

**САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

*На правах рукописи*

**Абусалимов Шакир Нурбаба оглы**

**СИНТЕЗ АНАЛОГОВ СТЕРОИДНЫХ ЭСТРОГЕНОВ**

Специальность 02.00.10 – Биоорганическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Санкт-Петербург  
2013

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный университет».

- Научный руководитель: Шавва Александр Григорьевич доктор химических наук, профессор кафедры химии природных соединений химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный университет»
- Официальные оппоненты: Зенкевич Игорь Георгиевич, доктор химических наук, профессор кафедры органической химии химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный университет»;  
Бабаев Евгений Вениаминович, доктор химических наук, профессор, ведущий научный сотрудник кафедры органической химии химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова
- Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)

Защита состоится «05» декабря 2013 г. В 15 часов на заседании совета Д212.232.28 по защите докторских и кандидатских диссертаций при Санкт-Петербургском государственном университете по адресу: 199004, Санкт-Петербург, Средний пр., д. 41/43, химический факультет (БХА).

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке им. А.М. Горького, СПбГУ, Университетская наб., д. 7/9.

Автореферат разослан «\_\_\_» октября 2013 г.

Учёный секретарь  
диссертационного совета

/А. Ф. Хлебников/

## 1. Общая характеристика работы

**Актуальность темы.** Эстрогены являются «естественными» защитниками человека от заболеваний сердечно-сосудистой системы, остеопороза, нейродегенеративных болезней. По мере старения женщин содержание этой группы гормонов часто заметно снижается, что вызывает целый букет заболеваний. В модельных опытах на животных многократно подтвержден защитный эффект эстрогенов, однако сигнальные системы в организме человека и животных заметно отличаются, что позволяет лишь с большой осторожностью подходить к отбору потенциальных препаратов для заместительной гормональной терапии и онкологических болезней.

В мужском организме понижение соотношения между содержанием тестостерона и эстрадиола в предстательной железе рассматривается как фактор риска возникновения рака предстательной железы.

Поскольку многие биологические свойства опосредуются ядерными рецепторами эстрогенов, главным условием для практического применения модифицированных аналогов стероидных эстрогенов является их пониженная гормональная активность, опосредованная этими рецепторами.

Поэтому при поиске новых аналогов эстрогенов с избирательным биологическим действием желательны выявление модификаций, приводящих к сильному снижению сродства к рецепторам эстрогенов, в частности, при создании ингибиторов, влияющих на метаболизм природных гормонов. Так, на различных стадиях клинических исследований находятся ингибиторы сульфатазы эстрогена, ароматазы,  $17\beta$ -гидроксистероид-дегидрогеназы и т.д. Кроме того, ввиду канцерогенных свойств эстрогенов, желательны введение заместителей, препятствующих генотоксическому действию модифицированных веществ.

**Целью работы** является поиск модификаций в структуре  $8\alpha$ -аналогов стероидных эстрогенов, приводящих к сильному снижению гормональной активности и последующая оценка влияния таких модификаций на некоторые биологические свойства новых соединений.

Для достижения этой цели было необходимо решить следующие задачи:

- 1) разработать метод полного синтеза  $8\alpha$ -аналогов эстрогенов, содержащих метильную группу при C-1, и на примере 1-2 веществ изучить особенности их строения;
- 2) усовершенствовать метод получения 6-окса- $8\alpha$ -аналогов стероидных эстрогенов; исследовать методами ЯМР строение 6-окса-аналогов эстрогенов, предложить алгоритм для быстрого установления их пространственной структуры; оценить характер данной модификации (замену  $\text{CH}_2$  фрагмента на атом кислорода) на пространственную структуру молекул;
- 3) исследовать биологические свойства новых соединений с целью выявления наиболее перспективных модификаций, приводящих к резкому падению гормонального действия, не сказывающихся на других полезных свойствах новых веществ.

### **Научная новизна.**

Доказана применимость схемы полного синтеза Торгова-Ананченко для получения 1-метил-8 $\alpha$ -аналогов стероидных эстрогенов. Найдены соединения, обладающие пониженным утеротропным действием при отсутствии гипертриглицеридемической активности, что позволяет рекомендовать эту группу веществ для синтеза на их основе ингибиторов метаболизма стероидных гормонов.

Синтезированы новые 6-оксаэстрогены, проявляющие улучшенные биологические свойства.

Изучены конформации ряда стероидов в растворе и в кристалле, показана возможность определения конформаций методами *ab initio* и ММ+.

### **Практическая ценность работы.**

Разработаны схемы получения аналогов стероидных эстрогенов, применимые для крупномасштабного синтеза. Найдены стероиды, на основе которых возможно получение ингибиторов сульфатазы эстрона, что перспективно для лечения гормонозависимого рака молочной железы. Выявлены перспективные модификации в структуре аналогов эстрогенов, приводящие к значительному снижению утеротропной активности при сохранении ряда полезных свойств, которые могут быть рекомендованы как средства заместительной гормональной терапии и лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Разработка нового метода синтеза 8 $\alpha$ -аналогов стероидных эстрогенов, содержащих метильную группу при С-1.
2. Усовершенствование метода получения 6-окса-8 $\alpha$ -аналогов стероидных эстрогенов (патент РФ № 2057140 (1996), кл. С07J63/00).
3. Установление особенностей структуры 8 $\alpha$ -аналогов стероидных эстрогенов.

### **Личный вклад автора.**

Основная часть работы выполнена автором самостоятельно. Она включает в себя непосредственное получение экспериментальных данных, разработку методологии исследования и интерпретации полученных результатов, формулировку цели, задач и выводов данной работы, написание и публикацию статей.

**Апробация работы.** По теме диссертации получен 1 патент РФ, опубликовано 10 статей, и 12 тезисов докладов. Материал диссертации был представлен на 9 всероссийских и международных конференциях.

### **Структура и объем работы**

Диссертация изложена на 158 страницах и состоит из обзора литературы, обсуждения полученных результатов, экспериментальной части, выводов, приложения и списка цитированной литературы.

В обзоре литературы рассмотрены современные направления синтеза модифицированных стероидных эстрогенов, проанализированные литературные данные по влиянию дополнительных «мостиковых» колец на свойст-

ва аналогов. В главе «Обсуждение результатов» обоснован выбор путей для решения поставленных задач, обсуждены результаты работы.

Диссертация содержит 53 схемы, 9 рисунков и 15 таблиц, список литературы включает 159 наименований.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Постановка задачи**

Модифицированные стероидные эстрогены обладают широким спектром биологических свойств, что позволило применять их в качестве средств заместительной гормональной терапии, контрацептивных препаратов и т.д. Однако длительное применение эстрогенов приводит к увеличению риска возникновения рака молочной железы, рака эндометрия, инсультов, тромбозов и других болезней. Поэтому поиск новых модифицированных аналогов эстрогенов с пониженной канцерогенностью, сохранивших ряд полезных свойств, становится весьма актуальным. Для решения этой задачи необходимо знать, хотя бы приблизительно, причины канцерогенности эстрогенов.

В настоящее время считают, что существуют два основных типа канцерогенеза - промоторный и генотоксический (мутагенный), действие которых может суммироваться. Промоторный механизм обусловлен повышенной активностью, опосредованной рецепторами эстрогенов. Генотоксический механизм объясняется метаболическим гидрокселированием эстрогенов в положение 4, последующим образованием 3,4-о-хинонов и их взаимодействием с ДНК, вызывающим депуринизацию последней. При этом могут образовываться аддукты эстрогенов как по С-1, так и по С-2.

С нашей точки зрения, одним из вариантов снижения канцерогенности эстрогенов может быть введение в молекулу стероида заместителя в положение 1, блокирующего взаимодействие с ДНК и тем самым препятствующим её депуринизации. Если наличие заместителя в положении 1 приведет и к снижению эстрогенной активности, то такая модификация (в зависимости от конкретной задачи) может оказаться весьма перспективной.

