

ОРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ
ORGANIC CHEMISTRY

УДК 547-327+547-326+577.115.3+577.115.4

Поступила в редакцию 06.06.2017

Received 06.06.2017

М. А. Фомич, О. Л. Шарко, В. В. Шманай

Институт физико-органической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

СИНТЕЗ ГИДРОФИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 11,11-D₂-ЛИНОЛЕОВОЙ КИСЛОТЫ

Аннотация. Ранее показано, что 11,11-D₂-линолевая кислота эффективно подавляет процессы липидного окисления *in vitro* и в клеточных культурах за счет наличия в ее структуре «усиленных» C-D-связей в бис-аллильных положениях, наиболее чувствительных к действию радикалов. Как следствие, это соединение является перспективным кандидатом в терапии митохондриальных и глазных заболеваний. В данной работе решается задача синтеза гидрофильных производных 11,11-D₂-линолевой кислоты, которые могут служить ее пролекарственными формами с увеличенной растворимостью в воде и биологических средах и улучшенными фармакологическими параметрами. В качестве модифицирующих реагентов мы выбрали биологически совместимые природные соединения, преимущественно аминокислоты, присоединяемые к 11,11-D₂-линолевой кислоте амидной или сложноэфирной связью. Среди полученных соединений присутствуют катионные, анионные и незаряженные производные, которые в дальнейшем планируется испытать на их способность проникать к сетчатке глаза.

Ключевые слова: D₂-линолевая кислота, липидное окисление, аминокислоты, глюкозамин, холин, сетчатка глаза

Для цитирования. Фомич, М. А. Синтез гидрофильных производных 11,11-D₂-линолевой кислоты / М. А. Фомич, О. Л. Шарко, В. В. Шманай // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. хим. наук. – 2017. – № 4. – С. 48–54.

M. A. Fomich, O. L. Sharko, V. V. Shmanai

Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

SYNTHESIS OF HYDROPHILIC DERIVATIVES OF 11,11-D₂-LINOLEIC ACID

Abstract. Previously it was shown that 11,11-D₂-linoleic acid effectively quenches the processes of lipid peroxidation *in vitro* and in cell cultures due to the presence of reinforced C-D bonds in bis-allylic positions, which are most vulnerable to the radicals. Therefore, this compound serves as a promising candidate to treat mitochondrial and eye diseases. The present work deals with the synthesis of the hydrophilic derivatives of 11,11-D₂-linoleic acid as prodrug forms with increased solubility in water and biological media and improved pharmacological properties. As modifying reagents, we chose biologically compatible natural compounds, mainly aminoacids, which were attached to 11,11-D₂-linoleic acid via amide or ester bond. Among the synthesized compounds there are cationic, anionic and neutral derivatives, and their permeability in eyes will be further tested.

Keywords: D₂-linoleic acid, lipid peroxidation, aminoacids, glucosamine, choline, eye retina

For citation. Fomich M. A., Sharko O. L., Shmanai V. V. Synthesis of hydrophilic derivatives of 11,11-D₂-linoleic acid. *Vesti Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seriya khimichnykh navuk=Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, Chemical series*, 2017, no. 4, pp. 48–54 (In Russian).

Введение. Создание новых лекарственных препаратов включает в себя не только поиск оптимальной структуры действующего вещества, но и выбор лекарственной формы, обеспечивающей эффективность действия вещества в организме. По некоторым оценкам, около 40 % разрешенных к использованию лекарств и 90 % кандидатов обладают низкой растворимостью в воде [1]. Среди других проблем можно назвать неудовлетворительную фармакокинетику и плохую переносимость. Для решения этих проблем применяют такие подходы, как варьирование pH и создание солевых форм, синтез пролекарственных форм, введение соразтворителей, получение микроэмульсий, аморфных форм, твердых дисперсий или сокристаллов, мицеллярных форм, комплексов с циклодекстринами, переводение в наноразмерное состояние, инкапсулирование в липосомы и др. [2].

11,11-D₂-Линолевая кислота (рис. 1), действие которой основано на замедлении процессов перекисного окисления липидов за счет D/H-изотопного эффекта [3], рассматривается как перспективное соединение для терапии заболеваний, обусловленных окислительным стрессом, в частности митохондриальных и глазных [4, 5].

