

На правах рукописи



Куранов Сергей Олегович

**СИНТЕЗ ИНГИБИТОРОВ ДИПЕПТИДИЛПЕПТИДАЗЫ-4
И АГОНИСТОВ РЕЦЕПТОРА FFA1, СОДЕРЖАЩИХ ФРАГМЕНТЫ
ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ**

(02.00.03 – органическая химия)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Новосибирск – 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Новосибирском институте органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН).

Научный руководитель: Лузина Ольга Анатольевна, доктор химических наук, ведущий научный сотрудник Лаборатории физиологически активных веществ ФГБУН Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук

Официальные оппоненты: Казакова Оксана Борисовна, доктор химических наук, профессор, ведущий научный сотрудник, ФГБУН Уфимский институт химии РАН

Приходько Сергей Александрович, кандидат химических наук, старший научный сотрудник ФИЦ Институт катализа им. Г.К. Борескова

Ведущая организация: Научно-исследовательский институт физической и органической химии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего профессионального образования Южный федеральный университет

Защита состоится «29» ноября 2019 г. В 9³⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 003.049.01 при ФГБУН Новосибирском институте органической химии им. Н. Н. Ворожцова СО РАН по адресу 630090, г. Новосибирск, проспект акад. Лаврентьева, 9.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Новосибирского института органической химии им. Н. Н. Ворожцова СО РАН и на сайте по адресу: <http://web.nioch.nsc.ru/>. Текст автореферата размещен на сайте Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации по адресу: vak.minobrnauki.gov.ru. Отзывы на автореферат в 2-х экземплярах просим направлять по адресу: 630090, г. Новосибирск, проспект акад. Лаврентьева, 9, ученому секретарю диссертационного совета Д 003.049.01; e-mail: dissovet@nioch.nsc.ru.

Автореферат разослан « » октября 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор химических наук



Лузина О.А.

Общая характеристика работы

Актуальность темы

Сахарный диабет 2-го типа (СД2) является мультисистемным заболеванием, характеризующимся расстройством всех видов обмена веществ, в первую очередь, углеводов. Это нарушение вызвано неспособностью организма использовать инсулин для переработки глюкозы (состояние инсулинорезистентности). На ранних стадиях заболевания гипергликемия способствует как развитию выраженных нарушений секреции инсулина, так и быстрому прогрессированию атеросклероза и поражению нервной системы. На момент выявления СД2 (обычно случайному) у пациентов уже присутствуют осложнения заболевания в виде нарушения зрения (ретинопатия), почек (микро-, макропротеинурия), поражения сосудов сердца, мозга, нижних конечностей. Вышеуказанные осложнения являются основной причиной смерти и высокой инвалидизации больных СД2. Поэтому первоочередной и важнейшей задачей лечения СД2 является нормализация гликемии. Несмотря на большие успехи современной медицины в разработке терапевтических средств, а также на наличие широкого арсенала современных сахароснижающих препаратов и постоянное совершенствование алгоритмов ведения пациентов с СД2, в реальной клинической практике не удается достичь компенсации заболевания у большого числа больных, что стимулирует поиск эффективных и безопасных сахароснижающих веществ.

Степень разработанности темы

Поиск новых препаратов является темой исследований большого количества научных коллективов в мире. Можно отметить, что на настоящий момент многочисленные исследования позволили выявить фармакофорные части молекул и ингибиторов дипептидилпептидазы-4 (ДПП-4), и агонистов рецептора на жирные кислоты (Free fatty acid receptor 1, FFA1r), и их переменные части, модификации которых зачастую приводят к более удачным терапевтическим агентам. В этой связи представляется перспективной модификация потенциальных гипогликемических агентов введением в качестве переменных фрагментов молекул фрагментов природных соединений, которые, как известно, зачастую являются платформой для синтеза лекарственных препаратов. Однако, в мировой литературе отсутствует информация о синтезе ингибиторов ДПП-4 и агонистов рецептора FFA1 с фрагментами природных соединений. Таким образом, предлагаемая разработка на основе природных соединений может привести к созданию новых перспективных препаратов для терапии гипергликемического синдрома.

Целью настоящей работы является синтез новых соединений, обладающих гипогликемической активностью, потенциальных ингибиторов ДПП-4 и агонистов FFA1 α на основе природных соединений.

Научная новизна

В рамках данного исследования были предложены и осуществлены новые синтетические подходы к синтезу как новых ингибиторов ДПП-4 (таргетные препараты с таким механизмом действия уже присутствуют на рынке), так и к синтезу новых агонистов рецептора FFA1, мишени, которая только рассматривается как перспективная на рынке фармпрепаратов. Научная новизна исследований заключается в том, что впервые проведён направленный синтез таргетных агентов гипогликемического действия, являющихся полусинтетическими производными природных соединений.

Предложен подход к синтезу и осуществлён синтез потенциальных ингибиторов ДПП-4, цианопирролидинов с замещённым борнильным и цитизиновым фрагментами, цианопирролидинамидов (гет)арилпропеновых кислот и 1-(гет)арил-2-(2,4,5-трифторфенил)этиленов.

Предложен подход к синтезу потенциальных агонистов рецептора FFA1 путем комбинирования фармакофорных фрагментов, отвечающих за гипогликемическую активность с фрагментами природных соединений. Осуществлён синтез серии соединений по реакции нуклеофильного замещения с борнил-, 1- и 2-адамантинил- и дигидроабиетил- аминами, цитизином и 4-нитроцитизином. Направленным синтезом получены соединения, являющиеся аналогами наиболее физиологически активного соединения – 3-(4-{[4-({[(1R,2R,4R)-1,7,7-три-метилбицикло[2.2.1]гептан-2-ил]амино}метил)фенил]метокси}фенил)пропановой кислоты.

Теоретическая значимость

Предложен подход к синтезу фармакологических агентов гипогликемического действия – потенциальных ингибиторов ДПП-4 и агонистов рецептора FFA с фрагментами природных соединений.

Разработана и осуществлена схема синтеза потенциальных агонистов рецептора FFA1, основанная на синтезе нескольких универсальных скаффолдов, с терминальными функциональными группами и их дериватизации природными соединениями и их производными, содержащими альдегидную, гидроксильную или аминогруппу.

По результатам биологических испытаний продемонстрирована эффективность предложенного подхода к синтезу новых гипогликемических

агентов, заключающегося в замене объемных синтетических фрагментов в известных препаратах на объемные фрагменты природного происхождения.

Практическая значимость

Синтезированы новые соединения ряда цианопирролидинов с замещенным борнильным и цитизиновым фрагментами, цианопирролидинамидов (гет)арилпропеновых кислот и 1-(гет)арил-2-(2,4,5-трифторфенил)этиленов.

Разработан удобный метод синтеза четырёх универсальных скаффолдов: этил 3-(4-((4-(аминометил)феноксид)метил)фенил)пропаноат 2,2,2-трифторацетата, метил 3-(4-(4-(аминометил)бензилоксид)фенил)пропаноат 2,2,2-трифторацетата, этил 3-(4-((4-формилфеноксид)метил)фенил)пропаноата и 3-(4-(4-(бромометил)-бензилоксид)фенил)пропаноата, содержащих терминальные бромметиленовую, аминометиленовую или альдегидную функциональные группы. Продемонстрированы возможности сочетания с этими скаффолдами различных природных соединений, имеющих amino-, гидроксид- или альдегидную группы.

По результатам проведенных биологических исследований выявлены перспективные для дальнейшего исследования гипогликемические агенты.

Методология и методы исследования

При дизайне соединений мы использовали подход, заключающийся в комбинировании известных фармакофоров с фрагментами природных соединений (в первую очередь терпеноидов). Были синтезированы как гибридные соединения, в которых связывание фармакофорных фрагментов производилось с использованием линкера, так и химерные соединения, в которые были образованы путем объединения нескольких фармакофоров в одну структуру при перекрывании общих фрагментов.

