



УДК 577.182.54'17

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АНТРАЦИКЛИНОВЫХ АНТИБИОТИКОВ С N,O-БИС(ТРИМЕТИЛСИЛИЛ)ТРИФТОРАЦЕТАМИДОМ

© 1995 г. М. Н. Преображенская*, Ван Шаожао, Э. И. Лажко, А. М. Королев, Л. С. Поваров

Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков РАМН, 119867, Москва, Б. Пироговская, д. 11

Поступила в редакцию 11.01.95 г.

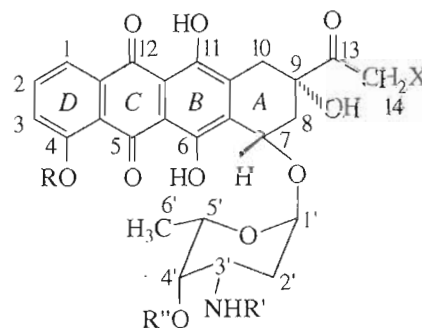
При взаимодействии антрациклиновых антибиотиков – даунорубина, доксорубина, карминомицина и их полусинтетических производных 3'-N-трифторацетилдаунорубина и 3'-N-фенилтиокарбамоилдаунорубина с N,O-бис(триметилсилил)трифторацетамидом после обработки раствором NH₄Cl получены соответствующие 4'-O-триметилсилилпроизводные, относительно стабильные в нейтральных условиях и представляющие интерес как липофильные производные антибиотиков нового типа. В случае даунорубина обработка реакционной смеси метанольным раствором HCl дает N-трифторацетилдаунорубин с выходом 57%.

Ключевые слова: антрациклиновые антибиотики, силилирование, трифторацетилирование.

Антрациклиновые антибиотики играют ключевую роль в химиотерапии опухолевых заболеваний и представляют собой один из наиболее интенсивно изучаемых классов противоопухолевых веществ [1]. Поиск новых противоопухолевых соединений в этой области направлен на создание производных, обладающих меньшей кардиотоксичностью или иными благоприятными фармакологическими характеристиками и действующих на опухоли, резистентные к применяемым в клинике антибиотикам, в том числе на опухоли с множественной лекарственной устойчивостью.

В рамках нашей программы по созданию антрациклиновых препаратов нового поколения мы изучали силильные производные антрациклиновых антибиотиков, которые представляют интерес как ценные промежуточные вещества для синтеза модифицированных антибиотиков и, кроме того, как липофильные пролекарства (prodrugs) нового типа. Взаимодействие оснований даунорубина (Ia), доксорубина (IIa) или карминомицина (IIIa) с N,O-бис(триметилсилил)трифторацетамидом (BSTFA) в ацетонитриле или хлороформе приводит к неполярным соединениям, неустойчивым в присутствии влаги; по-видимому, они содержат несколько O-триметилсилильных групп. После обработки этих соединений водой и насыщенным раствором NH₄Cl с помощью хроматографии на силикагеле удается выделить относительно стабильные 4'-O-триметил-

силлильные производные (Iб), (IIб) и (IIIб) с выходами 56, 54 и 85% соответственно. Аналогичным образом из 3'-N-трифторацетилдаунорубина (IVa) [2] и 3'-N-фенилтиокарбамоилдаунорубина (Va) [3] получены 4'-O-триметилсилильные производные (IVб) и (Vб) с выходами 66 - 76% соответственно.



	R	X	R'	R''
(Ia, б)	CH ₃	H	H	H для (а)
(IIa, б)	CH ₃	OH	H	SiMe ₃ для (б)
(IIIa, б)	H	H	H	
(IVa, б)	CH ₃	H	COCF ₃	
(Va, б)	CH ₃	H	CSNHPh	

Обработка реакционной смеси Bu₄NF (0.5 - 1% раствор в 10% водном метаноле) приводит к сложной смеси триметилсилильных производных. Попытка провести деблокирование силилированного производного (Iб) действием кислоты (0.5% HCl - MeOH, 1 : 5) сопровождается гидролизом гликозидной связи. Удаётся выделить лишь

Сокращения: BSTFA – N,O-бис(триметилсилил)трифторацетамид.

* Автор для переписки.

