

## ПРИМЕНЕНИЕ АЦЕТИЛЕНОВОЙ СТРАТЕГИИ СИНТЕЗА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПРИРОДНЫХ ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ И ИХ АНАЛОГОВ

А.Б. Голованов, аспирант, Н.В. Гроза, старший научный сотрудник,  
Г.И. Мягкова, профессор

кафедра Химии и технологии биологически активных соединений  
им. Н.А. Преображенского МИТХТ им. М.В. Ломоносова  
e-mail: pufa\_lipid@mitht.ru

**В** настоящее время актуальной стала проблема получения препаративных количеств индивидуальных образцов природных полиненасыщенных жирных кислот, спиртов и их производных, которые могут быть использованы в создании более сложных липидных структур, обладающих потенциальной противовоспалительной активностью, для последующего изучения их фармакологической активности. В данной статье приведены методы получения природной полиненасыщенной жирной кислоты и их аналогов с применением ацетиленовой стратегии синтеза.

*At the present time it has become urgent to obtain preparative amounts of individual samples of natural polyunsaturated fatty acids, alcohols and their derivatives used for finding more complex lipid structures with potential anti-inflammatory activity in order to further study their pharmacological activity. This article describes methods for obtaining natural unsaturated fatty acids and analogues using the acetylenic synthetic approach.*

**Ключевые слова:** полиненасыщенные жирные кислоты, ненасыщенные спирты, противовоспалительная активность, противоопухолевая активность.

**Key words:** polyunsaturated fatty acids, unsaturated alcohols, anti-inflammatory activity, anti-tumor activity.

### Введение

Липиды являются структурными компонентами мембран и субстратами, расходуемыми в физиологических реакциях клеток. Помимо этого они представляют собой центральную связующую платформу, регулирующую точность и скорость сигнальных внутриклеточных и межклеточных реакций, и оказывают существенное влияние на воспалительные процессы в живом организме [1].

Воспаление является важным ответом организма, регулируемым различными механическими, химическими или иммунологическими стрессовыми факторами. Тонкий баланс между этими воздействиями определяет течение патологического процесса: прогрессирование или купирование заболевания. Воспалительный ответ – это сложная последовательность регулируемых событий, которая начинается с образования провоспалительных медиаторов, мобилизующих специализированные клетки к месту воспаления. Данный процесс сопровождается фазой купирования воспаления, при которой поврежденные воспаленные ткани стремятся защитить себя от вредных воздействий. Признанным фактом является центральная роль воспаления в патогенезе таких заболеваний как опухолеобразование, атеросклероз, диабет, астма, а также нейродегенеративные расстройства – инсульт, болезни Альцгеймера и Паркинсона [2].

В настоящее время актуальной проблемой является получение в препаративных количествах индивидуальных образцов природных полиненасыщенных жирных кислот, спиртов и их производных, которые могут быть использо-

ваны в создании более сложных липидных структур, обладающих потенциальной противовоспалительной или противоопухолевой активностью, для последующего изучения их биологического действия. Полиненасыщенные жирные кислоты достаточно сложно выделить из природных источников в количествах, необходимых для их исследования на биологических моделях. Поэтому важной задачей является разработка новых подходов к их химическому синтезу.

### Результаты и их обсуждение

Существуют два основных подхода к химическому синтезу ациклических производных природных полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). Общим и широко используемым способом получения ненасыщенных структур является конденсация альдегидов или кетонов с илидами фосфора по Виттигу [3]. Однако этот метод не дает возможности получения кратномеченных изотопами аналогов ненасыщенных кислот и оксипиринов, а также достаточной энантиомерной чистоты синтезируемых продуктов.

Ранее широко использовалась реакция алкилирования по этилильному водороду ацетиленовых предшественников галогенидами пропаргильного типа. При этом ацетиленовые предшественники вводятся в реакцию алкилирования в виде их магний-галлоидпроизводных (реактивов Иочича) [4]. Такая реакция кросс-сочетания протекает по механизму  $S_N2$  в присутствии каталитических количеств солей меди(I) (рис. 1).

В качестве алкилирующих агентов используются пропаргильные галогениды, что требует достаточно жестких условий проведения реакции (17 ч, 60°C). В силу того, что этот метод имеет недостатки – наличие прототропной

изомеризации, приводящей к образованию побочных продуктов, нами использовался другой вариант кросс-сочетания: через образование высокореакционных ат-комплексов, что не требует предварительного металлирования ацетилена.

