



УДК 547.385:547.586.6:547.397:547.475

СИНТЕЗ РЕТИНОИДОВ С МОДИФИЦИРОВАННОЙ ПОЛЯРНОЙ ГРУППОЙ И ИХ ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ. СООБЩЕНИЕ I.

© 1995 г. Е. Л. Дерябина, А. А. Ходонов[#], Г. В. Череватая, Ю. Г. Кириллова,
В. И. Швец, И. А. Костянин*, М. В. Астапова*, С. М. Драницына*, Е. В. Старовойтова*

*Государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова,
117571, Москва, просп. Вернадского, 86;*

** Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва*

Поступила в редакцию 08.12.94 г. После доработки 26.07.95 г.

Осуществлен синтез ряда ретиноидов, модифицированных по концевой полярной группе. Биологический скрининг на культуре клеток промиелоцитарной линии человека HL-60 показал, что свободная карбоксильная группа в молекуле ретиноидов не является единственной группировкой, обеспечивающей проявление дифференцирующей активности.

Ключевые слова: ретиноиды, дифференцировка культуры клеток HL-60.

Ретиноиды, производные витамина А, обладают широким спектром физиологической и фармакологической активности. Они участвуют в таких важнейших физиологических процессах, как зрение, воспроизводство потомства, рост и дифференцировка клеток [1 - 5]. Обнаружение того факта, что ретиноиды способны оказывать влияние на клеточную дифференцировку и пролиферацию и таким образом предотвращать и ингибировать злокачественную трансформацию клеток, стимулировало синтетические исследования в этой области.

Среди большого числа синтезированных ретиноидов, для которых определена биологическая активность, особую роль играет ретиноевая кислота (РК) (I) и ее производные [1 - 5].

Механизм действия РК на клетку, находящуюся в стадии пролиферации, еще недостаточно изучен. В общих чертах его можно представить следующим образом. РК взаимодействует со специфическими ядерными рецепторами РК, что вызывает экспрессию РК-зависимых генов и в конечном счете приводит к синтезу новых белков и изменению функции клетки. Кроме того, в цитоплазме обнаружен клеточный белок, связывающий ретиноевую кислоту (КБСРК) и относящийся к семейству липидсвязывающих белков. По-видимому, основная функция этого белка – регуляция внутриклеточной концентрации свободной РК по механизму обратной связи [6, 7], хотя нельзя исключить его участия в транслокации

РК из цитозоля в ядро [8, 9]. Однако в ряде клеток, например в клетках линии HL-60, данный белок не найден [10].

К настоящему времени наиболее полная информация о взаимосвязи структура–активность ретиноидов *in vitro* была получена при использовании двух тест-систем: культуры ткани трахеи хомяка [5] и культуры клеток меланомы S91-C2 мыши [11]. Систематического изучения влияния структуры ретиноидов на дифференцировку клеток промиелоцитарной лейкемии человека не проводилось. Полученные в последние годы весьма перспективные результаты по лечению острой промиелоцитарной лейкемии человека с помощью *полностью-транс-РК* (ремиссия 95 - 97%) [12] стимулировали нас провести исследования, направленные на разработку методов синтеза новых ретиноидов, содержащих различные виды модификации как в триметилциклогексенном кольце, так и в полиеновой цепи или концевой полярной группе.

Последующее изучение взаимосвязи дифференцирующей активности и токсичности *in vitro* на культуре лейкемических клеток человека линии HL-60 позволит разработать алгоритм поиска новых соединений, сочетающих высокую дифференцирующую активность с низкой токсичностью.

В настоящем сообщении рассмотрены методы синтеза и биологическая активность ряда ретиноидов, модифицированных по полярной концевой группе.

Ранее было продемонстрировано [10, 13 - 15] влияние некоторых производных РК на процесс дифференцировки клеток HL-60. Как правило, все эффективные индукторы дифференцировки

Принятые сокращения: РК – ретиноевая кислота, NTB – нитроголубой тетразолий, КБСРК – клеточный белок, связывающий ретиноевую кислоту.

[#] Автор для переписки.

обязательно содержат в качестве концевой полярной функции карбоксильную группу, причем ее замещение, как в случае ретиналя (II), ретинола (III), ретинилацетата (IV), приводит практически к полной потере активности, в то время как модификация триметилциклогексенового кольца в ряде случаев не вызывает существенного снижения активности [10, 13, 14].

Для проверки гипотезы о влиянии природы концевой группы ретиноидов на дифференцировку опухолевых клеток нами был осуществлен ряд модификаций РК по этой группе при сохранении нормальной длины полиеновой цепи, а также синтезированы два высших гомолога РК, содержащих в полиеновой цепи на 2 или 5 атомов углерода больше (см. таблицу).

полностью-транс-Ретиналь (II), ретинол (III), ретинилацетат (IV) являются коммерчески доступными соединениями. *полностью-транс*-РК (I) и 13-*цис*-РК (V) были получены стандартным ме-

тодом – окислением соответствующих предшественников по методу [16] с выходами 59 и 50% соответственно. Необходимый для этого 13-*цис*-ретиналь был синтезирован как описано в работе [17]. 4-Кеторетиналь (VI) был получен по методу [18] с выходом 34%.

Для получения сложных эфиров РК (VII - X) была использована окислительная этерификация ретиналя (II) по Кори [19] (схема 1).

Нитрил РК (XIV) был приготовлен по методу [20] с выходом 78%, а *полностью-транс*-ретинилдендимедон (XI) – по реакции Кневенагеля конденсацией ретиналя (II) с димедоном в присутствии пиперидина [21] (схема 2).

Октатетраен (XIII) был получен олефинированием по Виттигу C_{18} -кетона (XII) фосфораном, генерируемым *in situ* из 4-метоксибензилтрифенилфосфонийбромида под действием 1,2-эпоксидана [22] (схема 3).

