



УДК 547.39.057

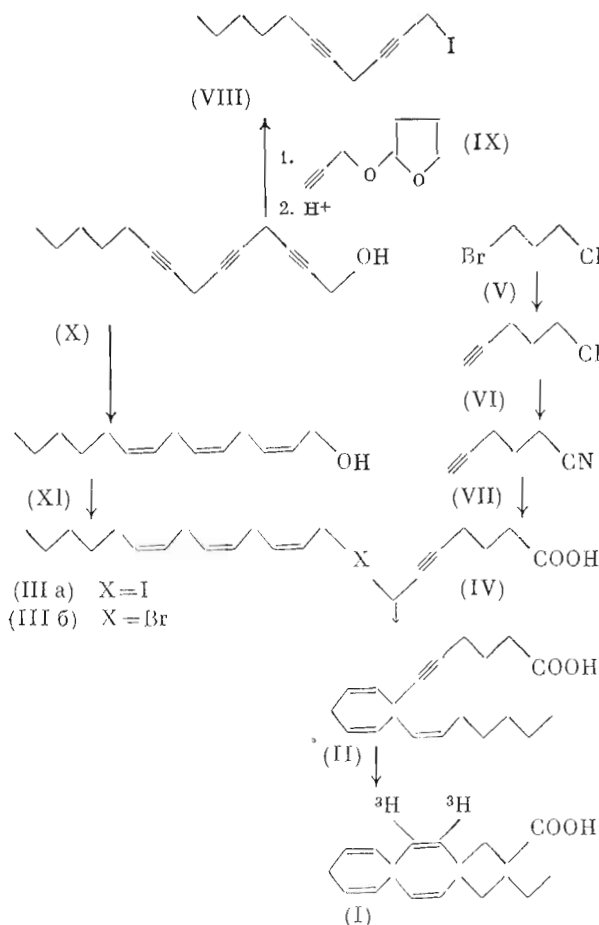
СИНТЕЗ (8Z, 11Z, 14Z)-ЭЙКОЗАТРИЕН-5-ИНОВОЙ (5,6-ДЕГИДРОАРАХИДОНОВОЙ) КИСЛОТЫ И ЕЕ ПРЕВРАЩЕНИЕ В [5,6-³H] АРАХИДОНОВУЮ КИСЛОТУ, [5,6-³H]ПРОСТАГЛАНДИНЫ E₂ И F_{2α}*

Мягкова Г. И., Дежин П. М., Белослудцев Ю. Ю.,
Заболотский Д. А., Евстигнеева Р. П.

Московский институт тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова

На основе ацетиленовых соединений синтезированы (8Z, 11Z, 14Z)-эйкозатриен-5-иновая (5,6-дегидроарахидоновая) кислота и ее меченный тритием аналог — [5,6-³H]арахидоновая кислота, которая использована как субстрат при ферментативном синтезе [5,6-³H]простагландинов E₂ и F_{2α}.

Важное значение для исследования превращений эйкозаполиеновых кислот в биологически активные метаболиты класса эйкозаноидов (простагландины, тромбоксаны, лейкотриены, липоксины, гепоксилины и др.) имеют селективно меченные тритием [5,6-³H] арахидоновая кислота (I),



* Предварительное сообщение см. [1].

[5,6-³H]простагландины E₂ и F_{2α}, предшественником которых является (8Z, 11Z, 14Z)-эйкозатриен-5-иновая (5,6-дегидроарахидоновая) кислота (II). Имеются также сведения об ингибировании последней метаболизма полиеновых кислот в ациклические эйкозаноиды под влиянием липоксигеназ [2].

Нами разработана схема синтеза кислоты (II), дающая возможность получать ее в препаративных количествах, необходимых для получения 5,6-меченных тритием арахидоновой кислоты, простагландинов E и F и других эйкозаноидов.

(8Z, 11Z, 14Z)-Эйкозатриен-5-иновую (5,6-дегидроарахидоновую) кислоту (II) синтезировали взаимодействием двух фрагментов: аллильного галогенида (III) и 5-гексиновой кислоты (IV).

