



УДК 547.392.2 + 577.152.113*111.2.042

© 1991 г.

*Д. А. Заболотский, Г. И. Мякова***СИНТЕЗ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ ЛИПОКСИГЕНАЗ ИЗ
РИЦИНОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ***Московский институт тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова*

Исходя из метилового эфира (9Z)-12-гидроксиоктадецен-9-овой (рицинолевой) кислоты синтезирован ряд потенциальных ингибиторов липоксигеназ: метиловые эфиры 8-(5'-гексил-2'-фурил)октановой кислоты, (9Z)-12-азидооктадецен-9-овой кислоты и (9Z)-12-метоксикарбонил-октадецен-9-овой кислоты для их последующего исследования в качестве суицидальных субстратов липоксигеназ.

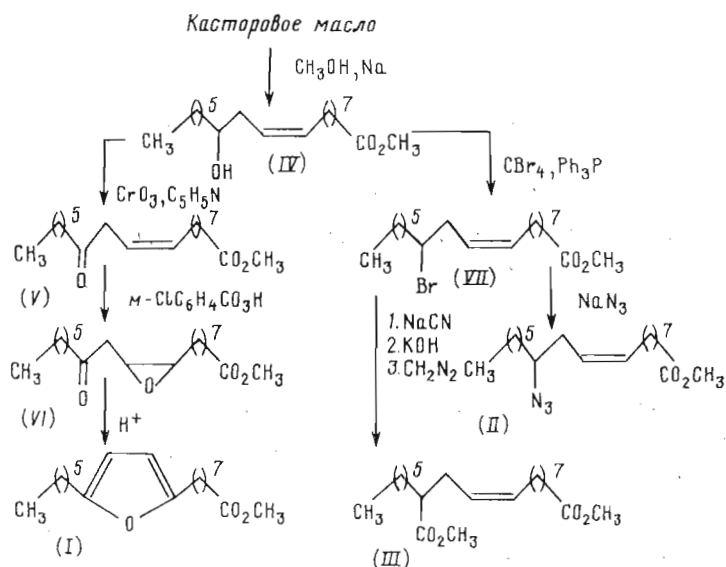
Изучение процесса липоксигеназной трансформации полиненасыщенных кислот: арахидоновой ((5Z, 8Z, 11Z, 14Z)-эйкозатетраен-5,8,11,14-овой), дигомо-γ-линоленовой ((8Z, 11Z, 14Z)-эйкозатриен-8,11,14-овой) и тимнодоновой ((5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-эйкозапентаен-5,8,11,14,17-овой), — приводящего к образованию низкомолекулярных биорегуляторов липидной природы — эйкозаноидов (лейкотриенов, липоксинов, гепоксилинов и др.), представляет значительный интерес как для установления его детального механизма, так и в связи с необходимостью создания новых антилипоксигеназных противовоспалительных и противоаллергических препаратов — ингибиторов липоксигеназ [1, 2]. Распространенным подходом в данных исследованиях является использование линолевой ((9Z, 12Z)-октадекадиен-9,12-овой) кислоты, ее аналогов и производных [1—7] в качестве простейших субстратов липоксигеназ, что связано с наличием в ее структуре одного центра первичной атаки фермента и обусловленной этим большей простотой интерпретации результатов.

Нами осуществлен синтез трех потенциальных ингибиторов липоксигеназ: метилового эфира 8-(5'-гексил-2'-фурил)октановой кислоты (I), метилового эфира (9Z)-12-азидооктадецен-9-овой кислоты (II) и (9Z)-12-метоксикарбонил-октадецен-9-овой кислоты (III) с целью их исследования в качестве ингибиторов липоксигеназ.

Химическая природа синтезированных ингибиторов отражает целенаправленную модификацию (9Z, 12Z)-пентадиен-9,12-овой структуры линолевой кислоты. Так, фурановая жирная кислота (I) является изомером 7-(5'-пентил-2'-фурил)нонановой кислоты — искусственного субстрата 15-липоксигеназы [4], а также аналогом обнаруженных у ряда морских рыб, моллюсков [5] и некоторых растений [6] фурановых жирных кислот, выполняющих, по-видимому, энергетическую роль в этих организмах. (9Z)-12-Азидооктадецен-9-овая кислота — агент для биоаффинного мечения липоксигеназ, представляющая также интерес и как необратимый ингибитор 15-липоксигеназы, действующий предположительно путем трансформации азида в бирадикал нитрен в активном центре фермента. По-видимому, существенна и ориентация полиненасыщенных кислот в субстрат-связывающем центре фермента. В связи с этим целесообразно исследовать взаимодействие модифицированных, в частности содержащих две карбоксильные группы, ненасыщенных субстратов с липоксигеназой*.