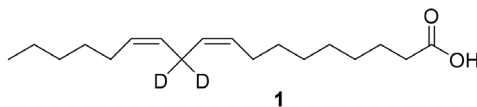


Рис. 1. Структура 11,11-D₂-линолевой кислоты

Fig. 1. Structure of 11,11-D₂-linoleic acid

В данной работе мы сообщаем о синтезе ряда производных 11,11-D₂-линолевой кислоты, которые могут разлагаться в организме под действием ферментов и служить пролекарственной формой изотопно-усиленной жирной кислоты. При выборе способа модификации мы опирались на следующие критерии: обратимость модификации и устойчивость полученного продукта, нетоксичность и биосовместимость присоединяемого фрагмента и его быстрое удаление из организма, повышение растворимости в воде [6]. Учитывая сложное строение глаза, а именно сочетание гидрофильных и липофильных оболочек, которые на пути к сетчатке должен преодолеть нанесенный в виде капель препарат, целесообразно испытать и сравнить соединения, в которых гидрофильность обеспечена различными способами: катионные, анионные, а также незаряженные производные. Подобный подход успешно применен для получения ряда лекарственных препаратов для лечения глазных заболеваний: ганцикловира [7], латанопроста и травопроста [8, 9], валацикловира и валганцикловира [10]. Поставленную задачу мы решали путем синтеза амидов и сложных эфиров 11,11-D₂-линолевой кислоты, выбирая в качестве вводимых фрагментов аминокислоты либо другие молекулы природного происхождения.

Экспериментальная часть

Материалы и оборудование. Коммерчески доступные реактивы использовали без дополнительной очистки. 11,11-D₂-Линолевою кислоту синтезировали по описанной методике [3]. Триэтиламин, хлороформ и хлористый метилен перегоняли над СаН₂, этилацетат (EtOAc) перегоняли над P₂O₅, тетрагидрофуран (ТГФ) и диэтиловый эфир сушили и перегоняли над LiAlH₄, петролейный эфир 40/70 (ПЭ) перегоняли без осушки. ¹H (500 МГц) и ¹³C (126 МГц) спектры ЯМР получали на приборе Bruker DRX-500 и относили к остаточным сигналам CDCl₃ (7,26 и 77,16 м. д.) и ДМСО-d₆ (2,50 и 39,52 м. д.). Аналитическую тонкослойную хроматографию выполняли на пластинках Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck). Колоночную хроматографию проводили на силикагеле Merck Kieselgel 60 (0,063–0,200 мм).

11,11-D₂-Линолеилхлорид (2). В 50 мл колбу внесли 11,11-D₂-линолевою кислоту (4,00 г, 14,2 ммоль) и оксалилхлорид (3,2 мл, 29,9 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 дней, затем нагревали на водяной бане в вакууме водоструйного насоса в течение 30 мин, добавляли ПЭ (100 мл), трижды промыли холодной водой, отфильтровали через колонку с безводным Na₂SO₄, упарили и высушили в вакууме, получили продукт в виде желтоватой жидкости (4,24 г, 98 %). ¹H ЯМР (CDCl₃, 500 МГц) δ 5,42–5,30 (м, 4H), 2,88 (т, J = 7,3 Гц, 2H), 2,05 (м, 4H), 1,71 (м, 2H), 1,38–1,27 (м, 14H), 0,89 (т, J = 6,9 Гц, 3H). ¹³C ЯМР (CDCl₃, 126 МГц) δ 173,95, 130,41, 130,07, 128,19, 127,89, 47,23, 31,67, 29,65, 29,49, 29,09, 28,53, 27,35, 27,27, 25,17, 22,72, 14,21.

Общая методика синтеза амидов через хлорангидрид (метод А). Раствор хлорангидрида **2** (301 мг, 1,0 ммоль) в ТГФ (1,5 мл) прикапывали к раствору амина (1,5 ммоль) в 2 М NaOH (3 мл) при охлаждении до 0 °С. Реакционную смесь перемешивали 30 мин при охлаждении и 3 ч при комнатной температуре. Добавляли воду (10 мл), подкисляли 10 % HCl (3 мл), экстрагировали EtOAc (3×10 мл).

Общая методика синтеза амидов через смешанный ангидрид (метод Б). Кислоту **1** (282 мг, 1,0 ммоль) растворяли в смеси ТГФ-CH₃CN (10 мл, 1:2), добавляли Et₃N (0,14 мкл, 1,0 ммоль) и охлаждали смесь до –20 °С. Затем к смеси добавляли этилхлорформиат (95 мкл, 1,0 ммоль) и выдерживали при –20 °С в течение 20 мин. Осадок гидрохлорида триэтиламина отделяли, а раствор смешанного ангидрида добавляли к раствору амина (2,0 ммоль) в 1 М Na₂CO₃ (10 мл). Реакционную смесь перемешивали 3 ч при комнатной температуре в атмосфере аргона, экстрагировали смесью CHCl₃-MeOH (2:1), упаривали.

