



УДК 546.110.23:547.15/17

## СИНТЕЗ *O*-ЗАМЕЩЕННЫХ 6-ОКСИМОВ 16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -ЦИКЛОГЕКСАНОПРЕГН-4-ЕН-3,6,20-ТРИОНА, СОДЕРЖАЩИХ ТРИТИЕВУЮ МЕТКУ В ПОЛОЖЕНИИ 1,2

© 2002 г. В. П. Шевченко\*#, И. Ю. Нагаев\*, Н. Ф. Мясоедов\*,  
А. В. Камерницкий\*\*, И. С. Левина\*\*, Л. Е. Куликова\*\*

\* Институт молекулярной генетики РАН, 123182, Москва, пл. Акад. Курчатова, 2;

\*\* Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва

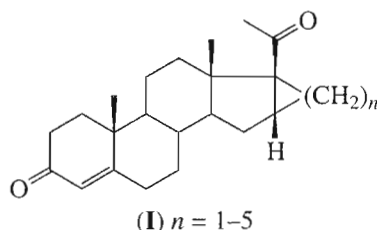
Поступила в редакцию 05.07.2001 г. Принята к печати 17.01.2002 г.

Синтезированы 6-*O*-(3-метоксикарбонилпропил)- и 6-*O*-(3-карбокиспропил)оксими 16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -циклогексанопрегн-4-ен-3,6,20-триона, содержащие тритиевую метку в положении 1,2. При использовании гомогенных катализаторов молярная радиоактивность препаратов достигала 1.5–1.7 ПБк/моль.

*Ключевые слова:* пентараны, синтез; стероиды; тритий.

### ВВЕДЕНИЕ

Изучение взаимодействия 16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -циклоалканопрогестеронов (прегна-*D'*-пентаранов [1, 2]) общей формулы (I) с рецептором прогестерона из матки крысы и человека показало [3], что те из них, которые несут в 16,17-положениях объемистый заместитель ( $D'_5$ - и  $D'_6$ -пентараны,  $n = 3$  и 4 соответственно), специфически связываются не только с рецептором прогестерона, но и с каким-то другим белком, который крайне слабо взаимодействует с нативным прогестероном и его аналогом, содержащим дополнительный карбоцикл малого размера ( $D'_3$ -пентаран,  $n = 1$ ).



То, что прогестерон так слабо взаимодействует с обнаруженным белком, а его ближайшие метаболиты – 5 $\alpha$ (H)- и 5 $\beta$ (H)-дигидропроизводные прегна-*D'*-пентаранов – практически вовсе не взаимодействуют, заставляет предположить, что едва ли этот белок опосредует какую-либо прогестинную функцию, а, скорее всего, относится к гидрофобным белкам иного семейства, нежели плазматические рецепторы стероидов. Еще один специфичный для прегна-*D'*-пентаранов белок обнаружен в сыворотке крови крысы и человека [4]. По совокупнос-

ти свойств эти белки отличаются друг от друга [4]. Тем не менее их выделение с помощью аффинной хроматографии с использованием подходящего производного прегна-*D'*-пентарана в качестве аффинного лиганда и идентификация могут представлять достаточный интерес. В силу этого, мы осуществили синтез замещенных (6*E*)-оксимов 16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -циклогексанопрегн-4-ен-3,6,20-триона, имеющих достаточно длинную цепь и карбоксильную концевую функцию, которая пригодна для образования амидной связи с носителем и для проверки способности такого производного избирательно связываться с обнаруженным белком [5].

Настоящая статья посвящена способу получения меченных тритием 6-*O*-(3-метоксикарбонилпропил)оксима 16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -циклогексанопрегн-4-ен-3,6,20-триона (IIa) и 6-*O*-(3-карбокиспропил)оксима 16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -циклогексанопрегн-4-ен-3,6,20-триона (IIb). Последний необходим для изучения полноты взаимодействия немеченого аналога с соответствующим носителем при получении аффинного сорбента.