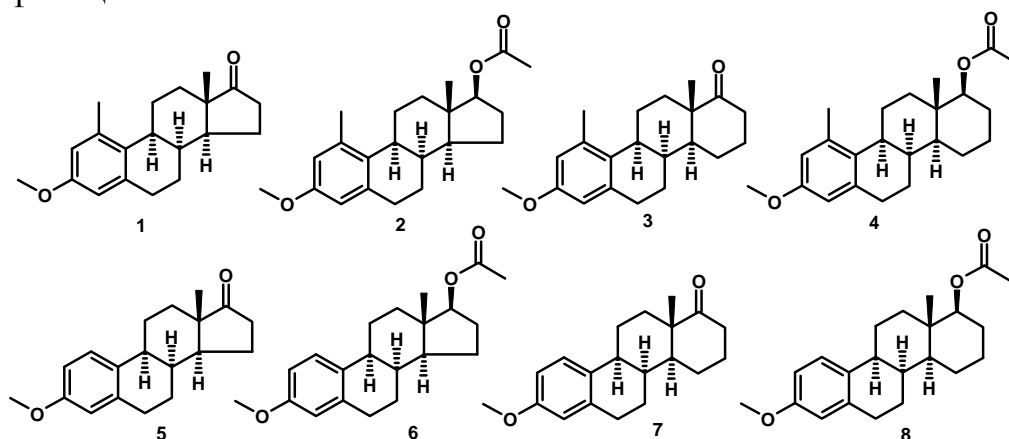
Канцерогенными свойствами могут обладать метаболиты эстрогенов с гидроксильной группой при С-6. Поэтому соединения, не способные претерпевать гидрокселирование по С-6, можно рассматривать в качестве потенциальных кандидатов для синтеза и дальнейших исследований. Кроме того, 6-оксаэстрогены обладают пониженной гормональной активностью, что должно снизить их канцерогенное действие, связанное с усиленной пролиферацией в органах-мишенях.

### ***Выбор основных модельных соединений для синтеза и исследования биологических свойств***

Представлялось необходимым синтезировать новые аналоги стероидных эстрогенов, модификации которых могли бы привести к получению соединений с пониженной утеротропной активностью и, предположительно, пониженной канцерогенностью, для оценки перспективности создания новых веществ с избирательными биологическими свойствами. Конкретное направле-

ние биологических исследований можно было сделать после первичной оценки утеротропной активности новых веществ.

В соответствии со сказанным выше, представлялось целесообразным синтезировать аналоги стероидных эстрогенов, содержащих метильную группу при С-1, поскольку докинг таких соединений в гормон-связывающий участок  $\alpha$ -рецептора эстрогенов показал, что такая модификация должна привести к заметному снижению сродства к рецептору. В качестве модельных соединений мы избрали стероиды **1-4**, поскольку свойства налогов **5-8**, не содержащих метильную группу при С-1, изучены на кафедре химии природных соединений, что должно облегчить оценку перспективности такой модификации.



### Синтез 1-метил 8 $\alpha$ -аналогов стероидных эстрогенов

Мы изучили возможность применения схемы Торгова-Ананченко в модификации Вендлера для получения 8 $\alpha$ -аналогов эстрогенов, содержащих метильную группу при С-1. Исходный 8-метил-6-метокси-1-тетралон (**24**) получен предложенным ранее методом (схема 2.7). Ацилирование метилового эфира *m*-крезола янтарным ангидридом по Фриделю-Крафтсу приводит к смеси региоизомеров кетокислот **25** и **26**, которые были разделены кристаллизацией. Восстановление кетогруппы соединения **26** по Клемменсену проходит почти количественно. Циклизация полученной кислоты **27** под действием полифосфорной кислоты приводит к тетралону **28**, который легко восстанавливается по Кижнеру-Вольфу в тетралин **29**. Окисление тетралина **29** под действием хромовой смеси протекает селективно с образованием целевого тетралона **24**.

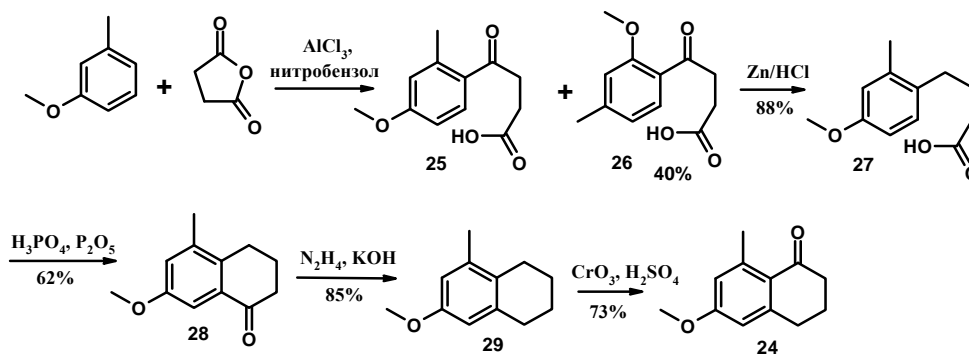


Схема 2.7.

Изотиуруниевую соль **30** и секосоединения **31** и **32** получали в обычных условиях без осложнений (схема 2.8). Циклодегидратацию секосоединений, во избежание образования продуктов изомеризации двойных связей, осуществляли в мягких условиях – под действием HCl в MeOH при максимально коротком времени реакции и получили классические эстрапентаены **33** и **34** с хорошими выходами.

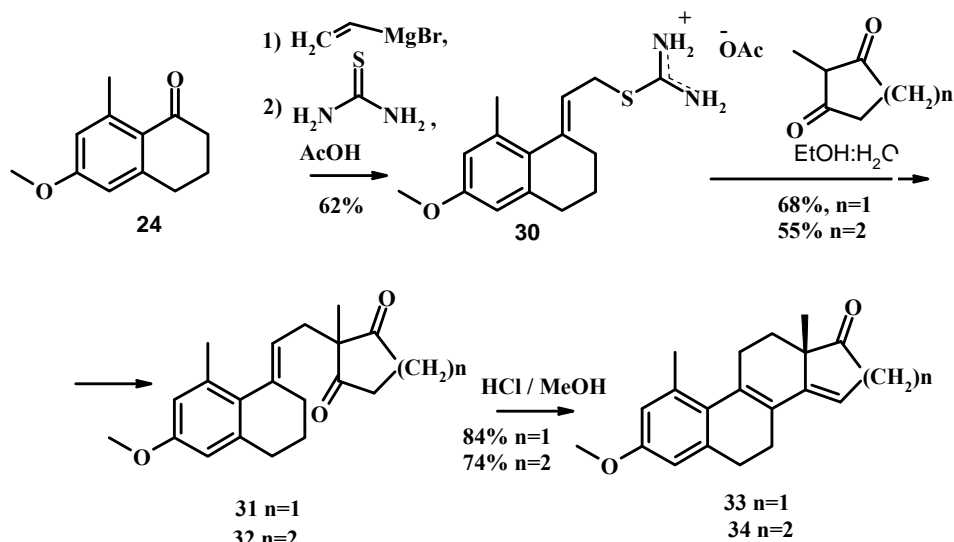


Схема 2.8.

Как и ожидалось, стереоселективность каталитического гидрирования эстрапентаенов **33** и **34** оказалась невысокой. Целевые соединения удалось получить только при использовании в качестве катализатора Ni Ренея в бензоле с последующим окислением реактивом Саретта, хотя и с низкими суммарными выходами. Соответствующие ацетильные производные получены в стандартных условиях (схема 2.9).