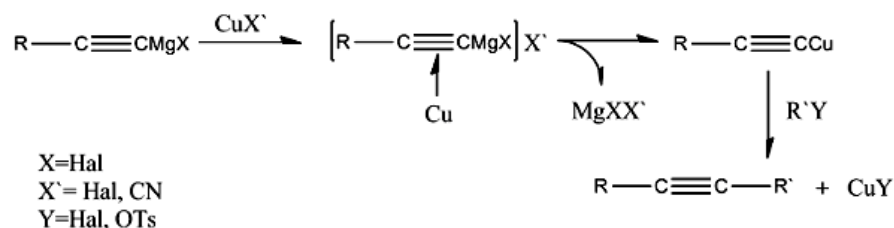


Рис. 1. Алкилирование ацетиленов с использованием магнийорганических реагентов.

Ацетиленовые предшественники природных полиеновых жирных кислот были синтезированы на основе разработанной в нашей лаборатории стратегии синтеза с применением медьорганических реагентов в ключевой реакции кросс-сочетания пропаргильной компоненты с метиловыми эфирами терминальных ацетиленовых кислот (рис. 2).

По данной методологии ключевая реакция кросс-сочетания сопровождается образованием медных комплексов  $[\text{RC}\equiv\text{CCuX}]\text{M}^+$  терминальных ацетиленов (без их предварительного металлирования) и пропаргильных иодидов *in situ* [5], что позволяет проводить конденсации с высокими выходами (75-81%) в достаточно мягких условиях, а также применять в качестве пропаргильных компонентов тозилаты и галогениды.

Для восстановления тройных связей до двойных широко используется палладий, нанесенный на карбонат кальция или сульфат бария. Поверхностный палладиевый катализатор отличается тем, что достаточно легко поддается частичной дезактивации. Такой частично отравленный сернистыми соединениями катализатор используется для повышения избирательности восстановления хлорангидридов карбоновых кислот в альдегиды. Селективно гидрировать ацетилены и кумулены в полиены обычно удается с помощью катализатора Линдлара – палладия на карбонате кальция, дезактивированного ацетатом свинца [6].

Задачей нашей работы было применение ацетиленовых соединений в реакции кросс-сочетания с целью создания полиненасыщенных систем природной структуры с различным числом атомов углерода и *цис*-двойных связей. На основе разработанной стратегии были получены:  $\gamma$ -линоленовая кислота (1), дигомо- $\gamma$ -линоленовая кислота (2), 20-гидрокси-(5Z,8Z,11Z,14Z)-эйкозатетраеновая кислота (8), 18-гидрокси-(9Z,12Z)-октадекадиеновая кислота (9) [7]. Так же впервые были получены: (5Z,8Z)-тетрадекадиеновая кислота

(3), (7Z,10Z)-гексадекадиеновая кислота (4), (6Z,9Z,12Z,15Z)-октадекадиеновая кислота (5), (8Z,11Z,14Z,17Z)-эйкозатетраеновая кислота (6), (11Z,14Z)-гептадекадиеновая кислота (7), (2Z,5Z)-ундекадиенол (10), (3Z,6Z)-додекадиенол (11) (см. рис. 2).

Аналоги полиненасыщенных жирных кислот – полиеновые спирты были получены через полиацетиленовые предшественники, которые гидрировали на палладиевом катализаторе (катализатор Линдлара).

В данной работе представлены методики синтеза полученных природных полиненасыщенных жирных кислот на примере  $\gamma$ -линоленовой кислоты (1) и дигомо- $\gamma$ -линоленовой кислоты (2).

#### Экспериментальная часть

$^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектры регистрировали на спектрометре Bruker MSL 300 МГц в  $\text{CDCl}_3$  с тетраметилсиланом в качестве внутреннего стандарта для  $^1\text{H}$ -ЯМР и относительно сигнала  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta^{13}\text{C} = 77.19$  м.д.) для  $^{13}\text{C}$ -ЯМР. Приведены химические сдвиги в миллионных долях, константы спин-спинового взаимодействия – в Герцах. Колоночную флэш-хроматографию проводили с использованием Silica Gel (Acros, Германия, 60–200 мкм). Для тонкослойной хроматографии (ТСХ) полученных соединений применяли пластины Silica Gel 60 F<sub>254</sub> (Merck, Германия). Растворители осушали или использовали реагенты высокой степени чистоты Merck, Aldrich. Стеклопосуду и шприцы перед использованием сушили при 140°C. Реакции кросс-сочетания проводили в атмосфере сухого аргона.