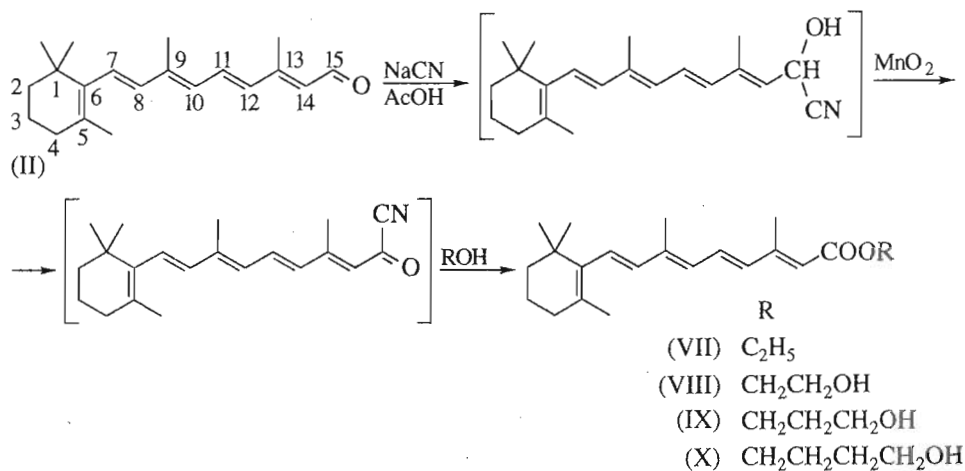


Схема 1.

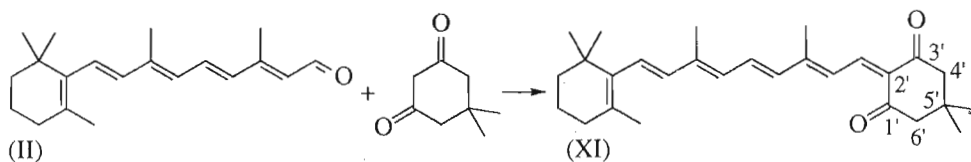


Схема 2.

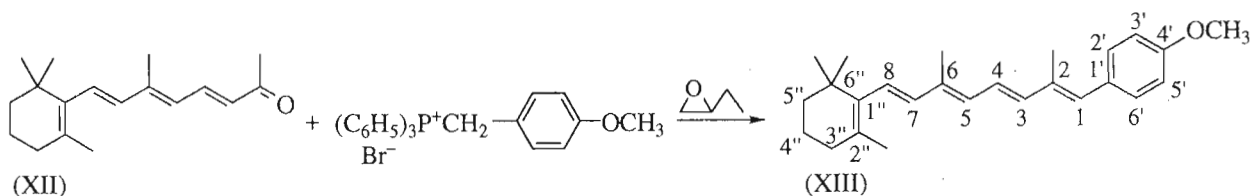
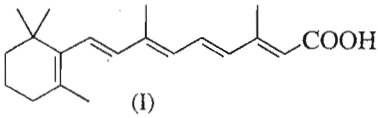
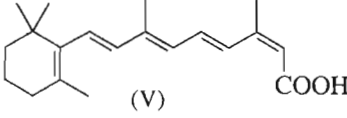
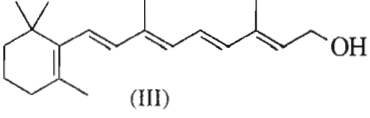
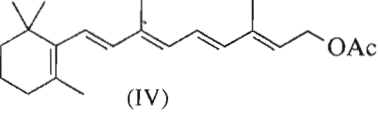
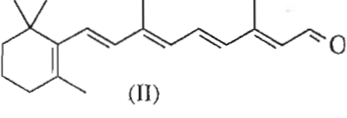
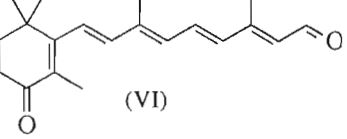
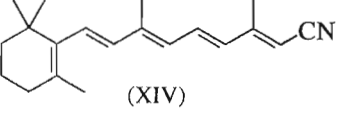
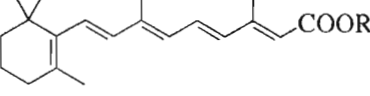
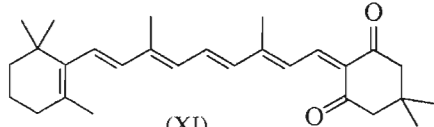
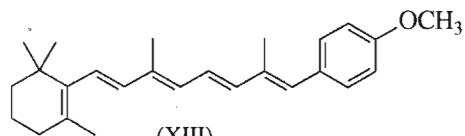
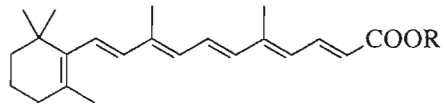
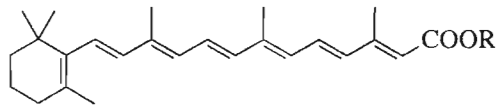


Схема 3.

Дифференцирующая активность ретиноидов*

Соединения	Увеличение числа клеток, положительных в NTV-тесте, %			
	Концентрация ретиноидов, М			
	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹
 <p>(I)</p>	68 ± 1	52 ± 1	43 ± 1	32 ± 1
 <p>(V)</p>	65 ± 1	50 ± 1	45 ± 1	29 ± 1
 <p>(III)</p>	34 ± 1	—	—	—
 <p>(IV)</p>	41 ± 1	—	—	—
 <p>(II)</p>	36 ± 1	—	—	—
 <p>(VI)</p>	37 ± 1	—	—	—
 <p>(XIV)</p>	35 ± 1	—	—	—
 <p>(VII) R = C₂H₅</p>	34 ± 2	30 ± 1	—	—
<p>(VIII) R = CH₂CH₂OH</p>	60 ± 2	48 ± 1	40 ± 1	30 ± 1
<p>(IX) R = CH₂CH₂CH₂OH</p>	45 ± 2	40 ± 1	31 ± 1	—
<p>(X) R = CH₂CH₂CH₂CH₂OH</p>	33 ± 2	30 ± 1	—	—

Окончание

Соединения	Увеличение числа клеток, положительных в НТВ-тесте, %			
	Концентрация ретиноидов, М			
	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹
 (XI)	48 ± 2	40 ± 1	33 ± 1	—
 (XIII)	50 ± 2	42 ± 2	36 ± 1	—
 (XVII) R = C ₂ H ₅ (XV) R = H	35 ± 1 38 ± 1	— —	— —	— —
 (XVIII) R = C ₂ H ₅ (XVI) R = H	33 ± 1 33 ± 1	— —	— —	— —

* Полученные результаты являются среднеарифметическими от трех независимых экспериментов.