В ходе выполнения работы использовались современные методы органического синтеза, в частности, реакции введения и удаления защитных групп, реакции конденсации, нуклеофильного замещения, восстановления, окисления, восстановительного аминирования и другие. Выделение и очистка соединений осуществлялись методами экстракции, осаждения, хроматографии и кристаллизации. В работе использовались физико-химические методы установления структуры и чистоты химических соединений: ЯМР, ИК, масс-спектрометрия высокого разрешения, РСА, ГХ-МС.

Положения, выносимые на защиту

- 1) Способ синтеза цианопирролидинов с замещенным борнильным и цитизиновым фрагментом;
- 2) Способ синтеза цианопирролидинамидов (гет)арилпропеновых кислот;
- 3) Способ синтеза 1-(гет)арил-2-(2,4,5-трифторфенил)этиленов;

4) Способ синтеза этил 3-(4-((4-(аминометил)фенокси)метил)-фенил)пропаноат 2,2,2-трифторацетата, метил 3-(4-(4-(аминометил)-бензилокси)фенил)пропаноат 2,2,2-трифторацетата и этил 3-(4-((4-формилфенокси)метил)фенил)пропаноата.

5) Оптимизация условий синтеза метил 3-(4-(4-(бромометил)бензилокси)-фенил)пропаноата;

6) Способ дериватизации этил 3-(4-((4-(аминометил)фенокси)метил)-фенил)пропаноат 2,2,2-трифторацетата, метил 3-(4-(4-(аминометил)бензилокси)-фенил)пропаноат 2,2,2-трифторацетата и этил 3-(4-((4-формилфенокси)метил)-фенил)пропаноата терпеноидами, содержащими гидроксильную, альдегидную или аминогруппы, а именно нополом, ментолом, борнеолом, перилловым альдегидом, миртеналем и борниламином.

Степень достоверности обеспечена тщательностью проведения эксперимента и применением современных физико-химических методов исследования структур. Строение всех впервые полученных веществ доказано методами ^1H , ^{13}C ЯМР, ИК, и масс-спектрометрии высокого разрешения. Методом РСА подтверждена молекулярная структура для одного нового соединения.

Структура диссертации

Работа изложена на 172 страницах машинописного текста, содержит 99 схем, 20 рисунков, 23 таблицы. Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка цитируемой литературы (128 литературных источника).

Апробация работы

Работа выполнялась в соответствии с планами научно-исследовательских работ Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук по приоритетному направлению V.48. «Фундаментальные физико-химические исследования механизмов физиологических процессов и создание на их основе фармакологических веществ и лекарственных форм для лечения и профилактики социально значимых заболеваний», проект V.48.1.6. «Разработка методов создания соединений-лидеров в наиболее социально значимых терапевтических областях путем направленной трансформации природных и синтетических стартовых молекул. Организация биологических испытаний полученных соединений»). По теме диссертации опубликовано 2 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, и 7 сообщений в виде тезисов докладов. Результаты работы апробированы на конференциях различного уровня, в т.ч. в виде устных докладов (2), постерных (3) и заочное участие (2).

Личный вклад соискателя

Заключается в анализе, поиске и обобщении научной литературы по теме диссертации. Автор принимал участие в разработке плана исследования, им или под его руководством осуществлены все химические эксперименты, выделение, очистка и подготовка соединений к физико-химическим методам анализа и испытаниям; обработке и обсуждении полученных данных. Автор осуществлял подготовку материалов к публикации в научных журналах, представляя доклады по теме диссертации.

Основное содержание работы

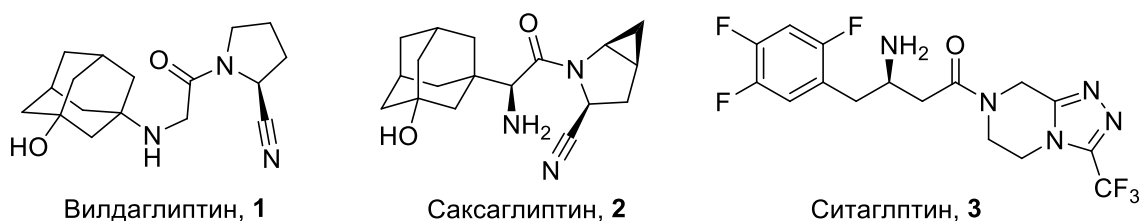
В разделе **«Введение»** обоснована актуальность темы диссертации, сформулирована цель исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. **Глава 1 «Подходы к синтезу производных фенилпропановых кислот и их аналогов как агонистов рецептора FFA1»** посвящена обобщению литературных данных по подходам к синтезу производных фенилпропановой кислоты или ее аналогов в качестве основного фрагмента синтетических агонистов FFA1. **Глава 2 «Анализ данных о биологической активности агонистов рецептора FFA1»** посвящена обобщению литературных данных о влиянии структурного фрагмента фенилпропановой кислоты или ее аналогов на аффинность синтетических агонистов к рецептору FFA1. В **главе 3 «Синтез потенциальных ингибиторов ДПП-4»** представлены результаты работы по синтезу потенциальных ингибиторов ДПП-4, а также анализ результатов их биологической активности. В **главе 4 «Синтез потенциальных агонистов рецептора FFA1»** обсуждаются результаты работы по синтезу потенциальных агонистов рецептора FFA1 на основе фенилпропановой кислоты. **Глава 5 «Экспериментальная часть»** содержит методики синтеза обсуждаемых в работе соединений, а также спектральные и физико-химические данные, позволяющие установить структуры соединений. Раздел **«Приложение»** содержит данные биологических испытаний, обсуждаемых в работе, и данные РСА для одного соединения.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.

1. Синтез ингибиторов ДПП-4.

Ингибиторы ДПП-4 – класс гипогликемических агентов, используемых в клинической практике с 2006 года. Все коммерчески доступные ингибиторы ДПП-4 обратимо связываются с активным центром фермента, и их можно разделить на два класса: субстратподобные, содержащие в своей структуре фрагмент с модифицированным пролином, который отвечает за ковалентное связывание с ферментом и несубстратподобные, в которых какой-то другой фрагмент нековалентно связывается с тем же активным сайтом фермента (Рисунок 1).

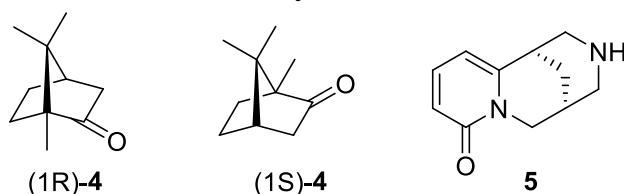
Рисунок 1



1.1 Синтез цианопирролидинов с замещенным борнильным и цитизиновым фрагментом

Среди субстратподобных ингибиторов особую роль играют производные 2-цианопирролидина, которые также содержат объемные фрагменты (например, адамантановые) для предотвращения внутримолекулярной циклизации. Предложенный нами подход к синтезу ингибиторов ДПП-4 на основе цианопирролидина заключается в замене адамантанового фрагмента на фрагменты природного происхождения, имеющие объемную структуру, предпочтительно бициклическую. Для замены адамантану были выбраны борниламины **6-8**, имеющие бициклический борнильный фрагмент, источником которого служит камфора и ее производные, и коммерчески доступный биспидиновый алкалоид цитизин (Рисунок 2), который проявляет собственную противодиабетическую активность с невыясненным механизмом действия.

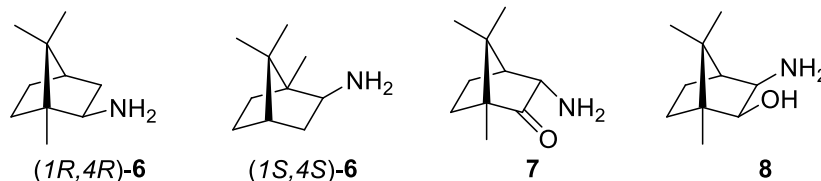
Рисунок 2



Для синтеза серии цианопирролидинов, содержащих замещенные борнильные или цитизиновые остовы был разработан подход, заключающийся в реакции хлорацетилпирролидинкарбонитрила **14** с замещенными борнановыми аминами **6-8** и цитизинами **5, 9-12**. (2S)-1-(2-хлороацетил)пирролидин-2-карбонитрил **14** был получен в четыре стадии из L-пролина **13**.

