



УДК 547.514.48

**СИНТЕЗ МЕЧЕННЫХ ТРИТИЕМ
15-ФТОР-15-ДЕЗОКСИПРОСТАГЛАНДИНОВ A_2 , B_2 И $F_{2\alpha}$** *Безуглов В. В., Бергельсон Л. Д.**Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва**Шевченко В. П., Мясоедов Н. Ф.**Институт молекулярной генетики Академии наук СССР, Москва*

С помощью реакции гетерогенного каталитического изотопного обмена с газообразным тритием в растворе синтезированы меченные тритием 15-фтор-15-дезоксипростагландины A_2 , B_2 и $F_{2\alpha}$ и простагландин $F_{2\alpha}$. Установлено, что при указанной обработке тритий включается преимущественно в $C_{(15)}(C_{(16)})-C_{(20)}$ -фрагмент молекулы простагландинов. Показано, что замена гидроксильной группы у $C_{(15)}$ на атом фтора в простагландине $F_{2\alpha}$ резко повышает включение тритиевой метки. Описан новый метод синтеза 15-фтор-15-дезоксипростагландина $F_{2\alpha}$ непосредственно из простагландина $F_{2\alpha}$.

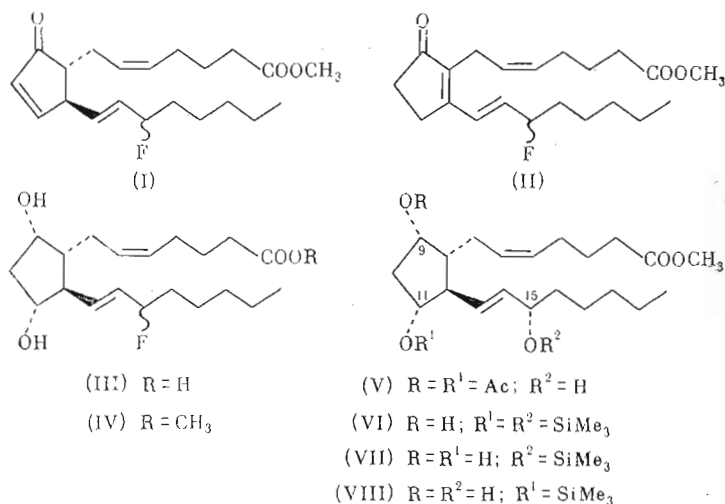
В последнее время появились сообщения о синтезах фторпростагландинов, представителей нового класса биологически активных аналогов простагландинов [1—4]. Обладающие в ряде случаев более избирательным и пролонгированным действием, чем природные простагландины, их фторированные аналоги могут оказаться перспективными для применения в медицине. Однако свойства фторпростагландинов изучены еще недостаточно, а сведения об их метаболизме отсутствуют. Такое положение в значительной степени обусловлено малой доступностью меченых фторпростагландинов. В данной работе мы описываем синтез ряда фторпростагландинов, меченных тритием.

Недавно нами было описано получение меченных тритием полиненасыщенных жирных кислот [5] и простагландинов [6] методом гетерогенного каталитического изотопного обмена с газообразным тритием в растворе в присутствии катализаторов типа катализатора Линдлара. С помощью этой реакции можно получать ненасыщенные соединения с высокой удельной радиоактивностью (100—150 ГБк/ммоль) * без нарушения их природной структуры. Одним из важных преимуществ метода является возможность введения трития на последней стадии синтеза.

Условия получения меченных тритием фторпростагландинов методом изотопного обмена были нами отработаны на примере метиловых эфиров 15-фтор-15-дезоксипростагландинов A_2 (I) и B_2 (II). Наличие во фторпростагландинах (I) и (II) хромофорных групп позволяет следить за возможными изменениями, происходящими в молекулах этих соединений, по

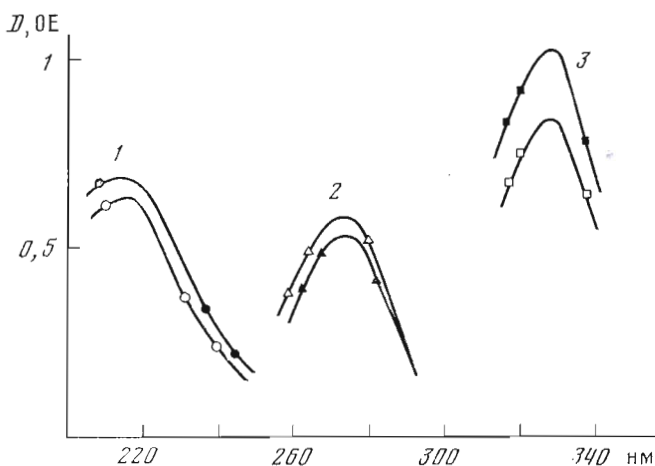
* Бк — Беккерель — 1 распад в секунду.