Для определения влияния длины полиеновой цепи ретиноидов на проявление ими противоопухолевой активности нами были получены C₂₂- и C₂₅-аналоги РК. Синтез этих соединений осуществляли олефинированием по Хорнеру *полно-*

стью-транс-ретинала (II) C₂-(XIX) и C₅-фосфонатами (XX) (схема 4). Этиловые эфиры C₂₂- (XVII) и C₂₅-аналогов РК (XVIII) были выделены с помощью колоночной хроматографии с выходом 87 и 73% соответственно. Последующее омыление

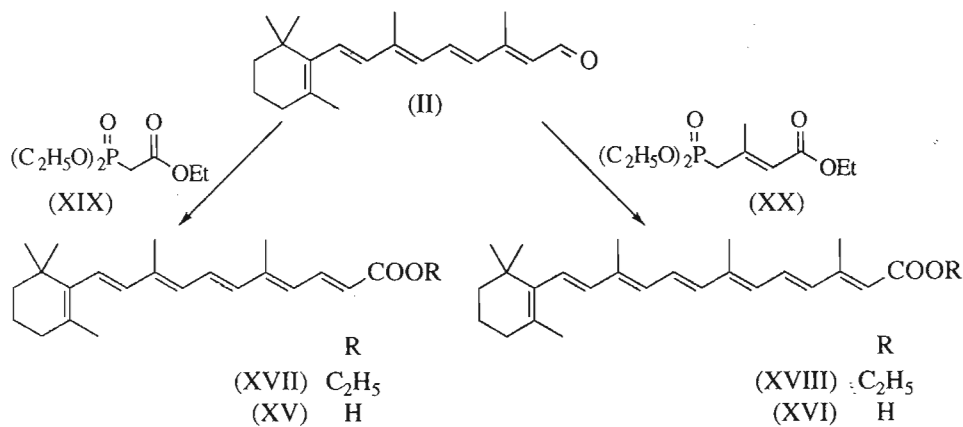


Схема 4.

их сложноэфирной группы приводило к карбоновым кислотам (XV), (XVI).

Структура полученных соединений подтверждена набором спектральных характеристик.

Все полученные производные ретиноидов были испытаны на дифференцирующую активность *in vitro* в тест-системе культуры клеток промиелоцитарной клеточной линии HL-60 (NTB-тест) [23]. При анализе результатов (таблица) можно выделить ряд особенностей взаимосвязи структура-дифференцирующая активность.

1. Изменение *полностью-транс*-конфигурации полиеновой цепи ретиноида на 13-*цис*- (V) не приводит к значительному снижению дифференцирующей активности. Аналогичные данные были получены недавно для 9-*цис*- и 9,13-*дицис*-изомеров РК [24].

2. Геометрические размеры молекулы ретиноида являются одним из факторов, определяющих высокую дифференцирующую активность (оптимальный размер молекулы не должен превышать размер молекулы *полностью-транс*-изомера РК (I)). Увеличение полиеновой цепи на два углеродных атома в соединении (XV) значительно снижает активность.

3. Существует явно выраженная специфичность к природе и строению концевой полярной группы: введение дополнительной гидроксильной группы в спиртовой компонент сложноэфирной функции эфиров (VIII) - (X) способствует проявлению ими дифференцирующей активности, если расстояние между карбонилем и гидроксильной группой не превышает двух метиленовых групп (ср. соединения (VII) и (VIII) или (VIII) - (X)).

4. Исключением из этого правила является ряд производных РК, не содержащих свободной карбоксильной группы, но индуцирующих дифференцировку почти так же эффективно, как и РК (соединения (XI), (XIII)).

Так как в настоящее время молекулярный механизм действия РК на клетку до конца не ясен, полученные результаты могут оказаться полезными для установления природы субстратной специфичности и пространственной структуры ядерных рецепторов ретиноевой кислоты.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

УФ-спектры сняты в метаноле на спектрофотометре Shimadzu UV-240 (Япония), ИК-спектры – на приборе Shimadzu IR-435 (Япония).

Спектры ¹H-ЯМР-растворов в дейтерохлороформе регистрировали на спектрометре WM-250 (Bruker, Германия). Химические сдвиги приведены в миллионных долях (м. д.) относительно внутреннего стандарта (гексаметилдисулфоксана, δ 0.055 м. д.), а значения констант спин-спиновой взаимодействия – в герцах. При описании спектров приняты

следующие сокращения: с – синглет, д – дублет, т – триплет, кв – квартет, м – мультиплет.

Масс-спектры получены на приборе Finnigan 4021 (США) (электронный удар, 70 эВ).

Хроматографию в тонком слое осуществляли на пластинках Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck, Германия) или Silufol UV-254 (Kavalier, Чехия) в системах растворителей: гексан-эфир; 1 : 1 (А), 2 : 1 (Б), 1 : 2 (В), обнаружение пятен – концентрированной серной кислотой, а также в УФ-свете. Адсорбционную колоночную хроматографию проводили на силикагеле L 100/160 мкм (Chemapol, Чехия) и окиси алюминия IV степени активности по Брокману (Reanal, Венгрия). ВЭЖХ-анализы выполняли на жидкостном хроматографе Knauer (Германия), снабженном колонкой размером 4.6 × 250 мм с фазой Lichrospher Si100 (5 мкм) и спектрофотометрическим детектором.