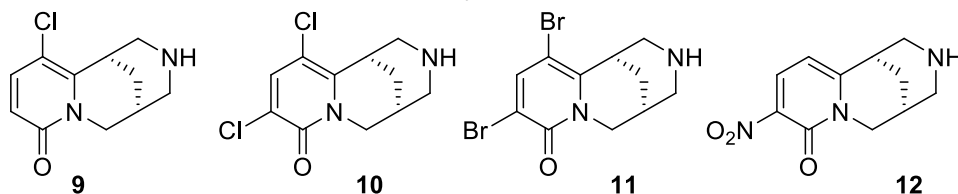
Борниламины **6-8** (Рисунок 3) были синтезированы по известным методикам из (+)- и (-)-камфоры. Строение полученных соединений было подтверждено данными ЯМР ^1H .

Рисунок 3

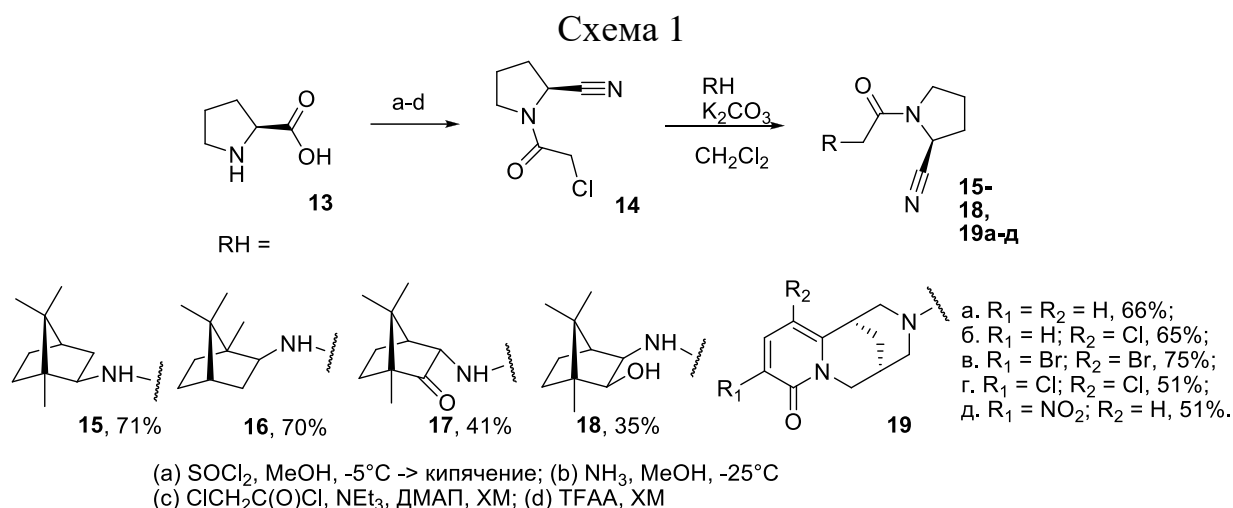


Цитизин **5** является коммерчески доступным. Серия цитизинов **9-12** была предоставлена нам сотрудником Уфимского Института Химии РАН к.х.н. Цыпышевой Инной Петровной (Рисунок 4).

Рисунок 4



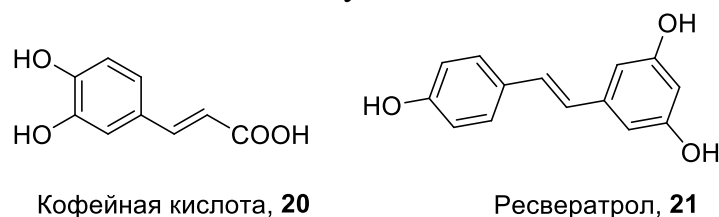
Было показано, что при проведении реакции хлорида **14** с аминами **5-12** в хлористом метиле в присутствии карбоната калия образуются соединения **15-18, 19a-d** с выходами 35-75% (Схема 1). Таким образом, были синтезированы соединения **15-19**, которые были исследованы *in vitro* на способность ингибировать ДПП-4 и *in vivo* на гипогликемическую активность в глюкозотолерантном тесте на мышцах.



1.2 Синтез циано-пирролидинамидов (гет)арилпропеновых кислот

Некоторые природные соединения проявляют ингибирующие ДПП-4 свойства. К таким соединениям, в частности, относятся кофейная кислота **20** и ресвератрол **21** (Рисунок 5), ингибирующие ДПП-4 в тестах *in vitro* в наномолярном диапазоне концентраций и связывающиеся с тем же сайтом связывания, что и коммерчески доступные ингибиторы ДПП-4.

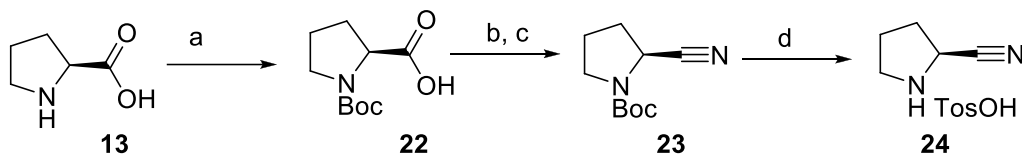
Рисунок 5



Однако данные соединения действуют неселективно, проявляя при этом широкий спектр биологических свойств, что затрудняет их целенаправленное использование в качестве противодиабетических агентов. Согласно результатам молекулярного моделирования, одно из колец ресвератрола участвует в связывании с тем же сайтом, что и циано-пирролидиновый фрагмент в соединениях **1** и **2**, а второе кольцо участвует в связывании за счет нековалентных взаимодействий. Подход к синтезу потенциальных ингибиторов ДПП-4, описанный в данном разделе, основан на гипотезе, что объединение замещенного по ароматической части стирольного фрагмента, присутствующего в кофейной кислоте и ресвератроле, с фрагментом циано-пирролидинамида может приводить к соединениям, также проявляющим гипогликемическую активность, причем более селективно. С целью изучения взаимосвязи «структура-активность» нами предложено синтезировать серию соединений с вариацией структуры ароматического фрагмента.

Синтез целевых соединений был осуществлен в несколько стадий исходя из L-пролина (**13**) и различных (гетеро)ароматических альдегидов. Цианопирролидин **24** в виде тозилатной соли получали из L-пролина **13** в четыре стадии, включающие защиту аминогруппы (соединение **22**), превращение карбоксильной группы в нитрильную (соединение **23**) и снятие защитной группы (Схема 2).

Схема 2

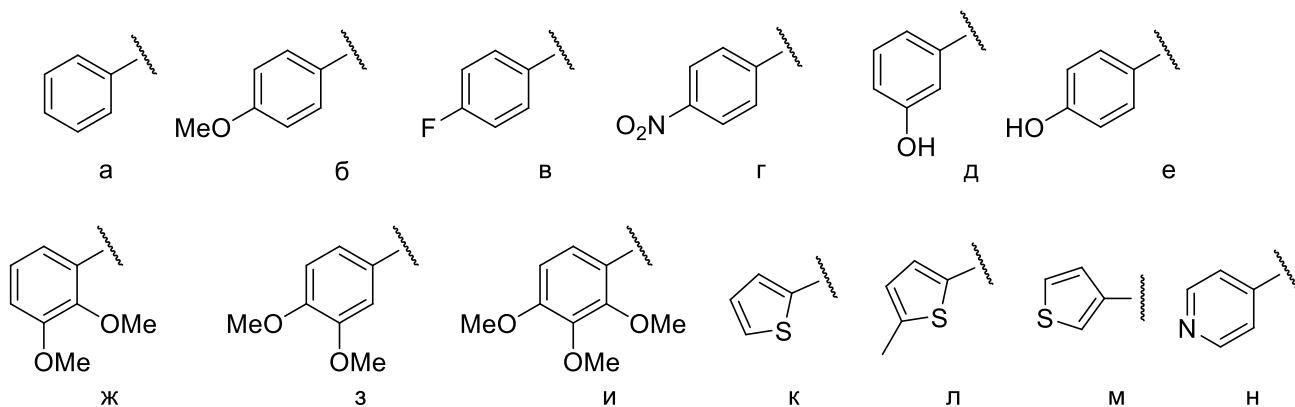
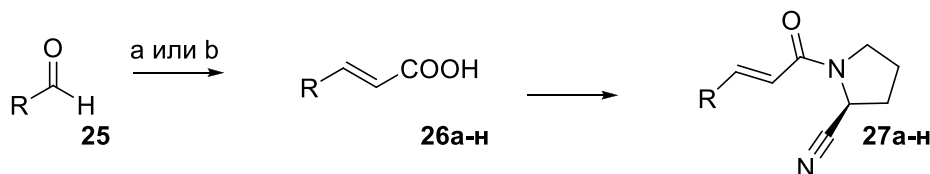