изменению их спектральных характеристик. Исследование продуктов изотопного обмена, проведенного с 0,1% тритием, показало, что при введении трития над дезактивированным Pd/BaSO₄ [7] сохраняется структура исходного фторпростагландина. УФ-спектры (рисунок) и масс-спектры [4] фторпростагландинов (I) и (II) до и после тритирования были идентичны. Кроме того, о сохранении атома фтора при реакции с тритием свидетельствует тот факт, что спектры поглощения продуктов щелочной изомеризации фторпростагландина (I) и его тритиевого аналога полностью совпадали. В щелочной среде метиловый эфир 15-фтор-15-дезоксипростагландина A₂ (I) претерпевает изомеризацию, но не в метиловый эфир 15-фтор-15-дезоксипростагландина B₂ (II), как можно было бы ожидать на основе поведения в этих условиях природного простагландина A₂ и его метилового эфира, а в метиловый эфир 9-кетопростеновой кислоты, содержащей более длинную цепь сопряжения, чем простагландины типа B, что было бы невозможно после замены атома фтора на тритий или водород. Метиловому эфиру 9-кетопростеновой кислоты соответствует поглощение при 329 нм, тогда как простагландинам типа B — при 278 нм (см. рисунок). Аналогичная кетопростеновая кислота образуется в качестве побочного продукта при превращении простагландина E₂ в простагландин A₂ [8]. Таким образом, полученные результаты показывают, что метод гетерогенного каталитического изотопного обмена с газообразным тритием в растворе можно использовать для синтеза меченых фторпростагландинов.



Мы применили этот метод для синтеза меченного тритием 15-фтор-15-дезоксипростагландина F_{2α} (III) путем изотопного обмена со 100% тритием. При этом на примере метиловых эфиров фторпростагландина F_{2α} (IV) и простагландина F_{2α} проводили сравнение включения метки в молекулы этих соединений, которые различаются лишь замещением у C₍₁₅₎. Реакцию изотопного обмена проводили в приборе, описанном ранее [7]. Удельная радиоактивность меченых метиловых эфиров фторпростагландина F_{2α} (IV) и простагландина F_{2α} составила 92,5 и 2,2 ГБк/ммоль соответственно.

Чем объясняется столь разное поведение этих близких по строению веществ? Очевидно, что для эффективного изотопного обмена необходим непосредственный контакт обменивающихся C—C-групп с поверхностью катализатора. Это условие выполняется при наличии рядом с обменивающимися группами центров с высокой электронной плотностью, например двойных связей. При отсутствии таких центров или невозможности их адсорбции резко уменьшается эффективность изотопного обмена [9], чем,



Спектры поглощения метиловых эфиров 15-фтор-15-дезоксипростагландинов A_2 (I) и B_2 (II). Фторпростагландин A_2 : 1 — метанол, 2 — щелочной метанол; фторпростагландин B_2 : 2 — метанол. Точки на кривых, отмеченные светлыми и темными символами, относятся к веществам соответственно до и после изотопного обмена (0,1% тритий, 3 ч)

по-видимому, и объясняется низким включением метки в метиловый эфир простагландина $F_{2\alpha}$. Об этом свидетельствуют результаты проведенного нами анализа распределения метки в [3H]простагландине $F_{2\alpha}$ и его метиловом эфире*. Установлено, что в этиленовую группу включается менее 5% трития, а основная часть метки (75%) содержится в концевом пятиуглеродном фрагменте алкильной боковой цепи. Вероятно, конформация метилового эфира простагландина $F_{2\alpha}$ препятствует адсорбции на катализаторе двойных связей молекулы, вследствие чего адсорбция осуществляется в основном за счет небольшого участка алкильной боковой цепи, что и делает изотопный обмен малоэффективным.