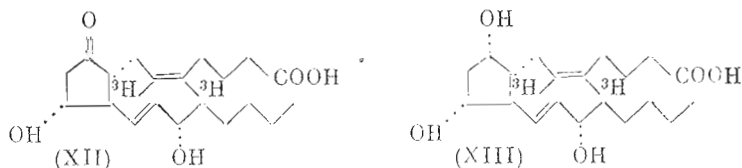
Для получения ω-ацетиленового компонента (IV) 1-бром-3-хлорпропан (V) реакцией с моноацетиленидом лития или натрия или их комплексов с этилендиамином был превращен в 1-хлор-4-пентин (VI). Замена хлора на цианогруппу в соединении (VI) и омыление образовавшегося нитрила (VII) привели к кислоте (IV). Замещение хлора на цианогруппу действием цианида натрия проводили либо в тетрагидрофуране (THF) с применением краун-эфира, либо с использованием биполярного апротонного растворителя — диметилсульфоксида [3, 4]. Простота последнего способа делает его более предпочтительным.

Аллильный галогенид (III) получали, исходя из 1-иод-2,5-ундекадиена (VIII), синтезированного нами ранее [5]. Реакция иодида (VIII) с магнийбромпроизводным защищенного пропаргилового спирта (IX) дает после снятия защиты 2,5,8-тетрадекатрип-1-ол (X). Использование незащищенного пропаргилового спирта приводит к более низкому выходу [6], так как соответствующий реактив Иодича менее растворим в THF, чем приготовленный из производного (IX). Хорошая растворимость магнийбромпроизводного защищенного спирта (IX) позволила снизить температуру реакции с 60–65 до 45–50° С.

Гидрирование ацетиленового спирта (X) в присутствии катализатора Линдлара приводит, после очистки от побочных продуктов гидрирования, к (2Z, 5Z, 8Z)-тетрадекатриен-1-олу (XI).

В качестве аллильного галогенида (III) использовали 1-иод-(2Z, 5Z, 8Z)-тетрадекатриен (IIIa) или 1-бром-(2Z, 5Z, 8Z)-тетрадекатриен (IIIб). Гидроксигруппу замещали на иод в спирте (XI) через соответствующий мезилат с последующей реакцией с иодидом натрия [7], на бром — тетрабромидом углерода в присутствии трифенилфосфина. Конденсация аллильного галогенида (III) с бисмагнийбромпроизводным 5-гексиновой кислоты (IV) привела к (8Z, 11Z, 14Z)-эйкозатриен-5-иновой кислоте (II). Кислоту (II) в присутствии катализатора Линдлара селективно восстанавливали смесью трития и водорода в [5,6-³H]арахидоновую кислоту (I). На основе меченой кислоты (I) осуществлен ферментативный синтез [5,6-³H]простагландинов E₂ (XII) и F_{2α} (XIII).

Структура синтезированных соединений подтверждена данными ИК-, ¹H-, ¹³C-ЯМР-, масс-спектроскопии. Арахидоновая кислота, полученная селективным гидрированием 5,6-дегидроарахидоновой кислоты (II) водородом, по данным ТСХ и ГЖХ, была идентична арахидоновой кислоте, полученной нами ранее [5], а также выделенной из липидов животного происхождения [8].



Синтезы соединений (II), (III), (X) осуществляли в атмосфере сухого аргона. Для ТСХ соединений (I), (II), (X), (XI) применяли силуфол UV-254 в системе гексан — этилацетат, 2 : 1 (обнаружение — фосфорномолибденовой кислотой). Колончатую хроматографию проводили на силикагеле 40/100 мкм (Сhemapol, ЧССР).

ИК-спектры регистрировали на спектрометре Shimadzu IR-435 (Япония) в пленке, спектры ^1H - и ^{13}C -ЯМР — на спектрометре Bruker WM-250 (ФРГ) в CDCl_3 при 250 и 62,5 мГц соответственно с тетраметилсиланом в качестве внутреннего стандарта. ГЖХ осуществляли на хроматографе Chrom-4 (ЧССР) со стальной колонкой (2500×2 мм) с 10% полиэтиленгликольдадецилата на хромосорбе W-AW-DMCS, газ-носитель — гелий (20–30 мл/мин, температура: 130°С для соединений (IV), (VII); 200°С для соединений (II), (XI)). Перед ГЖХ карбоксильные группы превращали в метоксикарбонильные диазومتаном, а гидроксильные группы силилировали смесью гексаметилдисилазан — триметилхлорсилан — пиридин (3:1:3). Масс-спектры регистрировали на хроматомасс-спектрометре LKB-2091 при энергии ионизирующих электронов 22,5 эВ и прямом вводе в ионный источник при 90°С. Радиоактивность меченых соединений измеряли на счетчике Mark II (Nuclear Chicago, США) в диоксановом сцинтиллаторе.

