется. Последнее является необходимым условием для использования C²²-нитрилоксидов в синтезе стероидов с полифункциональной боковой цепью и природной конфигурацией заместителя при C²⁰. Взаимодействие бензамида 28 с изопропилмагнийхлоридом (схема 8) дало спирт 29.

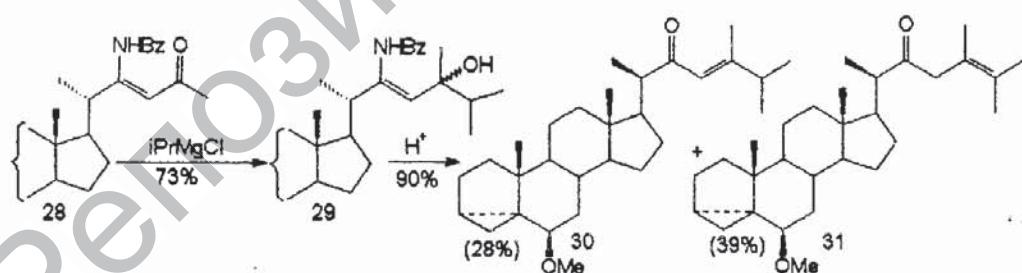


Схема 8.

Под действием уксусной кислоты в водном 1,3-диоксане протекала дегидратация спирта 29 с одновременным гидролизом амидной группировки и эпимеризацией по C²⁰ с образованием енонов 30 и 31 в соотношении 2:1 (отношение определялось по величинам интегральной интенсивности сигналов протонов при C²⁸ с δ 2.08 м.д. и 1.71 м.д.). Структура енонов установлена на основе данных спектров ПМР этих соединений: в ПМР спектре сопряженного енона 30 содержатся однопротонный синглет винильного протона с δ 6.13 м.д. и

трехпротонный синглет протонов при C^{28} с δ 2.08 м.д., в то время как ПМР спектр несопряженного енона 31 содержит дублет протонов при C^{23} с δ 3.25 м.д., шестипротонный синглет протонов при C^{26} и C^{27} с δ 1.66 м.д., трехпротонный синглет протонов при C^{28} с δ 1.71 м.д. Структура енона 31 подтверждается данными спектра ЯМР C^{13} , содержащего девять сигналов вторичных атомов углерода, четырнадцать сигналов первичных и третичных атомов углерода, сигнал карбонильного углерода с δ 212.9 м.д., сигналы углеродных атомов при двойной связи с δ 121.1 м.д. и 128.4 м.д. Сравнение данных спектра ПМР енона 30 с литературными данными спектра ПМР аналогичного енона с S-конфигурацией центра C^{20} обнаруживает некоторые различия в химсдвигах сигналов отдельных протонов. Так, сигнал винильного протона с δ 6.13 м.д. находится в более слабом поле в сравнении с литературными данными (6.06 м.д.), а сигналы протонов при C^{19} сдвинуты в более сильное поле с δ 0.98 м.д., в то время как в литературе указан химсдвиг для этих протонов равный 1.02 м.д. Эти данные указывают на то, что одновременно с гидролизом амидной группировки и дегидратацией происходит процесс эпимеризации по C^{20} . Образование в результате гидролиза спирта 29 енонов только с R-конфигурацией центра C^{20} может быть использовано для получения соединений, содержащих боковые цепи с неприродной конфигурацией метильной группы при C^{20} .

В следующей части работы была изучена возможность получения из енаминонектона 27 Δ^{23} -22-кетонов 34, 37, которые представляют интерес как интермедиаты в синтезе брассинолида. Для получения этих соединений бензамид 28 подвергали натрийборгидридному восстановлению в смеси этилацетата и метанола (схема 9).