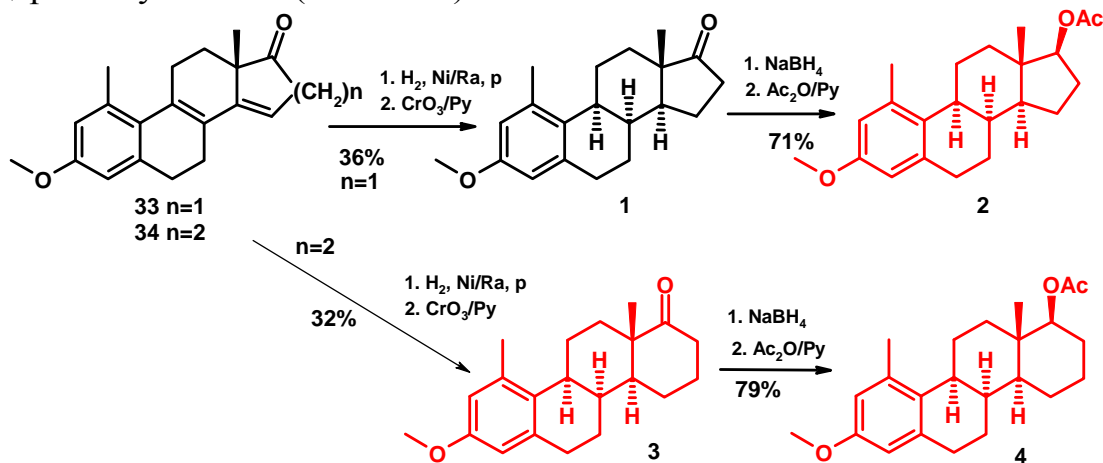
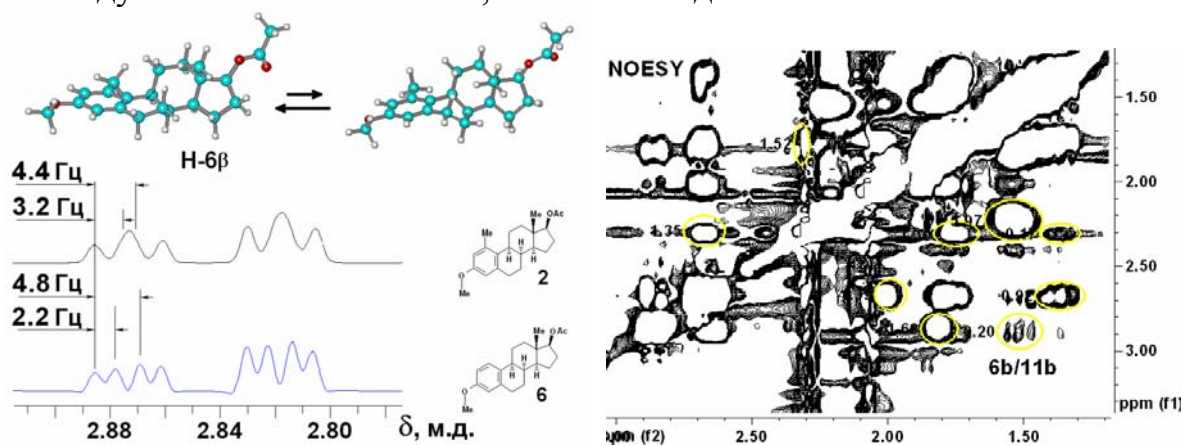


Схема 2.9.

Установление строения новых модельных соединений является сложной задачей ввиду возможного существования в растворе нескольких конформеров. Мы провели полное отнесение сигналов атомов  $^{13}\text{C}$  и  $^1\text{H}$  в спектрах соединения **2**, используя методы спектроскопии ЯМР.

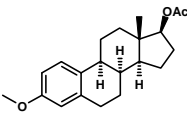
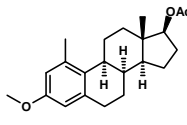
Мы обнаружили, что в спектре ЯМР  $^1\text{H}$  исследованного соединения мультиплетность сигнала протона  $\text{H}6\beta$  несколько отличается от ожидаемой (рис. 2.1). Действительно, в спектре аналога **6** сигнал протона  $\text{H}6\beta$  обнаруживается с таким же химическим сдвигом, но отчетливо виден дублет дублетов с константами 12.0, 4.8 и 2.2 Гц. Эти значения соответствуют  $\text{H}6\beta\text{-H}6\alpha$ ,  $\text{H}6\beta(\text{eq})\text{-H}7\beta(\text{ax})$ , и  $\text{H}6\beta(\text{eq})\text{-H}7\alpha(\text{eq})$  и свидетельствуют о том, что  $\text{H}6\beta$  занимает псевдоэкваториальное положение. В соединении **2** значения геминальных констант протонов при С-6 и С-7 несколько усреднены. Это свидетельствует о том, что  $\text{H}6\beta$  занимает псевдоаксиальное положение, что может быть при конформации кольца В в виде искаженного полукресла. Если это так, то  $\text{H}6\beta$  должен в пространстве сближаться с протоном  $\text{H}11\beta$  настолько, что между ними возникает ЯЭО, что и наблюдается.



**Рисунок. 2.1.** Фрагменты спектров ЯМР  $^1\text{H}$  стероидов **2** и **6**, и фрагмент спектра NOESY стероида **2**.

В таблице 2 сопоставлены результаты определения межпротонных расстояний по данным PCA, а также рассчитанными методами *ab initio* и ММ+. Сравнимые расстояния соответствуют друг другу, как и расстояния между атомами кислорода в кольцах А и D (последнее важно для оценки эффективности связывания с рецепторами эстрогенов). Следовательно, эти расчетные методы можно использовать при докинге подобных веществ в структуры различных высокомолекулярных соединений (рецепторы стероидных гормонов, ферменты, нуклеиновые кислоты).

**Таблица 2.2.** Сравнение межпротонных расстояний по данным PCA, и рассчитанными методами *ab initio* и ММ+ в стероидах **2** и **6**.

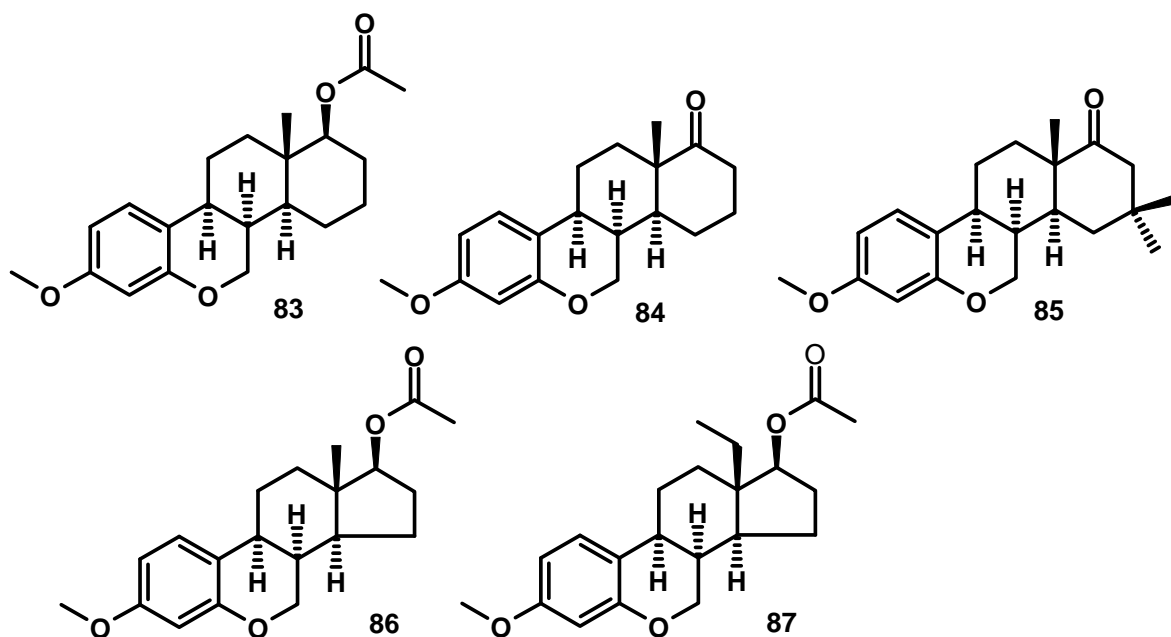
Расстояния между протонами, Å	 6			 2		
	PCA	Ab initio	ММ+	PCA	Ab initio	ММ+
1-9 $\alpha$	2.509	2.56	2.532	-	-	-
1-11 $\alpha$	2.515	2.42	2.383	-	-	-



