

СИНТЕЗ ТА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ 3 α - І 3 β -АЦИЛАМІНО-7 α ,12 α -ДИГІДРОКСИ-5 β -ХОЛАНОВИХ КИСЛОТ

©Д. О. Барсук¹, О. С. Криський¹, С. М. Коваленко¹, Д. С. Савченко²

¹ Національний фармацевтичний університет, Харків

² Національний медичний університет імені О. О. Богомольця

Резюме: описано зручний спосіб синтезу стереоізомерів 3-ациламіно-7 α ,12 α -дигідрокси-5 β -холанової кислоти. З високими виходами та чистотою одержано 3 α -ациламінопохідні, значно нижчі виходи 3 β -похідних зумовлені стеричними перешкодами.

Ключові слова: холева кислота, стереоізомери, синтез, ацилювання, амід.

Вступ. Аналіз даних літератури за останні роки свідчить про стійку тенденцію щодо розробки методів синтезу стереосполук, до яких відносять і жовчні кислоти та їх похідні. Вперше дослідники помітили їх особливість у 1937 р., при відновленні у м'яких умовах з послідовним перетворенням дигідрохолевої кислоти у 3 α -гідрокси-7,12-дикето-, 3 α ,7 α -дигідрокси-12-кетоні, нарешті, у 3 α ,7 α ,12 α -тригідрокси-5 β -холанову кислоту. Кислота, одержана цим шляхом, не була ідентична природній холевій кислоті, мала вдвічі вище значення оптичного обертання і виявляла іншу фізіологічну активність [1], що стало першим випадком встановлення різної фізіологічної дії стереоізомерів. Пізніше, для пошуку потенційних метаболітів жовчних кислот синтезовано 3 β - і 12 β -епімери жовчних кислот, а також 3 β ,7 α ,12 β -тригідрокси-5 β -холанову кислоту [2, 3]. 12 β -Гідрокси-ізомер одержано відновленням метилового естеру 12-кетоні-похідного холевої кислоти воднем у присутності нікелю Ренея.

Холеву кислоту та її дезоксіаналоги широко використовують для моделювання синтетичних рецепторів, нових амфіфілів і «будівельних» компонентів для формування комбінаторних бібліотек [4 – 6]. Для використання жовчних кислот з цією метою значну перевагу дає заміна групи OH на NH₂. Таким чином можна швидко та в достатній кількості одержати функціональні похідні, зберегти можливість донора H-зв'язку після ацилювання і високу гідрофільність при протонуванні.

Перший синтез 3 α ,7 α ,12 α -триаміно-5 β -холанової кислоти і вивчення властивостей проведено у нейтральному і кислому середовищі. Авторами відзначений її потенціал як «особливого амфіфіла», з підсиленими гідрофобними і гідрофільними властивостями, що дозволяє використовувати її як переносника медичних препаратів, зокрема, аніонного складу, у двофазних системах

[7]. У 1993 р. з тканин акул виділено антибіотик скваламін (3 β -N-1-{N[3-(4-амінобутил)]-1,3-діамінопропан-7 α ,24S-дигідрокси-5 β -холестан-24-сульфат), що виявив протимікробну активність відносно грамнегативних і грампозитивних бактерій [8], структура якого аналогічна 3 α ,7 α ,12 α -триаміно-5 β -холановій кислоті. Три аміногрупи, безпосередньо зв'язані зі стероїдним скелетом, а також функціоналізований бічний ланцюг дає можливість синтезу рецепторів [9].

Нові стероїдні катіонні антибіотики, одержані шляхом зв'язування трьох пептидних сполук до триаміноаналога холевої кислоти, синтезовані для створення комбінаторної бібліотеки, та вивчалися на наявність антибактеріальних властивостей [10].

Є інформація про використання похідних жовчних кислот як агоністів FXR та M-BAR/TGR5-рецепторів, ефективність яких залежить від просторової конфігурації та розміру замісників біля 3, 6 та 7 атомів Карбону [11].

Метою роботи був синтез нових похідних – 3 α - та 3 β -епімерів 3-аміно-7 α ,12 α -дигідрокси-5 β -холанової кислоти, оскільки у літературі не описані короткі та зручні методи синтезу сполук зазначеного ряду, які цікаві можливими відмінностями у фармакологічних ефектах.

Методи дослідження. Спектри ЯМР ¹H вимірювали у ДМСО-d₆ на приладі Varian M200 (200 МГц), внутрішній стандарт – ТМС. Температури плавлення визначали капілярним способом ([12], 2.2.14) на приладі ПТП (М).