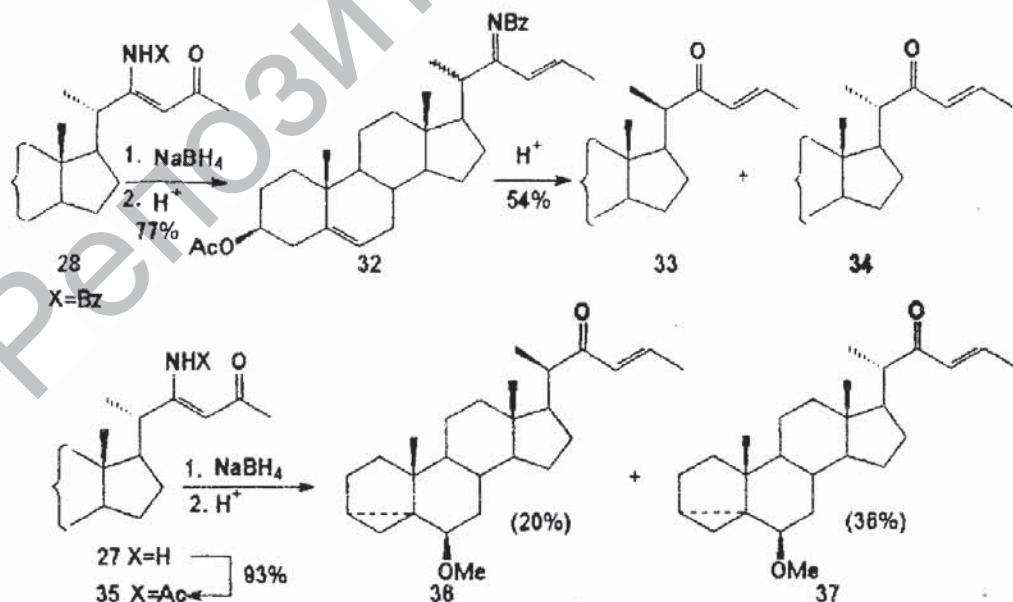


Схема 9.

Образующиеся при этом спирты из реакционной смеси не выделялся в свободном виде, а были подвергнуты дальнейшим превращениям после соответствующей обработки реакционной смеси (нейтрализация, экстракция). Кислотный гидролиз и дегидратация протекали в растворе концентрированной уксусной кислоты, что приводило к образованию смеси эпимерных по C²⁰ енонов 33 и 34. Следует отметить, что эпимеризация происходит на стадии дегидратации спирта, а не на стадии гидролиза. Подтверждением этого является выделение из реакционной смеси соединения 32, которое получено как смесь 20(S)- и 20(R)-эпимеров в соотношении 2:1 (отношение определялось по величинам интегральной интенсивности сигналов протонов при C¹⁸ с δ 0.73 м.д. и 0.65 м.д.).

Последующий гидролиз соединения 32 не приводит к изменению соотношения изомеров. Кислотный гидролиз спирта, полученного из ацетамида 35 протекает легче, в более мягких условиях и позволяет получать еноны 36 и 37 с суммарным выходом 50%. Спектры ПМР соединений 36 и 37 содержат дублет дублета протона при C²³ с δ 6.20 м.д. и 6.17 м.д., соответственно, мультиплет протона при C²⁴ с δ 6.82-7.00 м.д. и 6.80-6.98 м.д., наряду с сигналами остальных фрагментов молекулы. Сигнал протонов при C¹⁸ енона 37 находится в более слабом поле с δ 0.76 м.д., в то время как протоны при C¹⁸ эпимерного енона 36 проявляются в более сильном поле с δ 0.71 м.д. КССВ протонов при C²³ и C²⁴, равная 16 Гц, свидетельствует о наличии в молекулах 36 и 37 двойной связи с транс-конфигурацией, что обеспечивает возможность использования енонов 37 и 36 для построения боковой цепи брассинолида и его (20R)-изомера.

Во втором подходе к получению Δ²³-22-кетонов был исследован путь, основанный на реакции циклоприсоединения нитрилоксида 25 с аллилбромидом (схема 10).