(a) Boc_2O , NaHCO_3 , диоксан, H_2O ; (b) Boc_2O , NH_4HCO_3 , пиридин, диоксан;
(c) TFAA, Et_3N , CH_2Cl_2 ; (d) $\text{pTsOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$, MeCN

Кислоты **26a-n** были получены из соответствующих (гетеро)ароматических альдегидов **25** взаимодействием с малоновой кислотой либо при кипячении в толуоле в присутствии триэтиламина и каталитических количеств пиперидина, либо при нагревании в пиридине в присутствии каталитических количеств пиперидина.

Реакцию тозилата цианопирролидина **24** и (гетеро)ароматических кислот **26a-n** проводили в N,N-диметилформамиде (DMFA) в присутствии HBTU и триэтиламина. Было показано, что в данных условиях могут быть получены целевые амиды **27a-n** с выходами 43-94% (Схема 3).

Схема 3



(a) $\text{CH}_2(\text{COOH})_2$, Et_3N , пиперидин, толуол, кипячение; (b) $\text{CH}_2(\text{COOH})_2$, пиперидин, пиридин, 65°C ;
(c) **24**, HBTU, Et_3N , DMFA

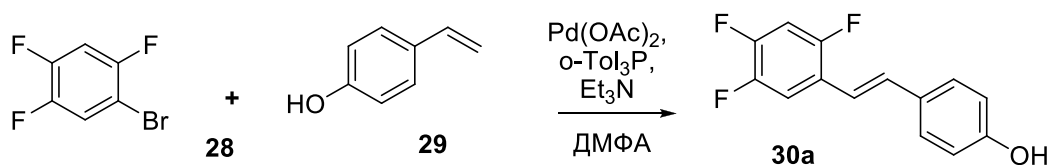
Таким образом, реакцией тозилата цианопирролидина с различными α,β -ненасыщенными (гетеро)ароматическими кислотами были получены амиды **27а-н**, с различными заместителями в ароматическом фрагменте.

1.3 Синтез замещенных 1-(гет)арил-2-(2,4,5-трифторфенил)этиленов

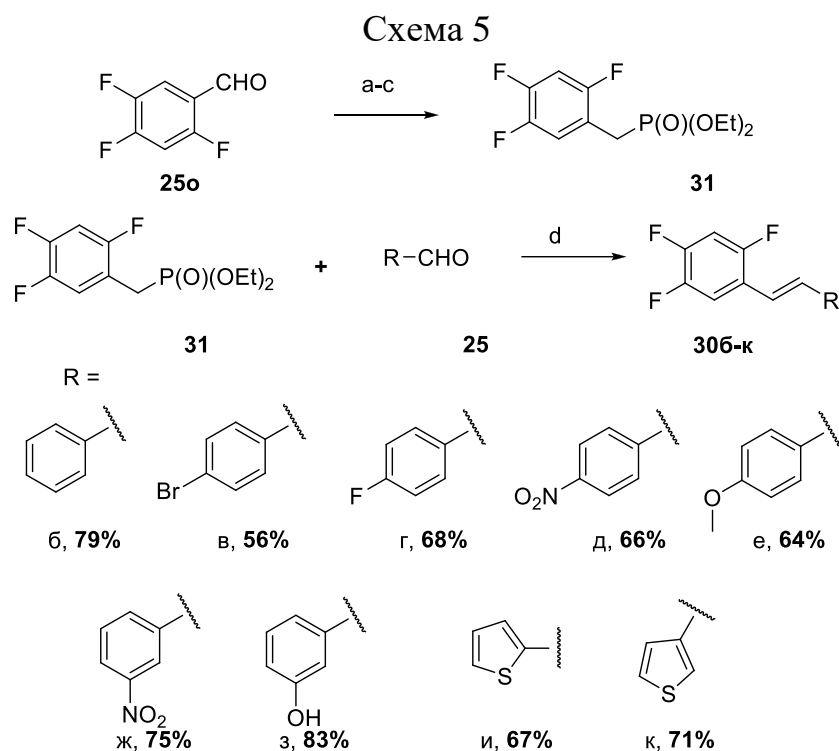
Подход, заключающийся в объединении в молекуле ингибитора структурных фрагментов ресвератрола и известного фармакофора ингибиторов ДПП-4, мы также использовали при дизайне соединений, совмещающих замещенный стирольный фрагмент с 2,4,5-трифторфенильным фрагментом, входящим в структуру некоторых несубстратподобных глиптинов (например, ситаглиптин **3**).

Для синтеза 1-(гет)арил-2-(2,4,5-трифторфенил)этиленов нами было разработано два подхода к синтезу. Первый заключался в палладий-катализируемой реакции между бромидом **28** и винилфенолом **29**, который был получен при кипячении 4-гидроксибензальдегида, малоновой кислоты и каталитических количеств пиперидина в пиридине. Было показано, что при проведении реакции между бромидом и винилфенолом в присутствии каталитических количеств ацетата палладия и трис-*орто*-толилфосфина в ДМФА в присутствии триэтиламина образуется соединение **30а** с выходом 28% (Схема 4).

Схема 4



Второй подход был основан на использовании для синтеза целевых соединений реакции Хорнера-Вадсворда-Эммонса. Фосфонат **31** получали из альдегида **25о** в три стадии: восстанавливали альдегидную группу, производили замещение гидроксильной группы на галоген и проводили реакцию образовавшегося галогенида с триэтилфосфитом. Соединение **31** вводили во взаимодействие с различными (гетеро)ароматическими альдегидами в присутствии гидрида натрия в ТГФ, что приводило к образованию соединений **30б-к** с выходами 56-83% (Схема 5). С помощью данных ЯМР ¹H и РСА было подтверждено, что в обоих случаях образуются *транс*-алкены, что хорошо согласуется с существующими данными.



(a) NaBH_4 , MeOH, 0°C; (b) PBr_3 , CH_2Cl_2 , 0°C; (c) P(OEt)_3 , 150°C; (d) NaH, ТГФ, 0°C.

Таким образом, в результате работы были получены десять 1-(гет)арил-2-(2,4,5-трифторфенил)этиленов **30а-к**, являющихся потенциальными ингибиторами ДПП-4, которые были исследованы на гипогликемическую активность *in vivo* в глюкозотолерантном тесте на мышах.

1.4 Анализ данных о биологической активности синтезированных соединений

Соединения **15-18**, и **19а-д** были исследованы на способность ингибировать ДПП-4 в тестах *in vitro* нашими коллегами из НИИ фармакологии имени В.В. Закусова д.б.н. Вахитовой Ю.В и к.б.н. Зайнулиной Л.Ф. Согласно полученным результатам (Таблица 1), борнильные производные ингибируют ДПП-4 в микромолярном диапазоне концентраций, в то время, как производные цитизина не проявили ингибирующих ДПП-4 свойств.

Также все три серии соединений **15-19**, **27а-н**, **30а-к** были исследованы на гипогликемическую активность в глюкозотолерантном тесте (ГТТ) на мышах в дозе 10 мг/кг (Таблица 1). Исследования производились сотрудником лаборатории фармакологических исследований к.б.н. Хвостовым М.В. Согласно полученным результатам, борнильные производные **15-18**, а также производные цианопирролидинамидов **27а** и **27б** обладают гипогликемическим эффектом в данном тесте.

