

М. ЛОПП, Урве ЛАЙНЕМЯЕ, М. ЛЫХМУС, Ю. ЛИЛЛЕ

СИНТЕЗ 11-ДЕЗОКСИПРОСТАГЛАНДИНОВ E_1 И F_1 ИЗ 11-ДЕЗОКСИ-15-ДЕГИДРОПРОСТАГЛАНДИНА E_1 И АНАЛИЗ ПРОДУКТОВ СИНТЕЗА МЕТОДОМ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ВЫСОКОГО ДАВЛЕНИЯ

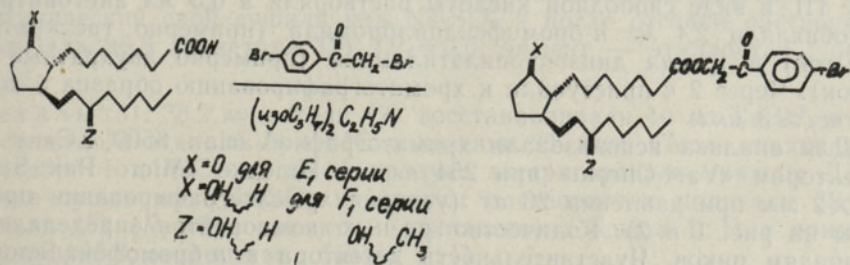
В полном химическом синтезе простагландинов (ПГ) одними из ключевых промежуточных соединений часто являются 15-дегидропростагландины [1-4]. В 15-гидроксипростагландины ПГ превращаются в результате восстановления или алкилирования их. При этом всегда образуются смеси изомеров. Эти изомеры имеют разную, а иногда даже противоположную биологическую активность [5]. Поэтому очень важно знать точный состав продуктов синтеза и иметь надежный метод контроля чистоты конечных очищенных продуктов.

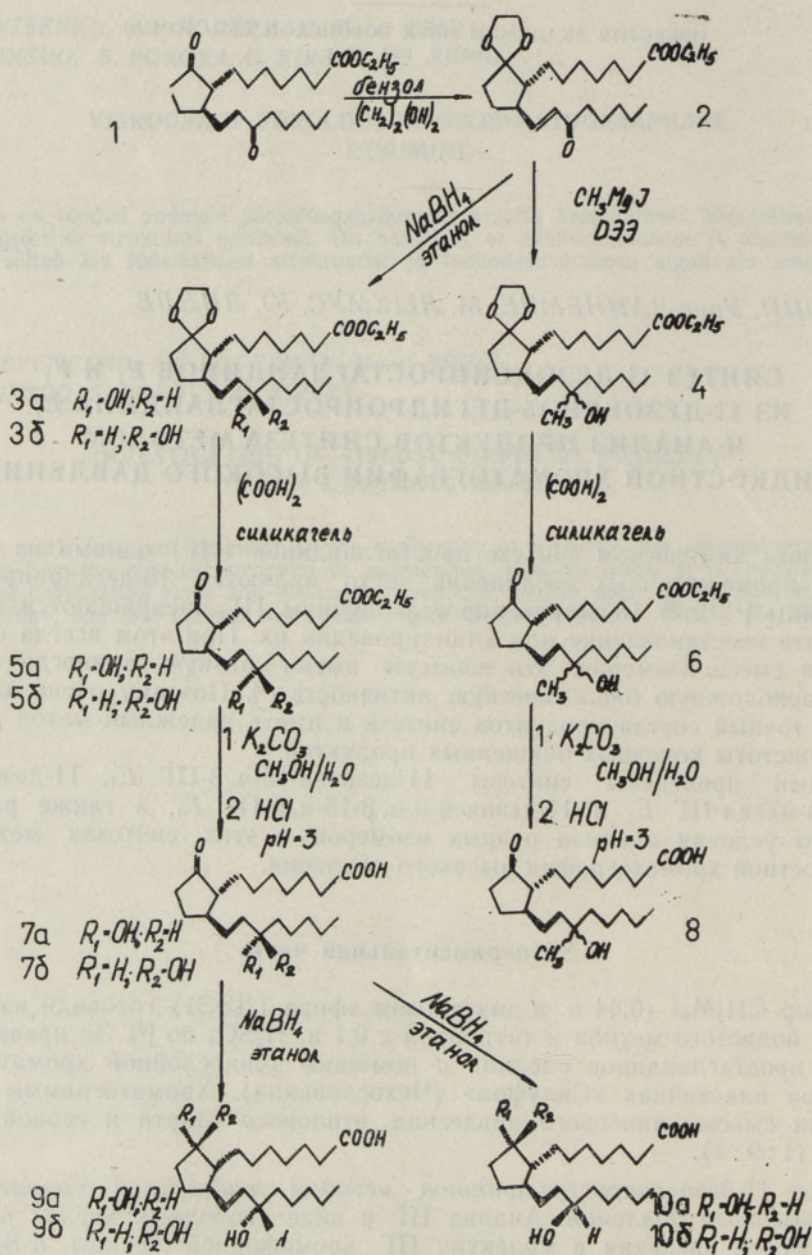
Нами проведены синтезы 11-дезоксиг-15- α , β -ПГ E_1 , 11-дезоксиг-15- α , β -метил-ПГ E_1 и 11-дезоксиг-9- α , β -15- α , β -ПГ F_1 , а также разработаны условия анализа разных изомеров в этих синтезах методом жидкостной хроматографии высокого давления.