1-Хлор-4-пентин (VI) получали по методу [9] реакцией комплекса ацетиленид лития — этилендиамин с 1-бром-3-хлорпропаном (V). Выход 72%, т. кип. 114–116°С/1013 гПа, n_D^{20} 1,4442. ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3310 ($\text{HC}\equiv\text{C}$), 710 (CCl). Спектр ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 1,96 (м, 2H, CH_2CCl), 2,01 (т, 1H, $\text{HC}\equiv\text{C}$), 2,41 (м, 2H, $\text{C}\equiv\text{CCH}_2$), 3,62 (т, 2H, CH_2Cl).

1-Циан-4-пентин (VII). а) К суспензии 5,0 г цианида натрия в 70 мл сухого THF добавляли 10,0 г 1-хлор-4-пентина (VI) и 2,0 г дициклогексил-18-краун-6, перемешивали 8 ч при 60°С, отфильтровывали от осадка, фильтрат промывали водой, сушили CaCl_2 , растворитель упаривали, остаток перегоняли. Выход 7,1 г (77%), т. кип. 60–62°С/13 гПа, n_D^{20} 1,4403. ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3295 ($\text{HC}\equiv\text{C}$), 2220 ($\text{C}\equiv\text{N}$).

б) К раствору 6,0 г цианида натрия в 80 мл диметилсульфоксида, нагретому до 90°С, в течение 30 мин добавляли 9,0 г 1-хлор-4-пентина (VI). Реакционную массу охлаждали до 10°С, разбавляли до 500 мл водой, экстрагировали эфиром, сушили CaCl_2 , растворитель упаривали, остаток перегоняли. Выход 6,6 г (71%). Образцы, синтезированные по методам а и б, идентичны по спектральным данным.

5-Гексиновая кислота (IV). 1-Циан-4-пентин (VII) подвергали щелочному омылению по методике [6]. Выход кислоты (IV) 92%, т. кип. 94–96°С/7 гПа, n_D^{20} 1,4494. ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3600–2400, 1715 (COOH), 3305 ($\text{HC}\equiv\text{C}$). Спектр ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 1,77 (м, 2H, CH_2CCOO), 1,95 (т, 1H, $\text{HC}\equiv\text{C}$), 2,10 (м, 2H, $\text{C}\equiv\text{CCH}_2$), 2,37 (т, 2H, CH_2CCOO). Спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м.д.): C1 180,90; C2 24,14; C3 33,47; C4 18,64; C5 83,75; C6 70,65.

2-(1-Пропин-3-окси)тетрагидрофуран (IX). 10,0 г пропаргилового спирта за 15 мин при 10°С добавляли к 12,5 г 2,3-дигидрофурана в присутствии 0,04 г *n*-толуолсульфокислоты, перемешивали 1 ч при 20°С, промывали водой до pH 7, водный слой экстрагировали эфиром. Объединенные экстракты сушили Na_2SO_4 , эфир удаляли, остаток перегоняли. Выход 21,1 г (94%), т. кип. 61–63°С/13 гПа, n_D^{20} 1,4485. ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3295 ($\text{HC}\equiv\text{C}$), 1120, 1082, 1040 (OCHO , O-THF). Спектр ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 2,30 (т, 1H, $\text{HC}\equiv\text{C}$), 4,25 (т, 2H, $\text{C}\equiv\text{CCH}_2\text{O}$), 5,35 (т, 1H, OCHO), 1,92; 2,01; 3,88 (м, 6H, $(\text{CH}_2)_3\text{OCO}$).