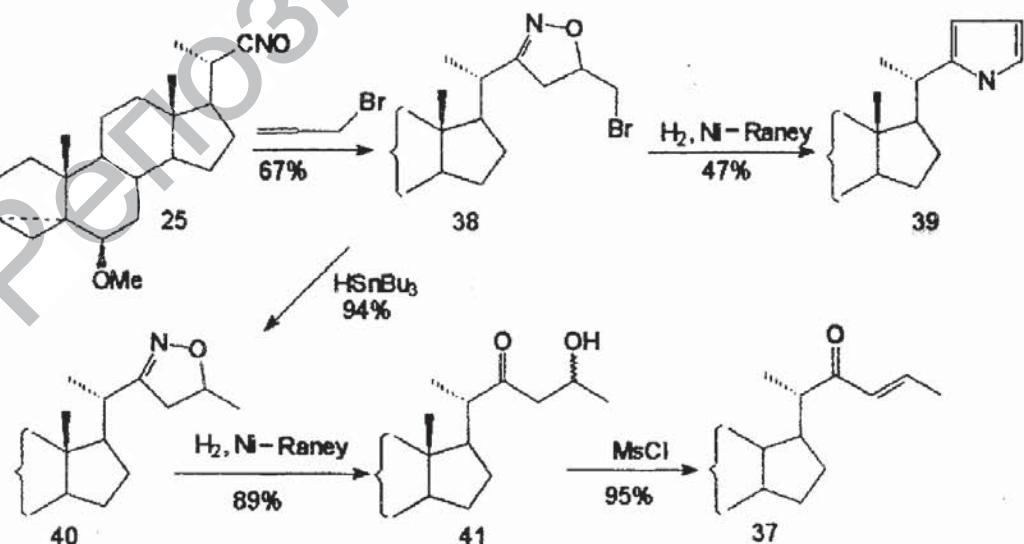


Схема 10.

Циклоприсоединение C^{20} -окиси нитрила к аллилбромиду протекает региоселективно с образованием бромизоксазолина 38 в виде смеси эпимеров по C^{24} в отношении 1:1 (отношение определялось по величинам интегральной интенсивности сигналов протонов при C^{21} с δ 1.15 м.д. и 1.17 м.д.). Попытка реализовать скрытую функциональность изоксазолина 38 гидрированием на никеле Ренея привела к образованию пиррола 39.

Образование пиррола 39 при гидрировании бромизоксазолина 38 на никеле Ренея обусловлено, скорее всего, протеканием внутримолекулярного замещения с участием “соседней группы”.

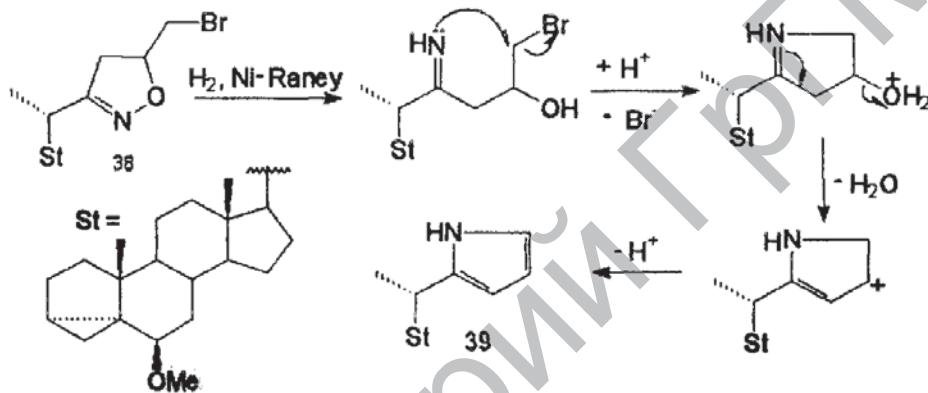


Схема 11.

Образующаяся при гидрировании связи N-O иминогруппа выступает как нуклеофил, участвуя в замещении бромид-иона у C^{25} , что приводит к замыканию гетероцикла. Последующие протонирование гидроксигруппы и дегидратация приводят к образованию ароматической системы (схема 11).

Для устранения участия соседней группы в реакции раскрытия изоксазолинового цикла, бромизоксазолин 38 был подвергнут дебромированию действием трибутилоловогидрида и получен изоксазолин 40. В спектре ПМР соединения 40 характерно наличие трехпротонного дублета протонов при C^{25} с δ 1.15 м.д. и сигналов протонов при C^{21} с δ 1.27 м.д. и 1.29 м.д. Восстановительное расщепление изоксазолина 40 приводило к образованию β -кетола 41. Спектр ПМР кетола 41 содержит мультиплет протонов при C^{24} с δ 4.06- 4.22 м.д., мультиплет протонов при C^{23} с δ 2.44 - 2.60 м.д., а в ИК спектре имеется интенсивная полоса валентных колебаний связи C=O при 1730 cm^{-1} . Дегидратация β -кетола 41 в еон 37 достигнута обработкой его мезилхлоридом в пиридине при комнатной температуре. При этом с выходом свыше 95% выделен еон 37, последующее восстановление еона (схема 12) алюмогидридом лития приводило к образованию эпимерных по C^{23} аллильных спиртов 42 и 43, соотношение которых (примерно 1:1) практически не зависело от температуры проведения реакции.