1-11 $\beta$	3.371	3.55	3.517	-	-	-
7 $\alpha$ -15 $\alpha$	3.410	3.37	3.312	3.417	3.400	3.339
7 $\alpha$ -15 $\beta$	2.370	2.34	2.299	2.316	2.351	2.309
7 $\beta$ -11 $\beta$	2.250	2.42	2.404	2.175	2.332	2.318
7 $\beta$ -15 $\alpha$	4.467	4.43	4.432	4.471	4.447	4.452
7 $\beta$ -15 $\beta$	3.355	3.35	3.320	3.339	3.374	3.346
8 $\alpha$ -9 $\alpha$	2.458	2.33	2.368	2.462	2.342	2.353
8 $\alpha$ -14 $\alpha$	2.102	2.31	2.312	2.108	2.324	2.320
9 $\alpha$ -12 $\alpha$	2.545	2.65	2.640	2.556	2.459	2.614
9 $\alpha$ -14 $\alpha$	2.268	2.42	2.463	2.247	2.367	2.401
12 $\alpha$ -14 $\alpha$	2.557	2.41	2.447	2.538	2.409	2.459
12 $\alpha$ -17 $\alpha$	2.362	2.37	2.391	2.428	2.375	2.392
14 $\alpha$ -17 $\alpha$	2.541	2.36	2.386	2.547	2.343	2.372
15 $\alpha$ -16 $\alpha$	2.308	2.37	2.376	2.311	2.377	2.376
15 $\alpha$ -16 $\beta$	2.899	2.90	2.904	2.912	2.902	2.906
16 $\alpha$ -17 $\alpha$	2.328	2.35	2.376	2.338	2.353	2.377
16 $\beta$ -17 $\alpha$	3.020	2.99	3.070	3.029	2.991	3.072
O3-O17	10.94	10.88	10.85	10.96	10.91	10.89

Исследование утеротропной активности стероидов **1-4** в опытах на неполовозрелых мышах при подкожном введении в течение 3 дней, проведенное с.н.с. Е.В. Цырлиной, показало, что новые вещества активны в дозе 10 мг/кг веса тела в день. Поэтому свойства соединений **2** и **3** далее изучены в опытах на овариэктомированных крысах. Показано, что 8 $\alpha$ -аналоги эстрогенов, содержащие метильную группу при С-1, обладают пониженной утеротропной активностью, о чем можно судить как по их влиянию на вес матки подопытных животных, так и по влиянию на содержание рецепторов прогестерона. Косвенным подтверждением этого является отсутствие у аналогов **2** и **3** остеопротекторного действия. Важно, что под их действием не повышается уровень триглицеридов в крови, поскольку это рассматривают как независимый фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний. Можно заключить, что стероиды **2** и **3** имеют преимущества перед многими соединениями, не содержащими метильную группу при С-1 и перспективны и для синтеза на их основе ингибиторов ферментов, осуществляющих метаболизм стероидных эстрогенов. Исследование соединений **1** и **4** продолжается.

## Синтез и исследование биологических свойств 6-оксааналогов стероидных эстрогенов



К началу нашей работы удовлетворительных путей синтеза 6-окса-8 $\alpha$ -аналогов стероидных эстрогенов не было, а биологические свойства этой группы веществ исследованы весьма неполно. Анализ литературных данных позволил заключить, что наиболее перспективным путем для получения 6-окса-8 $\alpha$ -аналогов стероидных эстрогенов является усовершенствование схемы Торгова. На первом этапе работы мы избрали в качестве модельных соединений стероиды **42a**, **42b**, **83-87**. Целью этой части исследования был подбор условий для получения торговых секостероидов, их циклодегидратации и каталитического гидрирования.

Хроманоны **36** и **59** были синтезированы известными методами, после чего превращены в изотиурониевые соли **89** (схема 2.19) и **99** (схема 2.21). Конденсация последних с соответствующими циклическими 1,3-дикетонами гладко приводит к образованию секостероидов, при циклодегидратации которых под действием HCl в MeOH в использованных нами условиях легко образовывались 6-окса-эстра-1,3,5(10),8,14-пентаены. При проведении реакции в бензоле под действием *n*-толуолсульфокислоты мы зафиксировали образование продуктов циклизации **90** и **91** (схема 2.19), тем самым опровергнув предположение американских авторов о безостановочном протекании реакции.

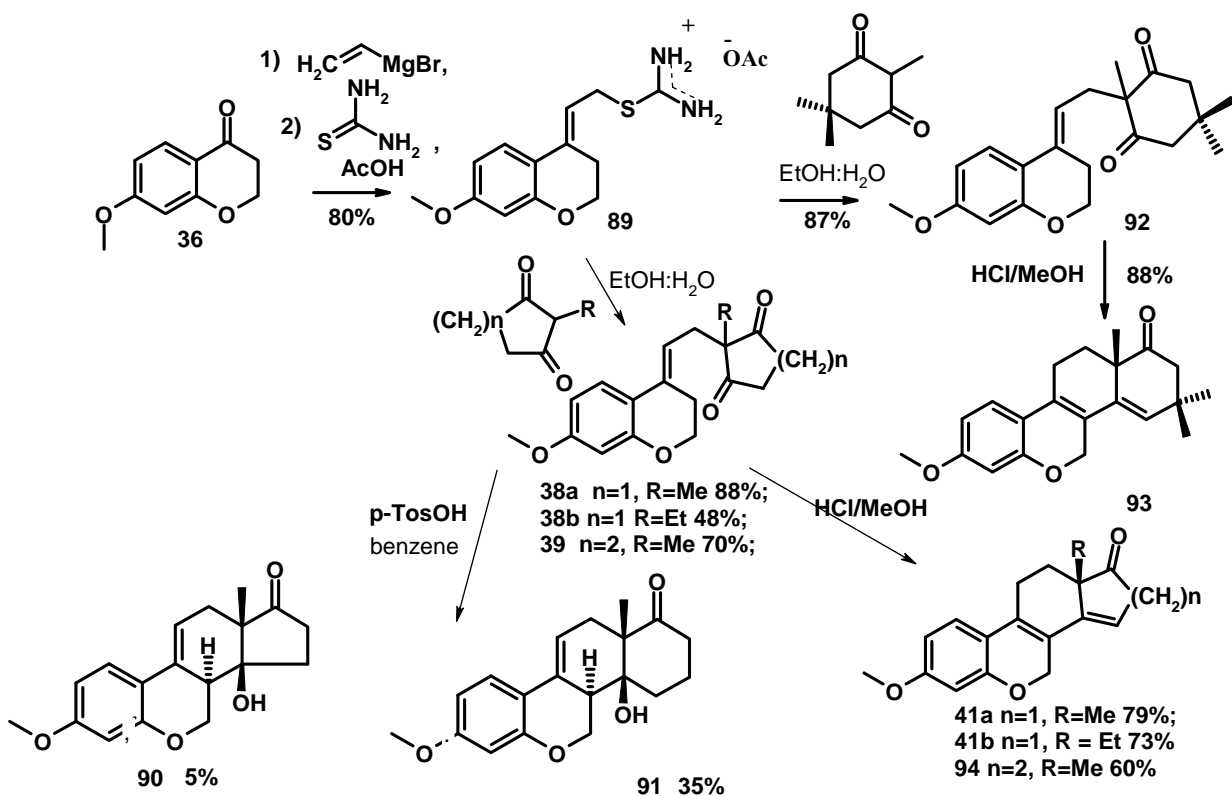


Схема 2.19.