В работе использовали реактивы и препараты марки х. ч. и ч. д. а. производства СССР, а также оксид Mn(IV), приготовленный по методу [25].

Все операции с реагентами, чувствительными к влаге и кислороду, проводили в тщательно высушенной аппаратуре в атмосфере сухого аргона. Растворители удаляли на вакуумном роторном испарителе при температуре не выше 35°C. С 13-*цис*-изомером РК (V) работали в затемненном помещении при слабом красном свете фотографического фонаря.

полностью-транс-Ретиноевая кислота (I) получена из *полностью-транс*-ретилацетата (IV) по методу [16] в виде желтых кристаллов с выходом 59% и т. пл. 179 - 180°C (лит. данные [26]: 178 - 180°C). *R_f* 0.63 (А). УФ-спектр: λ_{макс} 351 нм (ε 43700). ¹H-ЯМР-спектр (δ, CDCl₃): 1.03 (6H, с, 1,1-2CH₃), 1.48 (2H, м, 2-H₂), 1.61 (2H, м, 3-H₂), 1.70 (3H, с, 5-CH₃), 2.03 (2H, м, 4-H₂), 2.10 (3H, с, 9-CH₃), 2.40 (3H, с, 13-CH₃), 5.69 (1H, с, 14-H), 6.13 (1H, д, *J* 16.0, 8-H), 6.15 (1H, д, *J* 11.5, 10-H), 6.22 (1H, д, *J* 16.0, 7-H), 6.31 (1H, д, *J* 15.0, 12-H), 7.04 (1H, дд, *J* 11.5, 15.0, 11-H).

13-цис-Ретиноевая кислота (V) была получена по методу [16] из 13-*цис*-ретиала [17] в виде желтых кристаллов с выходом 49.6% и т. пл. 174 - 175°C (лит. данные [16]: 173 - 175°C). *R_f* 0.70 (А). Содержание 13-*цис*-изомера, по данным ВЭЖХ, 97%. УФ-спектр: λ_{макс} 354 нм (ε 36200). ¹H-ЯМР-спектр (δ, CDCl₃): 1.01 (6H, с, 1,1-2CH₃), 1.48 (2H, м, 2-H₂), 1.61 (2H, м, 3-H₂), 1.71 (3H, с, 5-CH₃), 1.98 (3H, с, 9-CH₃), 2.04 (2H, м, 4-H₂), 2.09 (3H, с, 13-CH₃), 5.65 (1H, с, 14-H), 6.18 (1H, д, *J* 16.0, 8-H), 6.26 (1H, д, *J* 11.5, 10-H), 6.29 (1H, д, *J* 16.0, 7-H), 7.01 (1H, дд, *J* 11.5, 15.3, 11-H), 7.74 (1H, д, *J* 15.3, 12-H).

Этиловый эфир полностью-транс-ретиноевой кислоты (VII). К смеси 0.2 г цианида натрия, 1 г оксида Mn(IV) и 15 мл сухого этанола при

перемешивании в атмосфере аргона прибавляли 0.1 г (0.35 ммоль) ретиналя (II) и 60 мкл ледяной уксусной кислоты. Смесь перемешивали 12 ч, затем фильтровали через слой целита, промывали сорбент эфиром (4 × 50 мл). Фильтрат упаривали, остаток смешивали с 15 мл воды. Вещество экстрагировали эфиром (3 × 50 мл). Объединенные эфирные экстракты промывали водой до pH 7, сушили сульфатом натрия, растворитель удаляли, остаток хроматографировали на колонке с 30 г окиси алюминия, элюируя вещество смесью гексан-эфир с градиентом последнего от 0 до 15%. Фракции, содержащие этиловый эфир РК (VII), объединяли, упаривали растворитель и сушили в вакууме. Эфир (VII) получали в виде желтого масла с выходом 95 мг (83%). R_f 0.75 (Б). УФ-спектр: $\lambda_{\text{макс}}$ 352 нм (ϵ 40800). ^1H -ЯМР-спектр (δ , CDCl_3): 1.02 (6H, с, 1,1-2CH₃), 1.28 (3H, т, J 7.0, OCH₂CH₃), 1.45 (2H, м, 2-H₂), 1.60 (2H, м, 3-H₂), 1.70 (3H, с, 5-CH₃), 1.99 (3H, с, 9-CH₃), 2.02 (2H, м, 4-H₂), 2.35 (3H, с, 13-CH₃), 4.17 (2H, кв, J 7.0, OCH₂CH₃), 5.76 (1H, с, 14-H), 6.08 (1H, д, J 16.0, 8-H), 6.13 (1H, д, J 11.5, 10-H), 6.20 (1H, д, J 16.0, 7-H), 6.28 (1H, д, J 15.0, 12-H), 7.01 (1H, дд, J 11.5, 15.0, 11-H). Масс-спектр (m/z): 328 [M]⁺.

2-Гидроксиэтиловый эфир полностью-транс-ретиноевой кислоты (VIII). К раствору 1 г (3.5 ммоль) полностью-транс-ретиналя (II) в 5 мл этиленгликоля при перемешивании прибавляли 4.5 г оксида Mn(IV), 0.2 г (4.08 ммоль) цианида натрия и 20 мкл уксусной кислоты. Смесь перемешивали при 20°C в течение 72 ч, затем фильтровали через слой целита, сорбент промывали эфиром (4 × 50 мл), фильтрат упаривали и остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя вещество смесью гексан-эфир с градиентом последнего от 0 до 30%. Фракции, содержащие эфир (VIII), объединяли, упаривали и сушили 1 ч при 0.1 мм рт. ст. Соединение (VIII) получали в виде оранжевых кристаллов с выходом 0.63 г (52%) и т. пл. 108 - 110°C. R_f 0.27 (А). УФ-спектр: $\lambda_{\text{макс}}$ 358 нм (ϵ 55700). ^1H -ЯМР-спектр (δ , CDCl_3): 1.03 (6H, с, 1,1-2CH₃), 1.47 (2H, м, 2-H₂), 1.61 (2H, м, 3-H₂), 1.67 (3H, с, 5-CH₃), 1.96 (3H, с, 9-CH₃), 1.99 (2H, м, 4-H₂), 2.35 (3H, с, 13-CH₃), 3.84 (2H, м, -CH₂OH), 4.24 (2H, м, -COOCH₂-), 5.77 (1H, с, 14-H), 6.11 (1H, д, J 16.0, 8-H), 6.14 (1H, д, J 11.5, 10-H), 6.27 (1H, д, J 15.0, 12-H), 6.28 (1H, д, J 16.0, 7-H), 7.01 (1H, дд, J 11.5, 15.0, 11-H). Масс-спектр (m/z): 344 [M]⁺.