N-(11,11-D₂-Линолеил)глицин (3). Метод А. Сырой продукт кристаллизовали из EtOAc, получая продукт в виде бесцветных кристаллов массой 84 мг (25 %) с т. пл. 64 °С. Маточный раствор упарили, остаток хроматографировали, получили еще 110 мг продукта (32 %). Общий выход 194 мг (57 %). ¹H ЯМР (CDCl₃, 500 МГц) δ 9,76 (уш с, 1H), 6,37 (уш т, J = 5,2 Гц, 1H), 5,40–5,30 (м, 4H), 4,05 (д, J = 5,2 Гц, 2H), 2,27 (т, J = 7,7 Гц, 2H), 2,06–2,02 (м, 4H), 1,63 (м, 2H), 1,38–1,24 (м, 14H), 0,88 (т, J = 6,9 Гц, 3H). ¹³C ЯМР (CDCl₃, 126 МГц) δ 174,84, 172,90, 130,39, 130,16, 128,08, 127,91, 41,65, 36,38, 31,65, 29,74, 29,48, 29,35, 29,30, 29,26, 27,33, 25,68, 22,70, 14,21. ТСХ: R_f 0,40 (EtOAc/CH₂Cl₂/MeOH 80:15:5 + 1 % AcOH).

N-(11,11-D₂-Линолеил)иминодиуксусная кислота (4). Метод А. Остаток хроматографировали в EtOAc, получили продукт в виде бесцветного масла массой 184 мг (46 %). ¹H ЯМР (CDCl₃, 500 МГц) δ 10,39 (уш с, 2H), 5,40–5,29 (м, 4H), 4,21–4,20 (м, 4H), 2,37–2,31 (м, 2H), 2,06–2,02 (м, 4H), 1,61 (м, 2H), 1,38–1,24 (м, 14H), 0,88 (т, J = 6,9 Гц, 3H). ¹³C ЯМР (CDCl₃, 126 МГц) δ 175,50, 174,02, 172,73, 130,39, 130,18, 128,08, 127,92, 50,95, 49,35, 34,13, 32,93, 31,65, 29,78, 29,73, 29,49, 29,46, 29,30, 29,21, 29,15, 27,35, 24,93, 24,76, 22,71, 14,22. ТСХ: R_f 0,40 (40 % MeOH/Et₂O + 1 % AcOH).

N-(11,11-D₂-Линолеил)-L-валин (5). Метод А. Сырой продукт хроматографировали в системе Et₂O:MeOH:AcOH 95:4:1, получили продукт в виде белого аморфного вещества массой 282 мг (73 %). ¹H ЯМР (CDCl₃, 500 МГц) δ 9,52 (уш с, 1H), 6,14 (д, J = 8,6 Гц, 1H, NH), 5,40–5,29 (м, 4H), 4,58 (дд, J = 8,6, 4,8 Гц, 1H), 2,27–2,19 (м, 3H), 2,04 (м, 4H), 1,63 (м, 2H), 1,38–1,25 (м, 14H), 0,97 (д, J = 6,8 Гц, 3H), 0,94 (д, J = 6,9 Гц, 3H), 0,88 (т, J = 6,9 Гц, 3H). ¹³C ЯМР (CDCl₃, 126 МГц) δ 175,76, 174,23, 130,38, 130,17, 128,07, 127,92, 57,20, 36,79, 31,65, 31,12, 29,76, 29,49, 29,37, 29,34, 29,28, 27,34, 25,87, 22,71, 19,13, 17,83, 14,21. ТСХ: R_f 0,55 (5 % MeOH/EtOAc + 1 % AcOH).

N-(11,11-D₂-Линолеил)-D-валин (6). Метод А. Выход 276 мг (71 %). Спектральные характеристики и R_f совпадают с таковыми для соединения **5**.

N-(11,11-D₂-Линолеил)-L-серин (7). Метод А. Сырой продукт хроматографировали в системе EtOAc:MeOH:AcOH 95:4:1, получили продукт в виде белого вещества массой 117 мг (31 %). Метод Б. Очищали аналогичным путем. Выход 264 мг (70 %). ¹H ЯМР (DMCO-d₆, 500 МГц) δ 7,88 (д, J = 7,7 Гц, 1H), 5,37–5,27 (м, 4H), 4,22 (м, 1H), 3,65 (дд, J = 10,8, 5,4 Гц, 1H), 3,65 (дд, J = 10,8, 5,4 Гц, 1H), 2,12 (т, J = 7,4 Гц, 2H), 2,04 (м, 4H), 1,64 (квинт, J = 7,1 Гц, 2H), 1,34–1,25 (м, 14H), 0,85 (т, J = 6,5 Гц, 3H). ¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 126 МГц) δ 172,25, 172,23, 129,76 (2C), 127,64 (2C), 61,56, 54,60, 35,08, 30,92, 29,09, 28,76, 28,68, 28,64, 26,68, 26,63, 25,25, 22,00, 13,94. ТСХ: R_f 0,55 (EtOAc/ПЭ 85:15).

