

УДК 542.942.6, 542.953.4, 615.277.3

СИНТЕЗ ПИПЕРОНИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ДАУНОРУБИЦИНА ОДНОСТАДИЙНЫМ ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫМ АМИНИРОВАНИЕМ

О.И. Артюшин, В.К. Брель, А.А. Моисеева*

(Институт элементоорганических соединений имени А.Н. Несмеянова РАН;
*e-mail: ma@ineos.ac.ru)

Одностадийным восстановительным аминированием с использованием ароматических альдегидов получены новые N-производные даунорубицина, обладающие высоким цитостатическим эффектом.

Ключевые слова: антрациклиновые антибиотики, даунорубицин, восстановительное аминирование, ароматические альдегиды, противоопухолевые средства.

Даунорубицин, как и другие антрациклиновые антибиотики, широко применяют в современной химиотерапии опухолевых заболеваний человека, чему способствуют такие его свойства, как высокая эффективность, доступность и сравнительно низкая цена. Однако этот класс лекарственных препаратов обладает целым рядом серьезных недостатков, таких как высокая кардиотоксичность, канцерогенность, мутагенность, миело- и иммунодепрессивное действие, а также быстрое развитие устойчивости опухолевых клеток к применяемым препаратам по механизму множественной лекарственной резистентности [1]. Для преодоления указанных недостатков была использована химическая модификация молекулы даунорубицина, затрагивающая как антрахиноидный агликон, так и аминокислотный (даунозоаминный) фрагмент [2]. В настоящее время наименее трудозатратной и максимально эффективной считается модификация 3'-NH₂-группы, что отчасти подтверждает предполагаемый механизм действия антрациклинов, согласно которому именно даунозоаминная часть молекулы даунорубицина связывается с пуриновыми основаниями ДНК при интеркаляции [3]. Даунозоаминный фрагмент даунорубицина в разные годы подвергали алкилированию, ацилированию, триметилсилилированию, фосфорилированию и т.д. [4]. В последнее время был разработан простой и весьма эффективный способ функционализации 3'-NH₂-группы, основанный на ее одностадийном восстановительном аминировании с использованием ароматических альдегидов и цианоборгидрида натрия [5]. Ранее нами был реализован такой подход к модификации даунорубицина различными замещенными ароматическими альдегидами. Была получена серия конъюгатов, содержащих как донорные, так и

акцепторные заместители в бензильном фрагменте [6]. Восстановительное аминирование оказалось весьма эффективным и при синтезе гибридных молекул, содержащих металлоценовые фрагменты [7]. Однако проведенное биологическое тестирование всех синтезированных нами ранее производных даунорубицина показало, что они существенно уступают родительскому соединению.

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР ¹H и ¹³C зарегистрированы на приборе «Bruker AMX-400» в растворе CDCl₃ с использованием сигналов остаточных протонов в качестве внутреннего стандарта (¹H, δ = 7.28 м.д.). В спектрах ЯМР ¹³C химический сдвиг триплета CDCl₃ принят равным 76.91 м.д. Спектры ЯМР ¹³C зарегистрированы в режиме JMODECHO, сигналы атомов углерода с четным и нечетным количеством протонов имеют противоположную полярность. Контроль за ходом реакций осуществлялся методом ТСХ на пластинках Alumina TLC Plates w/UV254, хроматографическая очистка продуктов – на силикагеле марки Macherey-Nagel (MNKieselgel 60, 70-230 mesh). Даунорубицин был получен из Китая в форме коммерчески доступного гидрохлорида. Цианоборгидрид натрия NaCNBH₃ (95%) и используемые альдегиды также коммерчески доступны, последние применяли без дополнительной очистки. Очистку NaCNBH₃ производили перекристаллизацией его комплекса с диоксаном по описанной методике [8].

Элементный анализ вновь синтезированных соединений выполнен в лаборатории микроанализа ИНЭОС РАН. Строение полученных соединений изучено с помощью оборудования Центра исследования строения молекул ИНЭОС РАН. Биологические испытания про-

тивораковой активности проведены в институте Физиологически активных веществ РАН г. Черноголовка.