Синтез метилових естерів 3 α - та 3 β -ациламіно-7 α ,12 α -дигідроксихоланових кислот 2a-і (загальна методика). 0,5 г (1,15 ммоль) відповідного естеру **1** розчиняли у 8 мл діоксану, до розчину додавали 0,3 мл (2,16 ммоль) триетиламіну та 1,30 ммоль відповідного ацилхлориду. Реакційну суміш нагрівали 2 год при

75 – 80 °С, розбавляли 30 – 40 мл води, екстрагували двома порціями по 30 мл метиленхлориду, органічні витяжки об'єднували та випаровували при зниженому тиску.

Синтез 3 α - та 3 β -ациламіно-7 α ,12 α -дигідроксихоланових кислот 3а-і (загальна методика). 0,70 ммоль відповідного естеру **2** та 0,03 г (0,75 ммоль) натрій гідроксиду розчиняли у суміші 10 – 15 мл води та 30 мл діоксану. Реакційну суміш нагрівали 2 год при 75 – 80 °С, розбавляли 50 мл 5% HCl, екстрагували двома порціями по 30 мл метиленхлориду, органічні витяжки об'єднували та випаровували при зниженому тиску.

Результати й обговорення. 3-Ациламіно-7,12-дигідроксихоланові кислоти **3а-і** синтезовані шляхом лужного гідролізу естерів 3-ациламіно-7,12-дигідроксихоланових кислот **2а-і**, одержаних взаємодією відповідних естерів 3-аміно-7,12-дигідроксихоланових кислот **1а, б** [13, 14] з ацилхлоридами (схема 1). Хід реакції контролювали методом ТШХ, 3 β -продукти додатково очищали колонковою хроматографією (в обох випадках елюент – 5% розчин ізопропанолу у хлороформі).

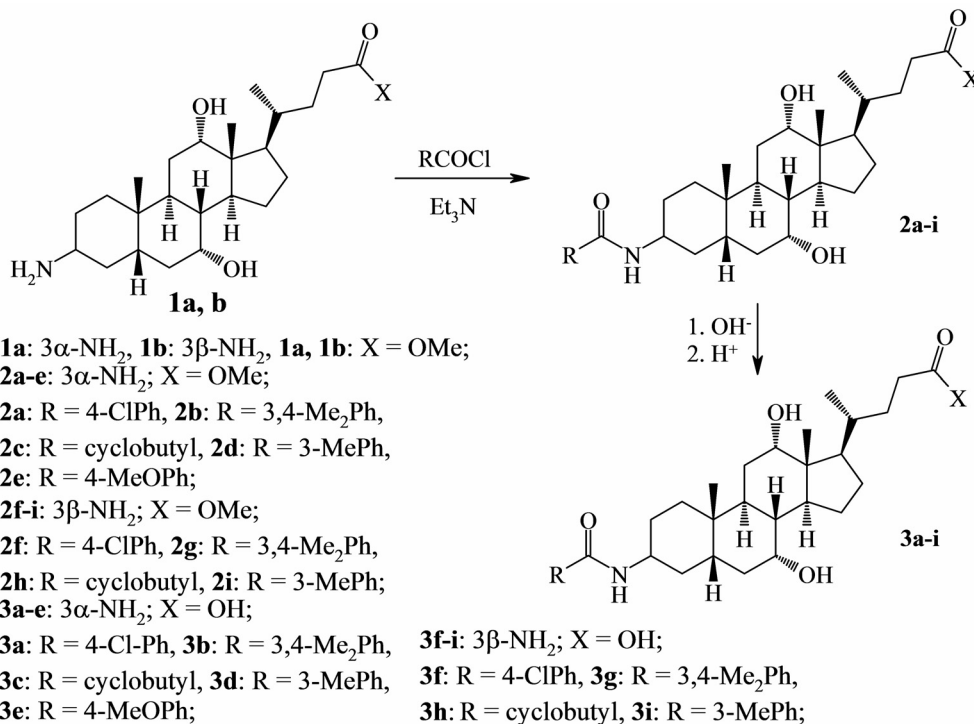
У спектрах ЯМР ^1H сполук **1** – **3** сигнали протонів фрагменту холестероїди збігаються з даними літератури [15, 16]. Сигнали метоксигрупи метилових естерів **1а, б, 2а-і** спостерігаються у вигляді синглету у межах 3,45 – 3,65 м.ч., які зникають у кислот **3а-і**, а натомість з'явля-

ються сигнали груп COOH – широкі синглети у ділянці 11,90 – 12,25 м.ч. Сигнали протонів групи NH₂ у положенні 3 сполук **1а, б** спостерігаються у межах 4,75 – 4,95 м.ч., які у випадку амідів **2а-і, 3а-і** (група CONH) зміщуються у слабке поле (7,15 – 7,50 м.ч.). Окрім цього, в зазначених сполук з'являються сигнали протонів ацильних замісників R (табл. 1).