При переходе к метиловому эфиру фторпростагландин $F_{2\alpha}$ (IV) включение метки было в 40 с лишним раз выше и приближалось к значениям, обычно наблюдаемым для простагландинов других типов. Так, реакцией изотопного обмена простагландин E_2 был получен с удельной радиоактивностью 109,5 ГБк/ммоль [6]. Однако если в тритированном простагландине E_2 радиоактивность распределена практически равномерно между алкильной и карбоксилсодержащей боковыми цепями молекулы [6], то для фторпростагландин $F_{2\alpha}$ (III) и его метилового эфира (IV) характерно введение трития в $C_{(13)}-C_{(20)}$ -фрагмент молекулы. Судя по результатам, полученным при тритировании метилового эфира простагландин $F_{2\alpha}$, адсорбция карбоксилсодержащей боковой цепи затруднена (см. выше); следовательно, тритий, содержащийся в этиленовых группировках фторпростагландин (IV) (30%), по-видимому, целиком находится у *транс*-двойной связи алкильной боковой цепи. В пользу такого предположения говорит также и тот факт, что основная часть метки содержится в шестиуглеродном концевом фрагменте алкильной боковой цепи, и только 5% трития приходится на остальные участки молекулы фторпростагландин (IV). Возможно, введение атома фтора вместо гидроксильной группы облегчает адсорбцию *транс*-этиленовой связи на катализаторе. Это, в свою очередь, обуславливает более эффективную адсорбцию всей алкильной боковой цепи на катализаторе и приводит к резкому увеличению включения трития.

Синтез фторпростагландинов (I), (II) и (IV), использованных в реакции изотопного обмена, недавно нами описан [4]. Однако выход метило-

* Распределение радиоактивности (%) при переходе от метилового эфира к кислоте менялось незначительно.

вого эфира (IV) по этой схеме не превышал 5%, что делает ее малопривлекательной для препаративного синтеза фторпростагландина $F_{2\alpha}$ (III).

Альтернативная схема синтеза основана на прямом превращении метилового эфира простагландина $F_{2\alpha}$ в 15-фторпроизводное (IV) через 9,11-диацетат (V). Поскольку избирательное ацетилирование метилового эфира простагландина $F_{2\alpha}$ в положении 9 и 11 осуществить трудно, мы использовали временную защиту НО-группы у $C_{(15)}$ триметилсилильной группой. Избирательное силилирование метилового эфира простагландина $F_{2\alpha}$ можно осуществить с помощью триметилсилилдиэтиламина [10, 11]. При силилировании метилового эфира простагландина $F_{2\alpha}$ избытком (более 150 эквивалентов) триметилсилилдиэтиламина образуется преимущественно бис-триметилсилильное производное (VI). При уменьшении избытка силилирующего агента (10 эквивалентов) избирательность реакции возрастает. В этих условиях аллильная НО-группа при $C_{(15)}$ в метиловом эфире простагландина $F_{2\alpha}$ силилируется при -70°C , в то время как вторичная гидроксильная группа в молекуле метилового эфира рицинолевой кислоты — только при температуре кипения ацетона. Использование меньшего количества силилирующего агента нецелесообразно, так как, несмотря на повышение избирательности замещения, существенно увеличивается время проведения процесса. В найденных нами условиях кроме основного продукта — силилового эфира (VII) — образуются также 11-моно-триметилсилильное производное (VIII) (гидроксильная группа при $C_{(9)}$, в этих условиях не силилируется [11]) и бис-триметилсилильное производное (VI). Соотношение изомеров (VII) и (VIII) обычно составляет 7:1, что было установлено анализом продуктов ацетилирования и последующего удаления триметилсилильной защитной группы. Наличие в диацетате (V) свободной гидроксильной группы у $C_{(15)}$ было подтверждено окислением этого диацетата двуокисью марганца, т. е. в условиях, в которых окисляется только аллильная гидроксильная группа простагландинов [12]. Общий выход ацетатов после ацетилирования и удаления триметилсилильной защиты составляет 75–80%, из них на долю искомого диацетата (V) приходится 40%, а на долю метилового эфира 9-ацетата простагландина $F_{2\alpha}$, образующегося из бис-триметилсилильного производного (VI), — 20%. После выделения диацетата (V) хроматографией на силикагеле оставшуюся смесь ацетатов можно дезацетилировать, получая исходный метиловый эфир простагландина $F_{2\alpha}$ с выходом 90%. Диацетат (V) фторированием морфолиносультотрифторидом, как описано ранее [3], дезацетилированием и омылением превращают в 15-фтор-15-дезоксипростагландин $F_{2\alpha}$ (III). Общий выход всех этих превращений, считая на исходный диацетат (V), составляет 55–60%. Таким образом, по приведенной схеме можно синтезировать 15-фтор-15-дезоксипростагландин $F_{2\alpha}$ (III) из простагландина $F_{2\alpha}$ с выходом 50%, учитывая возможность повторного использования изомерных ацетатов после их превращения в простагландин $F_{2\alpha}$.