N-(11,11-D₂-Линолеил)-D-глюкозамин (8). Метод А. D-Глюкозамин (216 мг, 1,0 ммоль) растворяли в 1 М NaOH (1 мл). Реакцию проводили в течение 3 ч при комнатной температуре, затем отцентрифугировали, осадок промыли этанолом и Et₂O и перекристаллизовали из этанола (5 мл), получили белые кристаллы массой 88 мг (20 %), разлагающиеся при 190 °С. Метод Б. Очищали аналогичным путем. Выход 233 мг (53 %). ¹H ЯМР (DMCO-d₆, 500 МГц) δ 7,66 (д, J = 8,3 Гц, 1H), 7,50 (д, J = 8,0 Гц, 1H), 6,37 (м, 1H), 5,37–5,27 (м, 4H), 4,91 (м, 2H), 4,57–4,41 (м, 2H), 3,48–3,26 (м, 8H), 2,08 (кварт, J = 7,3 Гц, 2H), 2,01 (кварт, 4H), 1,46 (квинт, J = 7,2 Гц, 2H), 1,34–1,25 (м, 14H), 0,85 (т, J = 6,8 Гц, 3H). ¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 126 МГц) δ 172,79, 172,30, 129,77 (2C), 127,65 (2C), 95,64, 90,62, 76,77, 74,34, 72,05, 71,17, 70,88, 70,43, 61,15, 57,13, 54,24, 35,74, 35,28, 30,92, 29,12, 28,83, 28,80, 28,76, 28,65, 26,70, 26,63, 25,34, 22,00, 13,95.

N-(11,11-D₂-Линолеил)этаноламин (9). К раствору D₂-линолевой кислоты (1,41 г, 5,0 ммоль) в Ру (20 мл) добавили дисукцинимидилкарбонат (1,41 г, 5,5 ммоль) и ДМАП (0,61 г, 5,0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч (контроль ТСХ), затем добавили 2-аминоэтанол (0,61 г, 10,0 ммоль) и перемешивали еще час. Растворитель удалили

в вакууме, остаток разбавили CH_2Cl_2 (50 мл), промыли равными объемами воды, 5 % HCl , нас. NaHCO_3 , нас. NaCl и высушили над сульфатом натрия. Растворитель удалили в вакууме, а остаток хроматографировали на силикагеле в системе $\text{EtOAc}/\text{ПЭ}$ (4:1), получили бесцветный твердый продукт с т. пл. 38 °С (1,13 г, 69 %). ^1H ЯМР (CDCl_3 , 500 МГц) δ 6,18 (уш т, $J = 5,8$ Гц, 1H), 5,39–5,29 (м, 4H), 3,69 (т, $J = 5,0$ Гц, 2H), 3,39 (кварт, $J = 5,3$ Гц, 2H), 3,29 (уш с, 1H), 2,19 (т, $J = 7,6$ Гц, 2H), 2,05–2,01 (м, 4H), 1,61 (квинт, $J = 7,3$ Гц, 2H), 1,37–1,25 (м, 14H), 0,87 (т, $J = 6,9$ Гц, 3H). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , 126 МГц) δ 174,67, 130,36, 130,14, 128,05, 127,88, 77,13, 62,44, 42,53, 36,78, 31,63, 29,74, 29,46, 29,38, 29,26, 27,31, 25,84, 22,69, 14,20. ТСХ: R_f 0,25 (EtOAc).

Гидросульфат N-(11,11- D_2 -линолеил)этанолamina (10). Амид **9** (100 мг, 0,31 ммоль) растворили в сухом пиридине (5 мл) и добавили $\text{SO}_3 \cdot \text{Py}$ (245 мг, 1,54 ммоль) одной порцией. Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, после чего добавили MeOH (1 мл) и перемешивали еще час. Реакционную смесь упарили в вакууме при 50 °С, остаток растворили в воде (25 мл), добавили 1 М H_2SO_4 (25 мл) и проэкстрагировали EtOAc (25 мл). Органический слой высушили над Na_2SO_4 и упарили, получили продукт в виде желтоватого твердого вещества массой 119 мг (95 %). ^1H ЯМР ($\text{DMSO-}d_6$, 500 МГц) δ 8,25 (уш с, 1H), 5,36–5,27 (м, 4H), 3,69+3,36 (т, $J = 6,2$ Гц, 2H), 3,19+3,08 (кварт, $J = 5,6$ Гц, 2H), 2,05–1,98 (м, 6H), 1,45 (м, 2H), 1,33–1,19 (м, 14H), 0,85 (т, $J = 6,9$ Гц, 3H). ^{13}C ЯМР ($\text{DMSO-}d_6$, 126 МГц) δ 172,31, 129,78 (2C), 127,68 (2C), 64,44, 60,01, 41,45, 38,66, 35,37, 30,95, 29,10, 28,78, 28,74, 28,63, 26,70, 26,66, 22,02, 13,96. ТСХ: R_f 0,40 (20 % $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$).