3-Гидроксипропиловый эфир полностью-транс-ретиноевой кислоты (IX). К раствору 0.5 г (1.75 ммоль) полностью-транс-ретиналя (II) в 15 мл этилацетата при перемешивании в атмосфере аргона прибавляли 0.5 мл (6.91 ммоль) 1,3-пропандиола, 3 г оксида Mn(IV), 0.4 г (8.16 ммоль) цианида натрия и 200 мкл уксусной кислоты.

Смесь перемешивали 24 ч при 25°C, фильтровали через слой целита, сорбент промывали эфиром (4 × 50 мл), фильтрат упаривали и остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя вещество смесью гексан-эфир с градиентом последнего от 0 до 35%. Фракции, содержащие эфир (IX), объединяли, удаляли растворитель и сушили 1 ч при 20°C и 0.1 мм рт. ст. Соединение (IX) получали в виде желтого масла с выходом 0.21 г (33%). R_f 0.35 (А). УФ-спектр: $\lambda_{\text{макс}}$ 357 нм (ϵ 35400). ^1H -ЯМР-спектр (δ , CDCl_3): 0.99 (6H, с, 1,1-2CH₃), 1.55 (2H, м, 2-H₂), 1.60 (2H, м, 3-H₂), 1.67 (3H, с, 5-CH₃), 1.8 - 1.9 (2H, м, -CH₂CH₂OH), 1.97 (3H, с, 9-CH₃), 2.00 (2H, м, 4-H₂), 2.31 (3H, с, 13-CH₃), 3.67 (2H, т, J 6.0, -CH₂CH₂OH), 4.24 (2H, т, J 6.0, -OCH₂CH₂-), 5.75 (1H, с, 14-H), 6.11 (1H, д, J 11.5, 10-H), 6.12 (1H, д, J 16.0, 8-H), 6.25 (1H, д, J 16.0, 7-H), 6.25 (1H, д, J 15.0, 12-H), 6.97 (1H, дд, J 11.5, 15.0, 11-H). Масс-спектр (m/z): 358 [M]⁺.

4-Гидроксibuтиловый эфир полностью-транс-ретиноевой кислоты (X). К раствору 0.5 г (1.75 ммоль) полностью-транс-ретиналя (II) в 10 мл этилацетата при перемешивании прибавляли 0.5 мл (5.6 ммоль) 1,4-бутандиола, 3 г оксида Mn(IV), 0.4 г (8.16 ммоль) цианида натрия и 200 мкл уксусной кислоты. Смесь перемешивали 24 ч при 20°C, затем фильтровали через слой целита, сорбент промывали эфиром (3 × 50 мл), фильтрат упаривали. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя вещество смесью гексан-эфир с градиентом последнего от 0 до 35%. Фракции, содержащие эфир (X), объединяли, растворитель удаляли и остаток сушили в вакууме. Вещество (X) получали в виде желтого масла с выходом 0.22 г (34%). R_f 0.20 (А). УФ-спектр: $\lambda_{\text{макс}}$ 357 нм (ϵ 32200). ^1H -ЯМР-спектр (δ , CDCl_3): 1.03 (6H, с, 1,1-2CH₃), 1.44 (2H, м, 2-H₂), 1.61 - 1.73 (6H, м, 3-H₂, -CH₂CH₂CH₂OH), 1.68 (3H, с, 5-CH₃), 1.97 (3H, с, 9-CH₃), 1.99 (2H, м, 4-H₂), 2.31 (3H, с, 13-CH₃), 3.65 (2H, т, J 6.5, -CH₂OH), 4.12 (2H, т, J 6.5, -OCH₂CH₂CH₂CH₂OH), 5.72 (1H, с, 14-H), 6.108 (1H, д, J 16.0, 8H), 6.11 (1H, д, J 11.5, 10-H), 6.25 (1H, д, J 16.0, 7-H), 6.25 (1H, д, J 15.0, 12-H), 6.97 (1H, дд, J 11.5, 15.0, 11-H). Масс-спектр (m/z): 372 [M]⁺.

4-Кеторетиналь (VI) был получен по методу [18] с выходом 34%. R_f 0.39 (В). Т. пл. 114 - 116°C (лит. данные [18]: 113 - 115°C). УФ-спектр: $\lambda_{\text{макс}}$ 374 нм (ϵ 50500). ^1H -ЯМР-спектр (δ , CDCl_3): 1.17 (6H, с, 1,1-2CH₃), 1.83 (3H, с, 5-CH₃), 1.85 (2H, т, J 6.0, 2-H₂), 2.05 (3H, с, 9-CH₃), 2.33 (3H, с, 13-CH₃), 2.50 (2H, т, J 6.0, 3-H₂), 5.98 (1H, д, J 8.0, 14-H), 6.29 (1H, д, J 12.0, 10-H), 6.32 (1H, д, J 16.0, 8-H), 6.39 (1H, д, J 16.0, 7-H), 6.45 (1H, д, J 15.0, 12-H), 7.15 (1H, дд, J 12.0, 15.0, 11-H), 10.12 (1H, д, J 8.0, 15-H).