Экспериментальная часть

Раствор CH_3MgI (0,44 н. в диэтиловом эфире (ДЭЭ)) готовили из магния и йодистого метила и титровали с 0,1 н. H_2SO_4 по [6]. За превращением простагландинов следили с помощью тонкослойной хроматографии на пластинках «Силуфол» (Чехословакия). Хроматограммы проявляли смесью анисового альдегида, этилового спирта и серной кислоты (1:9:1).

Анализ 11-дезоксипростагландинов методом жидкостной хроматографии высокого давления. Анализ ПГ в виде свободных кислот проводили после введения в молекулу ПГ хромофорной группы. *n*-Бромифенацетил-эфиры ПГ получали по схеме 1 [7, 8]:





1 мг ПГ в виде свободной кислоты растворяли в 0,5 мл ацетонитрила и добавляли 2,4 мг *n*-бромфенацилбромид (примерно трехкратный избыток) и 1,1 мл диизопропилэтиламина (примерно двукратный избыток). Через 2 ч приступали к хроматографированию образца в количестве ≈ 3 мкл.

Для анализа использовали хроматограф «Varian 8500 LC» с УФ детектором «Vari-Chrom» при 254 нм на колонке «Micro Pak Si-10» 250×2 мм при давлении 20 ат (условия хроматографирования приведены на рис. 1 и 2). Количество разных компонентов определяли по площадям пиков. Чувствительность детектора к *n*-бромфенацильным