* Установлено [8], что и карбокси-, и ω-CH₃-группы выполняют роль сигнальных участков, определяющих положение ферментативной атаки в связанном субстрате в соответствии с позиционной специфичностью конкретного фермента.

В качестве исходного соединения в синтезе ингибиторов (I)—(III) была выбрана рицинолевая ((9Z)-12-гидроксиоктадецен-9-овая) кислота в виде ее метилового эфира (IV):



Метилловый эфир рицинолевой кислоты (IV) получали переэтерификацией касторового масла, катализируемой метилатом натрия. Последующее окисление по Коллинзу до метилового эфира (9Z)-12-оксооктадецен-9-овой кислоты (V), эпексидирование в метилловый эфир 9,10-эпоксид-12-оксооктадекановой кислоты (VI) и циклизация в присутствии следовых количеств соляной кислоты приводили к метилловому эфиру 8-(5'-гексил-2'-фурил)октановой кислоты (I). Синтез метилового эфира азидокислоты (II) осуществлялся через эфир (9Z)-12-бромоектадецен-9-овой кислоты (VII) замещением брома в соединении (VII) действием азидата натрия в диметилформамиде.

Аналогичным образом замещение брома в эфире кислоты (VII) дианидом натрия в диметилсульфоксиде с последующим щелочным омылением образующегося нитрила и этерификацией диазотетаном карбоксильных группировок позволили получить метилловый эфир (9Z)-12-метокси-карбонилектадецен-9-овой кислоты (III).

Предложенная схема синтеза соединений (I)—(III) достаточно проста и предпочтительнее полного химического синтеза из-за малого числа стадий и доступности исходного сырья [9, 10].

Эфиры фурановой кислоты (I) и 12-азидокислоты (II) были исследованы в качестве ингибиторов 15-липоексигеназы соевых бобов и 5-липоексигеназы лейкоцитов человека. Метилловый эфир 8-(5'-гексил-2'-фурил)октановой кислоты (I) проявил свойства необратимого ингибитора 15-липоексигеназы соевых бобов, причем его активность была на 3 порядка выше в анаэробных условиях (IC_{50} : 100 и 0,5 мкМ соответственно). Соединение (I) также ингибировало 5-липоексигеназу в культуре лейкоцитов человека.

12-Азидокислота (II) проявляла активность ингибитора 15-липоексигеназы соевых бобов и ретикулоцитов. Результаты биохимических испытаний соединений (I)—(III) будут опубликованы отдельно.

Экспериментальная часть

Синтез соединений (III), (V)—(VII) проводили в сухом хлористом метиле. ТСХ осуществляли на силуфолу UV-254 в системе эфир — гексан, 1 : 2. Вещества обнаруживали опрыскиванием хроматограммы 2% спиртовым раствором фосфорно-молибденовой кислоты с последующим нагреванием при 100—120° С. ИК-спектры регистрировали на спектро-

метре Shimadzu IR-435 в пленке. УФ-спектры регистрировали на приборе Shimadzu UV-2100. ПМР-спектры снимали на приборе Bruker WM-250 в CDCl_3 с тетраметилсиланом в качестве внутреннего стандарта при 250 МГц. Масс-спектры регистрировали на хроматомасс-спектрометре Hewlett Packard 5995 A при энергии ионизирующих электронов 22,5 эВ и прямом вводе в источник. ВЭЖХ соединений (I), (II), (V), (VII) проводили на приборе Hewlett Packard с колонкой RP C_{18} при скорости элюента 1 мл/мин, детекция на длине волны 220 (I) и 210 нм (II, V). Соединения (I), (II), (VII) элюировали системой метанол — вода, 90 : 10, соединение (V) — системой метанол — вода, 85 : 15.

Метиловый эфир (9Z)-12-гидроксиоктадецен-9-овой кислоты (IV). К раствору 10,0 г касторового масла в 80 мл метанола добавляли 0,02 г (0,8 ммоль) натрия. Реакционную массу перемешивали 1 ч при 64° С, промывали 100 мл воды, экстрагировали эфиром. Экстракт высушивали Na_2SO_4 , растворитель упаривали, остаток очищали на колонке с силикагелем L 40/100 мкм, элюент — эфир — гексан, 1 : 2. Получили 7,5 г (89,0%) эфира (IV), т. кип. 130—133° С (0,05 мм рт.ст.). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3571 (ОН), 1740 (CO_2CH_3).

