



УДК 577.1:547.92:542.91

СИНТЕЗ, СТРУКТУРА И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ 8α -АНАЛОГОВ СТЕРОИДНЫХ ЭСТРОГЕНОВ, СОДЕРЖАЩИХ ФТОР В ПОЛОЖЕНИИ 2

© 2007 г. В. Н. Белов, В. Ю. Дудкин, Е. А. Урусова, Г. Л. Старова, С. И. Селиванов, С. В. Николаев, Н. Д. Ещенко, С. Н. Морозкина, А. Г. Шавва[#]

Санкт-Петербургский государственный университет, химический факультет, 198504, Санкт-Петербург, Старый Петергоф, Университетский просп., 26

Поступила в редакцию 05.08.2006 г. Принята к печати 28.11.2006 г.

Осуществлен полный синтез 8α -аналогов стероидных эстрогенов, содержащих фтор в положении 2. На примере 17β -ацетокси-3-метокси-2-фтор- 8α -эстра-1,3,5(10)-триена изучены особенности структуры таких соединений. Показано, что 8α -аналоги стероидных эстрогенов с атомом фтора в положении 2 обладают пониженной утеротропной активностью, но сохраняют остеопротекторную и гипохолестеринемическую активность.

Ключевые слова: стероидные эстрогены, аналоги с F в положении 2, полный синтез, молекулярная структура; заместительная гормональная терапия.

ВВЕДЕНИЕ

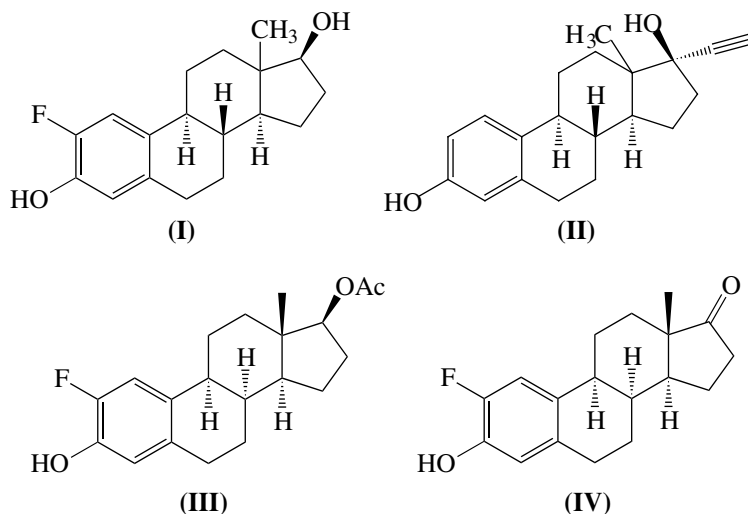
Известно, что использование эстрогенов для заместительной гормональной терапии может снижать у женщин частоту сердечно-сосудистых заболеваний [1], смягчать течение остеопороза [2] и, вероятно, болезни Альцгеймера [3], благоприятно влиять на различные функции, регулируемые гипоталамусом [4]. Однако клинические исследования не всегда подтверждают эту точку зрения [5], многие годы казавшаяся незыблемой. Более того, длительное применение эстрогенов приводит к повышению риска таких онкологических заболеваний, как рак молочной железы [6], рак яичников [7] и рак эндометрия [8].

В связи с этим остается актуальной проблема создания безопасных лекарственных препаратов на основе стероидных эстрогенов.

Считают, что вероятность индукции опухолей эстрогенами в заметной степени связана с их гормональным действием [9] и возрастает с усилением утеротропной активности стероида. Исключениями являются 2-фторэстрадиол (I) и 17α -этинилэстрадиол (II). Первое из этих веществ в условиях эксперимента канцерогенным эффектом не обладает [10, 11], у второго он заметно ниже, чем у природного гормона эстрадиола, хотя гормональная активность соедине-

ния (II) при пероральном введении гораздо выше, чем у эстрадиола [12]. 8α -Аналоги эстрадиола обладают относительно высоким сродством к рецепторам эстрогенов [13–17] и могут представлять потенциальный интерес для создания на их основе препаратов с улучшенными биологическими свойствами. Поскольку такие стероиды могут обладать гипохолестеринемическим [18–22] и остеопротекторным [22, 23] действием, можно надеяться на получение на их основе соединений, перспективных для заместительной гормональной терапии. В связи с этим представлялось интересным разработать методы синтеза 8α -аналогов стероидных эстрогенов, содержащих фтор в положении 2, и исследовать некоторые биологические свойства этой группы веществ. Строгий выбор модельных соединений для синтеза представлялся затруднительным, поскольку эстрогены регулируют активность не менее 12 генов в остеобластах и остеокластах [24]. Оценить перспективность новой группы стероидов можно было только экспериментальным путем. В качестве модельных соединений мы избрали 8α -аналоги (III) и (IV), поскольку подобные стероиды, не содержащие фтор в положении 2, в опытах на овариэктомированных крысах проявляли остеопротекторное действие и снижали содержание холестерина в сыворотке крови.

[#] Автор для связи (тел.: (812) 4286809; факс: (812) 4286939; эл. почта: AGShavva@yandex.ru).



РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Получение целевых соединений осуществляли по схеме Торгова–Ананченко [25]. Введение атома фтора в стероидную молекулу проводили на ранних этапах синтеза (схема), чтобы в дальнейшем (при необходимости иметь оптически активные вещества) сократить количество стадий после типичного микробиологического восстановления “торговских” секостероидов [26, 27].

Диазотирование известного аминотетралина (V) [28] с последующей заменой диазогруппы атомом фтора позволило легко получить 6-метокси-7-фтортетралин (VII), однако окисление последнего реактивом Джонса [29] протекает неоднозначно, поэтому для выделения 6-метокси-7-фтор-1-тетралона (VIII) пришлось использовать хроматографическую очистку. Дальнейшее превращение этого соединения в торговские эстрапентаены (XIII) и (XIV) осуществляли стандартным путем через изотиуриониевую соль (XI), полученную по методу Вендлера [30]. На всех этапах выходы были достаточно высокими, хроматографическая очистка не требовалась. Однако при каталитическом гидрировании ацетата (XIV) не удалось подобрать условия, при которых частично не происходил бы гидрогенолиз. Целевое соединение (III) очищали методом ВЭЖХ, в качестве побочного продукта выделяли стероид (XV).