Общая методика получения соединений 2, 3

Смесь соответствующего карбоксальдегида (8,0 ммоль) и гидрохлорида даунорубина (225 мг, 0,4 ммоль) в смеси $\text{CH}_3\text{CN} - \text{H}_2\text{O}$ (3:1, 9 мл) перемешивали в течение 0,5 ч при комнатной температуре в темноте. Затем добавляли NaCNBH_3 (76 мг; 1,2 ммоль) и перемешивали полученную реакционную смесь 0,5 ч, после чего добавляли H_2O (5 мл) и экстрагировали CHCl_3 (3×10 мл). Органический слой промывали H_2O (15 мл), водный слой экстрагировали CHCl_3 (15 мл). Объединенные органические экстракты сушили Na_2SO_4 и фильтровали, затем удаляли растворитель в вакууме водоструйного насоса (10 мм рт. ст.). Остаток очищали хроматографией на силикагеле, используя в качестве элюента градиентную смесь растворителей $\text{CHCl}_3 - \text{MeOH}$ (100:1 → 1:1).

Темно-оранжевый порошок **2**, выход 0,04 г (32%). ^1H ЯМР, δ , м.д., J , Гц (CDCl_3 , 400 МГц): 14.00 (уш. с, 1H, C^{16}OH); 13.25 (уш. с, 1H, C^9OH); 8.06 (д, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, C^1H); 7.81 (т, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$, C^2H); 7.41 (д, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$, C^3H); 6.78 (с, 1H, C^{32}H); 6.72 и 6.71 (д, по 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$, C^{28}H , C^{29}H); 5.93 (с, 2H, C^{33}H_2); 5.54 (уш. с, 1H, C^{21}H); 5.32 (уш. с, 1H, C^{14}H); 4.71 (уш. с, 1H, C^{23}H); 4.11 (с, 3H, C^{35}H_3); 4.09 (к, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$, C^{22}H); 3.67 (уш. с, 1H, C^{24}H); 3.73 и 3.60 (д, по 1H, $^2J_{\text{HH}} = 12.4$, C^{26}H_2); 3.25 и 2.99 (уш. д, по 1H, $^2J_{\text{HH}} = 18.8$, C^{11}H_2); 2.45 (с, 3H, C^{20}H_3); 2.41–2.38 и 2.15–2.10 (м по 1H, C^{13}H_2); 1.86–1.79 и 1.71–1.67 (м, по 1H, C^{25}H_2); 1.40 (д, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$, C^{34}H_3). ^{13}C ЯМР { ^1H }, δ , м.д. (CDCl_3 , 100 МГц): 211.71 (C^{19}); 186.64, 186.29 (C^{18} , C^7); 160.78 (C^4); 156.20, 155.55 (C^9 , C^{16}); 147.54, 147.48 (C^{30} , C^{31}); 135.50 (C^2); 135.18 (C^6); 134.21, 134.07 (C^{10} , C^{15}); 133.41 (C^{27}); 120.96 (C^{28}); 120.55 (C^5); 119.55, 118.20 (C^1 , C^3); 111.09, 110.94 (C^8 , C^{17}); 108.36, 107.98 (C^{29} , C^{32}); 100.82 (C^{21}); 100.75 (C^{33}); 76.59 (C^{12}); 69.66, 66.70, 66.47 (C^{14} , C^{23} , C^{22}); 56.45 (C^{35}); 52.22 (C^{24}); 50.03 (C^{26}); 34.68, 33.05, 30.15 (C^{11} , C^{13} , C^{25}); 24.64 (C^{20}); 16.96 (C^{34}). Найдено, %: С, 58.34; Н, 4.84; N, 1.97. Вычислено для $\text{C}_{35}\text{H}_{35}\text{NO}_{12} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, %: С, 58.74; Н, 5.77; N, 1.96.

Темно-оранжевый порошок **3**, выход 0,05 г (34%). ^1H ЯМР, δ , м.д., J , Гц (CDCl_3 , 400 МГц): 14.00 (уш. с, 1H, C^{16}OH); 13.25 (уш. с, 1H, C^9OH); 8.06 (д, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$, C^1H); 7.81 (т, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$, C^2H); 7.41 (д, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$, C^3H); 6.37 (с, 1H, C^{28}H); 5.94 (с, 2H, C^{33}H_2); 5.54 (уш. с, 1H, C^{21}H); 5.33 (уш. с, 1H, C^{14}H); 4.73 (уш. с, 1H, C^{23}H); 4.11