2,5,8-Тетрадекатриин-1-ол (X). К реактиву Иоича, приготовленному из 2,0 г магния, 8,0 г этилбромид и 12,5 г ацетата (IX) в 50 мл THF, добавляли 0,1 г хлорида меди (I) и 4,4 г 1-иод-2,5-ундекадина (VIII) в 10 мл THF. Реакционную массу перемешивали 12 ч при 45°С, THF упаривали, к остатку добавляли 20 мл насыщенного водного NH_4Cl и 30 мл эфира. Массу отфильтровывали, экстрагировали эфиром, экстракт сушили Na_2SO_4 , упаривали, к остатку добавляли 0,3 *n*-толуолсульфокислоты в 50 мл метанола, перемешивали 1 ч при 20°С, промывали водой до pH 7, экстрагировали эфиром, экстракт упаривали, остаток очищали на колонке с силикагелем в системе эфир — гексан, 1 : 5. Выход 1,9 г (58%), т. пл. 28–29°С. Спектр ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 0,90 (т, 3H, CH_3), 1,30 (м, 6H,

CH_2), 2,11 (т, 2Н, $\text{C}=\text{CCH}_2$), 3,12 (м, 4Н, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{C}=\text{C}$), 4,28 (т, 2Н, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{O}$), 5,17 (с, 1Н, ОН).

(2Z, 5Z, 8Z)-Тетрадекатриен-1-ол (XI). 0,48 г спирта (X) в 25 мл абс. метанола гидрировали над 0,35 г катализатора Линдлара. За 45 мин поглотилось 119 мл водорода (теоретическое количество 126 мл). Катализатор отфильтровывали, растворитель упаривали, остаток очищали на колонке с силикагелем в системе гексан — этилацетат, 4 : 1. Выход 0,40 г (82%), n_D^{20} 1,4762. ИК спектр (ν , см^{-1}): 3400 (ОН), 1650, 1460, 805 (*цис*- $\text{CH}=\text{CH}$). Спектр ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 0,92 (т, 3Н, CH_3), 1,30 (м, 6Н, CH_2), 2,02 (т, 2Н, $\text{C}=\text{CCH}_2$), 2,80 (м, 4Н, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{C}=\text{C}$), 4,30 (т, 2Н, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{O}$), 5,38 (м, 6Н, $\text{CH}=\text{CH}$, J 5 Гц).

1-Иод-(2Z, 5Z, 8Z)-тетрадекатриен (IIIa) получали по методу [7] реакцией мезилата (2Z, 5Z, 8Z)-тетрадекатриен-1-ола с иодидом натрия. Выход 88%, n_D^{20} 1,5413.

1-Бром-(2Z, 5Z, 8Z)-тетрадекатриен (IIIб). К раствору 0,40 г триснола (XI) и 0,83 г тетрабромид углерода в 5 мл ацетонитрила при перемешивании добавляли порциями 0,47 г трифенилфосфина за 30 мин. Растворитель удаляли, продукт извлекали гексаном. Гексановый раствор выдерживали 30 мин при 0° С, отфильтровывали трифенилфосфин, растворитель упаривали, остаток пропускали через слой силикагеля в гексане, растворитель упаривали. Выход 85%, n_D^{20} 1,5123.

(8Z, 11Z, 14Z)-Эйкозатриен-5-иновая кислота (II). К реактиву Иодича, приготовленному из 0,14 г магния, 0,64 г этилбромид и 0,33 г 5-гексиновой кислоты (IV) в 10 мл THF добавляли 0,05 г цианида меди(I) и 0,48 г 1-иод-(2Z, 5Z, 8Z)-тетрадекатриена (IIIa) в 3 мл THF. Реакционную массу перемешивали 20 ч при 50° С, разлагали 20 мл 2 н. H_2SO_4 , экстрагировали эфиром, экстракт промывали раствором NH_4Cl , высушивали Na_2SO_4 , растворитель упаривали, остаток очищали на колонке с силикагелем в системе гексан — этилацетат, 3 : 1. Выход 0,17 г (38%), n_D^{20} 1,4971. ИК-спектр (ν , см^{-1}): 1705 (COOH), 1320 ($\text{C}=\text{CCH}_2$), 1430, 720 (*цис*- $\text{CH}=\text{CH}$). Спектр ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 0,81 (т, 3Н, CH_3), 1,30 (м, 6Н, CH_2), 1,82 (т, 2Н, $\text{C}=\text{CCH}_2$), 2,00 (м, 2Н, $\text{C}=\text{CCH}_2$), 2,36 (м, 2Н, CH_2COO), 2,50 (м, 2Н, CH_2COO), 2,82 (м, 2Н, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{C}=\text{C}$), 2,94 (м, 4Н, $\text{C}=\text{CCH}_2\text{C}=\text{C}$), 5,44 (м, 6Н, $\text{CH}=\text{CH}$, J 4 Гц). Спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м.д.): C1 180,08; C2 34,02; C3 33,01; C4 24,80; C5 89,63; C6 77,26; C7 24,19; C8 129,51; C9 128,50; C10 19,21; C11 128,21; C12 128,50; C13 18,73; C14 127,80; C15 130,45; C16 22,31; C17 32,32; C18 33,41; C19 15,24; C20 8,84. Масс-спектр (прямой ввод при 90° С), m/z (%): 303 (16) (M^{++1}), 285 (4) ($M^{++1}-\text{H}_2\text{O}$), 232 (11) ($M^{++1}-\text{C}_5\text{H}_{11}$), 214 (21) ($M^{++1}-\text{C}_5\text{H}_{11}-\text{H}_2\text{O}$).