Таблица 1. Активность соединений **15-19**, **27а-н**, **30а-к** в тестах *in vitro* и *in vivo*. IC₅₀ – концентрация полумаксимального ингибирования. н/о – не определялось

№	IC ₅₀ , μМ	Активность в ГТТ	№	IC ₅₀ , μМ	Активность в ГТТ
15	1.27	+	27а	н/о	+
16	1.78	+	27б	н/о	+
17	15.78	+	27в-н	н/о	-
18	7.58	+	30а-к	н/о	-
19а-д	-	-			

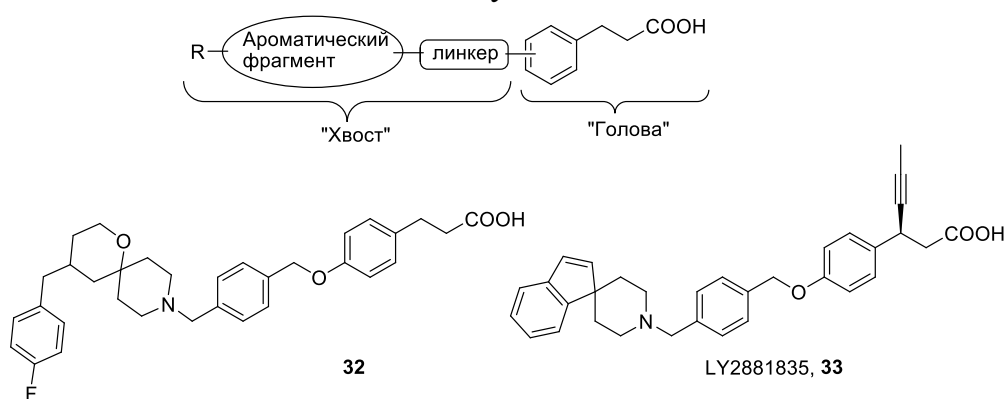
Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что наиболее эффективным, с точки зрения биологической активности, оказался подход, заключающийся в комбинировании фрагмента цианопирролидина с фрагментами борниламинов.

2. Синтез агонистов рецептора FFA1

FFA1r (GPR40) – рецептор, на свободные жирные кислоты. В β-клетках поджелудочной железы и энтероэндокринных клетках активация рецептора приводит к каскаду реакций, в результате которых происходит высвобождение инсулина глюкозозависимым образом.

При анализе литературы были выявлены общие структурные фрагменты в агентах, обладающих хорошей аффинностью к рецептору. Как правило, это фенилпропановая кислота, называемая «головой» молекулы, в *para*-положении которой находится короткий линкер, связывающий «голову» с ароматическим фрагментом, в котором также могут находиться дополнительные алифатические или ароматические заместители, позволяющие подстроить физико-химические свойства молекулы (Рисунок 6). В качестве отправной точки в наших исследованиях были выбраны структуры **32** и **33** (Рисунок 6), обладающие хорошей аффинностью к рецептору. Методологический подход, зарекомендовавший себя ранее при дизайне и синтезе ингибиторов ДПП-4, заключающийся в замене объёмных (в данном случае спиросочлененных) фрагментов на фрагменты каркасных природных соединений, был принят нами как основной.

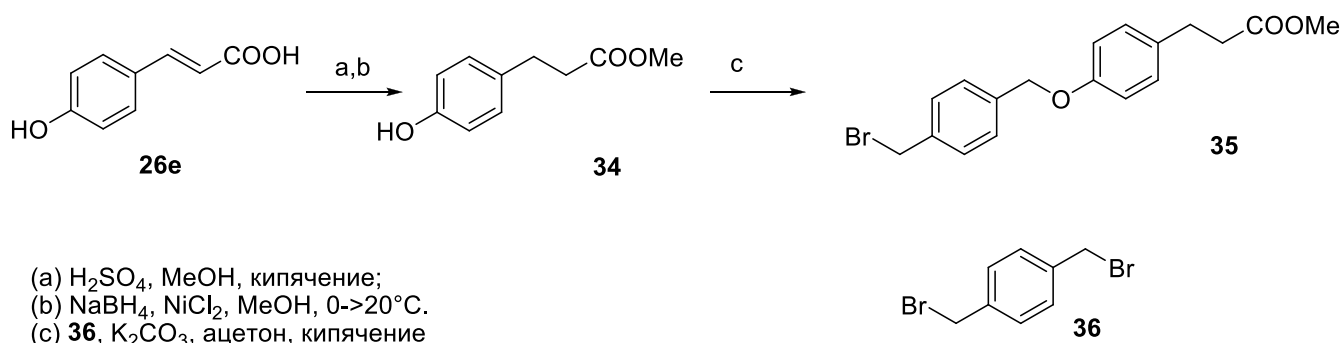
Рисунок 6



2.1 Синтез метил 3-(4-(4-(бромометил)бензилокси)фенил)пропаноата и потенциальных агонистов рецептора FFA1 на его основе

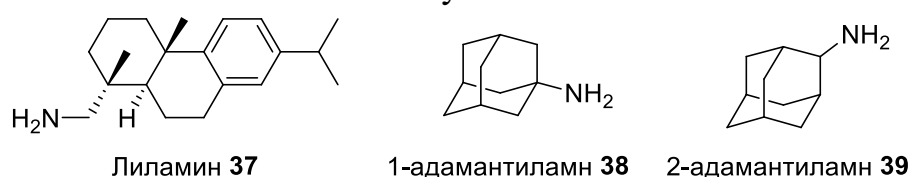
Метил 3-(4-(4-(бромометил)бензилокси)фенил)пропаноат **35** был синтезирован с использованием литературных методик из 4-гидроксифенилпропеновой кислоты **26e** и 1,4-бис(бромометил)бензола **36**, однако нами была проведена оптимизации стадии реакции метил 4-гидроксифенилпропаноата **34** с дибромидом **36**, что позволило нам увеличить выход соединения **35** с 21% до 81% (Схема 6).

Схема 6

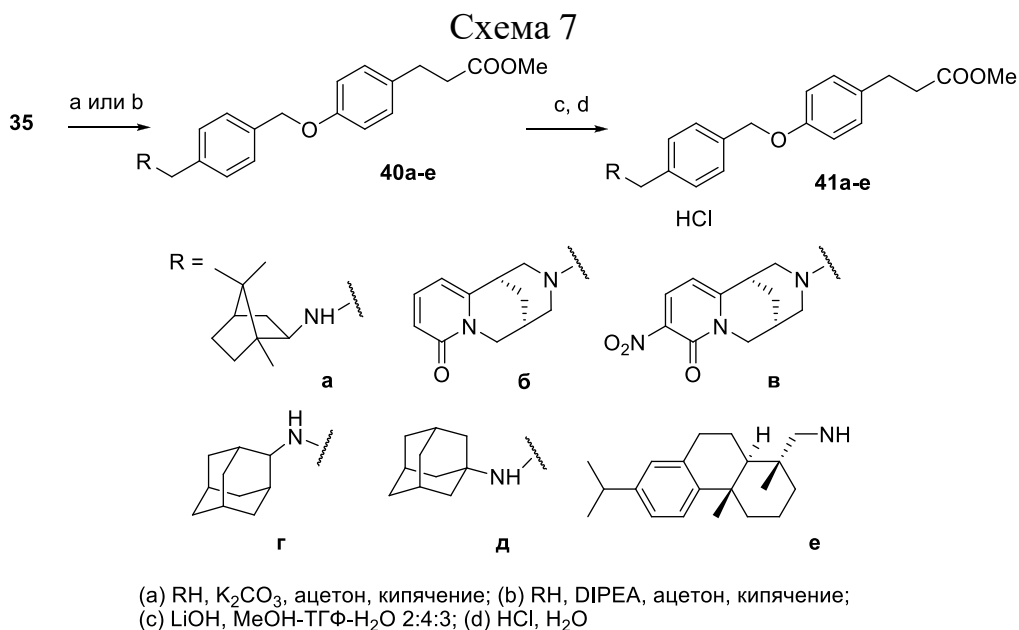


Полученный бромид **35** вводили в реакцию, как с ранее использованными нами для синтеза ингибиторов ДПП-4 борниламином (1R,4R)-**6 X** и цитизинами **5,12**, так и с лиламином **37** (Рисунок 7), а также объемными 1- и 2-адамантиламинами **38** и **39** в присутствии основания.