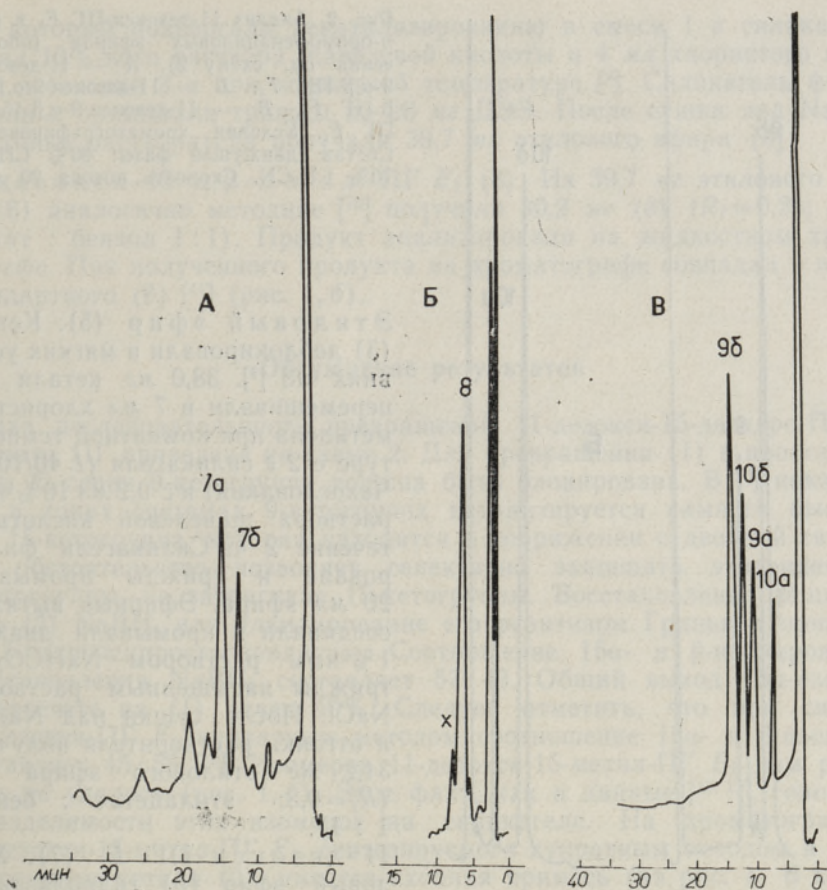


Рис. 1. Анализ 11-дезоксип-ПГ E_1 (А) и 11-дезоксип-15-метил-ПГ E_1 (Б) в виде *n*-бромофениловых эфиров (обозначения см. схему 2). Условия хроматографирования. Состав движущей фазы: 93% CH_2Cl_2 , 7% CH_3CN . Скорость потока 22 мл/ч.

эфирам разных ПГ, как и степень превращения отдельных ПГ в *n*-бромофениловые эфиры, были взяты одинаковыми [8].

Синтез ПГ проводили по схеме 2 (все ПГ на схеме являются рацематами).

Кеталь (2) [3]. Кипятили 110,5 мг (1), 18,9 мг этиленгликоля и 3,9 мг *n*-толуолсульфокислоты в 11 мл бензола. Образовавшуюся воду отделяли азеотропной дистилляцией бензолом. К реакционной смеси добавляли ДЭЭ, продукт промывали насыщенным раствором NaCl , 10%-ным раствором NaHCO_3 и еще раз насыщенным раствором NaCl . Органический слой сушили над Na_2SO_4 и после отгонки растворителя получали 95,6 мг кеталья (2) ($R_f=0,6$; элюент — этилацетат : бензол 1:1).

Кеталь (3). 38,2 мг кеталья (2) восстанавливали 40 мг NaBH_4 в 8 мл абсолютного этанола при 0°C в течение 25 мин. После подкисления раствора 1 н. HCl до pH 4 продукт экстрагировали трижды ДЭЭ и после сушки над Na_2SO_4 и отгонки растворителя получали 38,0 мг кеталья (3) ($R_f=0,4$; элюент — этилацетат : бензол 1:1) с примесью (5) ($R_f=0,3$; этилацетат : бензол 1:1),