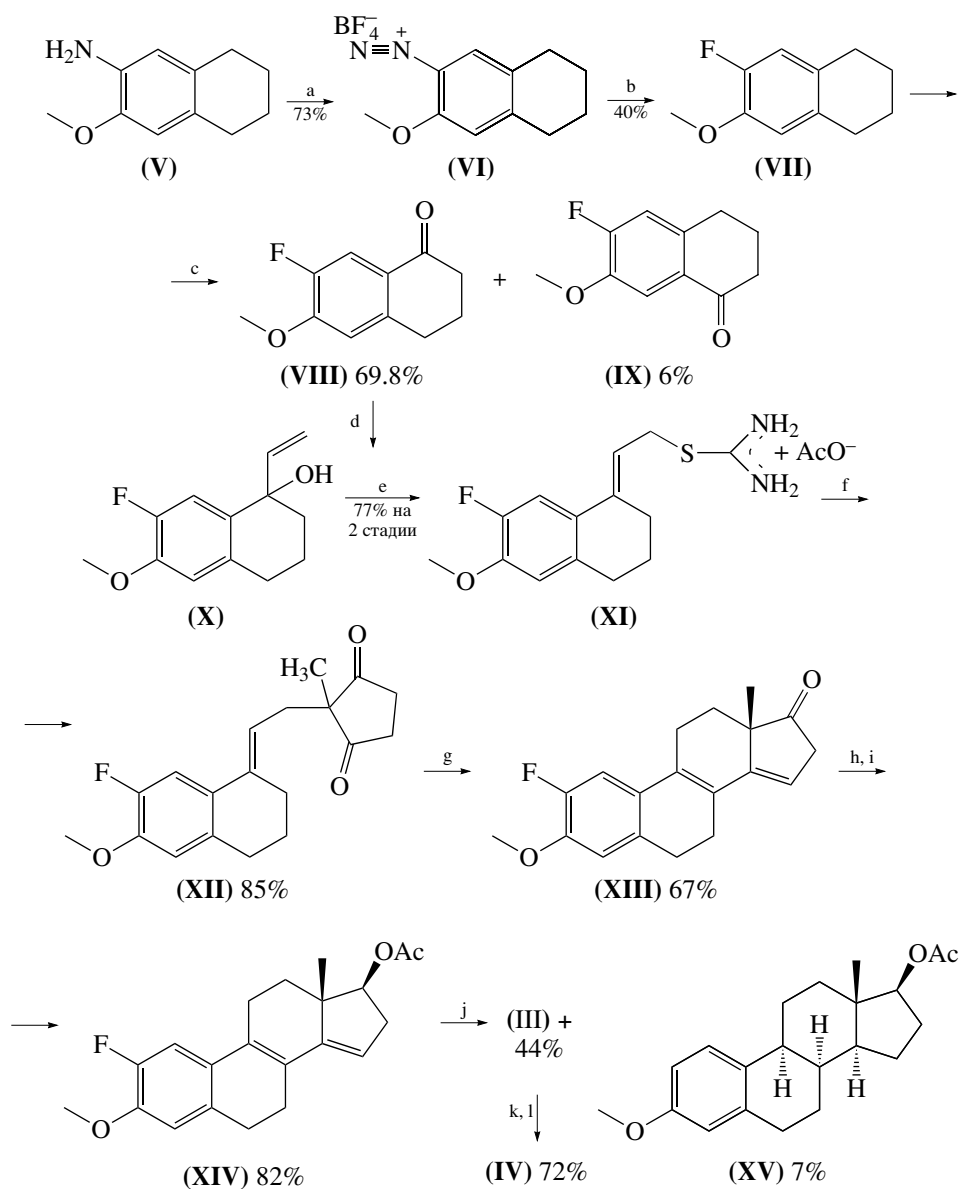
Состав и структуры всех полученных соединений подтверждены данными элементного анализа, масс- и ^1H - и ^{13}C -ЯМР-спектрами (см. “Эксперимент. часть”); структурные особенности стероидной молекулы (III) следуют из данных рентгеноструктурного анализа (рисунок). Конформация молекулы 17β -ацетокси-3-метокси-2-фтор- 8α -эстра-1,3,5(10)-триена в кристалле: кольцо А – плоское, кольцо В – слабо искаженное 7α -полу-

кресло (атомы С6 и С9 лежат в плоскости цикла А, стенка полукресла отклоняется от этой плоскости на угол 47.0°), кольцо С – практически правильное 8α , 13β -кресло, основание которого составлено атомами С8–С11–С12–С13. Ножки и спинка кресла почти параллельны и составляют с основанием углы в 46.7° и 49.6° соответственно. Кольцо D – слабо искаженный 13β -конверт, крышка конверта открыта на 31.6° . Сочленение колец В и С – *цис*, колец С и D – *транс*. Атом углерода 3-метоксигруппы отклоняется от плоскости цикла А на 0.9° и занимает *цис*-положение относительно связи С2–С3.

Следует отметить, что расстояние между атомами кислорода при С3 и С17, имеющее важное значение для эффективного связывания с рецепторами эстрогенов, составляет $10.939(5)$ Å и совпадает с этим расстоянием в молекуле эстрадиола. Геометрия молекулы стероида (III), представленная на рисунке, аналогична таковой ацетата (XV) [31].

Конформации ацетатов (III) и (XV) в растворе изучены методами спектроскопии ^1H - и ^{13}C -ЯМР. Полное отнесение сигналов в спектрах ЯМР проведено на основании данных гомо- и гетероядерных корреляционных методов COSY-90 [32], COSY-DQF [33], J-COSY [34], COLOC [35], NOESY [36], DEPT-135 [37]. Это позволило определить некоторые межпротонные расстояния в ацетатах (III) и (XV) в растворе предложенным ранее методом [38–40] и сравнить их конформации в растворе и кристалле (табл. 1). Сопоставление найденных экспериментально величин межпротонных расстояний показывает, что эти стероиды имеют одну и ту же конформацию углеродного скелета в растворе и в кристалле.

Экспериментальные данные достаточно хорошо согласуются с результатами молекулярного моделирования, осуществленного неэмпирическим ме-



- a) NaNO_2 , 6 M HCl , от -5 до $+10^\circ\text{C}$; 40% водн. HBF_4 ; b) Ar , 130°C ;
 c) CrO_3 , ацетон, водн. H_2SO_4 , от -5°C до комн. т.;
 d) $\text{CH}_2=\text{CHMgBr}$, THF ; e) тиомочевина, AcOH , комн. т.;
 f) водн. EtOH ; g) MeOH , конц. HCl , кипячение; TsOH , толуол, кипячение;
 h) NaBH_4 , EtOH ; i) Ac_2O , Py ; j) $\text{H}_2/\text{Ni}_{\text{Ra}}$, бензол;
 k) NaOH , MeOH , бензол, кипячение; l) CrO_3 , Py , комн. т.