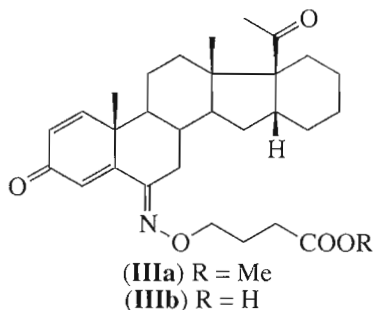
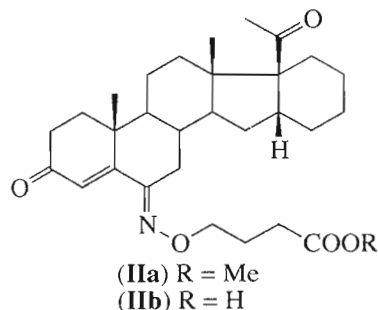
### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Принципиальная возможность селективного восстановления одной из нескольких двойных связей молекулы стероида зависит от соотношения скоростей их гидрирования. При использовании гетерогенных катализаторов, как правило, необходимо введение соответствующих защитных групп, чтобы увеличить разницу в реакционной способности двойных связей. Метку предпочтительно вводить непосредственно, не используя дополнительных стадий синтеза, связанных с введением защитных групп и их удалением из ме-

# Автор для переписки (тел.: (095) 196-02-12; факс: (095) 196-02-21; эл. почта: nagaev@img.ras.ru).

ченого препарата. Нами разработан метод селективного введения трития в стероиды, содержащие несколько двойных связей. Селективность про-

цесса при этом можно было увеличить только за счет подбора условий, при которых различия в скоростях гидрирования максимальны [6].



Использование гомогенных катализаторов сильно осложняет выделение меченых препаратов, так как требуется дополнительная стадия очистки реакционной смеси от продуктов разложения этих катализаторов. Для этого чаще всего используют разделение реакционной смеси либо методом ТСХ, либо с помощью патрона с обращенной фазой – удаление более полярных соединений при этом осуществляют специально подобранным элюентом, затем меченый препарат десорбируют такой подвижной фазой, чтобы неполярные продукты разложения гомогенного катализатора остались на патроне [7]. Несмотря на недостатки, связанные с применением гомогенных катализаторов, они предпочтительны при селективном гидрировании двойных связей, имеющих разную степень замещения. Так, в присутствии трис(трифенилфосфин)родийхлорида скорости гидрирования дизамещенной и тризамещенной двойных связей у производных циклогексена отличаются в 35 раз [8].

Для решения задачи, поставленной в настоящей работе, были синтезированы соответствующие 1,2-ненасыщенные предшественники (IIIa) и (IIIb). 6-Замещенные оксимы (IIa) и (IIb), описанные нами ранее [5], дегидрировали с помощью 2,3-дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохинона (DDQ) в бензоле. Восстановлением 1,2-двойной связи этих стероидов газообразным тритием в присутствии трис(трифенилфосфин)родийхлорида в соотношении катализатор/стероид 1 : 1 или 2 : 1 (по весу) синтезированы меченые (6*E*)-6-*O*-(3-метоксикарбонилпропил)оксим- (IIa) и (6*E*)-6-*O*-(3-карбоксыпропил)оксим (IIb) 16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -циклогексано[1,2-<sup>3</sup>H<sub>2</sub>]прегн-4-ен-3,6,20-триона. Выход требуемого меченого стероида варьирует в зависимости от времени гидрирования и природы исходного соединения. Максимальный выход, как правило, достигается при проведении реакции в течение 2–4 ч. Молярная радиоактивность обоих меченых стероидов колебалась от 1.5 до 1.7 ПБк/моль.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры <sup>1</sup>H-ЯМР сняты на спектрометре Bruker WM-250 в CDCl<sub>3</sub>, масс-спектры – на приборе Kratos MS 30 с прямым вводом в ионный источник при 150°C. Аналитическая ТСХ проведена на пластинках Silica gel 60 F<sub>254</sub> (Merck) в системе гексан–ацетон. Немеченые соединения обнаруживали 1% раствором CeSO<sub>4</sub> в 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> с последующим нагреванием. Для препаративных разделений использовали хроматографию на колонках с силикагелем Kieselgel 60 (0.063–0.100 мкм, Merck) при соотношении вещество–сорбент 1 : 40. Использовали окись алюминия I степени активности. В качестве катализатора гидрирования газообразным тритием использовали трис(трифенилфосфин)родийхлорид (Fluka).

Препаративную очистку и анализ меченых препаратов проводили ВЭЖХ (колонка 4 × 150 мм, сорбент Kromasil 7 C<sub>18</sub>, элюент метанол–вода–TFA, 85 : 15 : 0.05, скорость элюции 1.0 мл/мин) с использованием проточного детектора по радиоактивности (Bertold LB506, Германия).