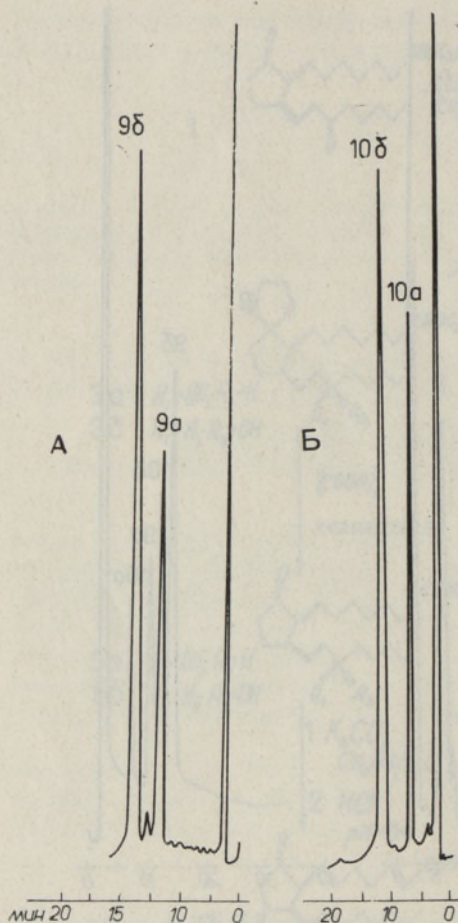


Рис. 2. Анализ 11-дезоксипиридина F_1 в виде n -бромофенацетатов (обозначения см. схему 2). А — 11-дезоксипиридин-9- α - β -ПГ F_1 , Б — 11-дезоксипиридин-9- α , β -15- β -ПГ F_1 , В — 11-дезоксипиридин-9- α , β -15- α -ПГ F_1 . Условия хроматографирования. Состав движущей фазы: 90% CH_2Cl_2 , 10% CH_3CN . Скорость потока 20 мл/ч.

Этиловый эфир (5). Кеталь (3) деблокировали в мягких условиях по [9]. 38,0 мг кетала (3) перемешивали в 7 мл хлористого метилена при комнатной температуре с 2 г силикагеля ($L\ 40/100\ \mu$, Чехословакия) и с 0,2 мл 10%-ного раствора щавелевой кислоты в течение 2 ч. Силикагель фильтровали и трижды промывали 20 мл эфира. Эфирные вытяжки соединяли и промывали дважды 1%-ным раствором NaHCO_3 и трижды насыщенным раствором NaCl . После сушки над Na_2SO_4 и отгонки растворителя получали 34,2 мг этилового эфира (5) ($R_f=0,3$; этилацетат : бензол 1 : 1).

11-дезоксипиридин E_1 (7). Этиловый эфир (5) гидролизovali по [10]. Из 34,2 мг (5) получили 30,0 мг смеси 7а и 7б. Смесь анализировали на жидкостном

хроматографе. Соотношение 15 α - и β -изомеров составляло 57 : 43 (рис. 1, а). Изомеры идентифицировали по стандартным 7а и 7б [11]. Смесь 7а и 7б разделяли по [14].

11-дезоксипиридин F_1 (смесь 9а и 9б). Восстанавливали 5 мг (7а) и 5 мг NaBH_4 в 1,2 мл абсолютного этанола при 0°C в течение 15 мин. После обработки, как и при получении кетала (3), и отгонки растворителя продукт анализировали на жидкостном хроматографе. Соотношение 9 α - и β -изомеров составляло 30,2 : 69,8. Менее полярный изомер был принят за 9 α -изомер, более полярный — за 9 β -изомер [7] (рис. 2, а).

11-дезоксипиридин-15- β -ПГ F_1 (смесь 10а и 10б). Аналогично восстановлению (7а) было восстановлено 5 мг (7б) и проанализировано на жидкостном хроматографе (рис. 2, б). Менее полярный изомер был принят в качестве 9 α -изомера, более полярный — в качестве 9 β -изомера [7]. Соотношение 9 α - и β -изомеров составляло 30,7 : 69,3.

Кеталь (4) и этиловый эфир (6). К 46,3 мг кетала (2) в 1 мл абсолютного ДЭЭ при 0° добавляли 0,7 мл 0,44 н. CH_3MgI и перемешивали в течение 15 мин. После гидролиза реакционной смеси 10%-ным раствором NH_4Cl и подкисления 1 н. HCl до $\text{pH} \approx 3$ продукт экстрагировали эфиром. Эфирные вытяжки промывали четыре раза насыщенным раствором NaCl . После отгонки эфира получали 44,7 мг кетала

(4), который подвергали декатализованию в смеси 1 г силикагеля, 0,1 мл 10%-ного раствора щавелевой кислоты и 4 мл хлористого метилена в течение 2 ч при комнатной температуре [9]. Силикагель фильтровали и промывали трижды по 20 мг ДЭЭ. После сушки над Na_2SO_4 и отгонки растворителя получали 39,7 мг этилового эфира (6).