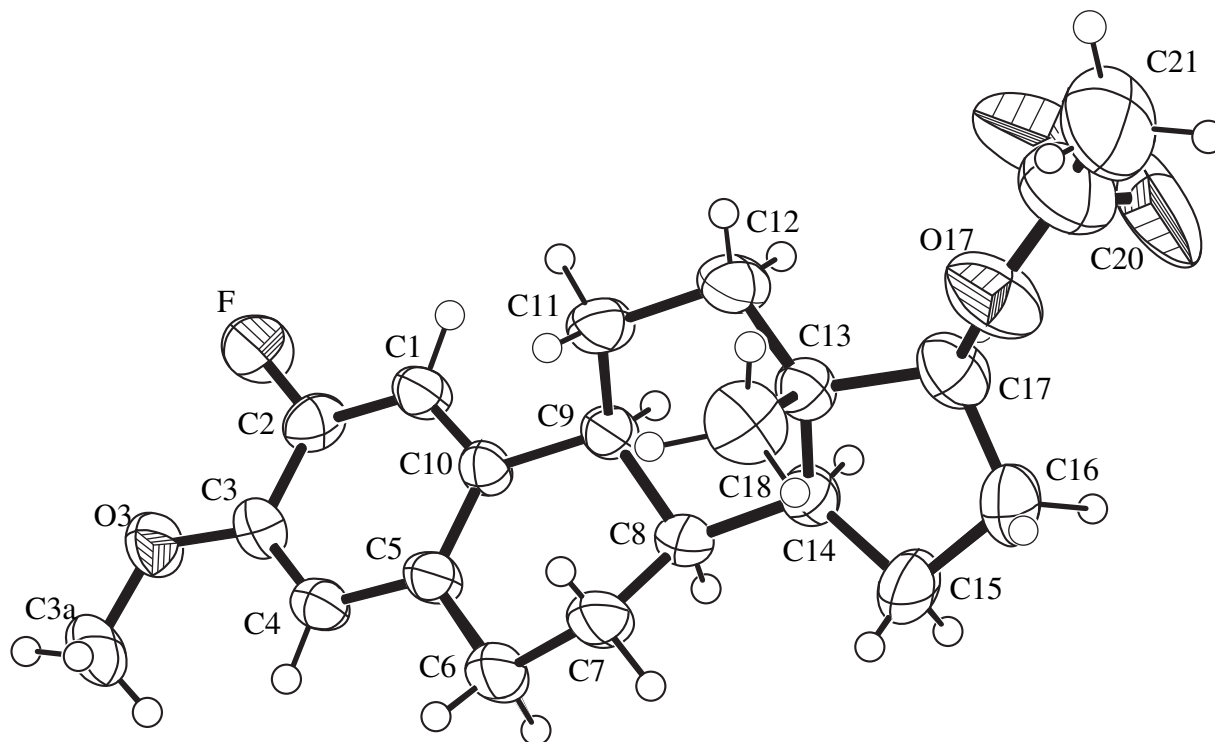
Схема.

тодом *ab initio* (базис 6-31G) и полуэмпирическими методами PM3 и MM + [41] (табл. 1). Это означает, что указанные расчетные методы можно использовать в дальнейшем для моделирования связывания стероидов подобного строения с различными белками для прогноза их биологических свойств.

Модельное соединение (IV) получали из ацетата (III) путем щелочного гидролиза с последую-

щим окислением полученного 17-гидроксипродукта реактивом Джонса.

Изучение остеопротекторного действия и влияние на содержание холестерина соединений (II)–(IV), (XV) проводили на овариэктомированных крысах линии Sprague-Dawley [42–44]; результаты представлены в табл. 2.



Пространственное строение молекулы стероида (III) по данным РСА.

У овариэктомированных крыс наблюдается сильное снижение веса матки по сравнению с ложнооперированными животными, повышается вес тела и содержание холестерина в сыворотке крови, тогда как содержание минеральных компонентов в бедренной кости падает (об этом судили по соотношению веса золы от бедренной кости к влажному весу кости). Исследованные стероиды (I)–(IV) в условиях эксперимента проявляют примерно одинаковый остеопротекторный эффект и заметное гипохолестеринемическое действие, однако предпочтение следует отдать стероидам (III) и (IV), у которых заметно меньше влияние на матку. Все исследованные вещества сильно снижают вес тела овариэктомированных крыс.

Таким образом, 8 α -аналоги стероидных эстрогенов, содержащие фтор в положении 2, проявляют остеопротекторное действие при пониженной утеротропной активности и перспективны для дальнейших исследований.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР (δ , м.д.) регистрировали на спектрометре DPX-300 фирмы "Bruker" с рабочими частотами 300.13 и 75.4 МГц для ядер ^1H и ^{13}C для растворов в CDCl_3 при температуре 30°C. В качестве стандарта использовали сигнал остаточного CHCl_3 (7.27 м.д.) для спектров ^1H -ЯМР и сигнал CDCl_3 (76.9 м.д.) для спектров ^{13}C -ЯМР. Гомо-

ядерные КССВ измерены в герцах с точностью ± 0.02 Гц из спектров ^1H -ЯМР, полученных после дополнительной обработки линий с помощью Лоренц-Гауссова преобразования.

Масс-спектры снимали на приборе MX-1321 при температуре ионизационной камеры 200–210°C и энергии электронного удара 70 эВ.

Аналитическую ТСХ проводили на пластинках "Силуфол" (Cavalier) в системах растворителей петролейный эфир–этилацетат (6 : 1), (4 : 1) и (3 : 1). Колоночную хроматографию проводили на силикагеле фирмы "Merck" (40–60).

Все синтезированные стероиды представляли собой рацематы.