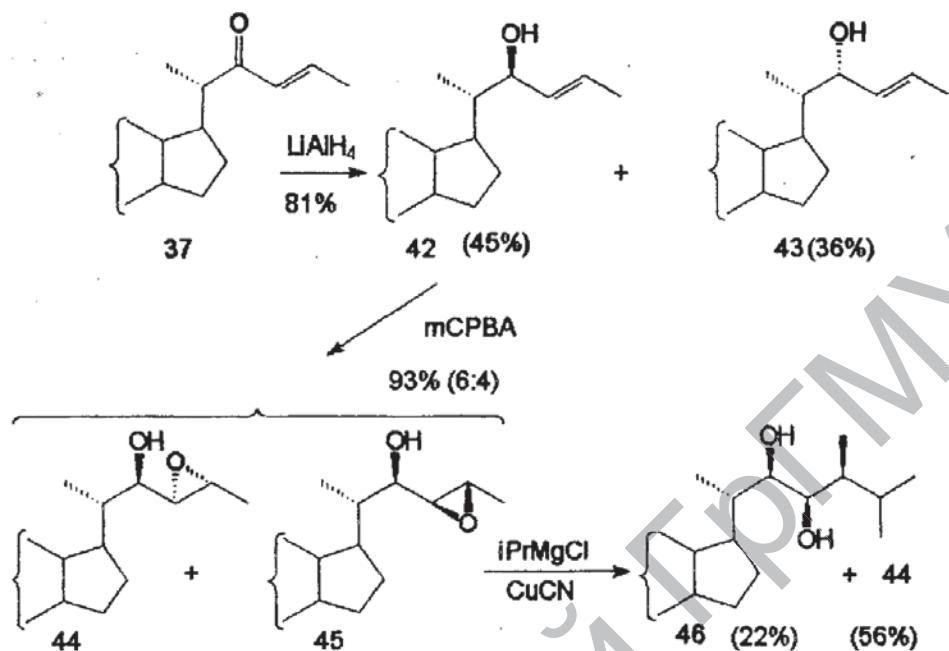


Схема 12.

Изомерные спирты достаточно сильно различаются по хроматографической подвижности, что дало возможность выделения их в свободном виде с помощью колоночной хроматографии на силикагеле.

Эпоксидирование аллильного спирта 42 мета-хлорнадбензойной кислотой в хлористом метилене приводило к образованию неразделимой смеси эпоксидов 44 и 45 в отношении 6:4 (отношение определялось по величинам интегральной интенсивности сигналов протонов при C²² с δ 3.88 м.д. и 3.63 м.д.).

Для формирования боковой цепи брашинолида полученную смесь эпоксидов 44 и 45 подвергли раскрытию действием изопропилмагнийхлорида в присутствии цианида меди (I) как катализатора. После завершения реакции и обработки реакционной смеси, с помощью колоночной хроматографии были выделены неизмененный эпоксид 44 и продукт раскрытия эпоксидного цикла соединения 45 - диол 46. В спектре ПМР диола появляется шестипротонный дублет протонов при C²⁶ и C²⁷, а также дублеты протонов при C²² и C²³ с δ 3.74 м.д. и 3.57 м.д.

Соединение 46 содержит полностью сформированную боковую цепь, характерную для 28C-брашиностероидов, и может быть использовано для их синтеза с использованием известных методов. Принимая во внимание, что синтез брашинолида (и кастастерона) уже осуществлен в лаборатории химии стероидов ИБОХ НАНБ, интерес представляло получение некоторых родственных производных, которые могут быть биосинтетическими предшественниками брашинолида. Так, один из путей биосинтеза брашинолида включает образование из кампестерина βα-гидроксикампестерина и теастирина.

Перед осуществлением трансформации циклической части молекулы 46 диольная группировка боковой цепи была запищена переводом в сложнозифирную путем ацилирования уксусным ангидридом в пиридине (схема 13). Кипячение в уксусной кислоте диацетата 47 приводило к формированию 3β -ацетоксигруппировки и Δ^5 -связи в циклической части молекулы, что подтверждается появлением в спектре ПМР триацетата 48 синглета протонов 3β -ацетоксигруппы с δ 2.04 м.д., дублета протона при C^6 с δ 5.36 м.д., мультиплета протона при C^3 с δ 4.50-4.68 м.д.