11-дезоксипро-15- α , β -метил-ПГ E_1 (8). Из 39,7 мг этилового эфира (6) аналогично методике [10] получили 30,2 мг (8) ($R_f=0,25$; этилацетат : бензол 1:1). Продукт анализировали на жидкостном хроматографе. Пик полученного продукта на хроматографе совпадал с пиком стандартного (8) [11] (рис. 1, б).

Обсуждение результатов

Общая последовательность превращений 11-дезоксипро-15-дегидро-ПГ E_1 в другие ПГ приведена на схеме 2. Для превращения (1) в простагландины E_1 -серии 9-кетогруппа должна быть блокирована. В [3] показано, что в таких системах 9-кетогруппа кетализируется намного быстрее, чем 15-кетогруппа, которая находится в сопряжении с двойной связью. Это обстоятельство позволяет селективно защищать этиленкеталем 9-кетогруппы, не затрагивая 15-кетогруппы. Восстановление защищенного (2) NaBH_4 или алкилирование его реактивом Гриньяра приводит к 15-гидроксипростагландинам. Соотношение 15 α - и β -изомеров при восстановлении NaBH_4 составляет 57:43. Общий выход 15 α -изомера в пересчете на (1) равен 40%. Следует отметить, что при синтезе 11-дезоксипро-ПГ E_1 купратным методом соотношение 15 α - и β -изомеров составляет 45:55 [10]. Изомеров 11-дезоксипро-15-метил-ПГ E_1 нам разделить не удалось (рис. 1, б). Этот факт, как и данные [11, 12], говорит о неразделимости этих изомеров на силикагеле. На хроматограммах 11-дезоксипро-15-метил-ПГ E_1 , синтезируемого купратным методом и алкилированием кетала (2), имеется сходная примесь (на рис. 1, б компонент х), которую идентифицировать не удалось.

Восстановление 11-дезоксипро-ПГ E_1 (7) NaBH_4 приводит к образованию 11-дезоксипро-ПГ F_1 (9, 10) с соотношением 9 α - и β -изомеров 30:70. В то же время восстановление ПГ E_1 в этих же условиях дает соотношение 9 α - и β -изомеров 35:65 [13]. Это указывает на направляющую способность 11-гидроксифункции при атаке гидридом NaBH_4 , уменьшающую вероятность образования β -изомера. Такой факт согласуется с представлениями о стерической роли 11-гидроксифункции при определении направления атаки гидридом. Гидроксильная группа в ω -цепи не влияет на этот процесс. 15 α - и β -изомеры дали близкие к 9 α - и β -изомерам значения соотношения при восстановлении NaBH_4 . Проблемы восстановления кетогрупп в положениях 9 и 15 с точки зрения стереоспецифичности анализируются нами подробнее и обсуждаются в дальнейшем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Miyano, M., Dorn, C. R. Total synthesis of 15-dehydroprostaglandin E_1 . — Tetrahedron Letters, 1969, p. 1615—1618.
2. Taub, D., Hoffsommer, R. P., Kuo, C. H., Slates, H. L., Zelawski, Z. S., Wendler, N. L. A stereoselective total synthesis of prostaglandin E_1 . — J. Chem. Soc., Chem. Comm., 1970, p. 1258—1259.
3. Bagli, Y., Bogri, T. Prostaglandins. V. Utility of the Nef reaction in the synthesis of prostanoic acids. A total synthesis of (\pm)-11-deoxy PGE_1 , PGE_2 and their C-15 epimers. — Tetrahedron Letters, 1972, p. 3815—3817.