**6-*O*-(3-Метоксикарбонилпропил)оксим 16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -циклогексанопрегн-1,4-диен-3,6,20-триона (IIIa).** 6-*O*-(3-Метоксикарбонилпропил)оксим 16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -циклогексанопрегн-4-ен-3,6,20-триона (IIa) (170 мг), полученный в виде густого желтого масла из 6-*O*-(3-карбоксыпропил)- 16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -циклогексанопрегн-4-ен-3 $\beta$ -гидрокси-6,20-диола как описано в работе [5], растворили в 5 мл сухого бензола и кипятили 14 ч с 15 мг бензойной кислоты и 80 мг DDQ. К остатку после удаления бензола добавили 10 мл CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> и полученный раствор пропустили через колонку с Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, которую последовательно элюировали CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> и смесью CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>–ацетон (4 : 1). Остаток после отгонки растворителей хроматографировали на силикагеле в ступенчатом градиенте гептан–ацетон. Собранные фракции анализировали методом ТСХ. После упаривания соответствующих фракций выделили 5.8 мг исходного стероида (IIa) в виде масла и 110 мг 6-*O*-(3-метоксикарбонилпропил)оксима 16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -циклогексано-прегн-1,4-диен-3,6,20-триона (IIIa) (масло). Масс-

спектр,  $m/z$ : 495 ( $I_{\text{отн}}$  6%)  $[M]^+$ ; спектр ЯМР ( $\delta$ , м.д.,  $J$ , Гц): 0.74, 1.18 ( $2 \times 3$  H, два с, 10-Me, 13-Me), 2.17 (3 H, с, 20-Me), 3.0 (1H, м, H16), 3.34 (1 H, дд,  $J$  15.8 и 4.5, H7), 3.68 (3 H, с, OMe), 4.18 (1 H, т,  $J$  7.4, H1'), 6.25 (1 H, т,  $J$  1.85, H4), 6.32 (1 H, дд,  $J$  10.10 и 1.85, H2), 7.07 (1 H, д,  $J$  10.10, H1).

**6-О-(3-Карбоксипропил)оксим 16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -циклогексанопрегн-1,4-диен-3,6,20-триона (Шб).** По аналогичной методике из 60 мг 6-О-(3-карбоксипропил)оксима 16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -циклогексанопрегн-4-ен-3,6,20-триона (Шб) [5] получено в виде масла 36 мг 6-О-(3-карбоксипропил)оксима 16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -циклогексанопрегн-1,4-диен-3,6,20-триона (Шб). Масс-спектр,  $m/z$ : 481 ( $I_{\text{отн}}$  14%)  $[M]^+$ ; спектр ЯМР ( $\delta$ , м.д.,  $J$ , Гц): 0.74, 1.18 ( $2 \times 3$  H, два с, 10-Me, 13-Me), 2.15 (3 H, с, 20-Me), 3.0 (1 H, м, H16), 3.34 (1 H, дд,  $J$  15.8 и 4.5, H7), 4.20 (1 H, т,  $J$  7.4, H1'), 6.25 (1 H, т,  $J$  1.85, H4), 6.34 (1 H, дд,  $J$  10.10 и 1.85, H2), 7.07 (1 H, д,  $J$  10.10, H1).

**6-О-(3-Метоксикарбонилпропил)оксим 16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -циклогексано[1,2- $^3\text{H}_2$ ]прегн-4-ен-3,6,20-триона [ $^3\text{H}$ ]- (IIa).** Раствор 4 мг предшественника (IIIa), содержащего двойную связь в 1,2-положении и 4 мг трис(трифенилфосфин)родийхлорида в 0.2 мл диоксиана помещали в ампулу, замораживали жидким азотом, вакуумировали и заполняли газообразным тритием до давления 400 гПа, размораживали и перемешивали 180 мин при комнатной температуре. Содержимое ампулы вновь замораживали жидким азотом и вакуумировали. Лабильный тритий удаляли трехкратным упариванием реакционной смеси со смесью этилацетат-метанол (5 : 1). Продукты реакции наносили на силикагельную пластинку Sorbfil-UV (ПБК Пластмаш ИВС АН СССР) и трехкратно проявляли в системе гексан-эфир (2 : 3). Зону, соответствующую хроматографической подвижности (IIa),  $R_f$  0.43, вырезали, и  $^3\text{H}$ -меченый оксим (IIa) экстрагировали с силикагеля этилацетатом ( $5 \times 10$  мл), экстракт фильтровали и упаривали. Препаративную очистку и контроль радиохимической чистоты препарата [ $^3\text{H}$ ]- (IIa) осуществляли методом ВЭЖХ (время удерживания – 6.01 мин). Радиохимическая чистота достигала 95–97%, выход – 45%, молярная ра-