Экспериментальная часть

УФ-спектры измерены на спектрометре «Specord UV VIS» (Carl Zeiss, Jena), ИК-спектры — на спектрометре UR-10 (ГДР). Масс-спектры записаны на приборах LKB 9000 (Швеция) и MAT 44 (Varian, США) при прямом вводе образца в источник и энергии ионизирующих электронов 70 эВ. Удельное вращение измеряли в хлороформе на спектрополяриметре «Perkin-Elmer 141» при 20°C . ^1H -ЯМР-спектр регистрировали на спектрометре XL 100 (Varian, США). Препаративное разделение веществ осуществляли на пластинках с закрепленным слоем силикагеля «Kieselgel-G» с 10% гипса (Serva) или на колонках, заполненных суспензией силикагеля Л (Chemapol, СССР) с диаметром зерен 40–60 мкм в соответствующем растворителе. Радиохимическую чистоту меченых простагландинов опре-

деляли хроматографией на пластинках «Silufol» (Kavalier, ЧССР), импрегнированных нитратом серебра непосредственно перед употреблением [5]. Радиоактивность измеряли на сцинтилляционном счетчике с эффективностью регистрации 12% в диоксановом сцинтилляторе [13]. Упаривание растворов проводили на роторном испарителе при температуре бани не выше 30° С. Фторпростагландины (I) и (II) синтезировали как описано ранее [3]. Простагландин $F_{2\alpha}$ — препарат отечественного производства (Таллин).

Реакцию изотопного обмена с 0,1% тритием осуществляли в кинетической ампуле, а со 100% тритием — в многокамерном приборе. Методика эксперимента подробно описана ранее [8]. После реакции изотопного обмена с 0,1% тритием [^3H]фторпростагландины (I) и (II) очищали препаративной ТСХ на пластинках (13×18 см) в системе бензол — этилацетат, 10:1. Фторпростагландин (I) (выход 75%, удельная радиоактивность 0,43 ГБк/ммоль) и фторпростагландин (II) (выход 70%, удельная радиоактивность 0,39 ГБк/ммоль) имели радиохимическую чистоту не менее 95% (система бензол — этилацетат, 5:1, R_f соответственно 0,86 и 0,62). Метилловый эфир простагландина $F_{2\alpha}$ и фторпростагландина $F_{2\alpha}$ (IV) после реакции изотопного обмена со 100% тритием очищали препаративной хроматографией на пластинках (13×18 см) в системах: хлороформ — метанол, 7:1 (для метилового эфира простагландина $F_{2\alpha}$) и хлороформ — метанол, 10:1 (для фторпростагландина (IV)). Меченные тритием метилловые эфиры простагландина $F_{2\alpha}$ и фторпростагландина $F_{2\alpha}$ (IV) получены с выходом 75 и 60% соответственно и радиохимической чистотой не менее 95% (R_f метилового эфира простагландина $F_{2\alpha}$ 0,41, хлороформ — метанол, 5:1, R_f фторпростагландина (IV) 0,46, хлороформ — ацетон, 5:1).