1. 17 β -Ацетокси-3-метокси-2-фтор-8 α -эстра-1,3,5(10)-триен (III)

а) 6-Метокси-7-фтортетралин (VII). Суспензию 6.6 г растертого 6-амино-7-метокситетралина (V) [28] в 14 мл 6 М HCl выдерживали 10 мин в ультразвуковой бане до получения однородной массы, охлаждали до 5°C, прикапывали раствор 2.6 г NaNO_2 в 8.5 мл дистиллированной воды, следя за тем, чтобы температура реакционной смеси не поднималась выше 0°C. К полученному раствору диазониевой соли добавляли 20 мл 40%-ного раствора HBF_4 . Перемешивание продолжали 30 мин, осадок отфильтровывали, промывали этанолом, затем абсолютным диэтиловым эфи-

Таблица 1. Межатомные расстояния (Å) в стероидах (III) и (XV)

Расстояния между протонами	(III)					(XV)				
	Определено методом					Определено методом				
	РСА	ЯМР	<i>Ab initio</i>	PM3	MM+	РСА	ЯМР	<i>Ab initio</i>	PM3	MM+
1–2	–	–	–	–	–	2.46		2.46	2.48	2.40
1–9 α	2.59	2.56	2.59	2.52	2.53	2.51	2.48	2.56	2.52	2.53
1–11 α	2.39	2.36	2.44	2.39	2.38	2.52	2.36	2.42	2.41	2.38
1–11 β	3.57		3.56	3.61	3.52	3.73		3.55	2.39	3.52
4–6 α	2.93	2.91	2.95	2.87	2.84	2.86		2.95	2.87	2.83
4–6 β	2.45	2.40	2.44	2.43	2.40	2.37		2.43	2.44	2.41
6 α –7 α	2.42	2.51	2.41	2.45	2.46	2.37		2.42	2.45	2.46
6 β –7 α	2.53	2.62	2.51	2.55	2.54	2.56		2.51	2.55	2.54
6 β –7 β	2.43	2.36	2.43	2.43	2.41	2.38		2.43	2.43	2.51
7 α –8 α	2.40		2.51	2.51	2.52	2.37		2.51	2.51	2.52
7 α –15 α	3.33		3.36	3.23	3.30	3.41		3.37	3.22	3.31
7 α –15 β	2.22		2.32	2.11	2.31	2.37		2.34	2.11	2.30
7 β –11 β	2.32		2.43	2.35	2.40	2.25		2.42	2.35	2.40
7 β –15 β	3.30		3.34	3.13	3.32	3.36		3.35	3.14	3.32
8 α –9 α	2.43		2.33	2.37	2.37	2.46	2.25	2.33	2.37	2.37
8 α –14 α	2.11		2.31	2.33	2.31	2.10	2.40	2.31	2.33	2.31
9 α –12 α	2.62	2.69	2.65	2.63	2.63	2.55	2.46	2.65	2.62	2.64
9 α –14 α	2.30		2.43	2.45	2.46	2.27	2.34	2.42	2.45	2.46
11 α –12 β	2.50		2.48	2.49	2.50	2.50		2.45	2.49	2.50
12 α –14 α	2.46		2.42	2.40	2.45	2.56		2.42	2.40	2.45
12 α –17 α	2.35	2.43	2.37	2.44	2.37	2.36	2.28	2.37	2.44	2.39
14 α –17 α	2.58	2.47	2.34	2.50	2.38	2.54	2.26	2.36	2.46	2.38
15 α –16 α	2.31		2.36	2.36	2.37	2.31	2.35	2.37	2.36	2.38
16 α –17 α	2.41	2.41	2.39	2.38	2.38	2.33	2.42	2.35	2.38	2.38
Расстояние между O3 и O17	10.94		10.87	10.80	10.85	10.94		10.88	10.79	10.85

При применении спектроскопии ЯМР в стероидах (III) и (XV) в качестве эталонных приняты расстояния между протонами 16 α и 16 β (1.77 Å) и между протонами 1 и 2 (2.46 Å) соответственно.

Таблица 2. Биохимические показатели для крыс, получавших только оливковое масло либо стероиды (II), (III), (IV), (XV) в оливковом масле

Группа подопытных крыс Sprague Dawley	Стероид	Изменение веса тела за время опыта, г	Вес матки, мг/100 г веса тела	Вес золы от бедренной кости/“влажный” вес бедренной кости	Содержание холестерина в сыворотке крови, мг/дл
Ложнооперированные	–	31 ± 4*	147 ± 9*	0.442 ± 0.007*	63.7 ± 1.8
Овариэктомированные	–	68 ± 5	32 ± 2	0.403 ± 0.005	92.4 ± 3.2
То же	(II)	27 ± 4*	149 ± 8*	0.437 ± 0.004*	43.0 ± 1.8*
»	(III)	19 ± 4*	110 ± 5*	0.447 ± 0.005*	36.0 ± 3.2*
»	(IV)	16 ± 3*	109 ± 7*	0.449 ± 0.005*	29.7 ± 2.6*
»	(XV)	14 ± 3*	159 ± 7*	0.439 ± 0.005*	33.6 ± 1.9*

Знак * означает достоверное различие по сравнению с группой овариэктомированных животных, получавших только оливковое масло. $P < 0.05$ (t -критерий Стьюдента). В каждой группе по 20 крыс.

ром, сушили. Получали 7.4 г (73%) diazonиевой соли (VI), т. пл. 125°C. В 2-горлую колбу объемом 0.5 л, снабженную подводом аргона, магнитной мешалкой, обратным холодильником и закрытым барботером, помещали 40 г diazonиевой соли (VI). Колбу нагревали на масляной бане до 130°C в токе аргона. Образовавшееся черное масло перемешивали при этой температуре до прекращения выделения белого газа. Затем реакционную смесь охлаждали, обрабатывали несколькими порциями диэтилового эфира (общий объем 1 л), осадок отфильтровывали, фильтрат промывали 0.5 л 25%-ного раствора NaOH и водой до pH 7 и сушили Na₂SO₄. Оставшееся после удаления растворителя черно-коричневое масло перегоняли в вакууме. Получали 10.53 г (40%) 6-метокси-7-фтортетралина (VII) в виде бесцветной жидкости с т. кип. 122–125°C (5 Торр), n_D^{20} 1.5272. Т. пл. 16°C. Спектр ¹H-ЯМР: 1.74 (4 H, м), 2.68 (4 H, м), 3.81 (3 H, с, CH₃O), 6.63 (1 H, д, ⁴J_{HF} 8.9, H5), 6.76 (1 H, д, ³J_{HF} 12, H8).