Всі 3 β -амінопохідні **2f-і** і **3f-і** мали нижчі температури плавлення, порівняно з їх α -ізомерами **2а-е** і **3а-е** з однаковими замісниками (4-ClPh-, 4-MeOPh-, 3,4-Me₂Ph-, циклобутил-, 2-MePh-). Виходи естерів **2а-е** та 3 α -ациламіно жовчних кислот **3а-е** були на рівні 70 – 95 %, на відміну від 3 β -похідних **2f-і** і **3f-і** (табл. 1), що спонукає до пошуку ефективніших способів одержання останніх.

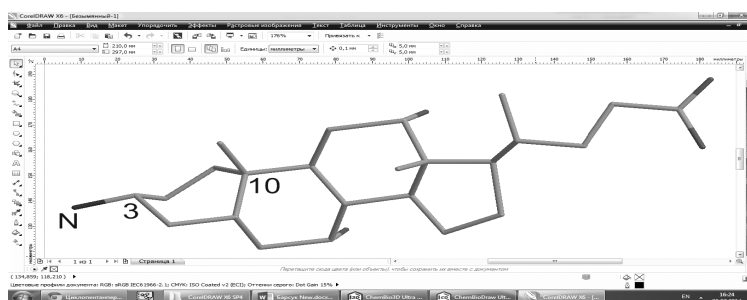
Причиною низьких виходів естерів **2а-е** можна вважати стеричні перешкоди, які і завадили одержати метиловий естер та відповідну йому 3 β -N(4-метоксифенілкарбоніл)аміно-7 α ,12 α -дигідроксихоланової кислоту, що мали б містити об'ємний замісник у положенні 3 стеранового скелета. Після побудови просторових моделей сполук **1а, б** з використанням програмного пакета ChemBioOffice 2010 стало видно причину стеричних перешкод: реакції за участю 3 β -аміногрупи ускладнені через її екранування об'ємним замісником у положенні 10 стеранового фрагмента – групою CH₃ (рис. 1, б), на відміну від 3 α -аміногрупи, яка спрямована у протилежний бік (рис. 1, а).

Схема 1.