полностью-транс-Ретинилидендимедон (XI). К раствору 0.1 г (0.35 ммоль) *полностью-транс-ретиная* (II) в 6 мл толуола при перемешивании и 20°C в атмосфере аргона прибавляли 56 мг (0.4 ммоль) димедона и 0.01 мл пиперидина. Реакционную смесь перемешивали в течение 6 ч, выливали в 15 мл воды и вещество экстрагировали эфиром (4 × 30 мл). Объединенные экстракты промывали водой до pH 7, сушили сульфатом натрия, растворитель удаляли, остаток хроматографировали на колонке с 30 г силикагеля, элюируя вещество смесью гексан-эфир (3 : 1). Фракции, содержащие ретинилидендимедон (XI), объединяли, упаривали растворитель. Остаток кристаллизовали из пентана и получали соединение (XI) с выходом 115 мг (81%) в виде красных кристаллов с т. пл. 122 - 124°C (лит. данные [21]: 122.5 - 124.5°C). R_f 0.64 (A). УФ-спектр: $\lambda_{\text{макс}}$ 490 нм (ϵ 49800). ИК-спектр: ν 1638 см^{-1} (C=O). ^1H -ЯМР-спектр (δ , CDCl_3): 1.05 (6H, с, 1,1-2CH₃), 1.07 (6H, с, 5',5'-2CH₃), 1.48 (2H, м, 2-H₂), 1.62 (2H, м, 3-H₂), 1.74 (3H, с, 5-CH₃), 2.03 (2H, м, 4-H₂), 2.04 (3H, с, 9-CH₃), 2.25 (3H, с, 13-CH₃), 2.52 (4H, с, 4',6'-2H₂), 6.20 (1H, д, J 16.0, 8-H), 6.23 (1H, д, J 12.0, 10-H), 6.37 (1H, д, J 16.0, 7-H), 6.56 (1H, д, J 15.0, 12-H), 7.15 (1H, дд, J 12.0, 15.0, 11-H), 7.80 (1H, д, J 13.0, 14-H), 8.17 (1H, д, J 13.0, 15-H). Масс-спектр (m/z): 406 $[M]^+$.

(1E,3E,5E,7E)-2,6-Диметил-1-(4'-метоксифенил)-8-(2'',6'',6''-триметилциклогекс-1-енил)-1,3,5,7-октатетраен (XIII). В автоклав объемом 25 мл помещали 2.18 г (4.7 ммоль) 4-метоксибензилтрифенилфосфонийбромид, 1 г (3.9 ммоль) C₁₈-кетона (XII) в 10 мл сухого дихлорметана и 5 мл 1,2-эпоксипутана. Нагревали 24 ч в атмосфере аргона при 80°C, охлаждали, содержимое упаривали досуха и остаток хроматографировали на силикагеле, элюируя вещество смесью гексан-эфир с градиентом последнего от 0 до 10%, собирая фракции с R_f 0.83. После удаления растворителя получали соединение (XIII) с выходом 0.85 г (60.3%) в виде желтых кристаллов с т. пл. 98°C. R_f 0.83 (A). УФ-спектр: $\lambda_{\text{макс}}$ 355 нм (ϵ 43700). ^1H -ЯМР-спектр (δ , CDCl_3): 1.01 (6H, с, 6'',6''-2CH₃), 1.47 (2H, м, 5''-H₂), 1.61 (2H, м, 4''-H₂), 1.72 (3H, с, 2''-CH₃), 1.97 (3H, с, 6-CH₃), 2.03 (2H, м, 3''-H₂), 2.07 (3H, с, 2-CH₃), 3.81 (3H, с, -OCH₃), 5.25 (1H, с, 1-H), 6.12 - 6.18 (2H, м, 3-H, 5-H), 6.43 (2H, д, J 15.5, 7-H, 8-H), 6.67 (1H, дд, J 11.0, 15.0, 4-H), 6.87 (2H, м, аром.), 7.25 (2H, м, аром.). Масс-спектр (m/z): 362 $[M]^+$.

полностью-транс-Ретинилнитрил (XIV). К раствору 0.1 г (0.35 ммоль) *полностью-транс-ретиная* (II) в 10 мл сухого тетрагидрофурана при перемешивании и 0°C в атмосфере аргона прибавляли 0.88 г тетрагидрата молибдата аммония, 0.01 г тетрабутиламмонийиодида, 0.5 мл 20% водного

раствора аммиака и затем 5 мл 33% раствора пероксида водорода (порциями по 1 мл с интервалом в 1 ч), реакционную смесь выдерживали 10 ч при 5°C, выливали в смесь 20 г льда и 2% мл 0.1 н. HCl. Вещество экстрагировали эфиром (3 × 100 мл). Объединенные органические экстракты промывали водой до pH 7, сушили над сульфатом натрия, растворитель удаляли. Остаток хроматографировали на колонке с 30 г окиси алюминия, элюируя вещество смесью гексан-эфир с градиентом последнего от 0 до 15%. Фракции, содержащие соединение (XIV), собирали и упаривали. Остаток кристаллизовали из пентана, получая вещество (XIV) в виде оранжевых кристаллов с выходом 77 мг (78%). Т. пл. 81 - 83°C. R_f 0.76 (A) [20]. УФ-спектр: $\lambda_{\text{макс}}$ 356 нм (ϵ 43000). ИК-спектр: ν 970 см^{-1} (C=C), 2200 см^{-1} (C≡N). ^1H -ЯМР-спектр (δ , CDCl_3): 1.03 (6H, с, 1,1-2CH₃), 1.45 (2H, м, 2-H₂), 1.63 (2H, м, 3-H₂), 1.72 (3H, с, 5-CH₃), 1.97 (2H, м, 4-H₂), 1.99 (3H, с, 9-CH₃), 2.21 (3H, с, 13-CH₃), 5.20 (1H, с, 14-H), 6.10 (1H, д, J 11.5, 10-H), 6.19 (1H, д, J 16.0, 8-H), 6.28 (1H, д, J 15.0, 12-H), 6.32 (1H, д, J 16.0, 7-H), 6.94 (1H, дд, J 11.5, 15.0, 11-H). Масс-спектр (m/z): 281 $[M]^+$.