б) 6-Метокси-7-фтор-1-тетралон (VIII). К раствору 27.8 г соединения (VII) в 150 мл ацетона, охлажденному до –10°C, прибавляли по каплям при сильном перемешивании раствор 28 г хромового ангидрида в смеси 120 мл дистиллированной воды и 30 мл концентрированной серной кислоты с такой скоростью, чтобы температура реакционной смеси не поднималась выше –5°C. Перемешивание продолжали еще 4.5 ч при температуре –5°C, после чего реакционную смесь оставляли при комнатной температуре на 14 ч. Затем ацетонный слой отделяли от водного, водный слой разбавляли водой до растворения осадка, а затем экстрагировали этилацетатом (4 × 50 мл). Объединенный органический экстракт промывали последовательно равными объемами воды, 5% NaOAc, 5% Na₂CO₃, насыщ. раствора NaCl и сушили Na₂SO₄. Твердый осадок, полученный после удаления растворителей, дважды кристаллизовали из гексана, получали 10.6 г 6-метокси-7-фтор-1-тетралона (VIII). Из маточных растворов получали дополнительно 1.9 г соединения (VIII). Оставшийся маточный раствор хроматографировали при элюировании смесью гексан–диэтиловый эфир (5 : 2). Получали: а) 6.8 г исходного соединения (VII); б) 1.26 г 7-метокси-6-фтор-1-тетралона (IX) (5.6% в расчете на вступившее в реакцию исходное соединение), т. пл. 88–90°C; лит. [45] т. пл. 95°C. Найдено, %: С 68.03; Н 5.80. С₁₁H₁₁FO₂. Вычислено, %: С 68.04; Н 5.67. Спектр ¹H-ЯМР: 2.1 (2 H, м), 2.65 (2 H, т), 2.85 (2 H, т), 3.95 (3 H, с, CH₃O), 6.95 (1 H, д, ³J_{HF} 12, H5), 7.62 (1 H, д, ⁴J_{HF} 8.8, H8). в) 3.23 г 6-метокси-7-фтор-1-тетралона (VIII), т. пл. 105–106°C. Найдено, %: С 67.67; Н 5.79. С₁₁H₁₁FO₂. Вычислено, %: С 68.04; Н 5.67. Суммарный выход этого соединения 15.63 г (69.8% в расчете на вступившее в реакцию исходное вещество). Спектр ¹H-ЯМР: 2.1 (2 H, м), 2.9 (2 H, т),

3.95 (3 H, с, CH₃O), 6.75 (1 H, д, ⁴J_{HF} 7.6, H5), 7.71 (1 H, д, ³J_{HF} 12, H8).

в) 2-(6-Метокси-7-фтортетралин-1-иден)этилизотиурония ацетат (XI). К раствору 2 г соединения (VIII) в 25 мл абс. THF при 10°C при перемешивании в атмосфере аргона прибавляли по каплям раствор винилмагнийбромида (полученного из 1.36 г Mg, 8 мл бромистого винила в 9 мл абс. THF). Перемешивание продолжали при той же температуре 3 ч, доводили температуру реакционной смеси до комнатной, нагревали 1 ч при 40°C, охлаждали до 10°C и выливали порциями в смесь 110 г льда, 4 г NH₄Cl и 30 мл воды.

Через 30 мин водный слой экстрагировали диэтиловым эфиром (4 × 50 мл), органический слой промывали насыщ. раствором NaCl и сушили Na₂SO₄. Растворители удаляли при температуре бани не выше 20°C. К остатку добавляли 1.22 г мелкоаэрированной тиомочевинки и 14 мл лед. AcOH. Твердое вещество растворяли при помощи ультразвуковой бани, раствор перемешивали 5 ч, добавляли 100 мл абс. диэтилового эфира. Через 12 ч выпавший белый осадок отфильтровывали и промывали эфиром.

Получали 4 г (77%) изотиурониевой соли (XI), т. пл. 137–138°C. Найдено, %: С 56.32; Н 8.26. С₁₆H₂₁FN₂O₃S. Вычислено, %: С 56.47; Н 8.24. Спектр ¹H-ЯМР (DMSO-*d*₆): 1.74 (2 H, м), 1.79 (3 H, с, CH₃CO), 2.5 (2 H, м), 2.71 (2 H, т), 3.78 (2 H, д), 3.81 (3 H, с, CH₃O), 5.99 (1 H, т, ³J_{HH} 8.2), 6.89 (1 H, д, ⁴J_{HF} 8.5), 7.4 (1 H, д, ³J_{HF} 13.2), 8.0–9.5 (4 H, уш.с, –S–C(NH₂)₂).

г) 3-Метокси-2-фтор-8,14-секоэстра-1,3,5(10),9(11)-тетраен-14,17-дион (XII). В круглодонную колбу помещали 4 г изотиурониевой соли (XI), 3.7 г 2-метилциклопентан-1,3-диона и 75 мл смеси этанол–вода (1 : 1). Колбу выдерживали 10 мин на ультразвуковой бане до полного растворения твердых веществ, реакционную смесь перемешивали 70 ч при 40°C. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали метанолом, сушили на воздухе. Получали 3.15 г (85%) секостероида (XII), т. пл. 111–113°C. Найдено, %: С 72.78; Н 6.68. С₁₉H₂₁FO₃. Вычислено, %: С 72.15; Н 6.65. Спектр ¹H-ЯМР: 1.16 (3 H, с, C18H₃), 3.84 (3 H, с, CH₃O), 5.58 (1 H, т, ³J_{HH} 8, H11), 6.62 (1 H, д, ⁴J_{HF} 8.8, H4), 7.15 (1 H, д, ³J_{HF} 13.2, H1).

д) 3-Метокси-2-фторэстра-1,3,5(10),8,14-пентаен-17-он (XIII). К кипящей смеси 3.15 г секостероида (XII) в 50 мл MeOH прибавляли 4.5 мл конц. HCl и кипячение продолжали 1 ч. MeOH и HCl отгоняли в вакууме, остаток растворяли в диэтиловом эфире, промывали раствором соды, водой и сушили Na₂SO₄. Растворитель отгоняли, остаток дважды кристаллизовали из MeOH. Получали 1.2 г соединения (XIII). Маточный раствор хроматографировали при элюировании смесью петр. эфир–диэтиловый эфир (1 : 1), получали 0.73 г со-

единения (XIII). Общий выход 1.93 г (65%), т. пл. 111–114°C. Найдено, %: С 76.58; Н 6.52. $C_{19}H_{19}FO_2$. Вычислено, %: С 76.51; Н 6.38. Спектр 1H -ЯМР: 1.13 (3 Н, с, $C_{18}H_3$), 2.93 (1 Н, дд, $^3J_{HH}$ 3, $^2J_{HH}$ 23, Н16), 3.32 (1 Н, д, $^3J_{HH}$ 23, Н16), 3.9 (3 Н, с, CH_3O), 5.9 (1 Н, уш. с, Н15), 6.77 (1 Н, д, $^4J_{HF}$ 8.4, Н4), 7.04 (1 Н, д, $^3J_{HF}$ 13.4, Н1).