[5,6- ^3H]Арахидоновая кислота (I). 0,05 г (8Z, 11Z, 14Z)-эйкозатриен-5-иновой кислоты (II) гидрировали по методике [10] смесью трития и водорода (12 ГБк/л). Остаток превращали в метиловый эфир, очищали колоночной хроматографией и подвергали щелочному омылению, как описано нами ранее [5]. Выход 42 мг (81%), молярная активность 151 ГБк/моль.

[5,6- ^3H]Простагландин E_2 (XII). Получали по методу [5], исходя из 62 мг [5,6- ^3H]арахидоновой кислоты (I). Выход 27 мг, молярная активность 107 ГБк/моль.

[5,6- ^3H]Простагландин $F_{2\alpha}$ (XIII). Получали по методу [5], исходя из 11 мг [5,6- ^3H]арахидоновой кислоты (I). Выход 24 мг, молярная активность 96 ГБк/моль.

Авторы выражают благодарность А. В. Шипкову (Институт химической физики АН СССР) за помощь при выполнении работ, связанных с получением и выделением радиоактивных соединений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мягкова Г. И., Белослудцев Ю. Ю., Демин П. М., Якушева Л. А., Евстигнеева Р. П. Биоорг. химия, 1985, т. 11, № 12, с. 1693—1694.
2. Corey E. J., Murnoe J. E. J. Amer. Chem. Soc., 1982, v. 104, № 6, p. 1752—1754.
3. Smiley R. A., Arnold C. J. Org. Chem., 1960, v. 25, № 2, p. 257—258.

4. *Friedman L., Schechter H.* J. Org. Chem., 1960, v. 25, № 6, p. 377-879.
5. *Мягкова Г. И., Якушева Л. А., Бордюкова О. О., Шарская В. Б., Евстигнеева Р. П.* Биоорган. химия, 1982, т. 8, № 2, с. 255-260.
6. *Пятнова Ю. Б., Ковтун И. А., Плешаков М. Г., Краевский А. А., Сарычева И. К., Преображенский П. А.* Журн. общ. химии, 1962, т. 32, № 1, с. 138-139.
7. *Wallat S., Kanao W.-H.* Chem. Phys. Lipids, 1974, v. 13, № 2, p. 159-163.
8. *Якушева Л. А., Мягкова Г. И., Сарычева И. К., Евстигнеева Р. П.* Химия природ. соединений, 1984, № 2, с. 233-241.
9. *Smith W. W., Beutel O. F.* Synthesis, 1974, № 6, p. 441-442.
10. *Якушева Л. А., Мягкова Г. И., Бордюкова О. О., Евстигнеева Р. П.* Биоорган. химия, 1982, т. 8, № 3, с. 422-428.

Поступила в редакцию
13.VI.1986

**SYNTHESIS OF 8Z, 11Z, 14Z-EICOSATRIENE-5-YNOIC
(5,6-DEHYDROARACHIDONIC) ACID AND ITS TRANSFORMATION
INTO [5, 6-³H] ARACHIDONIC ACID, [5, 6-³H] PGE₂ AND [5, 6-³H] PGF_{2α}**

MYAGKOVA G. I., DEMIN P. M., BELOSLUDTSEV Yu. Yu.,
ZABOLOTSKY D. A., EVSTIGNEEVA R. P.

M. V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technology, Moscow

8Z,11Z,14Z-Eicosatriene-5-ynoic acid and its tritium-labelled analogue, [5,6-³H]arachidonic acid, have been synthesized on the basis of acetylenic compounds. [5,6-³H]Arachidonic acid has been used as substrate for the enzymatic synthesis of [5,6-³H]PGE₂ and [5,6-³H]PGF_{2α}.