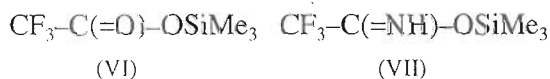
Параметры спектров ¹H-ЯМР соединений (Iб) - (VIIIб) (δ, м. д.)*

Соединение	Протоны агликона										Протоны углеводного остатка							
	1	2	3	7	8 _a	8 _e	10 _a	10 _e	14	4-OCH ₃	1'	2' _a	2' _e	3'	4'	5'	5'-CH ₃	SiMe ₃
(Iб)	7.62	7.62	7.32	4.92	2.01	2.25	2.70	2.88	2.36	3.90	5.32	1.80	1.80	3.10	3.72	4.20	1.26	0.23
(IIб)	7.60	7.63	7.32	4.70	2.02	2.28	2.68	2.90	4.85	3.90	5.30	1.75	1.75	3.04	3.72	4.14	1.22	0.23
(IIIб)	7.75	7.63	7.23	5.18	2.03	2.35	2.91	3.15	2.39	—	5.42	1.70	1.80	3.00	3.62	4.05	1.23	0.18
(IVб)	8.00	7.76	7.37	5.24	2.11	2.31	2.93	3.21	2.40	4.06	5.52	1.75	1.99	4.20	3.78	4.12	1.23	0.16
(Vб)	8.02	7.76	7.40	5.26	2.09	2.33	2.52	3.23	2.42	4.07	5.51	1.79	1.86	4.73	3.94	4.12	1.18	0.09
(VIIIб)	8.00	7.78	7.38	5.44	2.03	2.20	2.85	3.23	2.41	4.07	—	—	—	—	—	—	—	0.22

* Спектры соединений (Iб), (IIб) сняты в CD₃OD, остальных — в CCl₄.

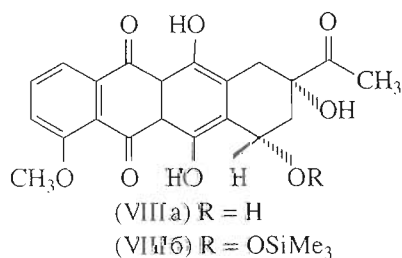
доксорубицинон, идентифицированный сравнением с заведомым образцом методами ТСХ и ВЭЖХ.

Неожиданно при силилировании даунорубицина (Iа) после отгонки BSTFA от реакционной смеси и обработки сухого остатка метанольным или водно-метанольным HCl был выделен N-трифторацетилдаунорубицин (IVа) с выходом 57%. Можно предположить, что образование N-трифторацетилдаунорубицина проходит с участием образовавшегося из BSTFA продукта (например, эфира триметилсиланола (VI), иминоэфира (VII) или неизвестного промежуточного O-производного трифторуксусной кислоты и вещества (Iа)).



Взаимодействие даунорубицина (Iа) с BSTFA с последующей обработкой метанольным или водно-метанольным HCl — мягкий и удобный способ получения N-трифторацетильного производного даунорубицина. Интересно, что обработка в тех же условиях персилилированного карминомицина привела к исходному карминомицину (IIIа). Предлагаемый новый метод получения N-трифторацетилдаунорубицина, насколько нам известно, не имеет аналогий. Интересно, что это первый пример различия в химическом поведении даунорубицина и карминомицина в реакциях превращений углеводного остатка.

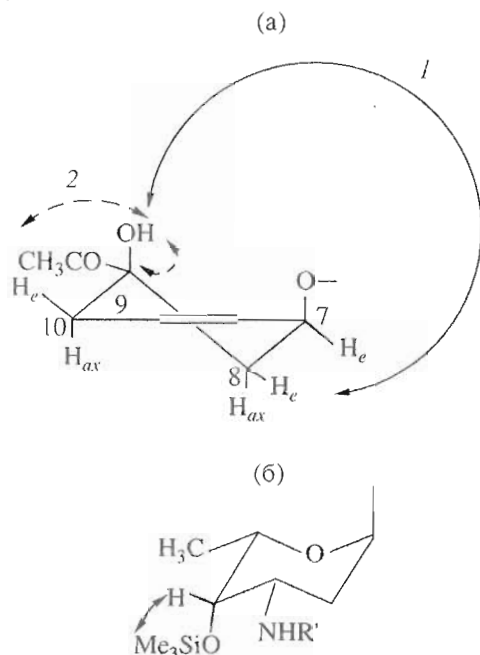
При взаимодействии дауномицинона (VIIIа) с BSTFA и обработки NH₄Cl хроматографически был получен 7-O-триметилсилалдауномицинон (VIIIб) с выходом 85%.



Структура полученных новых соединений была установлена с использованием методов ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. В спектрах ¹H-ЯМР соединений (Iб) - (IIIб) (таблица) присутствуют сигналы протонов только одной триметилсилильной группы. Установление места силилирования показано на примере соединения (IVб). В спектре вещества (IVб) в CCl₄ протоны фенольных групп антрациклина наблюдаются в виде отдельных синглетов (13.93 и 13.23 м. д.), что позволяет использовать метод ядерного эффекта Оверхаузера (ЯЭО) для отнесения протонов гидроксильных групп, находящихся в условиях медленного обмена [4]. Таким образом, определение положения Me₃Si-группы сводится к нахождению сигнала протона незамещенной HO-группы и отнесению его к 4'-ОН-группе углеводного остатка или 9-гидроксилу агликона. Известно, что для доксорубицина (IIа) в DMSO-d₆ сигнал 9-ОН находится при 4.68 м. д., а 4'-ОН — при 5.63 м. д. [5]. Наблюдаемый нами синглет при 4.38 м. д. в соединении (IVб) относится к протону гидроксильной группы, поскольку для него характерно уменьшение интенсивности в эксперименте по измерению ЯЭО при насыщении сигнала одного из фенольных гидроксидов.