Иодид (11,11- D_2 -линолеил)холина (11). Хлорангидрид **2** (0,90 г, 3,0 ммоль) растворили в CH_2Cl_2 (2 мл) и при перемешивании по каплям добавляли раствор N,N -диметил-2-аминоэтанола (0,53 г, 6,0 ммоль) в CH_2Cl_2 (1 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч, упарили, разбавили EtOAc (50 мл), промыли нас. NaHCO_3 (3×50 мл), органический слой высушили над безводным MgSO_4 и упарили. Полученное масло растворили в ТГФ (20 мл), охладили до 0 °С и при капали иодметан (0,25 мл, 4,0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, затем упарили, твердый остаток переосадили из CH_2Cl_2 (2 мл) и EtOAc (5 мл). Продукт промыли EtOAc (3 мл) и высушили в вакууме. Бесцветное твердое вещество с т. пл. 137–140 °С массой 1,08 г (73 %). ^1H ЯМР (CDCl_3 , 500 МГц) δ 5,37–5,26 (м, 4H), 4,55 (м, 2H), 4,10 (м, 2H), 3,54 (с, 9H), 2,34 (т, $J = 7,6$ Гц, 2H), 2,01 (кварт, $J = 7,3$ Гц, 4H), 1,57 (квинт, $J = 7,3$ Гц, 2H), 1,33–1,24 (м, 14H), 0,85 (т, $J = 6,9$ Гц, 3H). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , 126 МГц) δ 172,74, 130,29, 130,02, 127,98, 127,77, 65,25, 57,69, 54,82, 34,13, 31,53, 29,64, 29,37, 29,23, 29,15, 29,11, 27,22, 24,68, 22,60, 14,14. ТСХ: R_f 0,15 (5 % $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$).

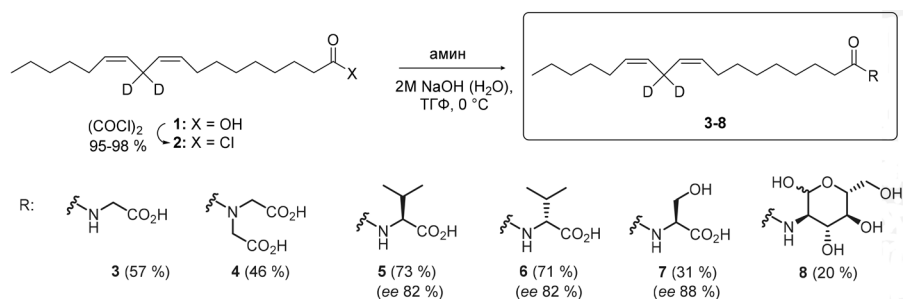
Общая методика хиральной дериватизации амидов 5–6. Амид **5** или **6** (28 мг, 7,4 мкмоль) растворили в пиридине (300 мкл), добавили 4-диметиламинопиридин (11,4 мг, 9,3 мкмоль) и ди-сукцинимидилкарбонат (23 мг, 9,0 мкмоль). Через 2 ч добавили (*R*)- α -фенилэтиламин (11,7 мг, 9,7 мкмоль) и перемешивали еще час. Реакционную смесь разбавили CH_2Cl_2 (1 мл), трижды промыли 1 М HCl , затем нас. NaHCO_3 , нас. NaCl . Органический слой высушили над безводным Na_2SO_4 , упарили и проанализировали методом ЯМР.

Результаты и их обсуждение

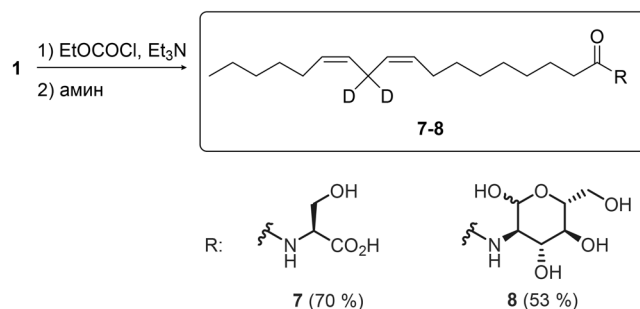
В качестве основного метода синтеза гидрофильных производных 11,11- D_2 -линолевой кислоты **1** мы выбрали реакцию ацилирования аминов и спиртов соответствующим хлорангидридом (рис. 2), поскольку данную реакцию удобно проводить на практике, а необходимый спектр соединений можно получить из одного липидного предшественника.

Традиционным методом синтеза хлорангидридов карбоновых кислот является обработка кислот хлористым тионилем. Однако в нашем случае превращение **1** в **2** протекало с изменениями в 1,4-диеновой системе кислоты, что можно было наблюдать по появлению дополнительных сигналов в ^{13}C ЯМР в области 128–130 м. д. Такой результат наблюдался как при кипячении в SOCl_2 в течение 1,5 ч, так и при выдерживании при комнатной температуре в течение ночи. Обработка той же кислоты оксалилхлоридом при комнатной температуре приводила к чистому хлорангидриду **2**.