Далее мы остановимся на разработке метода каталитического гидрирования 6-окса-1,3,5(10),-8,14-пентаенов, **41a**, **41b**, **94**, **96**, **97** приводящего к образованию соответствующих  $8\alpha$ -аналогов эстрогенов. Как и ранее, мы руководствовались результатами вариантов каталитического гидрирования близких по структуре карбаноаналогов на Ni Ренея в бензоле. Поскольку в этом случае происходит восстановление кетогруппы с образованием изомерных спиртов, для получения кетопроизводных образовавшиеся продукты гидрирования, не выделяя их в чистом виде, окисляли хромовым ангидридом в пиридине. Выходы целевых стероидов указаны на схеме. Таким образом, мы разработали метод каталитического стереоселективного гидрирования 6-оксаэстра-1,3,5(10),8,14-пентаен-17(или 17a)-онон с пространственно доступными двойными связями, ведущий к преимущественному образованию соответствующих  $8\alpha$ -аналогов эстрогенов. При наличии при С-17 (или С-17a) ацетильной группы в  $\beta$ -положении выход целевых соединений выше, а очистка - проще, поскольку эти соединения образуют кристаллы гораздо легче, чем кетоаналоги. Результаты работы защищены патентом РФ.

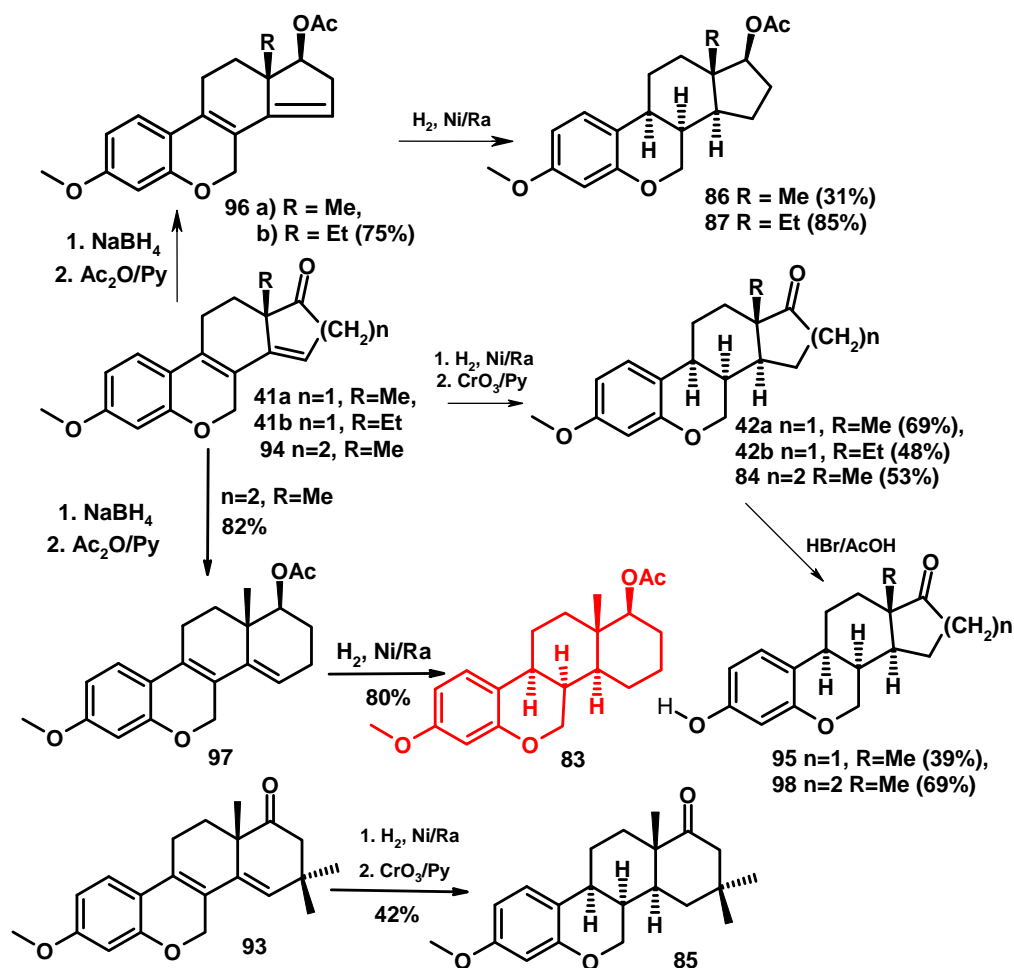


Схема 2.20.

Хотя 6-окса-1,3,5(10),8,14-пентаены известны с 1964 г, спектры ЯМР этих соединений серьезно не исследовали. Поэтому при отнесении сигналов в спектрах ЯМР  $^{13}\text{C}$  этих веществ встречаются ошибки. Это послужило причиной полного отнесения сигналов нескольких соединений (табл. 2.5). Полное отнесение сигналов в спектрах ЯМР  $^{13}\text{C}$  этой группы соединений открывает возможность для быстрого установления пространственной структуры веществ с другими заместителями.

Влияние стероида **84** на липиды сыворотки крови и печени intactных и овариэктомированных крыс исследованы в НИИ экспериментальной медицины (Санкт-Петербург) под руководством проф. В.Е. Рыженкова. Полученные данные указывают на наличие у исследованного соединения гиполипидемической активности при отсутствии гипертриглицеридемического действия, которое относят к неблагоприятным эффектам.

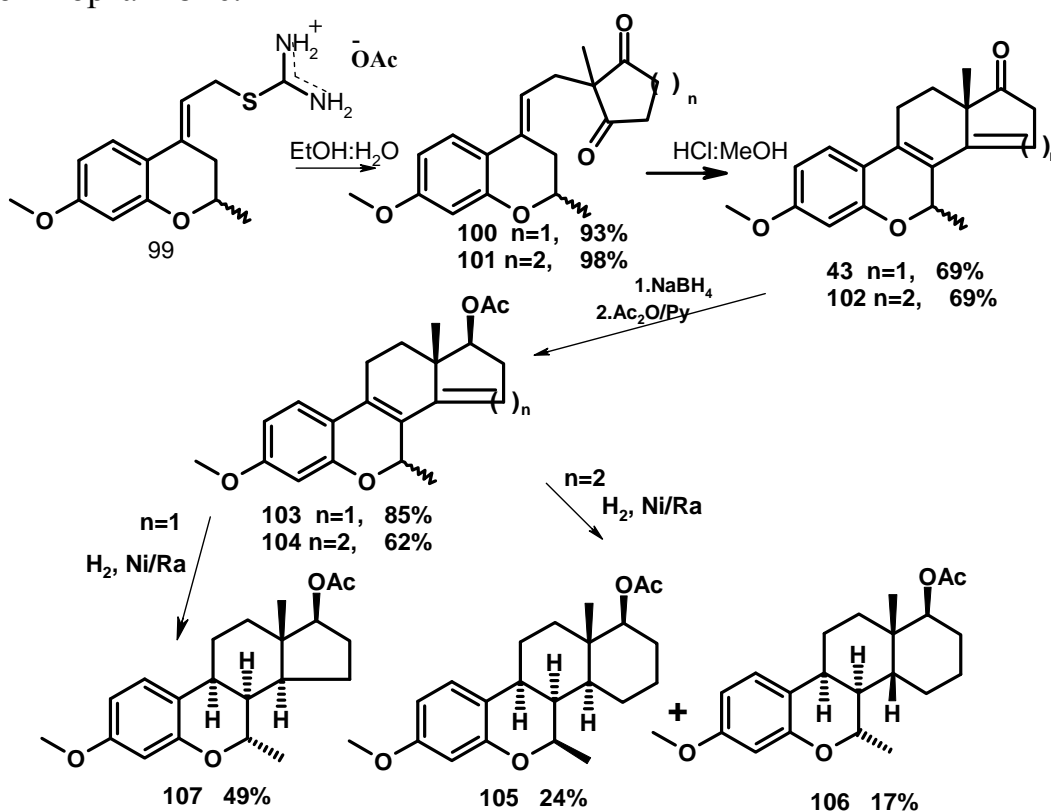
Очень интересные результаты получены при исследовании влияния метилового эфира **84** на связывание эстрадиола в ткани матки овариэктомированных крыс. Работа проведена на кафедре молекулярной фармакологии и радиологии медико-биологического факультета Российского государственного медицинского университета (Москва) под руководством акад. РАМН П.В. Сергеева. Масляный раствор вводили овариэктомированным крысам внутрибрюшинно на 7 день после овариэктомии. В дозах 0.1 мг/кг и 1.0 мг/кг веса