В другом эксперименте с использованием ЯЭО было показано, что насыщение сигнала 4'-H приводит к возрастанию интенсивности сигналов Me₃Si-группы и не изменяет интенсивности протона гидроксильной группы при 4.38 м. д. В то же время насыщение сигнала протона 8-H_e, сближенного с 9-ОН_a в силу того, что кольцо А в антрациклиновых антибиотиках находится в конформации полукресла [6], приводит к возрастанию интенсивности сигнала протона гидроксильной группы при 4.38 м. д. Следовательно, последний относится к 9-ОН-группе, а Me₃Si-группа находится в 4'-О-положении.

Независимое отнесение сигнала 9-ОН проведено с помощью селективного INERT-эксперимента [7], в котором перенос поляризации с гидроксильного протона в области 4.38 м. д. приводит к появлению сигналов углерода 14-C (11.98 м. д.) и 9-C



Конформация кольца А агликона (а) и остатка даунозамина (б). Показаны взаимодействия, обнаруживаемые с помощью ядерного эффекта Оверхаузера (1) и селективного переноса поляризации (селективный INEPT) (2).

(76.68 м. д.) (рисунок). Аналогичным образом нами показано, что в соединении (VIIIб) триметилсилильная группа находится в положении 7. Это хорошо согласуется с известными данными о 7-О-гликозилировании антрациклинонов силильным методом [8].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали даунорубицин, доксорубицин и карминомицин, полученные на опытной установке НИИНА РАМН. ТСХ проводили на пластинках на алюминиевой фольге с силикагелем (Dc-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄) фирмы Merck (ФРГ). Для колоночной хроматографии использовали силикагель (Kieselgel 60) фирмы Merck. ВЭЖХ проводили на приборе DuPont 8800 (США) с УФ-детектором, работающим при длине волны 254 нм (колонка Zorbax C₈ (4.6 × 250 мм), скорость потока 1 мл/мин при 37°C, подвижная фаза – смесь ацетонитрил–0.05 М раствор NaH₂PO₄, 55 : 45 (рН 3.0)). Полученные триметилсилильные производные (Iб) – (Vб) и (VIIIб) не содержали примесей исходных веществ по данным ВЭЖХ. ¹H-ЯМР-спектры получены на спектрометре VXR-400 (Varian, США) с рабочей частотой 400 МГц. Масс-спектры сняты на приборе SSQ 710 Finnigan (США) с непосредственным вводом образца в источник (реактивный газ – изобутан; при десорбционной

химической ионизации температура образца 800°C, скорость нагрева образца 64°C/мин).

4'-О-Триметилсилилдаунорубицин (Iб). К раствору 53 мг (0.1 ммоль) даунорубицина (Ia) в 15 мл ацетонитрила прибавляли 1 мл BSTFA, перемешивали 24 ч. Разбавляли реакционную смесь хлороформом (20 мл), промывали водой, насыщенным раствором NH₄Cl и сушили над Na₂SO₄. Упаривали раствор в вакууме и остаток хроматографировали на колонке с силикагелем (15 г, 2.5 × 7 см), используя метод вакуумной флаш-хроматографии. При элюции смесью хлороформ–метанол (20 : 1) получили 34 мг (56%) соединения (Iб). R_f 0.38 (хлороформ–метанол, 15 : 1 (система А)). ВЭЖХ: R_t 3.47 мин.

4'-О-Триметилсилилдоксорубицин (IIб) получен аналогично веществу (Iб) из доксорубицина (IIa), но в этом случае реакция силилирования длилась 48 ч и выход (IIб) составил 54%. R_f 0.23 (А). ВЭЖХ: R_t 3.32 мин. Масс-спектр: 616 [M]⁺, 617 [M + H]⁺; C₃₀H₃₇NO₁₁Si.

4'-О-Триметилсилилкарминомицин (IIIб) получен из карминомицина (IIIa) аналогичным образом, но в этом случае карминомицин (IIIa) нагревали в BSTFA при 50°C в течение 15 ч. После вакуумной флаш-хроматографии на колонке с силикагелем выход (IIIб) составил 85%. R_f 0.36 (А). Масс-спектр: 586 [M + H]⁺; C₂₉H₃₅NO₁₁Si.