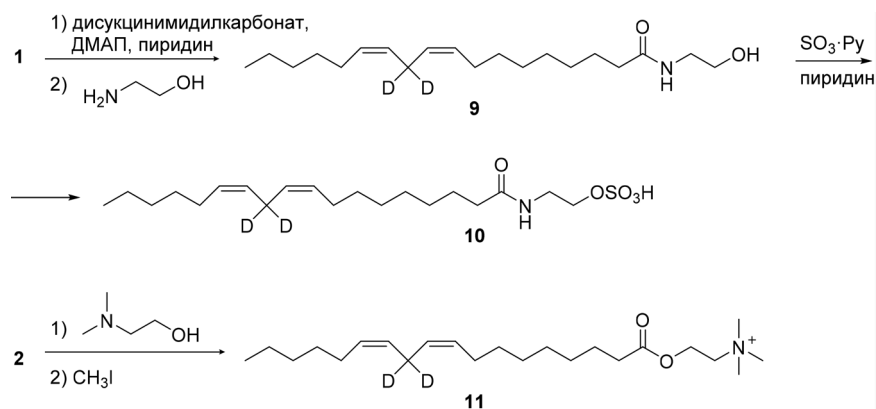
Поскольку хлорангидрид **2** растворим в органических растворителях, а использованные амины растворимы в водной среде, ацилирование проводилось в смеси ТГФ-вода. Несмотря на охлаждение в ходе реакции хлорангидрид частично гидролизвался с образованием кислоты **1**, поэтому для получения продуктов **3–7** в чистом виде дополнительно требовалась колоночная хроматография (соединение **8** выпадало из реакционной смеси в осадок [11]).

Рис. 2. Схема синтеза амидов **3–8** через хлорангидридFig. 2. Synthesis of amides **3–8** via acid chloride

Для соединений **7** и **8**, получавшихся с неудовлетворительным выходом, мы применили альтернативный подход, заключающийся в превращении кислоты **1** в смешанный ангидрид с этилгольной кислотой под действием этилхлорформиата в присутствии триэтиламина (рис. 3). При использовании смеси ТГФ– CH_3CN в качестве растворителя образующийся гидрохлорид триэтиламина осаждается практически полностью, а раствор смешанного ангидрида можно ввести в реакцию с амином. Примененный метод позволил существенно повысить выход амидов **7** и **8**.

Рис. 3. Схема синтеза амидов **7–8** через смешанный ангидридFig. 3. Synthesis of amides **7–8** via mixed anhydride

Для получения сульфопроизводного 11,11- D_2 -линолевой кислоты (**10**) и ее производного, содержащего четвертичную аммониевую соль (**11**), мы применяли другие способы (рис. 4). Синтез соединения **11** вели через промежуточное получение амида 11,11- D_2 -линолевой кислоты с 2-аминоэтанолом, который затем переводили в сульфат под действием $\text{SO}_3 \cdot \text{Py}$. Производное же холина (**11**) затруднительно получать прямым ацилированием из-за гигроскопичности холина и его неустойчивости к нагреванию. Поэтому оказалось целесообразнее сначала получить амид с *N,N*-диметил-2-аминоэтанолом, а затем прометилировать полученное соединение иодистым метилом [12].

Рис. 4. Схемы синтеза соединений **10** и **11**Fig. 4. Synthesis of compounds **10** and **11**

В некоторые из полученных соединений (**5–8**) вместе с модифицирующим остатком были введены хиральные атомы. Но поскольку модификация в данной работе служит преимущественно как средство изменения растворимости и полярности жирной кислоты, конфигурация входящих в состав модификации стереоцентров не должна быть определяющим фактором биологической активности полученных соединений. Однако в литературе описан пример ацикловира, модификация которого двумя остатками валина дала эффективный пролекарственный препарат. Причем L-валин улучшал проникновение через роговицу, а D-валин медленнее подвергался гидролизу [13]. По этой причине мы синтезировали амиды **5** и **6** с различными стереоизомерами валина, чтобы сравнить их эффективность. Для того чтобы удостовериться, что реакция ацилирования не приводит к рацемизации стереоцентра валина, мы определили энантиомерный избыток (*ee*) амидов **5** и **6** методом ЯМР. Для этого мы сконденсировали эти амиды с (*R*)- α -фенилэтиламин (рис. 5) и сравнили ^{13}C ЯМР-спектры полученных продуктов **12** и **13** со спектром их смеси. В области 49,0 м. д. наблюдаются резонансные сигналы хирального атома углерода остатка (*R*)- α -фенилэтиламина. В случае смеси **12** и **13** в спектре видны два сигнала, а в спектрах индивидуальных соединений присутствует лишь один сигнал и остаточные количества второго. Соотношение их интенсивностей в обоих случаях составило 91:9, что соответствует соотношению энантиомеров **5** и **6** в анализируемых образцах.