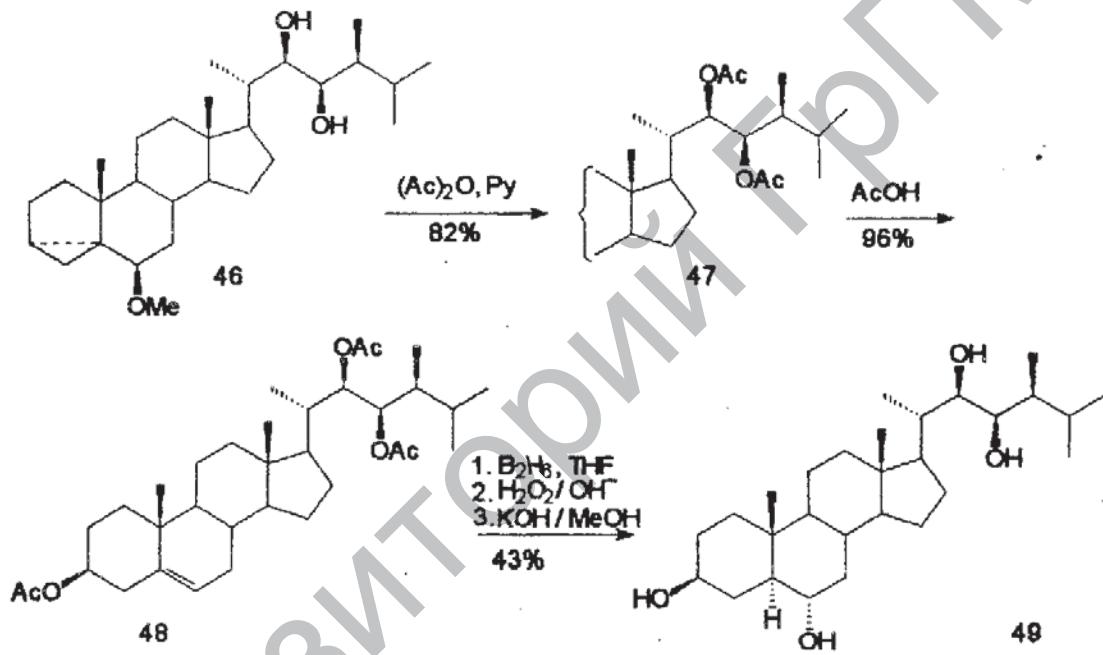


Схема 13.

Гидроборирование-окисление двойной связи в цикле В приводило к формированию гидроксильной группы в α -положении, а в результате последующего гидролиза сложнозифирных группировок образовывался тетраол 49.

Таким образом, выполненное исследование свидетельствует о больших возможностях нитрилоксидного подхода и получаемых при его использовании ключевых интермедиатов - изоксазолов и 2-изоксазолинов в формировании боковых цепей ряда природных полиоксистероидов и их аналогов. Очевидно, что перечень таких соединений не исчерпывается рассмотренными примерами и может быть в дальнейшем значительно расширен за счет использования новых диполярофилов и нитрилоксидов, в том числе содержащих различные функциональные заместители.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Впервые синтезирован C^{23} -стериоидный нитрилоксид, не содержащий функциональных группировок при C^{22} . Трансформацией аддуктов, полученных при циклоприсоединении C^{23} -стериоидного нитрилоксида к пропаргилбромиду и пропаргиловому спирту, получены 23-енамино-25-кетоны - потенциальные интермедиаты в синтезе витаминов D [1,5].
2. Синтезирован 22-изоксазолинил-5'-илстериоид, в результате трансформации которого получено производное, содержащее гидроксильную группу при C^{25} , характерную для метаболитов витамина D₃, а также кетогруппу при C^{23} , позволяющую проводить ряд трансформаций по данному положению [3,9].
3. Разработаны различные варианты получения Δ^{23} -22-кетонов и Δ^{23} -22-гидроксипроизводных, являющихся ключевыми интермедиатами в синтезе брассинолида, основанные на реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения C^{22} -стериоидных нитрилоксидов к пропаргилбромиду и аллилбромиду. Осуществлена трансформация полученных 20-изоксазолилстериоидов в соединения, содержащие боковую цепь с R-конфигурацией центра C²⁰ [2,4,6,7,8].
4. Обнаружено необычное протекание реакции восстановительного расщепления 20-[5'-(бромметилен)изоксазолин-3'-ил]-стериоидов, приводящее к образованию пирролов, а не β -кетолов [10].
5. Осуществлен синтез (20S,22R,23R,24S)-6 β -метокси-3 α ,5-цикло-24-метил-5 α -холест-22,23-диола - полупродукта в химическом синтезе брассинолида и (22R,23R,24S)-24-метил-5 α -холест-3 β ,6 α ,22,23-тетраола - биосинтетического предшественника брассинолида с использованием C^{22} -стериоидного нитрилоксида [8].