Распределение трития в молекулах простагландина $F_{2\alpha}$, фторпростагландина $F_{2\alpha}$ (III) и их метиловых эфиров изучали методом анализа радиоактивных фрагментов, образующихся после перманганат-периодатного окисления, как описано ранее [6]. Омыление метиловых эфиров простагландина $F_{2\alpha}$ и фторпростагландина $F_{2\alpha}$ (IV) проводили водно-метанольным раствором гидроксида калия (0,1 н. КОН — метанол 1:1, по объему) при 35° С за 2 ч. После омыления получали простагландин $F_{2\alpha}$ с выходом 90% и удельной радиоактивностью 1,2 ГБк/ммоль* и 15-фтор-15-дезоксипростагландин $F_{2\alpha}$ (III) с выходом 92% и удельной радиоактивностью 55 ГБк/ммоль*. Радиохимическая чистота полученных простагландинов составляла не менее 95% (R_f простагландина $F_{2\alpha}$ 0,1, бензол — этилацетат — диоксан — метанол — уксусная кислота, 50:70:70:10:3; R_f фторпростагландина $F_{2\alpha}$ (III) 0,3, бензол — диоксан — уксусная кислота, 40:10:1).

Метилловый эфир 9,11-диацетокси-15-окси-5,13-простадиеновой кислоты (V). К раствору 80 мг метилового эфира простагландина $F_{2\alpha}$ (полученному из простагландина $F_{2\alpha}$ обработкой эфирным раствором диазометана) в 1,6 мл сухого ацетона при интенсивном перемешивании при -70° С добавляли 0,3 мл триметилсилилдиэтиламина. Перемешивание продолжали 40 мин при этой температуре. Реакционную смесь быстро упаривали при 13 Па и самопроизвольном охлаждении, остаток упаривали еще раз с бензолом при 20° С. Маслообразный остаток желтоватого цвета растворяли в 1 мл бензола и добавляли 0,3 мл пиридина и 0,6 мл уксусного ангидрида. После выдерживания в течение 18 ч при 20° С реакционную смесь разбавляли при охлаждении метанолом и упаривали в вакууме досуха. Остаток растворяли в 1 мл ацетона, добавляли 1 мл 67% уксусной кислоты, выдерживали 2 ч при 40° С и лиофилизировали. Остаток растворяли в бензоле и хроматографировали на колонке с силикагелем, вещество последо-

* Уменьшение удельной радиоактивности при омылении связано главным образом с изотопным обменом трития на протоны среды при щелочном значении pH (подробнее об этом см. [6]).

вательно элюировали бензолом, градиентной смесью бензол — этилацетат, чистым этилацетатом и ацетоном. Диацетат (V) вымывали смесью бензол — этилацетат, 2:1 и 1:1. Выход 38 мг (39%), бесцветное вязкое масло. R_f 0,12 (хлороформ — этилацетат, 5:1); $[\alpha]_D^{20} +11,4^\circ$ (c 1,04); ИК (пленка вещества, ν , см^{-1}): 3500 (шир), 1740, 940; $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}^2\text{H}_5\text{Cl}_3$, δ , м.д.): 5,3—5,6 (4H), 3,95 (1H), 3,7 (3H), 2,32 (2H), 2,05 (6H), 0,9 (3H); масс-спектр, m/z : 394 ($M^+ - 58$), 392, 374, 352, 350, 332, 314, 191, 99, 81.

Диацетат (V) окисляли активной двуокисью марганца в хлороформе [12] и получали метиловый эфир 9,11-диацетокси-15-кето-5,13-простадиеновой кислоты с выходом 65%; R_f 0,64 (хлороформ — этилацетат, 5:1); УФ (щелочной метанол): λ_{max} 305 нм; масс-спектр, m/z : 390 ($M^+ - 60$), 368, 359, 348, 340, 330, 326, 299, 259, 189, 141, 99, 85, 83, 81, 65.