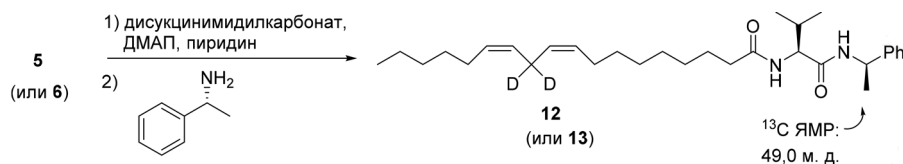


Рис. 5. Хиральная дериватизация амидов **5** и **6**

Fig. 5. Chiral derivatization of amides **5** and **6**

Для определения энантиомерной чистоты амида **7** оказалось достаточным добавить (*R*)- α -фенилэтиламин к раствору **7** в CDCl_3 . В области 1,48 м. д. ^1H ЯМР спектра наблюдается два дублета, соответствующих метильной группе (*R*)- α -фенилэтиламина в составе диастереомерных солей. Соотношение интенсивностей этих дублетов составило 94:6, что для соединения **7** дает *ee*, равное 88 %.

Следовательно, можно считать, что конфигурация стереоцентров в аминокислотных остатках практически сохраняется, а энантиомерная чистота зависит от энантиомерной чистоты исходных аминокислот.

Заключение. Таким образом, осуществлен синтез производных 11,11- D_2 -линолевой кислоты через хлорангидрид и методом смешанных ангидридов и проведена оценка энантиомерной чистоты продуктов. Полученные соединения представляют интерес в качестве гидрофильных производных 11,11- D_2 -линолевой кислоты и в дальнейшем будут исследованы для сравнения их способности к проникновению через внешние отделы глаза.

Список использованных источников

1. Loftsson, T. Pharmaceutical applications of cyclodextrins: basic science and product development / T. Loftsson, M. E. Brewster // *J. Pharm. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 62, № 11. – P. 1607–1621.
2. Kalepu, S. Insoluble drug delivery strategies: review of recent advances and business prospects / S. Kalepu, V. Nekkanti // *Acta Pharm. Sin. B.* – 2015. – Vol. 5, № 5. – P. 442–453.
3. Isotope-reinforced polyunsaturated fatty acids protect yeast cells from oxidative stress / S. Hill [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2011. – Vol. 50, № 1 – P. 130–138.
4. Small amounts of isotope-reinforced polyunsaturated fatty acids suppress lipid autoxidation / S. Hill [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2012. – Vol. 53, № 4. – P. 893–906.
5. Isotope-reinforced polyunsaturated fatty acids protect mitochondria from oxidative stress / A.Y. Andreyev [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2015. – Vol. 82. – P. 63–72.
6. Prodrug Strategies in Ocular Drug Delivery / M. Barot [et al.] // *Med. Chem. (Los. Angeles).* – 2012. – Vol. 8, № 4. – P. 753–768.
7. Tirucherai, G. S. Corneal permeation of ganciclovir: mechanism of ganciclovir permeation enhancement by acyl ester prodrug design / G. S. Tirucherai, C. Dias, A. K. Mitra // *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* – 2002. – Vol. 18, № 6 – P. 535–548.

8. Suzuki, E. R. Efficacy and safety of travoprost alone or in combination with other agents for glaucoma and ocular hypertension: patient considerations. / E. R. Suzuki, C. L. B. Suzuki // *Clin. Ophthalmol.* – 2010. – Vol. 4 – P. 1165–1171.
9. Camber, O. Factors influencing the corneal permeability of prostaglandin F_{2α} and its isopropyl ester in vitro / O. Camber, P. Edman // *Int. J. Pharm.* – 1987. – Vol. 37, № 1–2 – P. 27–32.
10. Mannermaa, E. Drug transport in corneal epithelium and blood–retina barrier: Emerging role of transporters in ocular pharmacokinetics / E. Mannermaa, K.-S. Vellonen, A. Urtti // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2006. – Vol. 58, № 11 – P. 1136–1163.
11. Design and Synthesis of Glycoside Inhibitors of Glioma and Melanoma Growth / I. García-Álvarez [et al.] // *J. Med. Chem.* – 2007. – Vol. 50, № 2 – P. 364–373.
12. Banno, T. pH-Sensitive Self-Propelled Motion of Oil Droplets in the Presence of Cationic Surfactants Containing Hydrolyzable Ester Linkages / T. Banno, R. Kuroha, T. Toyota // *Langmuir.* – 2012. – Vol. 28, № 2 – P. 1190–1195.
13. Drug and Gene Delivery to the Back of the Eye: From Bench to Bedside / C. L. Rowe-Rendleman [et al.] // *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.* – 2014. – Vol. 55, № 4 – P. 2714.