е) **3-Метокси-2-фторэстра-1,3,5(10),8,14-пентаен-17β-ола ацетат (XIV)**. Суспензию 1.84 г кетона (XIII) в 30 мл этанола выдерживали 5 мин на ультразвуковой бане, смесь охлаждали до –5°C и добавляли небольшими порциями 0.34 г $NaBH_4$. Перемешивание продолжали 1 ч и оставляли на сутки при комнатной температуре. Избыток восстановителя разлагали уксусной кислотой. После обычной обработки продукты восстановления ацетилировали смесью 6 мл уксусного ангидрида и 6 мл пиридина при 40°C в течение суток. После обычной обработки целевое соединение очищали колоночной хроматографией, элюировали смесью гексана-диэтиловый эфир. Получали 1.745 г (82%) соединения (XIV) т. пл. 122–125°C. Найдено, %: С 73.77; Н 6.86. $C_{21}H_{23}FO_3$. Вычислено, %: С 73.68; Н 6.73. Спектр 1H -ЯМР: 1.00 (3 Н, с, $C_{18}H_3$), 2.10 (3 Н, с, CH_3COO), 3.84 (3 Н, с, CH_3O), 5.03 (1 Н, т, $^3J_{HH}$ 9, Н17), 5.53 (1 Н, уш. с, Н15), 6.75 (1 Н, д, $^4J_{HF}$ 9.1, Н4), 7.02 (1 Н, д, $^3J_{HF}$ 12.5, Н1).

ж) **3-Метокси-2-фтор-8α-эстра-1,3,5(10)-триен-17β-ола ацетат (III)**. Смесь 1.85 г соединения (XIV) в 270 мл бензола и 5 г Ni/Ra гидрировали при температуре 55–110°C и давлении водорода 100–160 атм до тех пор, пока не поглотится количество водорода, в 300–350 раз превышающее необходимое для насыщения двух двойных связей. Затем катализатор отфильтровывали через слой силикагеля и растворитель удаляли в вакууме. Целевое соединение очищали хроматографически, элюируя смесью диэтиловый эфир–петр. эфир (2 : 5). Целевое соединение получали кристаллизацией из смеси $CHCl_3$ –MeOH, затем из MeCN до достижения чистоты не менее 99.5% (ВЭЖХ, колонка Zorbax ODS, элюирование в градиенте ацетонитрил–вода 80–95% в течение 7.5 мин). Получали 0.775 г (41.4%) целевого стероида, т. пл. 193–194.5°C. Найдено, %: С 72.56; Н 7.87. $C_{21}H_{27}FO_3$. Вычислено, %: С 72.83; Н 7.80. Спектр 1H -ЯМР: 6.84 (Н1), 6.66 (Н4), 2.59 (Н6α), 2.76 (Н6β), 1.82 (Н7α), 1.65 (Н7β), 1.99 (Н8α), 2.55 (Н9α), 1.72 (Н11α), 1.58 (Н11β), 1.35 (Н12α), 1.74 (Н12β), 1.70 (Н14α), 1.78 (Н15α), 1.51 (Н15β), 2.21 (Н16α), 1.50 (Н16β), 4.61 (Н17α), 0.90 (Н18), 3.83 (CH_3O), 2.04 (CH_3CO). Спектр ^{13}C -ЯМР: 115.99 (C1), 150.56 (C2), 145.22 (C3), 113.30 (C4), 131.99 (C5), 30.80 (C6), 20.80 (C7), 37.32 (C8), 41.28 (C9), 134.00 (C10), 28.46 (C11), 37.36 (C12), 41.58 (C13), 47.16 (C14), 22.11 (C15), 26.84 (C16), 82.45 (C17), 13.30 (C18), 56.11 (OMe), 21.04 и 170.94 (CH_3CO). Масс-спектр, m/z (I , %): 346 (100, M^+), 286 (7), 271 (3), 257 (13), 245 (20), 231 (4), 229 (5), 217 (5), 204

(28), 191 (20), 190 (20), 189 (14), 178 (48), 165 (12), 163 (11).

Маточный раствор очищали методом ВЭЖХ, используя ту же систему элюентов. После перекристаллизации выделенных соединений из метанола получали дополнительную порцию стероида (III), 0.049 г (2.6%), т. пл. 193–194.5°C и **3-метокси-8α-эстра-1,3,5(10)-триен-17β-ола ацетат (XV)**, т. пл. 114–116°C. Найдено, %: С 76.74; Н 8.63. $C_{21}H_{28}O_3$. Вычислено, %: С 76.79; Н 8.53. Спектр 1H -ЯМР: 7.06 (Н1), 6.72 (Н2), 6.61 (Н3), 2.65 (Н6α), 2.79 (Н6β), 1.84 (Н7α), 1.69 (Н7β), 2.03 (Н8α), 2.62 (Н9α), 1.75 (Н11α), 1.62 (Н11β), 1.35 (Н12α), 1.74 (Н12β), 1.70 (Н14α), 1.78 (Н15α), 1.51 (Н15β), 2.22 (Н16α), 1.51 (Н16β), 4.63 (Н17α), 0.92 ($C_{18}H_3$), 3.78 (CH_3O), 2.06 (CH_3CO). Спектр ^{13}C -ЯМР: 130.09 (C1), 111.92 (C2), 157.21 (C3), 113.13 (C4), 137.65 (C5), 31.35 (C6), 20.78 (C7), 37.45 (C8), 41.22 (C9), 135.67 (C10), 28.70 (C11), 37.64 (C12), 41.59 (C13), 47.30 (C14), 22.15 (C15), 26.85 (C16), 82.53 (C17), 13.31 (C18), 55.02 (OMe), 21.03 и 170.92 (CH_3CO). Масс-спектр, m/z (I , %): 328 (100, M^+), 285 (2), 268 (15), 253 (3), 239 (17), 227 (8), 211 (5), 199 (5), 186 (42), 173 (20), 160 (39), 147 (11).

Аналогично из 1.30 г эстрапентаена (XIV) получали 0.62 г (44%) соединения (III) и 0.062 г (7%) стероида (XV).

Рентгеноструктурный анализ соединения (III). Кристаллы, пригодные для монокристалльного исследования, выращены из гексана и представляют собой бесцветные таблички.