**2,5-Ундекадиинол (19).** К суспензии предварительно высушенных 10.03 г (52.7 ммоль)  $\text{CuI}$ , 7.89 г (52.7 ммоль)  $\text{NaI}$ , 4.95 г (35.9 ммоль)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  в 30 мл безводного ДМФА добавляли 2.5 г (23.9 ммоль) 1-хлор-2-бутинола (14) и 2.76 г (28.7 ммоль) 1-гептина (16), растворенных в 5 мл безводного ДМФА. Систему продували аргоном и перемешивали 12 ч при 20°C. Реакционную массу разлагали 200 мл насыщенного раствора  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Экстрагировали диэтиловым

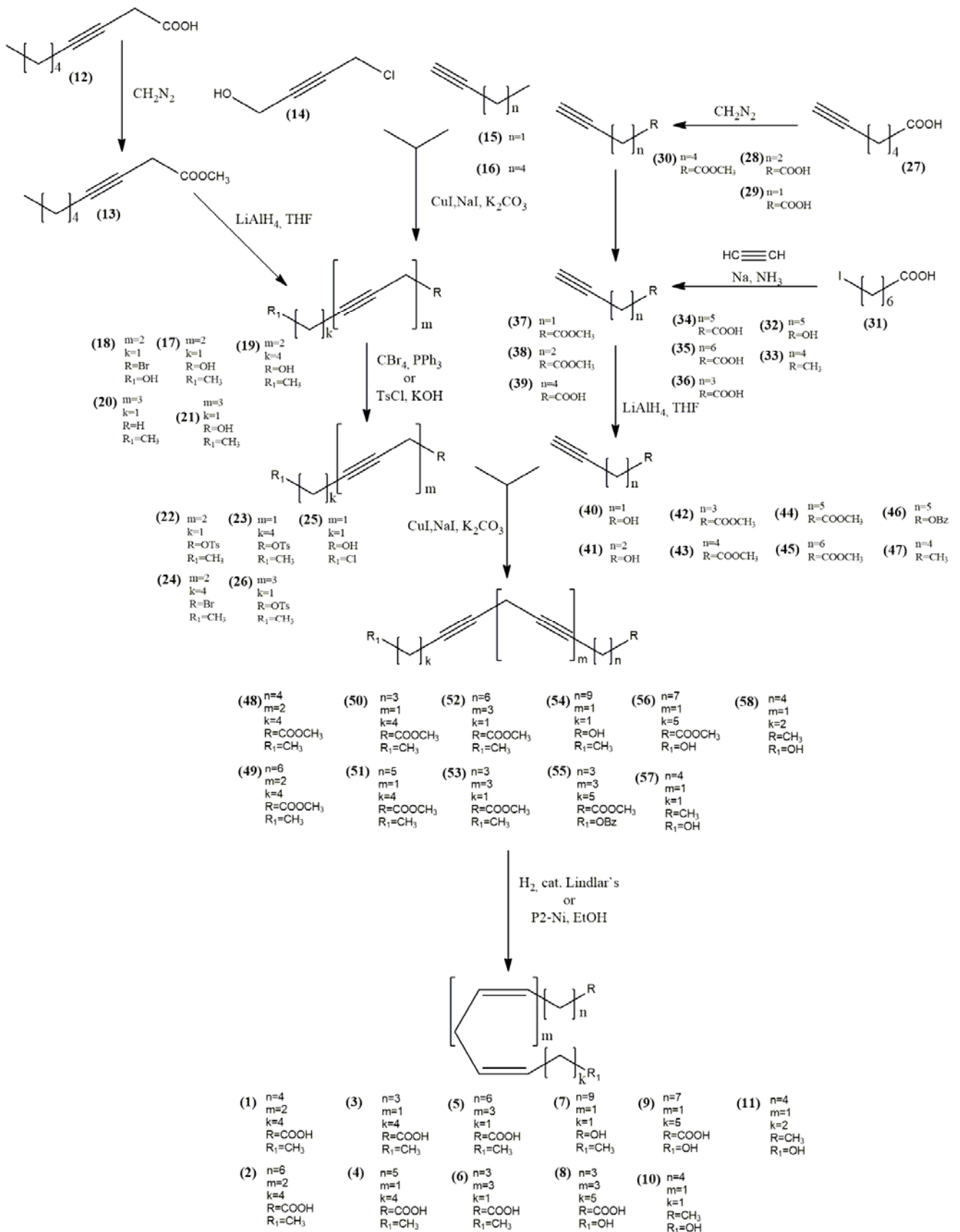


Рис. 2. Схема получения полиеновых соединений с использованием ацетиленовой стратегии синтеза.

эфиром (5×50 мл). Органический экстракт сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , растворитель упаривали, остаток хроматографировали, система градиентная: петролейный эфир–эфир (от 3:1 до 2:1). Выход

соединения **19**: 2.638 г (67.6%).  $R_f$  0.44 (гексан–эфир, 1:1).  $^1\text{H-NMR}$ -спектр ( $\delta$ , м.д.): 4.25 (т, 2H,  $J = 6.7$  Гц, 1- $\text{CH}_2$ ), 3.18 (м, 2H, 4- $\text{CH}_2$ ), 2.13 (м, 2H, 7- $\text{CH}_2$ ), 1.51-1.32 (м, 6H, 8-, 9-, 10- $\text{CH}_2$ ), 0.88 (т, 3H,  $J = 7$  Гц,  $\text{CH}_3$ ).

**1-Бром-2,5-ундекадин (24).** К раствору 0.545 г (3.3 ммоль) 2,5-ундекадианола (19) в 10 мл  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  добавляли 1.147 г (3.5 ммоль)  $\text{CBr}_4$  и раствор 0.905 г (3.5 ммоль)  $\text{PPh}_3$  в 2 мл  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Реакционную массу перемешивали при охлаждении в течение 1 ч. Растворитель упаривали, остаток хроматографировали, система градиентная: петролейный эфир–эфир (от 7:1 до 3:1). Выход соединения 24: 0.5 г (67%).  $R_f$  0.7 (гексан–эфир, 1:1).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\delta$ , м.д.): 3.92 (т, 2H,  $J = 6.7$  Гц, 1- $\text{CH}_2$ ), 3.21 (м, 2H, 4- $\text{CH}_2$ ), 2.15 (м, 2H, 7- $\text{CH}_2$ ), 1.65-1.25 (м, 6H, 8-, 9-, 10- $\text{CH}_2$ ), 0.89 (т, 3H,  $J = 7$  Гц,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектр ( $\delta$ , м.д.): 77.42, 77.00, 76.58, 2С 31.04, 28.33, 22.19, 18.62, 14.88, 13.98, 10.07.

**Метилловый эфир 8-нониновой кислоты (45).** В делительной воронке объемом 100 мл к 25 мл 40% раствора КОН добавляли 10 мл безводного диэтилового эфира (образовалось два слоя). К эфирному слою прибавляли 1.4 г (35.7 ммоль) N-нитрозометилмочевины, которая реагировала на границе раздела фаз, эфирный слой приобрел желтую окраску (насыщение диазометаном). Осуществляли барботаж избытком диазометана (газ-носитель – аргон) эфирного раствора 1 г (7.9 ммоль) 8-нониновой кислоты (35). Окончание реакции фиксировали по появлению желтой окраски раствора и по ТСХ. Растворитель удаляли в вакууме. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя системой петролейный эфир–эфир (3:1). Выход соединения 45: 0.718 г (72.2%).  $R_f$  0.57 (гексан–эфир, 1:1).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\delta$ , м.д.) 3.67 (с, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.35 (т, 2H,  $J = 7$  Гц, 2- $\text{CH}_2$ ), 2.19 (м, 2H, 7- $\text{CH}_2$ ), 1.94 (т, 1H,  $J = 3.8$  Гц, 9- $\text{CH}$ ), 1.70-1.32 (м, 8H, 3-, 4-, 5-, 6- $\text{CH}_2$ ).