тела в день, через 24 ч после эфтаназии определяли связывание эстрадиола с цитозольными рецепторами эстрадиола ткани матки и утеротропную активность. Оказалось, что утеротропная активность отсутствует, а связывание эстрадиола с рецепторами понизилось соответственно на 50 и 61%. У метилового эфира D-гомо-8 $\alpha$ -эстрона в дозе 1.0 мг/кг веса тела в день утеротропная активность составила 205% по сравнению с контролем, а связывание эстрадиола с рецепторами возросло до 236%. Эти результаты указывают на сильное влияние замены углерода в положении 6 на кислород на гормональное действие аналогов и даже некоторый антигормональный эффект 6-оксааналога в условиях эксперимента.

Полученные результаты указывают на перспективность поиска противоопухолевых веществ на основе 6-окса-D-гомо-8 $\alpha$ -эстрона. Очень интересно, что метиловые эфиры 6-окса-8 $\alpha$ -эстрона и 8 $\alpha$ -эстрона такими эффектами не обладают, к тому же проявляют гипертриглицеридемическую активность. Следовательно, поиск новых противоопухолевых веществ перспективно проводить именно в ряду модифицированного 6-окса-D-гомо-8 $\alpha$ -эстрона.

### **Синтез и исследование структуры 7-метил-6-окса-8 $\alpha$ -аналогов стероидных эстрогенов**

Представлялось интересным найти «микромодификацию», которая позволит получать подобные соединения, не обладающие гормональной активностью. Важным условием являлось, естественно, удаленное положение вводимого заместителя от С-3, что необходимо для синтеза потенциальных ингибиторов различных ферментов, осуществляющих синтез и метаболизм эстрогенов в организме.



**Схема 2.21.**

Докинг различных 6-окса-8 $\alpha$ -аналогов эстрогенов в лигандсвязывающий карман  $\alpha$ -рецепторов эстрогенов показал, что перспективен синтез соединений, содержащих метильную группу при С-7. Такая модификация могла привести к заметному снижению пролиферативной активности. Соединения 104 и 105 синтезированы обычными методами. Их каталитическое гидрирование позволило получить ацетаты 105 и 107 (схема 2.21).

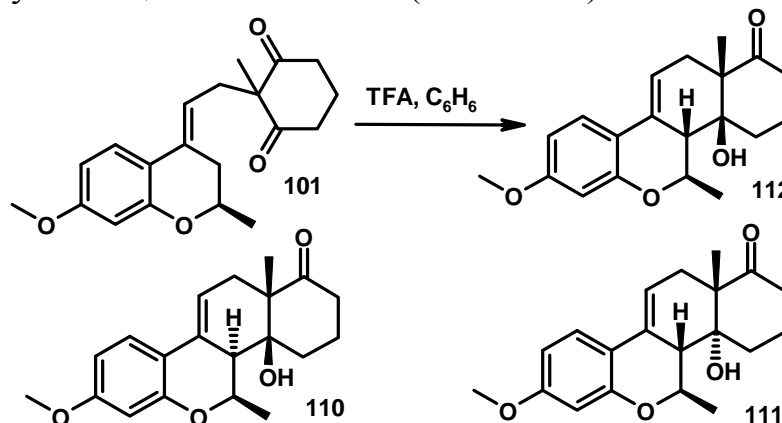


Схема 2.22.

Интересно отметить, что при обработке секостероида **101**  $\text{CF}_3\text{COOH}$  в бензоле мы зафиксировали образование соединения состава  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_4$ . На основании современных представлений о механизме образования эстрапентаенов можно было предположить для нового соединения одну из двух структур **110** или **111**. Однако, по данным РСА, оно имеет строение **112**, что совершенно неожиданно, и свидетельствует о более сложном механизме циклизации.

Исследование некоторых биологических свойств стероидов **83** и **105** проведено в опытах на овариэктомированных крысах линии Wistar проф. Н.Д. Ещенко с сотрудниками (кафедра биохимии биолого-почвенного факультета СПбГУ) и проф. Л.М. Берштейном с сотрудниками (НИИ онкологии, Санкт-Петербург). Результаты представлены в таблице 2.9.

**Таблица 2.9.** Влияние стероидов **83** и **105** на некоторые биохимические параметры овариэктомированных крыс.

Группа животных	Изменение веса тела за время опыта, г	Вес матки, мг/100г веса тела	Вес золы, мг/«Влажный» вес кости, мг	Содержание холестерина в сыворотке крови, мг/дл	Содержание триглицеридов в сыворотке крови, мг/дл
Ложнооперированные	26.0±2.8	191.5±14.0	0.430±0.005	48.6±2.3	83.0±5.2
ОВЭ	<b>47.5±2.5</b>	<b>30.9 ± 1.5</b>	0.392 ±0.005	<b>66.6 ± 2.1</b>	<b>67.8± 5.4</b>
ОВЭ, получавшие ЕЕ	6.5 ±1.5	213.9±13.9	0.431 ± 0.003	38.1 ± 2.0	133.4± 16.3
ОВЭ, получавшие стероид <b>83</b>	-3.7± 3.3	162.5± 9.6	0.411 ±0.006	28.8 ± 2.6	82.5± 6.8
ОВЭ, получавшие стероид <b>105</b>	<b>44.0± 2.7</b>	<b>30.2 ± 1.2</b>	0.405 ±0.004	<b>52.5 ± 2.2</b>	<b>64.5± 5.8</b>

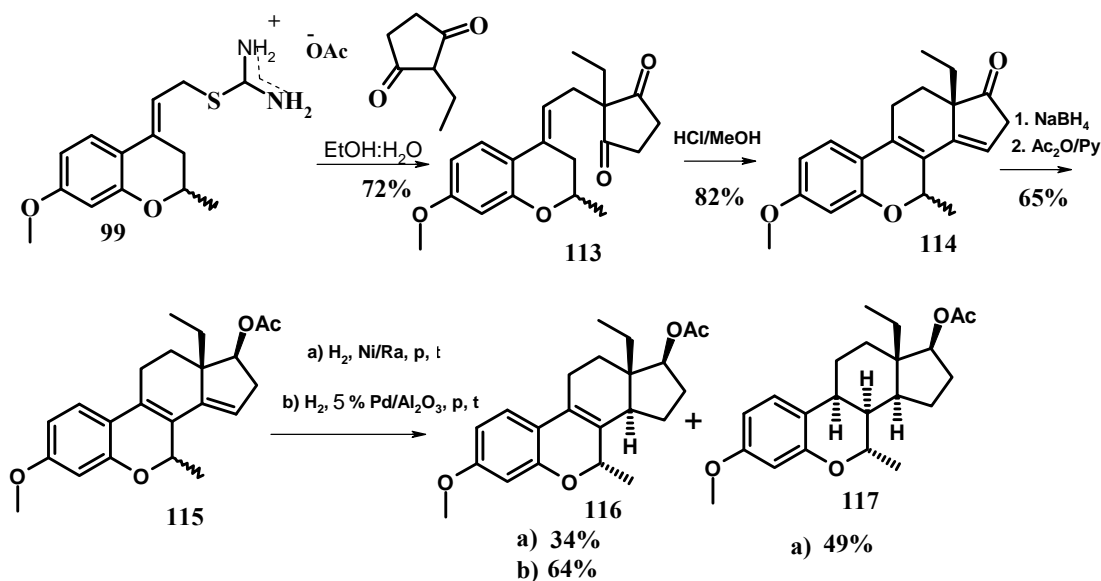
Представленные в таблице данные ясно показывают, что стероид **105** не влияет на вес тела, не обладает пролиферативной активностью в матке и нормализует содержание холестерина в сыворотке крови. Отсутствие остеопротекторной активности указывает на резко сниженное связывание с  $\alpha$ -рецепторами эстрогенов. Важно, что соединение не проявляет гипертриглицеридемического действия. Стероид **83** сильно снижает вес тела, проявляет сильное утеротропное и гипертриглицеридемическое действие.