диоактивность – 1.5–1.7 ПБк/моль. [ $^3\text{H}$ ]Стероид хранили в виде раствора в смеси этилацетат-метанол (2 : 1) при 10–15°C.

**6-О-(3-Карбоксипропил)оксим 16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -циклогексано[1,2- $^3\text{H}_2$ ]прегн-4-ен-3,6,20-триона [ $^3\text{H}$ ]- (IIb)** получали аналогично из 6 мг предшественника (IIIb) в присутствии 12 мг трис(трифенилфосфин)родийхлорида. Реакцию вели при перемешивании 240 мин. Далее обработку реакционной смеси проводили как описано выше. Анализ и препаративную очистку [ $^3\text{H}$ ]стероида осуществляли методом ВЭЖХ. Время удерживания [ $^3\text{H}$ ]- (IIb) – 4.54 мин, радиохимическая чистота – 95–97%, выход – 40%, молярная радиоактивность – 1.5–1.6 ПБк/моль.  $^3\text{H}$ -Меченый стероид хранили как описано выше.

Работа выполнена при финансовой поддержке Миннауки России на “Установке для работы с мультикюриевыми количествами газообразного трития” (№ 96-03-04) и гранта РФФИ № 99-03-33033.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Levina I.S., Kamernitzky A.V., Fanchenko N.D., Simonov V.I. // Endokrinologie. 1982. V. 80. P. 266–274.
2. Камерницкий А.В., Левина И.С. // Хим.-фарм. журн. 1991. Т. 25. С. 4–16.
3. Smirnov A.N., Pokrovskaya E.V., Kogteva G.S., Shevchenko V.P., Levina I.S., Kulikova L.E., Kamernitzky A.V. // Steroids. 2000. V. 65. P. 163–170.
4. Смирнов А.Н., Покровская Е.В., Левина И.С., Куликова Л.Е., Камерницкий А.В., Шевченко В.П. // Биохимия. 2001. Т. 66. С. 846–851.
5. Левина И.С., Куликова Л.Е., Камерницкий А.В., Смирнов А.Н., Покровская Е.В. // Изв. АН. Сер. хим. 2001 (в печати).
6. Shevchenko V.P., Nagaev I.Yu., Potapova A.V., Myasoedov N.F., Kamernitzky A.V., Levina I.S., Kulikova L.E., Smirnov A.N. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1998. V. 41. P. 919–925.
7. Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф. // Радиохимия. 2002. (в печати).
8. Маквиллин Ф.Дж. Гомогенное гидрирование в органической химии. М.: Химия, 1980.

## The Synthesis of *O*-Substituted 6-Oximes of 16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -Cyclohexanopregn-4-ene-3,6,20-trione Labeled by Tritium in Position 1,2

V. P. Shevchenko<sup>\*#</sup>, I. Yu. Nagaev<sup>\*</sup>, N. F. Myasoedov<sup>\*</sup>,  
A. V. Kamernitsky<sup>\*\*</sup>, I. S. Levina<sup>\*\*</sup>, and L. E. Kulikova<sup>\*\*</sup>

<sup>#</sup>Phone: +7 (095) 196-0212; fax: +7 (095) 196-0221; e-mail: nagaev@img.ras.ru

<sup>\*</sup>Institute of Molecular Genetics, Russian Academy of Sciences, pl. Akademika Kurchatova 2, Moscow, 123182 Russia

<sup>\*\*</sup>Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Leninskii pr. 47, Moscow, 117913 Russia

6-*O*-(3-Methoxycarbonylpropyl)- and 6-*O*-(3-carboxypropyl)oximes of 16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -cyclohexanopregn-4-ene-3,6,20-trione labeled by tritium in position 1,2 were synthesized. When using homogenous catalysts, the molar radioactivity of the resulting preparations was 1.5–1.7 PBq/mol. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2002, vol. 28, no. 3; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: pentaranes, steroids, synthesis, tritium