Метиловый эфир (9Z)-12-оксооктадецен-9-овой кислоты (V). К реактиву Коллинза, приготовленному из 0,96 г (9,6 ммоль) оксида хрома (VI) и 1,6 г (20,0 ммоль) пиридина в 10 мл хлористого метилена, добавляли 0,5 г (1,6 ммоль) метилового эфира рицинолевой кислоты при 0° С. Реакционную массу выдерживали 2 ч при 20° С, обрабатывали 5% соляной кислотой, экстрагировали эфиром, экстракт высушивали Na_2SO_4 , растворитель упаривали. Остаток очищали на колонке с силикагелем L 40/100 мкм, элюент — эфир — гексан, 1 : 4. Получили 0,45 г (90,1%) эфира (V), т. кип. 145° С (0,05 мм рт.ст.). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 1810 (CH_2COCH_2), 1740 (CO_2CH_3). ПМР-спектр (δ , м.д.): 5,3 (м, 2H, H-9 + H-10, J 5,1 Гц), 3,65 (с, 3H, CO_2CH_3), 3,13 (д, 2H, H-11), 2,40 (м, 2H, H-8), 2,30 (т, 2H, H-2), 0,89 (т, 3H, H-18). Масс-спектр, прямой ввод при 140° С, m/z (I , %): 310 (1,16) (M^+), 279 (2,11), ($M^+ - \text{OCH}_3$), 153 (5,03) ($M^+ - (\text{CH}_2)_7\text{CO}_2\text{CH}_3$), 125 (1,67) ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{COCH}_2^+$), 113 (97,38) ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CO}^+$).

Метиловый эфир 8-(5'-гексил-2'-фурил)октановой кислоты (I). К раствору 0,1 г (3,3 ммоль) метилового эфира кетокислоты (V) в 5 мл хлористого метилена добавляли 0,72 г (7,2 ммоль) KHCO_3 и 0,12 г (6,9 ммоль) *m*-хлорнадбензойной кислоты. Реакционную массу перемешивали 1,5 ч при 20° С, промывали 10% раствором KHCO_3 , экстрагировали хлороформом, экстракт высушивали Na_2SO_4 , растворитель отгоняли. Упаренный экстракт без дальнейшей очистки растворяли в 10 мл хлороформа, добавляли 0,01 г (0,08 ммоль) хлористого тионила. Реакционную массу перемешивали 2 ч при 65° С. Растворитель отгоняли, остаток очищали на колонке с силикагелем L 40/100 мкм, элюент — эфир — гексан, 2 : 3. Получили 0,15 г (85,1%) эфира (I), т. кип. 150—151° С (0,05 мм рт.ст.). УФ-спектр (λ_{max} , нм): 220 (в метаноле). ПМР-спектр (δ , м.д.): 5,86 (с, 2H-фурильные протоны), 3,68 (с, 3H, CO_2CH_3), 2,6 (т, 4H, H-8 + H-13, J 6 Гц), 2,32 (т, 2H, H-2, J 7 Гц). Масс-спектр, m/z (I , %), прямой ввод при 150° С: 308 (10, 11) (M^+), 277 (4,52) ($M^+ - \text{OCH}_3$), 237 (9,57) ($M^+ - (\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$), 165 (100) ($M^+ - (\text{CH}_2)_6\text{CO}_2\text{CH}_3$), 81,05 (35,51) ($\text{C}_4\text{H}_5\text{O}^+$).

Метиловый эфир (9Z)-12-бромooksадецен-9-овой кислоты (VII). К раствору 0,528 г (1,5 ммоль) тетрабромиды углерода и 0,3 г (1,0 ммоль) метилового эфира рицинолевой кислоты (IV) в 8 мл хлористого метилена добавляли 0,340 г (1,5 ммоль) трифенилфосфина в 2 мл хлористого метилена при 20° С. Реакционную массу выдерживали 1 ч при 20° С, обрабатывали 1 мл метанола, растворитель отгоняли, остаток хроматографировали на колонке с силикагелем L 40/100 мкм, элюент — эфир — гексан, 1 : 5. Получили 0,31 г (84,60%) эфира (VII). ПМР-спектр (C_6D_6 , δ , м.д.): 5,45 (м, 2H, H-9 + H-10, J 5,8 Гц), 4,00 (тт, 1H, H-12, 6,5 и 6,5 Гц), 3,66 (с, 3H, CO_2CH_3), 2,59 (дт, 2H, H-13, J 6,5 Гц), 2,28 (т, 2H, H-2, J 7,6 Гц), 2,05 (м, 2H, H-8), 1,78 (дд, 2H, H-11, J 6,5 Гц), 1,67 (м, 4H, H-3 + H-4), 1,28 (м, 14H, H-5 + H-6 + H-7 + H-14 +

H-15 + H-16 + H-17), 0,86 (т, 3H, H-18). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 1720 (CO_2CH_3), 707 (CBr).