Получение этиловых эфиров C₂₂- и C₂₅-аналогов РК (XVII, XVIII)

Этиловый эфир C₂₂-аналога РК (XVII). К суспензии 84 мг (2.1 ммоль) 60%-ного гидрида натрия в 5 мл тетрагидрофурана при перемешивании в атмосфере аргона при 0°C по каплям прибавляли 0.32 мл (1.58 ммоль) C₂-фосфоната (XIX). Перемешивание продолжали 1 ч при той же температуре и затем прибавляли раствор 0.3 г (1.05 ммоль) *полностью-транс-ретиная* (II) в 10 мл тетрагидрофурана. После завершения реакции (по данным ТСХ) реакционную массу выливали в смесь 5 мл 1 н. раствора HCl и 10 г льда. Вещество экстрагировали эфиром (3 × 70 мл), объединенные органические экстракты промывали водой, сушили над сульфатом натрия, растворитель удаляли. Остаток хроматографировали на силикагеле, элюируя вещество смесью гексан-эфир с градиентом последнего от 0 до 25%. После удаления растворителя и кристаллизации из пентана получали соединение (XVII) в виде оранжевых кристаллов с выходом 0.32 г (87%). Т. пл. 57 - 59°C. R_f 0.86 (A). УФ-спектр: $\lambda_{\text{макс}}$ 387 нм (ϵ 47000). ИК-спектр: ν 1710 см^{-1} (C=O), 1246 см^{-1} (C-O-C). ^1H -ЯМР-спектр (δ , CDCl_3): 1.02 (6H, с, 1,1-2CH₃), 1.30 (3H, т, J 7.0, CH₂CH₃), 1.46 (2H, м, 2-H₂), 1.61 (2H, м, 3-H₂), 1.71 (3H, с, 5-CH₃), 1.98 (3H, с, 9-CH₃), 2.02 (2H, м, 4-H₂), 2.06 (3H, с, 13-CH₃), 4.19 (2H, кв, J 7.0, CH₂CH₃), 5.87 (1H, д, J 15.0, 15'-H), 6.12 (1H, д, J 16.5, 8-H), 6.13 (1H, д, J 11.5, 10-H), 6.20 (1H, д, J 12.0, 14-H), 6.24 (1H, д, J 16.5, 7-H), 6.34 (1H, д,

J 15.0, 12-Н), 6.82 (1Н, дд, J 11.5, 15.0, 11-Н), 7.69 (1Н, дд, J 12.0, 15.0, 15-Н).

Этиловый эфир C_{25} -аналога РК (XVIII) получен аналогично соединению (XVII) из 0.5 г *полностью-транс*-ретинола (II) и 0.7 мл C_5 -фосфоната (XX) в виде оранжевых кристаллов с выходом 0.51 г (73%). Т. пл. 77 - 79°C. R_f 0.89 (А). УФ-спектр: $\lambda_{\text{макс}}$ 400 нм (ϵ 52300). ИК-спектр: ν 1710 см^{-1} (C=O), 1246 см^{-1} (C-O-C). ^1H -ЯМР-спектр (δ , CDCl_3): 1.01 (6Н, с, 1,1-2 CH_3), 1.28 (3Н, т, J 7.0, CH_2CH_3), 1.47 (2Н, м, 2- H_2), 1.61 (2Н, м, 3- H_2), 1.70 (3Н, с, 5- CH_3), 1.97 (3Н, с, 9- CH_3), 2.01 (3Н, с, 14'- CH_3), 2.03 (2Н, м, 4- H_2), 2.34 (3Н, с, 13- CH_3), 4.15 (2Н, кв, J 7.0, CH_2CH_3), 5.77 (1Н, с, 13'-Н), 5.87 (1Н, д, J 15.0, 15'-Н), 6.11 (1Н, д, J 16.4, 8-Н), 6.15 - 6.37 (3Н, м, 7-Н, 10-Н, 14-Н), 6.29 (1Н, д, J 15.0, 12-Н), 6.72 (1Н, дд, J 11.0, 15.0, 11-Н), 7.97 (1Н, дд, J 11.3, 15.0, 15-Н).

Получение C_{22} - и C_{25} -аналогов РК

Соответствующие C_{22} - (XV) и C_{25} -кислоты (XVI) были получены щелочным омылением соединений (XVII) и (XVIII) с выходами 68 и 65% соответственно.

C_{22} -аналог РК (XV). R_f 0.50 (А). Т. пл. 167 - 169°C. УФ-спектр: $\lambda_{\text{макс}}$ 373 нм (ϵ 51300). ^1H -ЯМР-спектр (δ , CDCl_3): 1.02 (6Н, с, 1,1-2 CH_3), 1.49 (2Н, м, 2- H_2), 1.61 (2Н, м, 3- H_2), 1.71 (3Н, с, 5- CH_3), 1.99 (3Н, с, 9- CH_3), 2.02 (2Н, м, 4- H_2), 2.08 (3Н, с, 13- CH_3), 5.87 (1Н, д, J 15.0, 15'-Н), 6.13 (1Н, д, J 16.1, 8-Н), 6.15 (1Н, д, J 12.1, 14-Н), 6.25 (1Н, д, J 11.3, 10-Н), 6.26 (1Н, д, J 16.1, 7-Н), 6.35 (1Н, д, J 15.0, 12-Н), 6.86 (1Н, дд, J 11.3, 15.0, 11-Н), 7.78 (1Н, дд, J 12.1, 15.0, 15-Н).

C_{25} -аналог РК (XVI). R_f 0.62 (А). Т. пл. 185 - 187°C. УФ-спектр: $\lambda_{\text{макс}}$ 384 нм (ϵ 54700). ^1H -ЯМР-спектр (δ , CDCl_3): 1.02 (6Н, с, 1,1'-2 CH_3), 1.46 (2Н, м, 2- H_2), 1.59 (2Н, м, 3- H_2), 1.71 (3Н, с, 5- CH_3), 1.97 (3Н, с, 9- CH_3), 2.02 (3Н, с, 13- CH_3), 2.10 (2Н, м, 4- H_2), 2.36 (3Н, с, 14'- CH_3), 5.80 (1Н, с, 13'-Н), 6.33 (1Н, д, J 15.0, 15'-Н), 6.11 (1Н, д, J 16.1, 8-Н), 6.17 - 6.35 (3Н, м, 7-Н, 10-Н, 14-Н), 6.36 (1Н, д, J 15.0, 12-Н), 6.74 (1Н, дд, J 11.3, 15.0, 11-Н), 7.03 (1Н, дд, J 11.3, 15.0, 15-Н).