Таким образом, введение  $\beta$ -метильной группы в положение 7 D-гомо-6-окса-8 $\alpha$ -аналога эстрогена с целью резкого снижения гормональной активности себя оправдало и может быть рекомендовано при поиске ингибиторов различных ферментов, осуществляющих метаболизм эстрогенов. Эта модификация была использована И.А. Глуздиковым с соавторами для синтеза эффективного ингибитора сульфатазы эстрона, перспективного для лечения гормонозависимого рака молочной железы.

Учитывая полученные результаты, мы детально исследовали стероид **105** методами спектроскопии ЯМР и РСА. Полное отнесение сигналов в спектрах ЯМР осуществили при комбинированном использовании одно- и двумерных методов ЯМР спектроскопии: PMP, COSY-DQF, DEPT135, HSQC и NOESY.

**Синтез, исследование пространственного строения и биологических свойств 17 $\beta$ -ацетокси-7 $\alpha$ ,18-диметил-3-метокси-6-оксаэстра-1,3,5(10),8(9)-тетраена (116)**

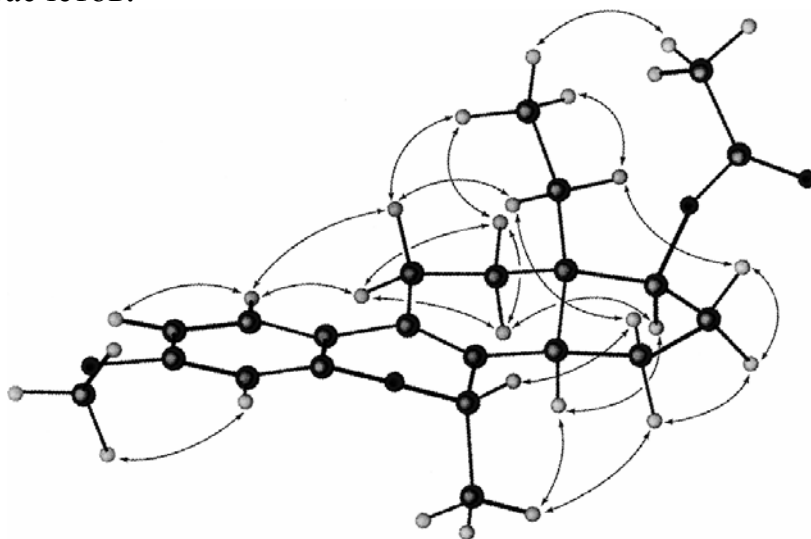
Известно, что наличие метильной группы в положении 7 $\alpha$ -стероидных эстрогенов усиливает гормональное действие, тогда как введение двойной связи в положение 8(9) снижает его и повышает антиоксидантные свойства модифицированного стероида. 8-Дегидроэстрогены и их производные предлагают для заместительной терапии, лечения атеросклероза, остеопороза, вазомоторных симптомов и т.д. Данные об одновременном влиянии обеих указанных модификаций стероидных эстрогенов на биологические свойства отсутствуют.



**Схема 2.23.**

Для планирования исследований по синтезу стероидных эстрогенов с упомянутыми модификациями и изучению их биологических свойств необходимо выяснить особенности строения этой группы соединений, в первую очередь, пространственное расположение метильной группы при С-7. В качестве модельного соединения для изучения особенностей строения 8-дегидроэстрогенов, содержащих метильную группу при С-7, мы выбрали 17 $\beta$ -ацетокси-7 $\alpha$ ,18-диметил-3-метокси-6-оксаэстра-1,3,5(10),8(9)-тетраен **116**, синтез проведен по схеме Торгова. Использование изотиуруниевой соли **99** позволило с высоким выходом получить секосоединение **113**, из которого синтезировали 6-оксаэстрапентаен **114**. Ключевой стадией при получении целевого соединения **116** было каталитическое гидрирование ацетата **115**, поскольку подход катализатора к двойной связи 14(15) этого стероида затруднен как с  $\alpha$ , так и с  $\beta$ -стороны молекулы. Лучший результат получили при использовании в качестве катализатора Pd/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

Для определения пространственного строения стероида **116** в кристалле и растворе были использованы методы рентгеноструктурного анализа (РСА) и спектроскопии ЯМР, данные которых сопоставляли с результатами полуэмпирических расчетов.



**Рисунок. 2.8.** Пространственная структура стероида **116** в растворе. Стрелками показаны ЯЭО, наблюдаемые в спектре NOESY.

Показано, что преобладающая конформация стероида в растворе и в кристалле совпадают. В рассчитанной методом *ab initio* конформации стероида, которая наиболее соответствует найденной экспериментально, метильная группа при С-7 также занимает псевдоаксиальное положение. Основываясь на этих результатах, можно сказать, что метод расчета *ab initio* применим для расчета конформаций таких соединений. Важность этого вывода также доказывают результаты биологических экспериментов - полученный тетраен, как и ожидалось, сохраняет гормональную активность и обладает остеопротекторными свойствами.



## Выводы

1. Схема Торгова-Ананченко применима для синтеза  $8\alpha$ -аналогов стероидных эстрогенов, содержащих метильную группу при С-1.

2. Усовершенствован способ получения 6-окса- $8\alpha$ -аналогов стероидных эстрогенов, включающий каталитическое гидрирование 6-оксаэстра-1,3,5(10),8,14-пентаенов в присутствии никеля Ренея в бензоле (патент РФ 2057140, кл. С07J63/00, 1996).

3. Циклодегидратация 3-метокси-6-оксаэстра-1,3,5(10),9(11)-тетраен-14,17-дионон проходит с образованием промежуточных веществ с гидроксильной группой при С-14, в противоположность мнению, высказанному в литературе.

4. 1-Метил- $8\alpha$ -аналоги стероидных эстрогенов перспективны для синтеза на их основе соединений с гипохолестеринемической активностью при пониженном утеротропном действии.

5. 6-Окса-аналоги стероидных эстрогенов перспективны для синтеза на их основе соединений с остеопротекторным действием при пониженной утеротропной активности.

### *Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:*

1. Сергеев П.В., Карева Е.Н., Соловьева Е.В., Абусалимов Ш.Н., Шавва А.Г. Влияние аналогов 8-изоэстрадиола на связывание эстрадиола в ткани матки овариэктомированных крыс. Бюлл. эксп. биол. мед. 1995. № 2. С. 165-167.

2. Шавва А.Г., Ищенко И.В., Елисеев И.И., Абусалимов Ш.Н., Гаспарян Э.Г. Способ получения 6-окса-8-изо-аналогов стероидных эстрогенов. Патент РФ № 2057140 кл. С07J63/00 (1996).