4. Greene, A., Crabbe, P. A novel approach to the synthesis of prostanoids. — *Tetrahedron Letters*, 1975, p. 2215—2218.
5. Hall, D. W. R., Jaily, K. D. Structure—activity relationships in a series of 11-deoxyprostaglandins. — *Prostaglandins*, 1976, v. 11, p. 573—587.
6. Иоффе С. Т., Несмеянов А. Н. Методы элементо-органической химии. Mg, Be, Ca, Sr, Ba. М., 1963.
7. Morozowich, W., Douglas, S. L. Resolution of prostaglandin *p*-nitrophenacyl esters by liquid chromatography and conditions for rapid quantitative *p*-nitrophenacylation. — *Prostaglandins*, 1975, v. 10, p. 19—40.
8. Fitzpatrick, F. A. High performance liquid chromatographic determination of prostaglandins F₂, E₂ and D₂ from *in vitro* enzyme inactivations. — *Anal. Chem.*, 1976, v. 48, p. 499—502.
9. Huet, F., Lechevallier, A., Pellet, M., Conia, J. M. Wet silica gel: a convenient reagent for deketalization. — *Synthesis*, 1978, p. 63—65.
10. Sih, C. J., Salomon, R. G., Price, P., Sood, R., Peruzzotti, G. Stereospecific total synthesis of prostaglandins via reaction of α -alkylcyclopentenones with organocuprates. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1975, v. 97, p. 857—865.
11. Лопп М., Лилле Ю. О препаративном синтезе 11-дезоксипростагландина E₁, его 15-метилпроизводного и простановой кислоты купратным методом. — *Изв. АН ЭССР. Химия*, 1979, т. 28, № 3, с. 155—160.
12. Skotnicki, Y. S., Schaub, R. E., Bernady, K. F., Siuta, G. J., Poletto, J. F., Weiss, M. Y., Dessy, F. Prostaglandin and congeners. 15. Synthesis and bronchidilator activity of dl-11-deoxy-15- or -16-alkylprostaglandins. — *J. Med. Chem.*, 1977, v. 20, p. 1551—1557.
13. Lincoln, F. H. Jr., Pike, J. E. Silylated prostaglandin F₂ acids. — *US Patent* 3,651,116.

Институт химии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
2/IV 1980

M. LOPP, Urve LAINEMÄE, M. LÖHMUS, Ü. LILLE

11-DEOKSÜPROSTAGLANDIINIIDE E₁ JA F₁ SÜNTEES 11-DEOKSÜ-15-DEHÜDROPROSTAGLANDIIN E₁-ST JA SÜNTEESIPRODUKTIDE ANALÜÜS KÕRGSURVE-VEDELIKKROMATOGRAAFILISEL MEETODIL

On kirjeldatud 11-deoksü-15- α , β -PG E₁, 11-deoksü-9- α , β -15- α , β -PG F₁ ja 11-deoksü-15- α , β -metüül-PG E₁ sünteesi 11-deoksü-15-dehüdro-PG E₁-st, analüüsitud sünteesiprodukte ja määratud isomeeride täpne vahekord kõrgsurve-vedelikkromatograafil «Varian 8500 LC» kolonnil «Micro Pak Si-10».

M. LOPP, Urve LAINEMÄE, M. LÖHMUS, Ü. LILLE

SYNTHESIS OF 11-DEOXYPROSTAGLANDINS E₁ AND F₁ FROM 11-DEOXY-15-DEHYDROPROSTAGLANDIN E₁ AND ANALYSIS OF THE PRODUCTS BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Synthesis of 11-deoxyprostaglandins E₁ and F₁ from 11-deoxy-15-dehydroprostaglandin E₁ was carried out. Products of the synthesis were analyzed as the *p*-bromophenacyl esters of the corresponding free acids by «Varian 8500 LC» HPLC on «Micro Pak Si-10». The ratio of α - and β -isomer in each case was determined. It was found that the ratio of 15 α - and β -isomer, after reducing 11-deoxy-15-dehydro PGE₁ by NaBH₄, was 57:43. The whole yield of 15 α -isomer was 40%. The ratio of 9 α - and β -isomer, after reducing 11-deoxy PGE₁ by NaBH₄, was 30:70. This ratio does not depend on the OH configuration at C-15. The isomers of 11-deoxy-15-methyl PGE₁ were inseparable on silica gel even when HPLC columns were used.