(с, 3H, C^{35}H_3); 4.09 (к, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$, C^{22}H); 3.91 и 3.82 (с, по 3H, C^{36}H_3 , C^{37}H_3); 3.73 (уш. с, 1H, C^{24}H); 3.72 и 3.61 (д, по 1H, $^2J_{\text{HH}} = 12.0$, C^{26}H_2); 3.25 и 3.00 (уш. д, по 1H, $^2J_{\text{HH}} = 16.0$, C^{11}H_2); 2.45 (с, 3H, C^{20}H_3); 2.41–2.38 и 2.15–2.10 (м, по 1H, C^{13}H_2); 1.83–1.79 и 1.66–1.62 (м, по 1H, C^{25}H_2); 1.42 (д, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$, C^{34}H_3). ^{13}C ЯМР { ^1H }, δ , м.д. (CDCl_3 , 100 МГц): 211.73 (C^{19}); 187.01, 186.65 (C^{18} , C^7); 160.97 (C^4); 156.35, 155.85 (C^9 , C^{16}); 138.66, 138.05 (C^{30} , C^{31}); 136.40, 136.19 (C^{29} , C^{32}); 135.59 (C^2); 135.49 (C^6); 134.36, 134.26 (C^{10} , C^{15}); 124.23 (C^{27}); 120.90 (C^5); 119.70, 118.28 (C^1 , C^3); 111.35, 111.19 (C^8 , C^{17}); 108.52 (C^{28}); 101.51 (C^{33}); 100.83 (C^{21}); 76.78 (C^{12}); 69.65, 66.50 (C^{14} , C^{23} , C^{22}); 59.88 (C^{35}); 56.81, 56.58 (C^{36} , C^{37}); 51.72 (C^{24}); 45.27 (C^{26}); 34.84, 33.31, 30.19 (C^{11} , C^{13} , C^{25}); 24.66 (C^{20}); 17.04 (C^{34}). Найдено, %: С, 52.44; Н, 5.91; N, 3.00. Вычислено для $\text{C}_{37}\text{H}_{39}\text{NO}_{14} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, %: С, 52.42; Н, 6.30; N, 1.65.

Результаты и их обсуждение

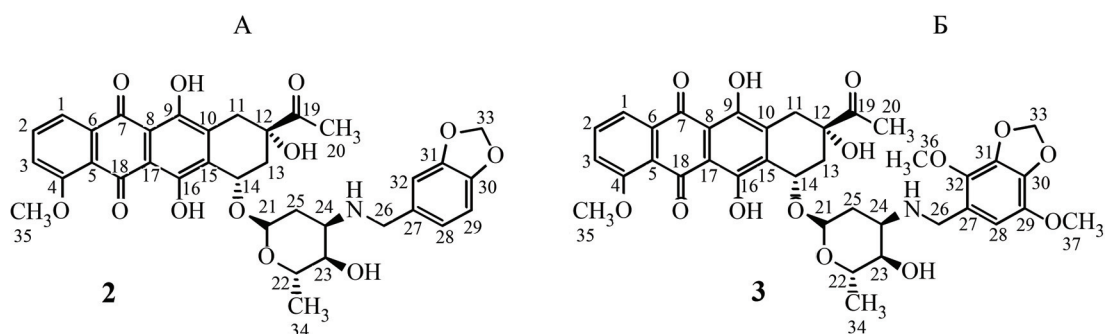
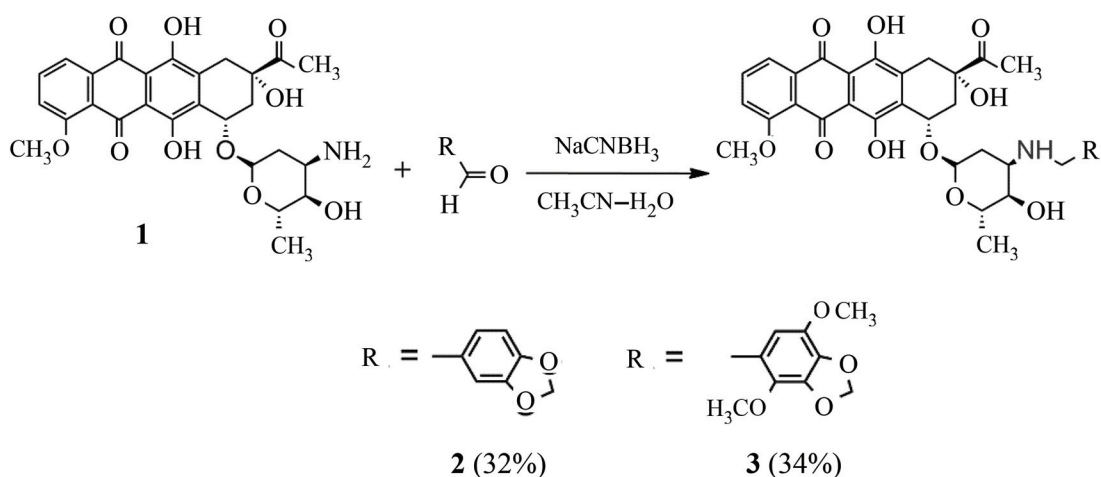
Для повышения антипролиферативного эффекта новых конъюгатов мы решили ввести в гибридные молекулы на основе даунорубина (**1**) остатки биологически активных альдегидов – пиперанала (схема, конъюгат **2**), и его диметоксипроизводного, (схема, конъюгат **3**).