3. Старова Г.Л., Елисеев И.И., Абусалимов Ш.Н., Цогоева С.Б., Шавва А.Г. Молекулярные структуры некоторых 8-изоаналогов стероидных эстрогенов. Кристаллография. 2001. Т. 46. № 1. С. 72-75.

4. Селиванов С.И., Абусалимов Ш.Н., Егоров М.С., Шавва А.Г. Спектры ЯМР  $^{13}\text{C}$  6-оксаэстра-1,3,5(10),8,14-пентаенов. Вестник СПбГУ. 2001. Серия 4. Вып. 4, № 28. С. 107-112.

5. Абусалимов Ш.Н., Елисеев И.И., Гриненко Е.В., Глуздилов И.А., Марченко Е.М., Селиванов С.И., Шавва А.Г. Синтез эстра-1,3,5(10),8,14-пентаенов, содержащих метильную группу в кольце А. Вестник СПбГУ. Сер. Физика и химия. 2003. Серия 4. Вып. 4, № 28. С. 121-124.

6. Абусалимов Ш.Н., Никольская С.К., Старова Г.Л., Селиванов С.И.. Синтез 6-окса-эстра-1,3,5(10),8,14-пентаенов. ЖОрХ. 2006. Т. 42. Вып. 1. С. 50-55.

7. Селиванов С.И., Старова Г.Л., Абусалимов Ш.Н., Шавва А.Г. Синтез и исследование пространственного строения 17 $\beta$ -ацетокси-3-метокси-7,18-диметил-3-метокси-6-оксаэстра-1,3,5(10),8(9)-тетраена. ЖОрХ. 2006. Т. 42. Вып. 2. С. 215-222.

8. Шавва А.Г., Морозкина С.Н., Ищенко И.В., Елисеев И.И., Старова Г.Л., Селиванов С.И., Абусалимов Ш.Н., Селиванов С.С., Каменева И.Ю., Ещенко Н.Д.. Синтез и исследование биологических свойств 6-окса-D-гомо-8 $\alpha$ -аналогов стероидных эстрогенов. Биоорг. хим. 2007. Т. 33, № 3. С. 310-314.
9. Гриненко Е.В., Каменева И.Ю., Абусалимов Ш.Н., Марченко Е.М., Селиванов С.И., Морозкина С.Н., Шавва А.Г. Синтез и исследование гипохолестеринемических свойств некоторых 8 $\alpha$ -аналогов стероидных эстрогенов. Вестник СПбГУ. 2007. Серия 4. Вып. 4, № 28. С. 119-127.
10. Морозкина С.Н., Абусалимов Ш.Н., Старова Г.Л., Селиванов С.И., Шавва А.Г.. Синтез и исследование молекулярной структуры некоторых 8 $\alpha$ -аналогов стероидных эстрогенов. ЖОХ. 2010. Т. 80. Вып. 7. С. 1158-1164.
11. Морозкина С.Н., Абусалимов Ш.Н., Селиванов С.И., Шавва А.Г. Синтез и исследование биологических свойств некоторых 8 $\alpha$ -аналогов стероидных эстрогенов. ЖОрХ. 2013. Т. 49. Вып. 4. С. 619-625.
12. Абусалимов Ш.Н., Елисеев И.И., Каменева И.Ю., Шавва А.Г. Синтез и исследование гиполипидемической активности 6-окса-8-изоаналогов стероидных эстрогенов. Симпозиум по органической химии. СПб, 1995, 21-24 мая. Тезисы докладов. Т.2. С. 299.
13. Старова Г.Л., Елисеев И.И., Абусалимов Ш.Н., Цогоева С.Б., Шавва А.Г. Особенности строения молекул трех 8-изоаналогов стероидных эстрогенов. Вторая национальная конференция по применению рентгеновского, синхротронного излучений, нейтронов и электронов для исследования материалов (РСНЭ-99). Москва, 23-27 мая 1999 г. Тезисы докладов. С. 46.
14. Шавва А.Г., Старова Г.Л., Селиванов С.И., Егоров М.С., Урусова Е.А., Абусалимов Ш.Н., Власов П.С., Беляков В.Ю.. Сравнительное исследование молекулярных структур 8-изоаналогов стероидных эстрогенов методами рентгеноструктурного анализа и молекулярного моделирования. III Национальная конференция РСНЭ. Москва, 21-25 мая 2001 г. Тезисы докладов. С. 174.
15. Старова Г.Л., Абусалимов Ш.Н., Грудинкин П.С., Шавва А.Г.. Молекулярная структура 14 $\beta$ -гидрокси-7 $\beta$ -метил-3-метокси-6-окса-D-гомо-эстра-1,3,5(10),9(11)-тетраен-17 $\alpha$ -она // III Национальная конференция РСНЭ. Москва, 21-25 мая 2001 г. Тезисы докладов. С. 151.
16. Старова Г.Л., Ищенко И.В., Абусалимов Ш.Н., Шавва А.Г.. Молекулярная структура 17 $\beta$ -ацетокси-7 $\alpha$ ,18-диметил-3-метокси-6-окса-эстра-1,3,5(10),-8(9)-тетраена // III Национальная конференция РСНЭ. Москва, 21-25 мая 2001 г. Тезисы докладов. С. 32.
17. Старова Г.Л., Власова К.В., Абусалимов Ш.Н., Шавва А.Г.. Исследование молекулярной структуры 17 $\alpha$  $\beta$ -ацетокси-7 $\beta$ -метил-3-метокси-6-окса-D-гомо-8-изоэстра-1,3,5(10)-триена. Тезисы докладов РСНЭ-2003. Москва, 2003. С. 94.
18. Власова К.В., Абусалимов Ш.Н., Старова Г.Л., Шавва А.Г.. Синтез и исследование биологических свойств 17 $\alpha$  $\beta$ -ацетокси-3-метокси-6-окса-D-

гомо-8 $\alpha$ -эстра-1,3,5(10)-триена. Тезисы докладов молодежной конференции по органической химии «Современные тенденции органической химии». 2004. С-Петербург, Россия, 15-17 июня. С. 71.

19. Morozkina S.N., Zorina A.D., Abusalimov Sh.N., Shavva A.G.. Synthesis and evaluation of osteoprotective effects of 8 $\alpha$ -steroid estrogen analogues. Advances in Science for Drug Discovery. July 11-16, Moscow, 2005. International symposium. Abstracts, C-43.

20. Selivanov S.I., Solov'ev A.Yu., Abusalimov Sh.N., Shavva A.G. Empirical parameters determination in Colucci's modification of Karplus relationship for different ethane fragments of steroid molecules. International Symposium and Summer School in Saint-Petersburg. Book of Abstracts. 2005, p. 101.

21. Морозкина С.Н., Селиванов С.И., Абусалимов Ш.Н., Шавва А.Г.. Синтез, исследование молекулярной структуры и биологических свойств 17 $\alpha$ -ацетокси-7 $\beta$ -метил-3-метокси-6-окса-D-гомо-8 $\alpha$ -эстра-1,3,5(10)-триена. Тезисы докладов международной конференции по химии гетероциклических соединений. Москва, 2005, 17-21 октября. С. 67.

22. Shavva A.G., Morozkina S.N., Abusalimov Sh.N.. On the way to new class of antitumor compounds. New Molecular Target for Drug Design & Discovery. The Perspective of Integrating Russian Scientists into International Cooperation. Khimki, Moscow Region, March 28-30, 2006. Abstracts. P. 69.

23. Морозкина С.Н., Абусалимов Ш.Н., Ещенко Н.Д., Шавва А.Г. Синтез и исследование биологических свойств 1-метил-8 $\alpha$ -аналогов стероидных эстрогенов //Материали за IX международна научна практична конференция. Найновити научни постижения- 2013. 17-25 март. София. «Бял Град-БГ» ООД. Том 19. С. 70-73.