References

1. Loftsson T., Brewster M. E., “Pharmaceutical applications of cyclodextrins: basic science and product development”, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2010, vol. 62, no. 11, pp. 1607–1621.
2. Kalepu S., Nekkanti V., “Insoluble drug delivery strategies: review of recent advances and business prospects”, *Acta Pharmaceutica Sinica. B*, 2015, vol. 5, no. 5, pp. 442–453.
3. Hill S., Hirano K., Shmanai V. V., Marbois B. N., Vidovic D., Bekish A. V., Kay B., Tse V., Fine J., Clarke C. F., Shchepinov M. S., “Isotope-reinforced polyunsaturated fatty acids protect yeast cells from oxidative stress”, *Free Radical Biology and Medicine*, 2011, vol. 50, no. 1, pp. 130–138.
4. Hill S., Lamberson C. R., Xiu L., To R., Tsui H. S., Shmanai V. V., Bekish A. V., Awad A. M., Marbois B. N., Cantor C. R., Porter N. A., Clarke C. F., Shchepinov M. S., “Small amounts of isotope-reinforced polyunsaturated fatty acids suppress lipid autoxidation”, *Free Radical Biology and Medicine*, 2012, vol. 53, no. 4, pp. 893–906.
5. Andreyev A. Y., Tsui H. S., Milne G. L., Shmanai V. V., Bekish A. V., Fomich M. A., Pham M. N., Nong Y., Murphy A. N., Clarke C. F., Shchepinov M. S., “Isotope-reinforced polyunsaturated fatty acids protect mitochondria from oxidative stress”, *Free Radical Biology and Medicine*, 2015, vol. 82, pp. 63–72.
6. Barot M., Bagui M., Gokulgandhi M. R., Mitra A. K., “Prodrug Strategies in Ocular Drug Delivery”, *Medicinal chemistry (Los Angeles)*, 2012, vol. 8, no. 4, pp. 753–768.
7. Tirucherai G. S., Dias C., Mitra A. K., “Corneal permeation of ganciclovir: mechanism of ganciclovir permeation enhancement by acyl ester prodrug design”, *Journal of ocular pharmacology and therapeutics*, 2002, vol. 18, no. 6, pp. 535–548.
8. Suzuki E. R., Suzuki C. L. B., “Efficacy and safety of travoprost alone or in combination with other agents for glaucoma and ocular hypertension: patient considerations”, *Clinical Ophthalmology*, 2010, vol. 4, pp. 1165–1171.
9. Camber O., Edman P., “Factors influencing the corneal permeability of prostaglandin F_{2α} and its isopropyl ester in vitro”, *International Journal of Pharmaceutics*, 1987, vol. 37, no. 1-2, pp. 27–32.
10. Mannermaa E., Vellonen K.-S., Urtti A., “Drug transport in corneal epithelium and blood–retina barrier: Emerging role of transporters in ocular pharmacokinetics”, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2006, vol. 58, no. 11, pp. 1136–1163.
11. García-Álvarez I., Corrales G., Doncel-Pérez E., Muñoz A., Nieto-Sampedro M., Fernández-Mayoralaz A., “Design and Synthesis of Glycoside Inhibitors of Glioma and Melanoma Growth”, *Journal of Medicinal Chemistry*, 2007, vol. 50, no. 2, pp. 364–373.
12. Banno T., Kuroha R., Toyota T., “pH-Sensitive Self-Propelled Motion of Oil Droplets in the Presence of Cationic Surfactants Containing Hydrolyzable Ester Linkages”, *Langmuir*, 2012, vol. 28, no. 2, pp. 1190–1195.
13. Rowe-Rendleman C. L., Durazo S. A., Kompella U. B., Rittenhouse K. D., Polo A. Di, Weiner A. L., Grossniklaus H. E., Naash M. I., Lewin A. S., Horsager A., Edelhauser H. F., “Drug and Gene Delivery to the Back of the Eye: From Bench to Bedside”, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2014, vol. 55, no. 4, p. 2714.

Информация об авторах

Фомич Максим Александрович – науч. сотрудник, Институт физико-органической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 13, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: mfomich@gmail.com.

Шарко Ольга Леонидовна – канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник, Институт физико-органической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 13, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: sharko@ifoch.bas-net.by.

Шманай Вадим Владимирович – канд. хим. наук, зав. лаб. химии биоconъюгатов, Институт физико-органической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 13, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: shmanai@ifoch.bas-net.by.

Information about the authors

Maksim A. Fomich – Researcher, Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (13, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mfomich@gmail.com.

Olga L. Sharko – Ph. D. (Chemistry), Senior Researcher, Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (13, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: sharko@ifoch.bas-net.by.

Vadim V. Shmanai – Ph. D. (Chemistry), Head of the Laboratory of Bioconjugate Chemistry, Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (13, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shmanai@ifoch.bas-net.by.