Рисунок 7



Показано, что использование диизопропилэтиламина в качестве основания является предпочтительным, по сравнению с карбонатом калия, при проведении реакции в ацетонитриле, поскольку позволяет получать эфиры **40a-e** с большими выходами за меньшее время. Были подобраны условия гидролиза эфиров **40a-e** действием гидроксида лития в смеси тетрагидрофурана, метанола и воды, что позволило выделить целевые соединения в виде гидрохлоридов кислот **41a-e** с выходами 40-72% (Схема 7).



Таким образом, при реакции метил 3-(4-(4-(бромометил)бензилокси)фенил)-пропаноата **35** и различных объемных аминов нами была синтезирована серия целевых соединений в виде гидрохлоридов кислот для исследования их биологической активности.

2.2 Анализ результатов биологической активности

Соединения А-Е были исследованы сотрудниками Киевского Национального Университета имени Тараса Шевченко на аффинность к рецептору FFA1. Все соединения были протестированы *in vitro* дозозависимым образом для определения эффективной полумаксимальной концентрации (EC_{50}). Также была определена максимальная эффективность (E) по отношению к референсному соединению, являющемуся полным агонистом и используемому в концентрации 10 μM . Согласно полученным результатам (Таблица 2), все исследуемые соединения **41a-e** проявили аффинность к рецептору. Лучшую аффинность к рецептору проявили соединения **41a** и **41б**, обладающие активностью в субмикромольных концентрациях и являющиеся полными агонистами. Соединения **41в-д** проявили чуть меньшую активность.

Таблица 2. Активность соединений х-х по отношению к FFA1г.

E – Эффективность (по отношению к GW9508)

Соединение	EC ₅₀ , μM	E, %	Соединение	EC ₅₀ , μM	E, %
41a	0.75	108	41г	1.72	96
41б	0.86	94	41д	5.26	53
41в	2.74	116	41е	50	12

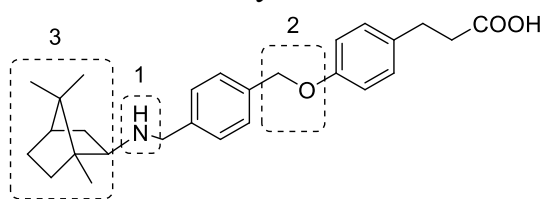
Соединения **41a,б** также были исследованы сотрудниками Киевского Национального Университета имени Тараса Шевченко на гипогликемическую активность в пероральном глюкозотолерантном тесте на мышах линии C57BL/6NCrl. Согласно полученным результатам, оба соединения проявили гипогликемический эффект в диапазоне доз от 25 до 1 мг/кг.

2.3 Оптимизация соединения лидера

Соединение **41a** было выбрано нами в качестве соединения-лидера для дальнейших синтетических модификаций, поскольку проявило активность в субмикромольной концентрации, являясь при этом полным агонистом. Были выбраны следующие подходы к модификации соединения-лидера (Рисунок 8), основанные на конструировании соединений, обладающих структурным сходством с соединением-лидером, но отличающихся отдельными структурными фрагментами, а именно:

- 1) Замена гетероатома, посредством которого терпеновый остов связывается с фрагментом, несущим фенилпропановую кислоту.
- 2) Замена оксиметиленового фрагмента, связывающего фенилпропановую кислоту с ароматическим линкером.
- 3) Замена борнильного остова на другой терпеновый фрагмент.

Рисунок 8

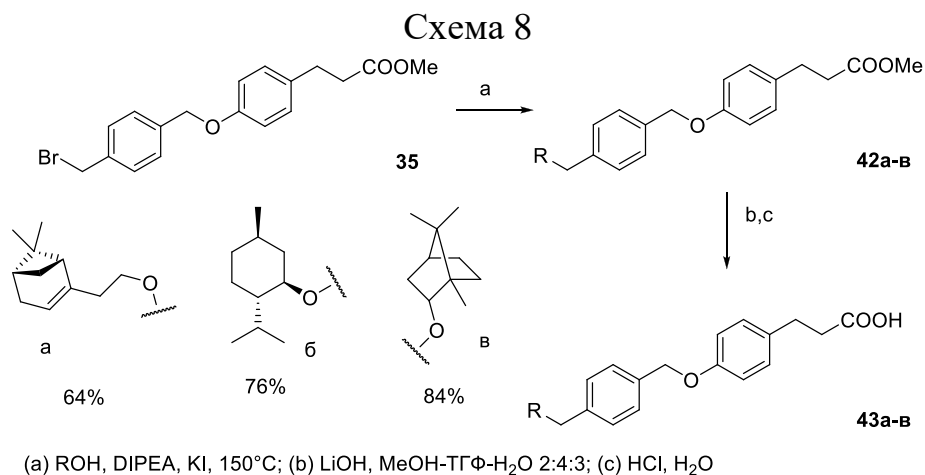


2.3.1 Замена гетероатома, связывающего хвост с линкером

Соединения, в которых терпеновый остов связывается со скаффолдом посредством атома кислорода, а не азота, было предложено получать реакцией ранее синтезированного бромида **35** и различных терпеновых спиртов. Преимуществом такого подхода является возможность использования для синтеза многочисленных доступных терпеноидов, содержащих гидроксильную группы. В качестве спиртов было предложено использовать спирты, содержащие объемные

моно- и бициклические фрагменты, а именно нопол, ментол и борнеол. В результате серии экспериментов были найдены условия, позволяющие получать необходимые продукты реакции с приемлемыми выходами (Схема 8). Было показано, что при реакции бромида **35** с терпеновыми спиртами нополом (а), ментолом (б) и борнеолом (в) без растворителя при 150°C в присутствии N,N-диизопропилэтиламина образуются эфиры **42а-в** с выходами 36-44%.

После обработки соединений **42а-в** гидроксидом лития в смеси тетрагидрофуран-метанол-вода и последующего подкисления реакционной массы, были выделены целевые кислоты **43а-в** с выходами 64-84%.



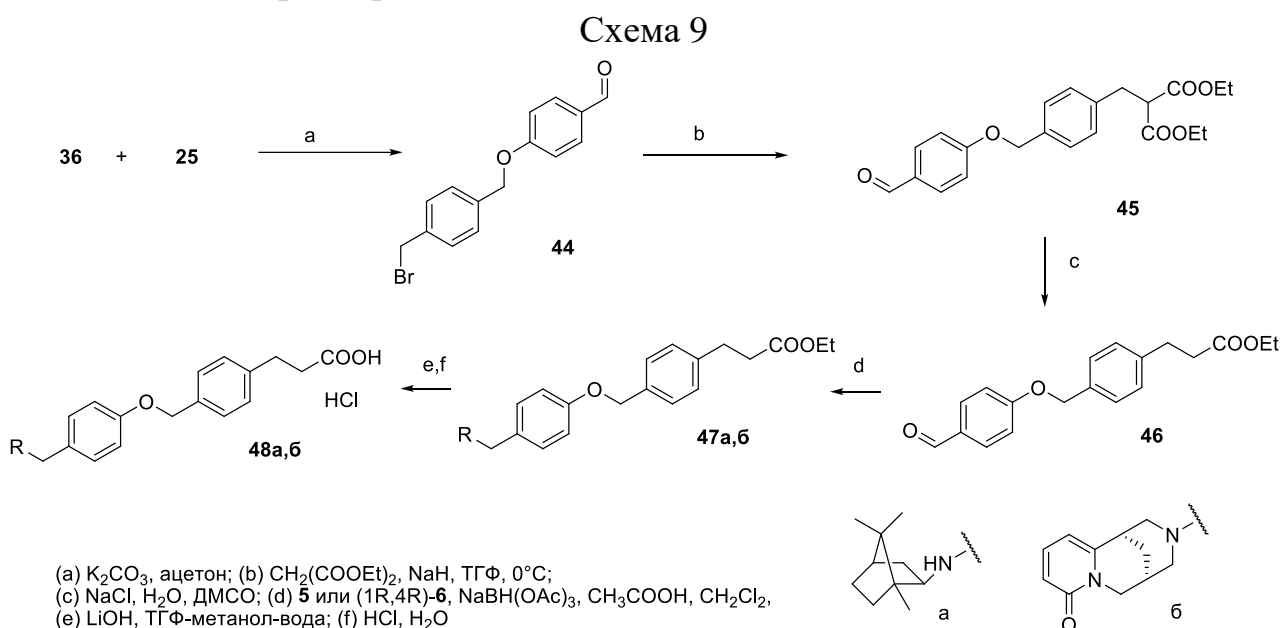
Таким образом, нами была продемонстрирована универсальность скаффолда метил 3-(4-(4-(бромометил)бензилокси)фенил)пропаноата **35**, взаимодействием которого в реакциях и с терпеновыми аминами, и с первичными и вторичными терпеновыми спиртами были получены потенциальные агонисты рецептора FFA1.