15-Фтор-9,11-диокси-5,13-простадиеновая кислота (III). Раствор 30 мг метилового эфира (V) в 1 мл CH_2Cl_2 медленно добавляли к охлажденному до -78°C раствору 30 мкл морфолиносультотрифторида в 1,5 мл CH_2Cl_2 при перемешивании в атмосфере аргона, через 2 ч добавляли 2 мл насыщенного раствора хлористого аммония при интенсивном перемешивании. Смесь медленно нагревали до 20°C , вещество экстрагировали хлороформом (3×5 мл), экстракт промывали водой (3×5 мл), сушили сульфатом натрия, растворитель удаляли в вакууме. Остаток растворяли в бензоле и наносили на колонку с силикагелем (2,5 г) в бензоле, вещество элюировали бензолом, затем смесью бензол — этилацетат с возрастающим содержанием этилацетата. Смесью бензола с 9% этилацетата вымывали метиловый эфир 15-фтор-9,11-диацетокси-5,13-простадиеновой кислоты. Выход 21 мг (70%). R_f 0,32 (гексан — эфир, 1:1); масс-спектр, m/z : 454 (M^+), 423, 413, 394, 374, 334, 314, 187, 99, 91, 85, 81. К раствору полученного вещества в 5 мл метанола добавляли 10 мг метилата натрия в метаноле и выдерживали 1 ч при 40°C . Метанол удаляли в вакууме, к остатку добавляли 1 мл воды и выдерживали 20 мин при 20°C . Реакционную смесь экстрагировали эфиром (2×2 мл), водный слой разбавляли водой до 5 мл и добавляли 0,1 н. HCl до pH 2—3. Вещество экстрагировали этилацетатом (3×15 мл), экстракт промывали водой (3×10 мл), сушили сульфатом натрия, растворитель удаляли. Выход 14 мг (84%), бесцветное густое масло, застывающее при температуре ниже 3°C . R_f 0,44 (бензол — диоксан — уксусная кислота, 40:10:1); $[\alpha]_D^{20} +26,3^\circ$ (c 0,75); ИК (пленка вещества, ν , см^{-1}): 3500 (шир), 1740, 1725, 940.

Для реакции изотопного обмена фторкислоту (III) превращали в метиловый эфир (IV) обработкой эфирным раствором диазометана.

ЛИТЕРАТУРА

1. Van Dorp D. A., Christ E. J. (1975) *Rec. trav. chim.*, 94, 247—276.
2. Arroniz C. E., Gailina J., Mowtinez I., Muchowski J. M., Velarde E., Rooks W. H. (1978) *Prostaglandins*, 16, 47—65.
3. Безуглов В. В., Бергельсон Л. Д. (1979) *Биоорганическая химия*, 5, 1531—1536.
4. Безуглов В. В., Бергельсон Л. Д. (1980) *Докл. АН СССР*, 250, 468—469.
5. Шевченко В. П., Мясоедов Н. Ф., Безуглов В. В., Бергельсон Л. Д. (1979) *Биоорганическая химия*, 5, 906—910.
6. Шевченко В. П., Мясоедов Н. Ф., Безуглов В. В., Бергельсон Л. Д. (1980) *Химия природных соединений*, 2, 148—157.
7. Шевченко В. П., Мясоедов Н. Ф., Бергельсон Л. Д. (1979) *Биоорганическая химия*, 5, 730—734.
8. Schneider W. P., Bundy G. L., Lincoln F. H., Daniels E. G., Pike J. E. (1977) *J. Amer. Chem. Soc.*, 99, 1222—1232.
9. Evans E. A. (1974) *Tritium and its compounds*, sec. ed., Butterworth and Co. (Publishers) Ltd., pp. 310—315, London.
10. Yankee E. W., Lin C. H., Fried J. (1972) *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1120.
11. Yankee E. W., Axen U., Bundy G. L. (1974) *J. Amer. Chem. Soc.*, 96, 5865—5876.
12. Pike J. E., Lincoln F. H., Schneider W. P. (1969) *J. Org. Chem.*, 34, 3552—3557.
13. Kinard F. E. (1957) *Rev. Sci. Instrum.*, 28, 293—295.

Поступила в редакцию
1.VII. 1980

SYNTHESIS OF TRITIUM LABELED 15-FLUORO-15-DEOXYPROSTAGLANDINS
A₂, B₂ AND F_{2α}

BEZUGLOV V. V., BERGELSON L. D., SHEVCHENKO V. P.,
MYASOEDOV N. F.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry and Institute
of Molecular Genetics, Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

Tritium labeled 15-fluoro-15-deoxy-prostaglandins A₂, B₂, F_{2α} and tritium labeled prostaglandin F_{2α} were prepared by heterogeneous catalytic isotope exchange with gaseous tritium. It was shown that during this process tritium is incorporated mainly into the terminal moiety of the prostaglandin alkyl side chain. Replacement of the 15-hydroxyl group by fluorine in prostaglandin F_{2α} leads to a pronounced increase in tritium incorporation. A new synthetic route to 15-fluoro-15-deoxy-prostaglandin F_{2α} directly from prostaglandin F_{2α} is described.