Метилвый эфир (9Z)-12-азидооктадецен-9-овой кислоты (II). К 0,069 г (0,9 ммоль) NaN_3 в 5 мл диметилформамида добавляли 0,320 г (0,85 ммоль) метилового эфира бромокислоты (VII) в 1 мл диметилформамида. Реакционную массу перемешивали при 95–100° С, промывали 10 мл воды, водный слой экстрагировали эфиром, экстракт высушивали Na_2SO_4 , растворитель отгоняли. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем L 40/100 мкм, элюент — эфир — гексан, 1 : 5. Получили 0,16 г (59,0%) эфира (II). Индивидуальность вещества по ВЭЖХ 98,1%. ИК-спектр (ν , см^{-1}): 2100 (C—N₃), 1723 (CO_2CH_3).

Метилвый эфир (9Z)-12-метоксикарбониллоктадецен-9-овой кислоты (III). К 0,052 г (1,0 ммоль) NaCN в 4 мл диметилсульфоксида добавляли 0,320 г (0,85 ммоль) метилового эфира бромокислоты (VII) в 0,5 мл диметилсульфоксида. Реакционную массу перемешивали 1 ч при 95–100° С, промывали 10 мл воды, водный слой экстрагировали эфиром, экстракт высушивали Na_2SO_4 , растворитель отгоняли. Остаток добавляли к 5 мл 20% раствора KOH , выдерживали 2 ч при 90–100° С. Реакционную смесь обрабатывали 4 мл 20% H_2SO_4 , экстрагировали эфиром, экстракт высушивали Na_2SO_4 , растворитель отгоняли, добавляли 1 мл эфирного раствора диазометана, растворитель отгоняли, остаток хроматографировали на колонке с силикагелем L 40/100 мкм, элюент — эфир — гексан, 1 : 2. Получили 0,14 г (60,1%) эфира (III). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 1725 (CO_2CH_3). ПМР-спектр (δ , м.д.): 5,56 (м, 2H, H-9 + H-10, J 5,0 Гц), 3,67 (с, 3H, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$), 3,50 (с, 3H, $-\text{CHCO}_2\text{CH}_3$), 2,45 (дт, 2H, H-13), 2,30 (т, 2H, H-2, J 7,1 Гц), 2,05 (м, 2H, H-8).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Schewe T., Rapoport S. M., Kühn H. // Adv. Enzymol. 1986. V. 58. P. 192–272.
2. Заболотский Д. А., Мягкова Г. И., Евстигнеева Р. П. / Успехи химии. 1990. Т. 59. № 5. С. 827–861.
3. Gardner H. W. // Biochim. et biophys. acta. 1989. V. 1001. № 3. P. 274–281.
4. Boyer R. F., Litts D., Kostishak J. // Chem. Phys. Lipids. 1979. V. 25. № 3. P. 237–246.
5. Glass R. L., Krick T. P., Sand P. M. // Lipids. 1975. V. 10. № 11. P. 695–702.
6. Hanneman K., Puchta V., Simon E., Ziegler H. // Lipids. 1989. V. 24. P. 296–298.
7. Funk M. O., Altender A. W. // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1983. V. 114. № 3. P. 937–947.
8. Kühn H., Sprecher H., Brash A. R. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. № 27. P. 16300–16305.
9. Jie M. S., Lieken F., Lam C. H. // Chem. Phys. Lipids. 1977. V. 20. № 1. P. 1–12.
10. Alaiz M., Hidalgo F. J., Zamora R. // Chem. Phys. Lipids. 1988. V. 48. № 4. P. 289–292.

Поступила в редакцию
6.XII.1990

D. A. ZABOLOTSKY, G. I. MYAGKOVA

SYNTHESIS OF POTENTIAL LIPOXYGENASE INHIBITORS FROM RICINOLEIC ACID

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

Several potential lipoxygenase inhibitors have been synthesized from (9Z)-12-hydroxyoctadecen-9-oic (ricinoleic) acid methyl ester: methyl 8-(5'-hexyl-2'-furyl)octanoate, methyl (9Z)-12-azido-octadecen-9-oate, methyl (9Z)-12-methoxycarbonyloctadecen-9-oate to be studied as suicidal substrates.