**Метилловый эфир 6,9,12-октадекатриеновой кислоты (48).** К суспензии предварительно высушенных 0.27 г (1.43 ммоль)  $\text{CuI}$ , 0.22 г (1.43 ммоль)  $\text{NaI}$ , 0.13 г (1 ммоль)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  в 3 мл безводного ДМФА добавляли раствор 0.15 г (0.65 ммоль) соединения (24) и 0.1 г (0.78 ммоль) метилового эфира 6-гептиновой кислоты (43) в 2 мл безводного ДМФА. Систему продували аргоном и перемешивали 12 ч при 20°C. Реакционную массу разлагали 200 мл насыщенного раствора  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Экстрагировали диэтиловым эфиром (5×40 мл). Органический экстракт сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , растворитель упаривали, остаток хроматографировали, система: петролейный эфир–эфир (3:1). Выход соединения 48: 0.117 г (63%).  $R_f$  0.67 (эфир–гексан, 1:1).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\delta$ , м.д.): 3.68 (с, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.11 (м, 4H, 8-, 11- $\text{CH}_2$ ), 2.35 (т, 2H,  $J = 7$  Гц, 2- $\text{CH}_2$ ), 2.19 (м, 4H, 5-, 14- $\text{CH}_2$ ), 1.63-1.21 (м, 10H, 3-, 4-, 15-, 16-, 17- $\text{CH}_2$ ), 0.90 (т, 3H,  $J = 6.8$  Гц,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектр ( $\delta$ , м.д.): 173.21, 81.60, 79.42, 76.99, 76.57, 74.83, 74.75, 68.19, 51.47, 33.97, 28.56, 28.41, 28.29, 24.75, 22.19, 18.60, 13.97, 10.02.

**Метилловый эфир 8,11,14-эйкозатриеновой кислоты (49).** Получено аналогично соединению 48 из 0.5 г (2.2 ммоль) соединения 24 и 0.408 г (2.43 ммоль) метилового эфира 8-нониновой кислоты (45). Выход соединения 49: 0.462 г (66.7%).  $R_f$  0.59 (эфир–гексан, 1:1).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\delta$ , м.д.): 3.67 (с, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.17 (м, 4H, 10-, 13- $\text{CH}_2$ ), 2.32 (т, 2H,  $J = 7$  Гц, 2- $\text{CH}_2$ ), 2.16 (м, 4H, 7-, 16- $\text{CH}_2$ ), 1.29-1.70 (м, 14H, (3-, 4-, 5-, 6-, 17-, 18-, 19- $\text{CH}_2$ ), 0.89 (т, 3H,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектр ( $\delta$ , м.д.): 174.21, 80.60, 77.42, 76.99, 76.57, 74.83, 74.75, 68.19, 51.47, 33.97, 33.78, 31.05, 28.56, 28.41, 28.29, 28.18, 24.75, 22.19, 18.60, 13.97, 9.76.

**(6Z,9Z,12Z)-Октадекатриеновая кислота (1).** Суспензию 0.117 г катализатора Линдлара в 6 мл сухого бензола насыщали  $\text{H}_2$  при комнатной температуре, затем охлаждали до 10°C. Метилловый эфир 48 (0.117 г, 0.43 ммоль) в 5 мл сухого бензола и 0.1 мл хинолина прибавляли к суспендированному катализатору в токе аргона. Аргон постепенно замещали на  $\text{H}_2$ , реакционную смесь перемешивали 0.5 ч при 10°C. Количество водорода измеряли при помощи газовой бюретки. После окончания поглощения  $\text{H}_2$  (10 мл) катализатор отфильтровывали, фильтрат промывали водным раствором  $\text{HCl}$  (2 М, 100 мл), сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , хроматографировали, система градиентная: эфир–петролейный эфир (от 1:3 до 1:1). Выход чистого промежуточного продукта 0.089 г (75%);  $R_f$  0.57 (эфир–гексан, 1:1). Водный раствор  $\text{LiOH}$  (0.3 М, 4 мл) в токе аргона прибавляли к раствору промежуточного продукта (0.056 г, 0.235 ммоль) в 3 мл метанола, реакционную смесь перемешивали 8 ч при комнатной температуре, метанол упаривали, остаток подкисляли водным раствором 1 М  $\text{HCl}$  до pH 5.0. Продукты экстрагировали эфиром (3×50 мл), эфирные экстракты сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , растворитель упаривали. Продукт очищали на колонке с силикагелем, элюируя системой эфир–гексан, 3:1. Выход соединения 1: 0.071 г (80%).  $R_f$  0.58 (эфир–гексан, 2:1).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\delta$ , м.д.): 5.38-5.49 (м, 6H, 3  $\text{CH}=\text{CH}$ ), 2.77 (м, 4H, 8-, 11- $\text{CH}_2$ ), 2.30 (т, 2H,  $J = 7$  Гц, 2- $\text{CH}_2$ ), 2.09-2.17 (м, 4H, 5-, 14- $\text{CH}_2$ ), 1.71 (м, 2H, 3- $\text{CH}_2$ ), 1.27-1.37 (м, 8H, 4-, 15-, 16-, 17- $\text{CH}_2$ ), 0.87 (т, 3H,  $J = 6.8$  Гц,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектр ( $\delta$ , м.д.): 177.21, 131.10, 130.24, 128.80, 128.20 (2С), 127.60, 68.19, 40.60, 34.47, 33.78, 31.66, 28.56, 28.18, 25.75 (2С), 22.17, 14.10.