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

Статьи:

1. Хрипач В.А., Жабинский В.Н., Павловский Н.Д. Синтез стериоидных 23-енамино-25-кетонов - потенциальных интермедиатов для получения витаминов D и их аналогов // Журн. орг. химии. - 1998. Т. 34, вып. 1. - С. 59-63.
2. Синтез и рентгеноструктурное исследование (20S)-22-бензамидо-6 β -метокси-3 α ,5-цикло-5 α -26,27-биснорхолест-22-ен-24-она / В.А.Хрипач, В.Н.Жабинский, Н.Д.Павловский, А.С.Ляхов, А.А.Говорова // Биоорганическая химия - 1998.- Т. 24, N. 11. - С. 856-861.
3. Хрипач В.А., Жабинский В.Н., Павловский Н.Д. Нитрилоксидный подход к построению боковой цепи метаболитов витамина D₃ и их аналогов, функционализированных по C²³ // Журн. орг. химии. - 1999. -Т. 35, вып. 3. С. 369-371.

Тезисы:

4. Павловский Н.Д., Хрипач В.А., Жабинский В.Н. Новый метод получения Δ^{23} -22-кетонов - ключевых интермедиатов в синтезе брассинолида // Регуляторы роста и развития растений: Тез. докл. науч. конф., Москва, 24-26 июня 1997 г. / Московская сельскохозяйственная академия им. К.А.Тимирязева. - Москва.- 1997. - С. 58.
5. Khrapach V., Zhabinskii N., Pavlovskii N. Synthesis of 23-enamino-25-ketones - potential intermediates for preparation of vitamin D analogues // 17 th Conf. on isoprenoids: Book of Abstracts, sept. 21-26.- Krakow, 1997. - P. 82.
6. Zhabinskii V.N., Pavlovskii N.D., Khrapach V.A. A new synthetic approach to brassinolide and its synthetic precursors // 12th Int. conf. on organic synthesis: Book of Abstracts, June 28 - July 2, 1998/ Venezia, Italy.- 1998. - P. 584.
7. Khrapach V.A., Zhabinskii V.N., Pavlovskii N.D. A new approach to brassinolide and its biosynthetic precursors // Int. conf. on natural products and physiologically active substances: Book of Abstracts, Dec. 1-4 1998/ Novosibirsk Institute of Organic Chemistry.- Novosibirsk, 1998. - P. 94.
8. Павловский Н.Д., Жабинский В.Н., Хрипач В.А. Построение боковых цепей брассиностероидов через 20-изоксазолинилстериоиды // "Органическая химия Беларуси на рубеже XXI века": Материалы Первой республиканской конференции. - Минск. - 1999. - С. 90.
9. Павловский Н.Д., Жабинский В.Н., Хрипач В.А. Нитрилоксидный подход к синтезу 25-гидрокси-23-кетонов - метаболитов витамина D₃ // "Органическая химия Беларуси на рубеже XXI века": Материалы Первой республиканской конференции. - Минск. - 1999. - С. 91.
10. Жабинский В.Н., Павловский Н.Д., Хрипач В.А. Новый подход к синтезу пирролов // 1-ая Всероссийская конференция по химии гетероциклов. Тез. докл. - Сузdalь, 2000. - С. 180.

РЕЗЮМЕ

Павловский Николай Дмитриевич

Стероидные нитрилоксиды и циклоаддукты в синтезе биологически важных природных стероидов и их аналогов

Ключевые слова: нитрилоксид, диполярофил, 1,3-диполярное нитрилоксидное циклоприсоединение, изоксазолы, изоксазолины, брассиностероиды.

Объектом исследования являются стероидные нитрилоксиды, а также стероиды, содержащие гетероцикл в боковой цепи. Цель работы заключалась в разработке новых методов синтеза боковых цепей брассинолида и метаболитов витамина D₃ и их аналогов с использованием нитрилоксидного подхода.