2.3.2 Замена оксиметиленового фрагмента, связывающего фенилпропановую кислоту с ароматическим линкером

При использовании тех же исходных соединений, а именно 1,4-бис(бромометил)бензола **36**, 4-гидроксибензальдегида **25е**, а также диэтилмалоната можно получить другой скаффолд - этил 3-(4-((4-формилфенокси)-метил)фенил)пропаноат, содержащий альдегидную группу для дальнейшей дериватизации и измененный порядок атомов в оксиметиленовом линкере, по сравнению с бромидом **35**.

Согласно предложенной схеме, на первом этапе из 4-гидроксибензальдегида и 1,4-бис(бромометил)бензола в условиях, ранее использованных для синтеза бромида **52**, с выходом 62% был получен бромальдегид **44**. Соединение **44** далее вводили в реакцию с предварительно депротонированным диэтилмалонатом в ТГФ при охлаждении, что приводило к образованию соединения **45** с выходом 67%. Для

удаления одной из сложноэфирных групп соединение **45** кипятили в ДМСО в присутствии эквимольного количества хлорида натрия и воды, что приводило к образованию альдегида **46** с выходом 78%. Альдегид **46** вводили в реакцию восстановительного аминирования с первичным и вторичным аминами: борниламином (*1R,4R*)-**6** и цитизиним **5**. Реакцию проводили в присутствии избытка триацетоксиборгидрида натрия и эквимольного количества уксусной кислоты в хлористом метиле при комнатной температуре. В результате были получены соединения **47a** и **47b** с выходами 77% и 82% соответственно. После обработки соединений **47a,b** гидроксидом лития в смеси тетрагидрофуран-метанол-вода и последующего подкисления реакционной массы, были выделены целевые кислоты в виде гидрохлоридов **48a,b** с выходами 44 и 47% (Схема 9).



Таким образом, нами был разработан подход к синтезу этил 3-(4-((4-формилфенокси)метил)фенил)пропаноата **46** и потенциальных агонистов рецептора FFA1 на его основе.

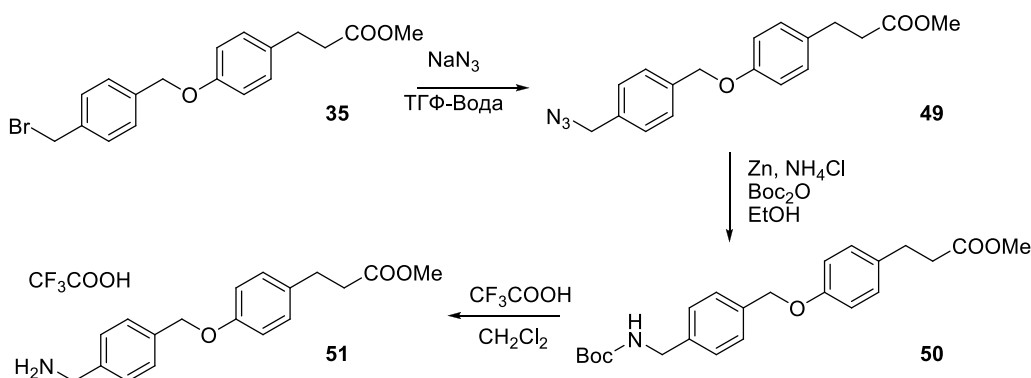
2.3.3 Замена хвостовой части молекулы на другой терпеновый фрагмент

Для получения потенциальных агонистов FFA1r с другим терпеновым остовом, было предложено синтезировать из бромида и альдегида скаффолды, содержащие терминальный аминотиленовый фрагмент. Такой скаффолд позволит проводить последующие реакции с терпеноидами, содержащими карбонильную группу. Данный подход существенно расширит круг получаемых соединений, поскольку большая часть доступных терпеноидов являются карбонильными соединениями, а получение первичных аминов из терпеноидов является нетривиальной задачей. Было разработано два подхода к синтезу целевых соединений исходя из ранее полученных скаффолдов – с терминальными

бромметиленовым фрагментом (соединение **35**) и альдегидной группой (соединение **46**), различающихся строением оксиметиленового линкера.

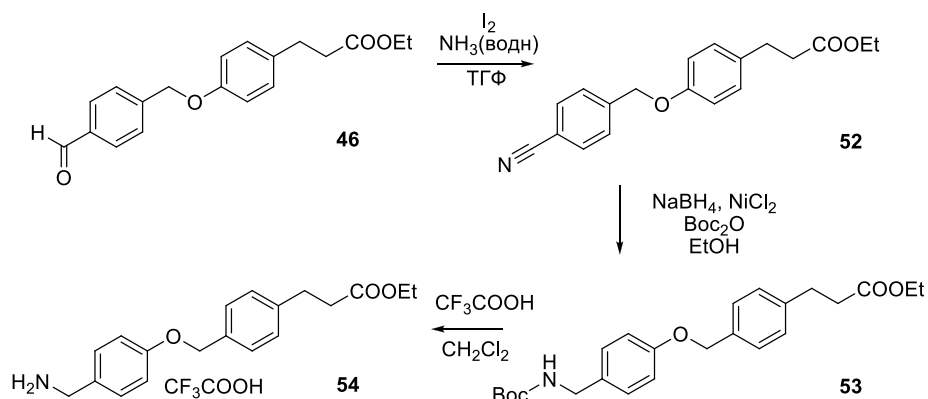
Для реализации первого подхода бромид **35** кипятили с азидом натрия в смеси ТГФ-вода (4:1) в течение 4-5 часов, что приводило к образованию азида **49** с выходом 80%. При нагревании смеси азида **49**, цинка, Boc_2O и хлорида аммония в этаноле был получен Boc -защищенный амин **50** с выходом 64%. Обработка Boc -защищенного амина **50** трифторуксусной кислотой в хлористом метиле приводит к удалению Boc -защиты и образованию трифторацетата амина **51** с выходом 52% (Схема 10).