**(8Z,11Z,14Z)-Эйкозатриеновая кислота (2).** Получено аналогично соединению 1 из метилового эфира 49 (0.462 г, 1.46 ммоль). Выход чистого промежуточного продукта 0.349 г (77%);  $R_f$  0.55 (эфир–гексан, 1:1). Выход соединения 2: 0.296 г (85%).  $R_f$  0.56 (эфир–гексан, 2:1).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\delta$ , м.д.): 5.35-5.48 (м, 6H, 3  $\text{CH}=\text{CH}$ ), 2.76 (м, 4H, 10-, 13- $\text{CH}_2$ ), 2.34 (т, 2H,

$J = 7$  Гц, 2-CH<sub>2</sub>), 2.09-2.17(м, 4H, 7-,16-CH<sub>2</sub>), 33.78 (2C), 31.05, 28.56, 28.18, 24.75 (3C), 22.19, 1.69 (м, 2H, 3-CH<sub>2</sub>), 1.27-1.37 (м, 12H, 4-,5-,6-, 17-,18-,19-CH<sub>2</sub>), 0.88 (т, 3H,  $J = 6.8$  Гц, CH<sub>3</sub>).  
<sup>13</sup>C-ЯМР-спектр (δ, м.д.): 177.21, 131.10, 130.24, 128.80, 128.20 (2C), 127.60, 68.19, 41.46, 33.97,

*Работа выполнена при финансовой поддержке программы «УМНИК».*

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Hong, S., Porter T.F., Lu Y., Oh S.F., Pillai P.S., Serhan C.N. Resolvin E1 metabolome in local inactivation during inflammation-resolution // *J. Immunol.* 2008. V. 180. P. 3512–3519.
2. Samuelsson B., Morgenstern R., Jakobsson P.J. Membrane prostaglandin E synthase-1: A novel therapeutic target // *Pharmacol. Rev.* 2007. V. 59. P. 207–224.
3. Heckmann B., Mioskowski Ch., Lumin S., Falck J.R., Wei Sh., Capdevila J.H. Chiral acetals: Stereocontrolled synthesis of 16-, 17-, and 18-hydroxyeicosatetraenoic acids, cytochrome P-450 arachidonate metabolites // *Tetrahedron Lett.* 1996. V. 37. P. 1425–1428.
4. Евстигнеева Р.П., Мягкова Г.И. Полиацетиленовая стратегия направленного синтеза природных полиненасыщенных кислот и их метаболитов – эйкозаноидов// *Журн. Всесоюзн. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева.* 1991. Т. 36. С. 411–417.
5. Бумагин Р.А., Пономарёв А.Б., Белецкая И.П. Синтез аллилацетиленов из терминальных ацетиленов и аллилгалогенидов // *Изв. АН СССР. Сер. хим.* 1987. № 7. С. 1565–1569.
6. Nishimura Shigeo. Handbook of heterogeneous catalytic hydrogenation for organic synthesis. – Wiley, 2001. 720 p.
7. Гроза Н.В., Иванов И.В., Голованов А.Б., Мягкова Г.И., Химический синтез ω-гидрокси-производных растительных жирнокислотных субстратов // *Вестник МИТХТ.* 2006. Т. 1. № 4. С. 29–32.