3'-N-Трифторацетилдаунорубицин (IVa). К раствору 53 мг (0.1 ммоль) даунорубицина (Ia) в 15 мл сухого хлороформа прибавляли 1 мл BSTFA, перемешивали 24 ч при 20°C, упаривали досуха и прибавляли 20 мл метанола и 4 мл 0.5% HCl, перемешивали 30 мин, контролируя протекание реакции ТСХ (система А). Разбавляли водой (20 мл), экстрагировали хлороформом (20 мл × 3), органический слой сушили над Na₂SO₄. После упаривания в вакууме остаток хроматографировали на колонке с силикагелем в системе хлороформ–метанол (20 : 1) и получили 35 мг (57%) соединения (IVa). По данным ТСХ, ВЭЖХ и ¹H-ЯМР, продукт идентичен заведомому образцу, полученному описанным методом [2].

3'-N-Трифторацетил-4'-О-триметилсилилдаунорубицин (IVб). Раствор 53 мг (0.1 ммоль) соединения (IVa) и 1 мл BSTFA в 20 мл сухого ацетонитрила перемешивали 24 ч, упаривали в вакууме, затем выделяли флаш-хроматографией на колонке с силикагелем (12 г) с элюцией хлороформом. Получили 53 мг (76%) соединения (IVб). R_f 0.67 (хлороформ–ацетон, 10 : 1). Масс-спектр: 695 [M]⁺, 696 [M + H]⁺; C₃₂H₃₆F₃NO₁₁Si.

3'-N-Фенилтиокарбамоил-4'-О-триметилсилилдаунорубицин (Vб) получен аналогично соединению (IVб) с выходом 70%. R_f 0.59 (хлороформ–ацетон, 10 : 1).

7-О-Триметилсиллдауномицинон (VIIIб). К раствору 40 мг (0.01 ммоль) дауномицинона (VIIIа) в 10 мл хлористого метилена прибавляли 0.7 мл BSTFA и перемешивали 18 ч при комнатной температуре. Смесь разбавляли 15 мл CH_2Cl_2 , промывали водой, затем насыщенным раствором NH_4Cl , сушили над Na_2SO_4 , упаривали в вакууме и выделяли флаш-хроматографией в вакууме на колонке с силикагелем в системе циклогексан-хлороформ (8 : 5). Получили 40 мг (85%) соединения (VIIIб). R_f 0.54 (бензол-ацетон, 10 : 1). Масс-спектр: 471 $[M + H]^+$; $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{O}_8\text{Si}$.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Anthracycline and Anthracenedione-based Anticancer Agents / Ed. J.W. Lown. Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo: Elsevier, 1988. P. 571 - 715.

2. Israel M., Potti G.P., Seshardi R. // J. Med. Chem. 1985. V. 28. P. 1223 - 1228.
3. Preobrazhenskaya M.N., Bakina E.V., Povarov L.S., Lazhko E.I., Aleksandrova L.G., Balzarini J., De Clercq E. // J. Antibiot. 1991. V. 44. P. 192 - 199.
4. Neuhaus D., Williamson M.P. // The Nuclear Overhauser Effect in Structural and Conformational Analysis. VCH Publishers Inc., 1989. P. 147.
5. Allman T., Lenkinski R.E. // Can. J. Chem. 1987. V. 65. P. 2405 - 2409.
6. Бакина Е.В., Ярцева И.В., Поваров Л.С., Александрова Л.Г., Тулемисова К.А., Мамонова Л.П., Преображенская М.Н. // Биоорганич. химия. 1989. Т. 15. С. 1423 - 1430.
7. Вах А. // J. Magn. Res. 1983. V. 53. P. 517 - 520.
8. Олсуфьева Е.Н., Бакиновский Л.В., Преображенская М.Н., Де Клерк Э., Бальзарини Я. // Биоорганич. химия. 1991. Т. 17. С. 548 - 555.

Interaction of Anthracycline Antibiotics with *N,O*-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide

M. N. Preobrazhenskaya*, Wang Shaozhao, E. I. Lazhko, A. M. Korolev, and L. S. Povarov

Institute of New Antibiotics, Russian Academy of Medical Sciences, Bol'shaya Pirogovskaya ul. 11, Moscow, 119867 Russia

Abstract – Interaction of anthracycline antibiotics daunorubicin, doxorubicin, and carminomycin and their semisynthetic derivatives 3'-*N*-trifluoroacetyldaunorubicin and 3'-*N*-phenylthiocarbonyldaunorubicin with *N,O*-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide followed by treatment with NH_4Cl led to the corresponding 4'-*O*-trimethylsilyl derivatives. The latter, rather stable in neutral media, are of interest as antibiotic lipophilic derivatives of a novel type. In the case of daunorubicin, the treatment of the reaction mixture with methanolic HCl gave *N*-trifluoroacetyldaunorubicin in a 57% yield.

Key words: anthracycline antibiotics, silylation, trifluoroacetylation.

* To whom correspondence should be addressed.