Соединения **2** и **3** (рисунок) были получены с выходами 32–34% после хроматографической очистки. Их строение было установлено комплексом спектральных методов (ЯМР ^1H и ^{13}C), а состав подтвержден элементным анализом.

Хотя выходы конъюгатов **2** и **3** были несколько ниже, чем в случае ранее полученных производных даунорубина [6], испытание их биологических свойств показало, что они превосходят родительское соединение как по антипролиферативной активности, так и по значению острой токсичности, как видно из данных таблицы [9].

Большое преимущество соединений **2** и **3** – широкий спектр антипролиферативной активности. Они эффективны для лечения онкологических заболеваний, включая карциному легкого, рабдомиосаркому, карциному кишечника, аденокарциному молочной железы. Дальнейшие исследования острой токсичности, проведенные согласно экспресс-методу В.Б. Прозоровского на беспородных белых мышах массой 22–24 г [10] при внутрибрюшинном способе введения, показали, что острая токсичность (LD_{50}) производных **2** и **3** равняется 108,0 (160 ± 73) мг/кг. Данные соединения относятся к 3-му классу веществ – «умеренно токсичные вещества» по классификации К.К. Сидорова [11]. По литера-

С х е м а



- А – (8S-цис)-8-Ацетил-10-[[3-(бензо[d][1,3]диоксол-5-илметиламино)-2,3,6-тридезоксид- α -L-ликсогексопиранозил]окси]-7,8,9,10-тетрагидро-6,8,11-три-гидрокси-1-метокси-5,12-нафтацендион (**2**);
 Б – (8S-цис)-8-Ацетил-10-[[3-(4,7-диметокси-бензо[d][1,3]диоксол-5-илметиламино)-2,3,6-три-дезоксид- α -L-ликсогексопиранозил]окси]-7,8,9,10-тетрагидро-6,8,11-три-гидрокси-1-метокси-5,12-нафтацендион (**3**)

Цитотоксичность полученных соединений

Соединение	Ингибирующая концентрация IC_{50} , мкмоль/л				Острая токсичность LD_{50} , мг/кг
	A549 (немелкоклеточный рак легкого)	RD (рабдомиосаркома)	HCT116 (карцинома кишечника)	MCF7 (аденокарцинома молочной железы)	
Даунорубин	0,34±0,02	1,24±0,00	0,12±0,00	0,40±0,02	1,8
2	0,22±0,00	0,17±0,01	0,10±0,00	0,79±0,02	108,0
3	1,57±0,02	0,46±0,00	0,19±0,00	0,24±0,02	108,0

турным данным, LD_{50} даунорубина при внутривенном введении мышам составляет 1,8 мг/кг [12], что позволяет отнести данное вещество ко 2-му классу – «высоко токсичные вещества» по классификации К.К. Сидорова. Более низкое (в 60 раз) значение острой токсичности соединений **2** и **3**, по сравнению с исходным анти-

биотиком, делает эти соединения более эффективными в качестве противоопухолевых препаратов.