NTB-тест [23]

Полученные соединения в концентрациях от 10^{-6} до 10^{-9} М тестировали на их способность вызывать дифференцировку клеток HL-60. Для этого раствор ретиноида в абсолютном спирте добавляли ежедневно в течение 3 сут к клеткам HL-60 (в концентрации 2×10^5 клеток/мл), культивированным в среде RPMI 1640, содержащей 10% фетальную сыворотку теленка. На 5-е сут

клетки собирали и степень дифференцировки определяли по способности восстанавливать нитроголубой тетразолий. В качестве контроля использовали не стимулированные ретиноидами клетки HL-60. Полученные результаты являются средними от трех независимых экспериментов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. The Retinoids. V. 1, 2 / Eds Sporn M.B., Roberts A.B., Goodman D.S. Orlando: Acad. Press, 1984.
2. Chemistry and Biology of Synthetic Retinoids / Eds Dawson M.I., Okamura W.H. Boca Raton: CRC Press, 1990.
3. Retinoids. Advances in Basic Research and Therapy / Eds Orfanos C.E., Braun-Falco O., Farber O., Grupper C., Polano M.K., Schuppli R. Berlin: Springer-Verlag, 1981.
4. Retinoids and Cell Differentiation / Ed. Sherman M. Boca Raton: CRC Press, 1986.
5. Jaeger E.P., Jurs P.C., Stouch T.R. // Eur. J. Med. Chem. 1993. V. 28. P. 275 - 290.
6. Elter J.T., Astroem A., Pettersso U., Tavakkol A., Grifitos C.E.M., Krust A., Kastner P., Chambon P., Voorhees J.J. // J. Invest. Dermatol. 1992. V. 98. P. 673 - 679.
7. Dolle P., Ruberte E., Leroy P., Morriss-Kay E., Chambon P. // Development. 1990. V. 110. P. 1133 - 1151.
8. Keidel S., Szardenings M., Mueller W.H. // Eur. J. Biochem. 1993. V. 212. P. 13 - 26.
9. Napoli J.L., Posch K.P., Fiorella P.D., Boerman M.H.E.M. // Biomed. Pharmacother. 1993. V. 45. P. 131 - 143.
10. Breitman T.R., Collins S.R., Keene B.R. // Blood. 1981. V. 57. P. 1000 - 1004.
11. Lotan R. // Retinoids and Cell Differentiation / Ed. Sherman M. Boca Raton: CRC Press, 1986. P. 61.
12. Wu X., Wang X., Qien X., Liu X.H., Ying J., Yang Z., Yao H. // Amer. J. Hematol. 1993. P. 183 - 189.
13. Imaizumi M., Breitman T.R. // Eur. J. Hematol. 1987. V. 38. P. 289 - 302.
14. Hemmi H., Breitman T.R. // Retinoids: New Trends in Research and Therapy / Ed. Saurat J.H. Basel: Karger, 1985. P. 48 - 54.
15. Костянян И.А., Астапова М.В., Старовойтова Е.В., Драницьина С.М., Липкин В.М. // Биоорган. химия. 1995. Т. 21. С. 243 - 248.
16. Marbet R. - Заявка ФРГ 20 61 507. МКИ С07С 175/00.
17. Ходонов А.А., Первушина Е.А., Мицнер Б.И., Звонкова Е.Н., Евстигнеева Р.П. // Биоорган. химия. 1984. Т. 10. С. 408 - 414.
18. Соколова Н.А., Мицнер Б.И., Закус В.И., Цетлин В.И. // Биоорган. химия. 1979. Т. 5. С. 1053 - 1058.
19. Corey E.J., Gillam N.V., Ganem B.E. // J. Amer. Chem. Soc. 1968. V. 90. P. 5616 - 5619.
20. Варга М., Ходонов А.А., Мицнер Б.И., Евстигнеева Р.П. // Журн. орган. химии. 1987. Т. 24. С. 1123 - 1125.

21. Acton N., Brossi A., Newton P.L., Sporn M.B. // J. Med. Chem. 1980. V. 23. P. 805 - 809.
22. Buddrus J. // Chem. Ber. 1974. V. 107. P. 2050 - 2061.
23. Collins S.J., Ruscetti F.W., Gallagher R.E., Gallo R.C. // J. Exper. Med. 1979. V. 149. P. 969 - 974.
24. Murayama A., Suzuki T., Matsui M. // Proc. Jpn. Acad. 1993. Ser. B. V. 69. P. 185 - 190.
25. Henbest H.B., Jones E.R.H., Owen T.C. // J. Chem. Soc. 1957. P. 4909 - 4912.
26. Каталог реактивов фирмы "Aldrich 1992 - 1993". P. 1089.

Synthesis and Antitumor Activity of Retinoids with Modified Polar Head. Communication I

E. L. Deryabina*, A. A. Khodonov*,¹ G. V. Cherevataya*, Yu. G. Kirillova*, V. I. Shvets*,
I. A. Kostanyan**, M. V. Astapova**, S. M. Dranitsyna**, and E. V. Starovoitova**

*Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology, pr. Vernadskogo 86, Moscow, 117571 Russia

**Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117871 Russia

Abstract – Several retinoids with modified polar group were synthesized. Biological screening using HL-60 promyelocyte leukemia cells showed that the free carboxyl in the retinoid molecules is not the only group responsible for exhibiting the differentiating activity.

Key words: retinoids, HL-60 cell differentiation.

¹ To whom correspondence should be addressed.