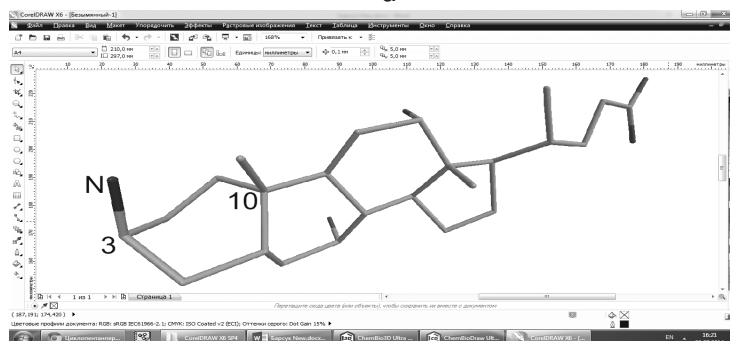


Таблиця 1. Фізико-хімічні характеристики і дані ЯМР ^1H спектрів сполук 2 і 3

Сполука	Вихід, %	Т. пл., $^{\circ}\text{C}$	Сигнали протонів ацильних замісників, R, м.ч.
2a	72	121 – 123	7,45 д (2H, 3,5-Ar), 7,75 д (2H, 2,6-Ar)
2b	79	115 – 117	2,25 с (6H, 3,4-(CH_3) $_2$ Ar), 7,15 д (1H, 5-Ar), 7,55 м (1H, 6-Ar), 7,70 д (1H, 2-Ar)
2c	84	105 – 107	0,50 м (1H, CH-cyclobutyl), 1,15 – 1,50 м (6H, (CH_2) $_3$ -cyclobutyl)
2d	79	95 – 97	7,30 д (2H, 4,6-Ar), 7,60 м (1H, 5-Ar) 7,75 т (1H, 2-Ar)
2e	96	120 – 123	3,75 с (3H, 4- CH_3OAr), 6,90 д (2H, 3,5-Ar), 7,45 д (2H, 2,6-Ar)
2f	45	111 – 113	7,45 д (2H, 3,5-Ar), 7,70 д (2H, 2,6-Ar)
2g	48	104 – 106	2,25 с (6H, 3,4-(CH_3) $_2$ Ar), 7,10 д (1H, 5-Ar), 7,50 м (1H, 6-Ar), 7,75 д (1H, 2-Ar)
2h	62	81 – 83	0,60 м (1H, CH-cyclobutyl), 1,15 – 1,40 м (6H, (CH_2) $_3$ -cyclobutyl)
2i	52	95 – 97	7,30 д (2H, 4,6-Ar), 7,65 м (1H, 5-Ar) 7,80 т (1H, 2-Ar)
3a	79	159 – 161	7,40 д (2H, 3,5-Ar), 7,75 д (2H, 2,6-Ar)
3b	93	183 – 185	2,30 с (6H, 3,4-(CH_3) $_2$ Ar), 7,15 д (1H, 5-Ar), 7,50 м (1H, 6-Ar), 7,75 д (1H, 2-Ar)
3c	73	155 – 157	0,55 м (1H, CH-cyclobutyl), 1,10 – 1,40 м (6H, (CH_2) $_3$ -cyclobutyl)
3d	82	166 – 168	7,35 д (2H, 4,6-Ar), 7,55 м (1H, 5-Ar) 7,75 т (1H, 2-Ar)
3e	72	143 – 145	3,80 с (3H, 4- CH_3OAr), 6,85 д (2H, 3,5-Ar), 7,50 д (2H, 2,6-Ar)
3f	45	151 – 163	7,40 д (2H, 3,5-Ar), 7,75 д (2H, 2,6-Ar)
3g	48	172 – 174	2,30 с (6H, 3,4-(CH_3) $_2$ Ar), 7,15 д (1H, 5-Ar), 7,50 м (1H, 6-Ar), 7,75 д (1H, 2-Ar)
3h	62	148 – 150	0,60 м (1H, CH-cyclobutyl), 1,10 – 1,50 м (6H, (CH_2) $_3$ -cyclobutyl)
3i	52	155 – 157	7,35 д (2H, 4,6-Ar), 7,55 м (1H, 5-Ar) 7,75 т (1H, 2-Ar)



а



б

Рис. 1. Просторові моделі молекул 3-аміно-7 α ,12 α -дигідрокси-5 β -холанових кислот 1 (атоми Н не показані); а – 3 α - NH_2 - (1a), б – 3 β - NH_2 - (1b).

Висновки. 1. Запропоновано зручний спосіб одержання 3-ациламінопохідних жовчних кислот з різним просторовим положенням атома Нітрогену при атомі Карбону у положенні 3 стеранового фрагмента. 2. Незначні виходи 3 β -ациламінопохідних можна пояснити стеричними перешкодами. 3. Різні просторова конфігурація синтезованих ізомерів може зумовлювати відмінності їх біологічної дії.

За даними літератури, використання мікрохвильової активації може прискорювати деякі реакції та тимчасово «активувати» 3 β -аміногрупу, що призведе до збільшення виходу та зменшення кількості побічних продуктів [17]. Перспективним є використання ферментів [11], що дає можливість проводити реакції за м'яких умов, але висока їх вартість та складність одержання, зумовлює певні труднощі у використанні ферментативної хімії.