Обобщение всех полученных результатов с учетом новизны, низких значений острой токсичности и широкого спектра антипролиферативной активности полученных соединений (что свидетельствует о потенциальной возможности их исполь-

зования для лечения онкологических заболеваний, связанных с пролиферацией опухолевых клеток) позволило нам запатентовать соединения **2** и **3** [9]. Предполагается, что механизм действия данных соединений ничем не отличается от механизма биологической активности самого даунорубина и других антрациклиновых препаратов [13].

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (про-

ект № 18-03-00073а), а также стипендии Президента Российской Федерации молодым ученым и аспирантам (конкурс СП-2019, № СП-2717.2019.4) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации с использованием научного оборудования Центра исследования строения молекул ИНЭОС РАН. Конфликта интересов нет.

Дополнительных материалов нет.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Тевяшова А.Н.* Модификация углеводной части противоопухолевых антибиотиков антрациклиновой группы. Дис. ... канд. хим. наук. М., 2005.
2. *Moiseeva A.A.* // *ИНЭОС OPEN*. 2019. Vol. 2. N 1. P. 9.
3. *Zunino F., Pratesi G., Perego P.* // *Biochem. Pharmacol.* 2001. Vol. 61. P. 933.
4. *Van Dalen E.C., Michiels E.M.C., Caron H.N., Kremer L.C.M.* // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2010. N 3. P. 1.
5. *Tong G.L., Henry D.W., Acton E.M.* // *J. Med. Chem.* 1979. Vol. 22. P. 36.
6. *Artyushin O.I., Sharova E.V., Vinogradova N.M., Genkina G.K., Moiseeva A.A., Khodak A.A., Brel V.K.* // *Russian Journal of General Chemistry*. 2017. Vol. 87. N 6. P. 1323.
7. *Sharova E.V., Artyushin O.I., Vinogradova N.M., Genkina G.K., Brel V.K.* // *Mendeleev Communications*. 2017. Vol. 27. P. 608.
8. *Borch, R.F., Bernstein M.D., Durst H.D.* // *J. American Chemical Society*. 1971. Vol. 93. N 12. P. 2897.
9. *Брель В.К., Артюшин О.И., Шарова Е.В., Генкина Г.К., Виноградова Н.М., Моисеева А.А., Клочков С.Г., Аникина Л.В.* // Пат. РФ 2642068 С07Н 15/22. 2018.
10. *Прозоровский В.Б., Прозоровская М.П., Демченко В.М.* // *Фармакология и токсикология*. 1978. Vol. 41. N 4. P. 497.
11. *Сидоров К.К.* Токсикология новых промышленных химических веществ. Сб. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. М., 1973. Вып. 13. С. 47.
12. *Woodman R.J., Cysyk R.L., Kline I., Gang M., Venditti J.M.* // *Cancer Chemother. Rep.* 1975. Vol. 59. N 4. P. 689.
13. *Yang F., Teves S.S., Kemp C.J., Henikoff S.* // *Biochimica et Biophysica Acta*. 2014. Vol. 1845. P. 84.

Поступила в редакцию 03.08.2019

Получена после доработки 25.08.2019

Принята к публикации 14.09.2019

SYNTHESIS OF DAUNORUBICIN PIPERONAL DERIVATIVES BY ONE-STEP REDUCTIVE AMINATION

O.I. Artyushin, V.K. Brel, A.A. Moiseeva*

(*Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds of the Russian Academy of Sciences; *e-mail: ma@ineos.ac.ru*)

Using aromatic aldehydes new daunorubicin N-derivatives was obtained by one-step reductive amination, which have a high cytotoxic effect.

Key words: anthracycline antibiotics, daunorubicin, reductive amination, aromatic aldehydes, antitumor agents.

Сведения об авторах: *Артюшин Олег Иванович* – ст. науч. сотр. лаборатории фосфорорганических соединений (ЛФОС №112) ИНЭОС РАН им. А.Н. Несмеянова, доцент, канд. хим. наук (oleg.artushin@gmail.com); *Брель Валерий Кузьмич* – зав. лабораторией фосфорорганических соединений (ЛФОС №112) ИНЭОС РАН им. А.Н. Несмеянова, глав. науч. сотр., докт. хим. наук, профессор (v_brel@mail.ru); *Моисеева Александра Андреевна* – аспирант, мл. науч. сотр. лаборатории фосфорорганических соединений (ЛФОС №112) ИНЭОС РАН им. А.Н. Несмеянова (moiseevasasha@yandex.ru / ma@ineos.ac.ru).