Схема 10

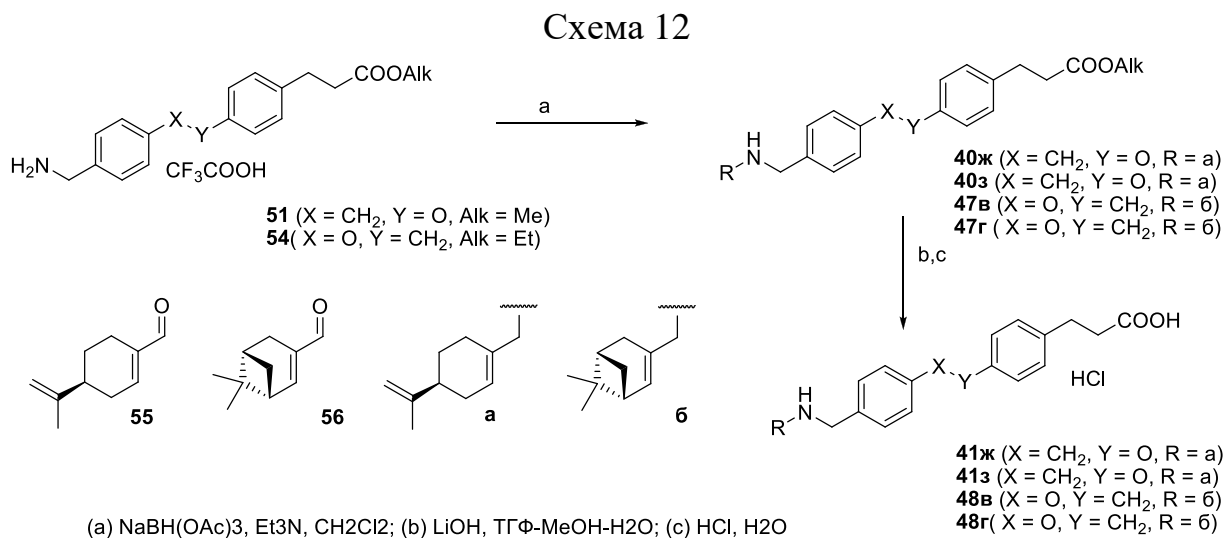


Второй скаффолд синтезировали по следующей схеме. Нитрил **52** был получен с выходом 77% при взаимодействии альдегида **46** с йодом и водным аммиаком в ТГФ. Полученный нитрил **52** восстанавливали смесью боргидрида натрия и хлорида никеля в метаноле в присутствии дитретбутилдикарбоната при охлаждении реакционной смеси до -5°C . В результате был получен Boc -защищенный амин **53** с выходом 85%. Обработка Boc -защищенного амина **53** трифторуксусной кислотой в хлористом метиле приводит к удалению Boc -защиты и образованию трифторацетата амина **54** с выходом 72% (Схема 11).

Схема 11



Для синтеза потенциальных агонистов рецептора FFA1, содержащих фрагменты природных соединений, полученные трифторацетаты аминов **51** и **54** вводили в реакцию с перилловым альдегидом и миртеналем в присутствии триацетоксиборгидрида натрия и триэтиламина в хлористом метиле, что приводило к образованию соединений **40ж,з** и **47в,г** с выходами 52-62%. После обработки соединений **40ж,з** и **47в,г** гидроксидом лития в смеси тетрагидрофуран-метанол-вода и последующего подкисления реакционной массы, были выделены целевые кислоты в виде гидрохлоридов **41ж,з** и **48в,г** с выходами 37-67% (Схема 12).



Таким образом, нами разработаны подходу к синтезу 3-(4-((4-(аминометил)-фенокси)метил)фенил)пропаноат 2,2,2-трифторацетата **51** и метил 3-(4-(4-(аминометил)бензилокси)фенил)пропаноат 2,2,2-трифторацетата **54**, а также к их модификации терпеновыми альдегидами реакцией восстановительного аминирования.

Выводы

1. Предложен дизайн и осуществлен синтез трех серий потенциальных ингибиторов ДПП-4 конъюгатов цианопирролидина с замещенным борнильным или цитизиновым остовом; цианопирролидинамидов (гет)арилпропеновых кислот; 1-(гет)арил-2-(2,4,5-трифторфенил)этиленов.
2. Показано, что соединения, сочетающие в своей структуре цианопирролидиновый фрагмент с замещенными борнильными фрагментами, обладают способностью ингибировать ДПП-4 в тестах *in vitro*, а также проявляют гипогликемическую активность в глюкозотолерантном тесте на мышах.
3. Разработан универсальный подход к синтезу скаффолдов на основе 3-(4-(феноксиметил)фенил)пропановой кислоты и 3-(4-(бензилокси)-фенил)пропановой кислоты, содержащих в своей структуре бромометиленовый, аминометиленовый фрагменты или альдегидную группу для дальнейшей дериватизации и синтеза потенциальных агонистов рецептора FFA1.
4. Осуществлен синтез потенциальных агонистов на основе метил 3-(4-(4-(бромометил)бензилокси)фенил)пропаноата, этил 3-(4-((4-формил-фенокси)метил)фенил)пропаноата, этил 3-(4-((4-(аминометил)-фенокси)метил)фенил)пропаноат 2,2,2-трифторацетата и метил 3-(4-(4-(аминометил)бензилокси)фенил)пропаноат 2,2,2-трифторацетата.
5. Показано, что соединения на основе борниламина и цитизина с 3-(4-(бензилокси)фенил)пропановой кислотой являются полными агонистами FFA1, а также проявляют гипогликемический эффект в глюкозотолерантном тесте на крысах.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

1. Kuranov S.O., Tsypysheva I.P., Khvostov M.V., Zainullina L.F., Borisevich S.S., Vakhitova Yu.V., Luzina O.A., Salakhutdinov N.F. Synthesis and evaluation of camphor and cytosine-based cyanopyrrolidines as DPP-IV inhibitors for the treatment of type 2 diabetes mellitus // *Bioorg. Med. Chem.* –2018. V. 26. –№15, P. 4402-4409.
2. Kuranov S.O., Blokhin M.E., Borisov S.A., Khvostov M.V., Luzina O.A., Salakhutdinov N.F. Synthesis and Hypoglycemic Activity Evaluation of Aryl(hetaryl)propenoic Cyanopyrrolidineamides // *Russ. J. Bioorg. Chem.* –2019. –V. 45. –№5, –P.534-541. [*Биоорганическая химия.* 2019. –№ 45(5). –С.534-541].

Результаты диссертации доложены на международных и всероссийских конференциях:

1. Kuranov S., Luzina O., Khvostov M., Salakhutdinov N. Synthesis of new cinnamic based antidiabetic compounds. Всероссийская научная конференция с международным участием «Современные проблемы органической химии» (г. Новосибирск, 2017). – Сборник тезисов, Новосибирск: Изд-во НИОХ СО РАН, 2017. – С. 211.
2. Kuranov S.O., Luzina O.A., Khvostov M.V., Salakhutdinov N.F. Synthesis of new camphor based antidiabetic compounds. Abstracts of the 12-th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds (Tashkent. Uzbekistan, 2017). – Book of abstracts, Tashkent, 2017. – P. 356.
3. Куранов С.О., Лузина О.А., Хвостов М.В., Салахутдинов Н.Ф. Синтез и изучение сахароснижающих свойств цианопирролидинов, содержащих модифицированный борнильный фрагмент. XX Молодежная школа-конференция по органической химии (г. Казань, 2017). – Сборник тезисов, Казань, 2017. – С. 47.
4. Куранов С., Лузина О., Онопченко О., Бориско П., Зозуля С., Красавин М., Салахутдинов Н. Синтез новых агонистов рецептора FFA1 в качестве потенциальных гипогликемических агентов. Всероссийская молодёжная школа-конференция «Актуальные проблемы органической химии» (пос. Шерегеш, Кемеровская обл., 2018). – Сборник тезисов, Новосибирск, 2018. – С. 63.
5. Куранов С.О., Блохин М.Е., Лузина О.А., Хвостов М.В., Салахутдинов Н.Ф. Синтез и гипогликемическая активность соединений с винилфенильным фрагментом. МОБИ-ХимФарма2018 (Крым, пос. Новый свет), Новый свет, Крым, РФ, 23-26 сентября, Сборник тезисов, Москва, 2018. – С.156.
6. Kuranov S., Luzina O., Salakhutdinov N. Conjugates of phenylpropanoic acid and terpenoids as potential FFA1 agonists. 4-я Российская Конференция по Медицинской Химии «МедХим-Россия 2019» (Россия, г. Екатеринбург, 2019). – Book of abstracts, Екатеринбург, 2019. P. 218.
7. Blokhin M.E., Kuranov S.O., Luzina O.A., Khvostov M.V., Salakhutdinov N.F. Synthesis and hypoglycemic activity of 2,4,5-trifluorostilbene derivatives. 4-я Российская Конференция по Медицинской Химии «МедХим-Россия 2019» (Россия, г. Екатеринбург, 2019). – Book of abstracts, Екатеринбург, 2019. P. 161.