Основными результатами работы являются: новые методы синтеза Δ^{23} -22-кетонов и Δ^{23} -22-гидроксипроизводных - ключевых интермедиатов в синтезе брассинолида; впервые получены стероиды, содержащие при С²³ нитрилоксидную группировку. Изучена реакция 1,3-диполярного циклоприсоединения С²³-нитрилоксидов и дальнейшая трансформация полученных циклоаддуктов в производные с открытой полифункционализированной боковой цепью; показана возможность эффективной трансформации получаемых гидроксизоксазолов в производные, содержащие фураноновый фрагмент.

Для установления структуры полученных соединений и контроля за протеканием реакций использовались методы ¹Н и ¹³С-ЯМР-спектроскопии, ИК-спектроскопии, масс-спектроскопии, тонкослойной и колоночной хроматографии.

РЭЗЮМЕ

Паўлоўскі Мікалай Дзмітрыевіч

Стэройдныя нітрылаксіды і іх цыклаадукты ў сінтэзе біялагічна значных прыродных стэроідаў і іх аналагу.

Ключавыя слова: нітрылаксід, дыпалярофіл, 1,3-дыпалярнае нітрылаксіднае цыкладалучэнне, ізаксазолы, ізаксазаліны, брассінастэроіды.

Аб'ектам даследавання з'яўляюцца стэройдныя нітрылаксіды і стэроіды, якія маюць гетэрацикл у бакавым ланцуго. Мэтай работы была распрацоўка новых метадаў сінтэзу бакавых ланцугоў брасінастэроідаў і метабалітаў вітамінаў D і іх аналагу з выкарыстаннем нітрылаксіднага падыходу.

Асноўнымі вынікамі з'яўляюцца: новыя методы атрымання Δ^{23} -22-кетонаў і Δ^{23} -22-гідроксівітвортных - ключавых прамежковых злучэнняў у сінтэзе брасіналіду, упершыню атрыманы стэроіды, якія маюць нітрылаксідную групоўку ў бакавым ланцугу пры С²³; вывучана рэакцыя 1,3-дыпалярнага цыкладалучэння стэройдных нітрылаксідаў і далейшая трансфармацыя атрыманых цыклаадуктаў у злучэнні з адкрытым поліфункционализаваным бакавым ланцуго; паказана магчымасць эфектуўнай трансфармацыі атрымліваемых гідроксізаксазолаў у вытворныя з фуранонавым фрагментам.

Для выяўлення структуры атрыманых злучэнняў і кантролю за працяканнем рэакцый выкарыстоўваліся методы ¹Н і ¹³С-ЯМР-спектраскапії, ГЧ-спектраскапії, масс-спектраметрыі, танкаслойнай і калоначнай храматаграфіі.

Summary

Nikolai D. Pavlovskii

Key words: nitrile oxide, dipolarophyle, 1,3-dipolar nitrile oxide cycloaddition, isoxazoles, isoxasolines, brassinosteroids.

The objects investigation are of the steroidal nitrile oxides and steroids containing a heterocycle in a side chain. The goal of investigation consisted in elaboration of new methods for the synthesis of side chain of brassinosteroids and vitamins D using

nitrilooxides approach.

The most important results of the investigation are the development of new methods for the synthesis of Δ^{23} -22-ketones and Δ^{23} -22-hydroxy derivatives. New steroids containing a C²³-nitrile oxide function in a side chain have been prepared. The 1,3-dipolar cycloaddition of the steroidal C²³-nitrile oxides with low-molecular dipolarophiles and further transformations of the obtained adducts into derivatives with open-chained structures have been studied. It was shown that the obtained hydroxy isoxazoles could be efficiently transformed into furanone derivatives.

For a structure elucidation of compounds methods of ¹H- and ¹³C-NMR spectroscopy, IR spectroscopy, mass-spectrometry and column chromatography were used.

* * * * *

Автор выражает глубокую благодарность за постоянное внимание к работе, обсуждение и анализ полученных результатов член-корреспонденту НАН Беларуси, доктору химических наук, профессору, заведующему лабораторией химии стероидов ИБОХ Хрипачу В.А.; за помощь в проведении исследований и интерпретации их результатов к.х.н. вед.н.с. Жабинскому В.Н.; за помощь, оказанную при установлении структуры соединений методом ЯМР ст.н.с. к.х.н. Хрипач Н.Б. Благодарю всех сотрудников лаборатории химии стероидов ИБОХ НАНБ за создание дружеской творческой атмосферы.