Рентгеноструктурный анализ монокристаллов соединения (III) проведен на автодихрографе Bruker SMART 1000 CD. Все кристаллоструктурные расчеты выполнены с использованием комплекса программ CSD [46] и SHELX97 [47]. Основные кристаллографические данные: $C_{21}H_{27}FO_3$, M 346.43, пространственная группа $P 21/c$, a 17.324(3), b 7.268(1), c 15.804(3) Å, α 90, β 112.730(3), γ 90°. Объем ячейки 1835.5(5) Å³, Z 4, d 1.254 мг/м³, коэффициент адсорбции 0.089 мм⁻¹, $F(000)$ 744, размер кристалла 0.25 × 0.15 × 0.10 мм, интервал углов Θ 2.55–28.37°, интервал индексов $-14 \leq h \leq 22$, $-9 \leq k \leq 9$, $-20 \leq l \leq 20$, количество рефлексов ($I > 2\sigma I$) 4317, Goodness-of-fit 0.740, R -фактор (R) 0.0503, wR -фактор (R^2) 0.0912. Остаточная электронная плотность (e , Å⁻³) 0.198. Координаты атомов и полная кристаллоструктурная информация депонированы в Кембриджском банке структурных данных, номер CCDC 626641.

2. Метилловый эфир 2-фтор-8α-эстрола (IV). Смесь 1.2 г стероида (III) в 70 мл бензола и раствор 3.5 г NaOH в 30 мл MeOH кипятили 2.5 ч и затем выливали в 300 мл воды. Продукты гидролиза в 20 мл пиридина окисляли раствором 1 г CrO_3 в 20 мл пиридина при комнатной температуре в течение 16 ч. Продукты реакции кристаллизовали из смеси $CHCl_3$ –EtOH, получали 0.75 г (71.6%)

целевого стероида (IV), т. пл. 178–180°C. Найдено, %: С 75.35; Н 7.97. $C_{19}H_{23}FO_2$. Вычислено, %: С 75.47; Н 7.67. Спектр ^{13}C -ЯМР: 116.0 (C1), 150.6 (C2), 145.3 (C3), 113.3 (C4), 131.7 (C5), 30.8 (C6), 21.1 (C7 или C15), 38.3 (C8), 41.1 (C9), 133.7 (C10), 28.2 (C11), 38.3 (C12), 47.0 (C13), 48.5 (C14), 21.6 (C15 или C7), 35.6 (C16), 220.7 (C17), 16.1 (C18), 56.1 (CH₃O).

Биологические эксперименты

Опыты проводили на 75-дневных крысах-самках линии Sprague-Dawley. В день эксперимента "0" животных подвергали двусторонней овариэктомии, операцию проводили под легким эфирным наркозом. Начиная со дня "1" с помощью зонда в течение 35 сут 1 раз в сутки животным вводили *per os* исследуемые вещества, растворенные в 0.2 мл оливкового масла, вещество позитивного (17 α -этинилэстрадиол) (II) и негативного (оливковое масло) контроля. Стероид (II) вводили в дозе 0.01 мг/кг веса тела в сутки, соединения (III), (IV) и (XV) в дозе 5 мг/кг веса тела в день. Вес животных контролировали каждые 5 сут.

На 36-й день эксперимента осуществляли эфтаназию животных под нембуталовым наркозом путем односторонней перерезки сонной артерии, отбирая при этом кровь для последующего определения уровня холестерина. После эфтаназии у животных удаляли матку для последующего определения утеротропной активности.

Изолированную бедренную кость жестко протирали марлей для очистки ее от оставшихся крупных мышечных волокон. Затем все части кости с помощью остроконечных изогнутых маленьких ножниц и скальпеля полностью освобождали от остатков тканей. Эту операцию проводили не более 10 мин, во избежание подсыхания кости. Обработанную таким образом кость взвешивали на электронных весах AJ100 (Швейцария), определяя "влажный вес" кости. Затем пробирки с костями от каждой группы крыс высушивали до постоянного веса в сушильном шкафу 2Ш-0-01 (Россия) при температуре 105°C, определяя, таким образом, "сухой вес" кости. Для полного сжигания кости и получения зольного остатка пробирки с высушенными костями помещали в муфельную печь Vecstar (Германия) и выдерживали 72 ч при температуре 650°C. Результат взвешивания соответствует зольному остатку.

Для определения содержания холестерина в плазме крови использовали стандартные тесты, предложенные фирмой "Берингер" (номер реактивов по каталогу фирмы "Берингер", 1997 г., 1822357-MPR3-4 \times 500 мл).

Утеротропную активность стероидов (их влияние на увеличение веса матки) определяли по обычной методике [48].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Климченко Н.И. // Акуш. гинекол. 1995. № 3. С. 10–14.
2. Насонов Е.Л., Скрипникова И.А., Насонова В.А. Проблема остеопороза в ревматологии. М.: Стин, 1997. 429 с.
3. Birge S.J., Mortel K.F. // Am. J. Med. 1997. V. 103. 36S–45S.
4. Патент США 5962443 // Chem. Abstr. 1999. V. 131. 257759.
5. Störk S., van der Schouw Y.T., Grobbee D.E., Bots M.L. // Trends Endocrinol. Metab. 2004. V. 15. P. 66–72.
6. Gadducci A., Biglia N., Sismondi P., Genazzani A.R. // Gynecological Endocrinology. 2005. V. 20. P. 343–360.
7. Glud E., Kjaer S.K., Thomsen B.L., Hogdall C., Christensen L., Hogdall E., Bock J.E., Blaakaer J. // Arch. Internal. Med. 2004. V. 164. P. 2253–2259.
8. Sulak P.J. // Endocrinology and Metabolism Clinics of North America. 1997. V. 26. P. 399–411.
9. Wise P.M. // Trends Endocrinol. Metab. 2002. V. 13. P. 229–230.
10. Wise P.M., Dubal D.B., Wilson M.E., Rau S.W., Botner M. // Endocrinology. 2001. V. 142. P. 969–973.
11. Schafer J.I.M., Liu H., Tonetti D.A., Jordan V.C. // Cancer Research. 1999. V. 59. P. 4308–4313.
12. Liehr J.G. // Mol. Pharm. 1983. V. 23. P. 278–281.
13. Патент США 4.522.758 (1985).
14. Li J.J., Li S.A., Oberley T.D., Parsons J.A. // Cancer Res. 1995. V. 55. P. 4347–4351.
15. Gonzalez F.B., Neef G., Eder U., Wiecher R., Schilling E., Nishino Y. // Steroids. 1982. V. 40. P. 171–187.
16. Kaspar P., Witzel H. // J. Steroid Biochem. 1985. V. 23. P. 259–265.
17. Корхов В.В., Макушева В.П., Лупанова Г.Е., Елисеев И.И., Жуковский Е.А., Бороньева Т.Р., Мартынов В.Ф., Шавва А.Г. // Хим.-фарм. журн. 1986. Т. 20. С. 574–578.
18. Черняев Г.А., Баркова Т.И., Ананченко С.Н., Сорокина И.Б., Матарадзе Г.Д., Розен Б.В. // Биоорг. химия. 1979. Т. 5. С. 869–878.
19. Bull J.R., de Koning P.D. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1. 2000. P. 1003–1013.
20. Патент Англии 1069845 (1967) // Chem. Abstr. 1967. V. 68. 114833h.
21. Патент Англии 1108664 (1968) // Chem. Abstr. 1968. V. 69. 77599j.
22. Патент США 3407217 (1968) // Chem. Abstr. 1969. V. 70. 88089q.
23. Патент США 5395831 (1995) // Chem. Abstr. 1995. V. 122. 291309w.
24. Lindberg M.K., Movérare S., Eriksson A.-L., Skrtic S., Gao H., Dahlman-Wright K., Gustafsson J.-A., Ohlsson C. // J. Bone Miner. Res. 2002. V. 17. P. 2183–2195.
25. Торгов И.В. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1982. № 2. С. 299–317.
26. Rufer C., Schroeder E., Gibian H. // Justus Liebigs Ann. Chem. 1967. Bd. 705. S. 211–226.