Література

1. Manta J. Resynthesis of bile acids / J. Manta, V. Lupea // Bull. Soc. Chim. Biol. – 1937. – №19. – P. 1343.
2. Chang F. C. 3 α ,12 α -Dihydroxycholan-20-one / F. C. Chang, N. F. Wood, W. G. Holton // J. Org. Chem. – 2005. – №38(6). – P. 1718 – 1723.
3. Ebersole R. C. Improved synthesis of 12-substituted-5 α -cholanes / R. C. Ebersole, F. C. Chang // J. Org. Chem. – 1999. – №38(15). – P. 2713 – 2715.
4. Davis A. P. Receptors based on cholic acid / A. P. Davis, R. P. Bonar-Law, J. K. M. Sanders // Comprehensive Supramolecular Chemistry. – 1996. – №4. – P. 257 – 286.
5. Li Y. Dimeric and Oligomeric Steroids / Y. Li, J. R. Dias // Chem. Rev. – 1997. – № 97. – P. 283 – 304.
6. Perry J. J. Anion recognition by tripodal receptors / J. J. Perry, R. P. Williams // J. Am. Chem. Soc. – 2009. – № 119. – P. 1793 – 1794.
7. Broderick S. The “triamino-analogue” of methyl cholate; a facial amphiphile and scaffold with potential for combinatorial and molecular recognition chemistry / S. Broderick, A. P. Davis, R. P. Williams // Tetrahedron Lett. – 1998. – № 39. – P. 6083 – 6086.
8. Squalamine: An Aminosterol antibiotic from the shark / K. S. Moore, S. Wehrli, H. Roder, Rogers M. [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. – 1993. – №90. – P. 1354 – 1358.
9. Steroidal guanidines as enantioselective receptors for N-acyl 6-amino acids. P. 1. 36-Guanylated carbamates derived from cholic acid / L. J. Lawless, A. G. Blackburn, A. J. Ayling [et al.] // Perkin Trans 1. – 2001. – №11. – P. 1329 – 1341.
10. Ding B. Synthesis and Characterization of Peptide-Cationic Steroid Antibiotic Conjugates / B. Ding, U. Tatofa, T. Orsak [et al.] // Org. Lett. – 2004. – № 6. – P. 3433 – 3436.
11. Eloranta J. J. The role of FXR in disorders of bile acid homeostasis / J. J. Eloranta, G. A. Kullak-Ublick // Physiology (Bethesda). – 2008. – №23. – P. 286 – 295.
12. Державна Фармакологія України – 1-е видання / Державний департамент з контролю за якістю, безпекою та виробництвом лікарських засобів і виробів медичного призначення. – Харків: ВГ “PIPEF”, 2001. – 531 с.
13. Ryu E. H. Solvent-Induced Amphiphilic Molecular Baskets: Unimolecular Reversed Micelles with Different Size, Shape, and Flexibility / E. H. Ryu, Y. J. Zhao, Y. Z. Zhenqi // J. Org. Chem. – 2006. – Vol. 71, № 19. – P. 7205 – 7213.
14. Zhao Y. Oligomeric Cholates: Amphiphilic Foldamers with Nanometer-Sized Hydrophilic Cavities / Y. Zhao, Z. Zhenqi // J. Am. Chem. Soc. – 2009. – Vol. 127, №50. – P. 17894 – 17901.
15. Гусаров В. І. Виділення жовчних кислот з жовчі великої рогатої худоби / В. І. Гусаров, С. М. Коваленко, Л. В. Євсєєва // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2012. – № 2(9). – С. 41 – 43.
16. Bhacca N. S. Applications of NMR spectroscopy in organic chemistry. Illustrations from the steroid field / N. S. Bhacca, D. H. Williams. Cambridge: – Churchill College, 1964. – 198 p.
17. Michael D. Applications of microwave dielectric heating effects to synthetic problems in chemistry / D. Michael, P. Mingos, D. R. Baghurst // Chem. Soc. Rev. – 1991. – № 20. – P. 1 – 47.

СИНТЕЗ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА 3 α - И 3 β -АЦИЛАМИНО-7 α ,12 α -ДИГИДРОКСИ-5 β -ХОЛАНОВЫХ КИСЛОТ

Д. А. Барсук¹, О. С. Крыськив¹, С. Н. Коваленко¹, Д. С. Савченко²

¹Национальный фармацевтический университет, Харьков

²Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца

Резюме: описан удобный способ синтеза стереоизомеров 3-ациламино-7 α ,12 α -дигидрокси-5 β -холановой кислоты. С высокими выходами и чистотой получены 3 α -ациламинопроизводные, значительно ниже выходы 3 β -производных, обусловленные стерическими препятствиями.

Ключевые слова: холевая кислота, стереоизомеры, синтез, ацилирование, амиды.

SYNTHESIS AND PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF 3 α - AND 3 β -ACYLAMINO-7 α ,12 α -DIHYDROXY-5 β -CHOLANIC ACIDS

D. O. Barsuk¹, O. S. Kryskiv¹, S. M. Kovalenko¹, D. S. Savchenko²

¹National University of Pharmacy, Kharkiv

²National Medical University by O. O. Bohomolets

Summary: the paper describes a convenient method for the synthesis of the stereoisomers of 3-acylamino-7 α ,12 α -dihydroxy-5 β -cholan-20-one. With high yields and purity we obtained 3 α -acylamino derivatives, yields of 3 β -derivatives were significantly lower, due to steric constraints.

Key words: cholic acid, stereoisomers, synthesis, acylation, amides.

Отримано 12.08.14