27. Гулая В.Е., Ананченко С.Н., Торгов И.В., Кощеенко К.А., Бычкова Г.Г. // Биоорган. химия. 1979. Т. 5. С. 768–775.
28. Kajino M., Shibuta Y., Nishikawa K., Meguro K. // Chem. Pharm. Bull. 1991. V. 39. P. 2896–2905.
29. Bowden K., Heilbron I.M., Jones E.R.H., Weedon B.C.L. // J. Chem. Soc. 1946. P. 39–45.
30. Кюо С.Н., Тауб Д., Вендлер Н.Л. // J. Org. Chem. 1968. V. 33. P. 3126–3132.
31. Старова Г.Л., Елисеев И.И., Абусалимов Ш.Н., Цогоева С.Б., Шавва А.Г. // Кристаллография. 2001. Т. 46. С. 72–75.
32. Aue W.P., Bartholdi E., Ernst R.R. // J. Chem. Phys. 1976. V. 64. P. 2229–2246.
33. Rance M., Sorensen O.W., Bodenhausen G., Ernst R.R., Wuthrich K. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1983. V. 117. P. 479–485.
34. Bax A., Morris G.A. // J. Magn. Res. 1981. V. 42. P. 501–505.
35. Kessler H., Griesinger C., Zarbock J., Loosli H.R. // J. Magn. Res. 1984. V. 57. P. 331–336.
36. Jeener J., Meier B.H., Bachmann P., Ernst R.R. // J. Chem. Phys. 1979. V. 71. P. 4546–4553.
37. Pegg D.T., Bendall M.R., Doddrell D.M. // J. Magn. Res. 1981. V. 44. P. 238–249.
38. Selivanov S.I., Shavva A.G. // Russian J. of Bioorganic Chemistry. 2002. V. 28. P. 194–208. (Селиванов С.И., Шавва А.Г. // Биоорган. химия. 2002. Т. 28. С. 220–235)
39. Егоров М.С., Селиванов С.И., Шавва А.Г. // Журн. орган. химии. 2002. Т. 38. С. 219–228.
40. Шавва А.Г., Селиванов С.И., Старова Г.Л., Абусалимов Ш.Н. // Журн. орган. химии. 2006. Т. 42. С. 215–222.
41. Сизова О.В., Барановский В.И. Компьютерное моделирование молекулярной структуры. С.-Петербург, отдел оперативной полиграфии НИИХ СПбГУ, 2000. 127 с.
42. Evans G., Bryant H.U., Magee D., Sato M., Turner R.T. // Endocrinology. 1994. V. 134. P. 2283–2288.
43. Sharp J.C., Copps J.C., Liu Q., Ryner N.L., Sebastian R.A., Zeng G.Q., Smith S., Niere J.O., Tomanek B., Sato M. // J. Bone Miner. Res. 2000. V. 15. P. 138–146.
44. Lugar C.W., III, Magee D., Adrian M.D., Shelter P., Bryant H.U., Dodge J.A. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2003. V. 13. P. 4281–4284.
45. Вuu-Hoi Ng Ph., Xuong N.D., Rips R. // J. Org. Chem. 1957. V. 22. P. 193–197.
46. Acserud L.G., Gruin Yu.N., Zavalii P.Yu., Pehsky V.K., Fundfmentski V.S. // Collect. Abstr. XII Europ. Crystallogr. Meet. M.: Nauka, 1989. V. 3. P. 155.
47. Sheldric G.M. // 1997. SHELXL 97. University of Göttingen, Germany.
48. Kirdani R., Dorfman R.I., Nes W.R. // Steroids. 1963. V. 1. P. 219–232.

Synthesis, Structure, and Biological Properties of Some 8α Analogues of Steroid Estrogens with Fluorine in Position 2

V. N. Belov, V. Yu. Dudkin, E. A. Urusova, G. L. Starova, S. I. Selivanov, S. V. Nikolaev, N. D. Eshchenko, S. N. Morozkina, and A. G. Shavva[#]

[#]Phone: +7 (812) 428-6809; fax: +7 (812) 428-6939; e-mail: AGShavva@yandex.ru

Faculty of Chemistry, St. Petersburg State University, Universitetskii pr. 26, Staryi Petergof, St. Petersburg, 198504 Russia

A total synthesis of 8α analogues of steroid estrogens with fluorine in position 2 was achieved. Structural features of these compounds were studied by the example of 17β -acetoxy-2-fluoro-3-methoxy- 8α -estra-1,3,5(10)-triene. It was shown that the 8α analogues of 2-fluorosubstituted steroid estrogens have a low uterotrophic activity and retain the osteoprotective and hypocholesterolemic activities. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2007, vol. 33, no. 3; see also <http://www.maik.ru>

Key words: 2-F-analogues, hormone replacement therapy, molecular structure, steroid estrogens, total synthesis