


На правах рукописи

МЕДВЕДЕВА Наталья Ивановна

**НОВЫЕ СИНТЕТИЧЕСКИЕ ТРАНСФОРМАЦИИ БЕТУЛИНА
И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ**

02.00.03 – Органическая химия

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук**



УФА-2005

Работа выполнена в Институте органической химии Уфимского научного центра Российской Академии наук.

Научный руководитель: кандидат химических наук,
доцент
Флехтер О. Б.

Официальные оппоненты: член-корреспондент РАН
Кучин А. В.

кандидат химических наук,
старший научный сотрудник
Боцман Л. П.

Ведущая организация: Тихоокеанский институт биоорганической
химии ДВО РАН

Защита диссертации состоится 21 октября 2005 года в 14⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 002.004.01 в Институте органической химии Уфимского научного центра РАН по адресу: 450054, Башкортостан, г. Уфа, проспект Октября, 71.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке УНЦ РАН.

Автореферат разослан 8 сентября 2005 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор химических наук



Валеев Ф. А.

2006-4
15959

218 26 24

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Растительные тритерпеноиды и продукты их синтетических трансформаций уверенно выдвигаются в качестве перспективных лекарственных препаратов. Так, на основе производных глицирризиновой и глицирретовой кислот разработаны высокоэффективные противовирусные (анти-ВИЧ), противовоспалительные и противоопухолевые препараты; олеаноловая кислота успешно используется в качестве гепатопротектора. Бетулиновая кислота проходит предклиническую апробацию как средство для лечения метастатических меланом. Некоторые производные лупановых тритерпеноидов образовали группу анти-ВИЧ агентов с новым механизмом действия.

В последние годы всё большее внимание уделяется развитию методологии синтеза тритерпеноидов с более глубоким изменением нативного скелета. Так, 2-циано-3,12-диоксоolean-1,9(11)-диен-28-овая кислота рекомендована к клиническим испытаниям в качестве ингибитора синтазы оксида азота и препарата для лечения различных воспалений и злокачественных опухолей.

Таким образом, проведение исследований в области трансформаций тритерпеноидов, а также синтез на их основе ценных для медицины веществ является актуальным.

Работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ Института органической химии Уфимского научного центра РАН по теме: «Синтез биологически активных веществ на основе растительных терпеноидов» (регистрационный номер 01.99.0011836).

Работа осуществлялась при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (гранты № 00-03-81174, № 01-03-33131, 02-03-81007, 05-03-32832), комплексной программы Президиума РАН «Направленный синтез веществ с заданными свойствами и создание функциональных материалов на их основе» и в рамках научной школы



академика Г. А. Толстикова (грант президента РФ на поддержку молодых учёных и ведущих научных школ НШ-1488. 2003.3).

Цель работы. Синтез новых биологически активных производных бетулина.

Решаемые задачи:

- разработка новых схем скелетных трансформаций бетулина и его производных по кольцам А и Е;
- синтез новых фармакологически активных производных тритерпеноидов путем модификации функциональных групп с сохранением нативной структуры.

Научная новизна. Впервые разработаны методы синтетических трансформаций бетулина, позволившие получить новые производные А-динор-, А-тринор- и А-секоолеанана, а также А-тринор-, Е-нор-, тетранор-, А-секолупана. Синтезированы новые гетероциклические производные метилбетулоната, осуществлены реакции гликозилирования и ацилирования бетулина и аллобетулина. В ходе восстановительного превращения перекисных продуктов озонирования производных 3 β -*O*-ацетил-22(17 \rightarrow 28)*abeo*-луп-17(28),20(29)-диена в результате перэтерификации ацеталь-кетального типа получен тритерпеноид с триоксановым фрагментом в цикле Е. При озонировании А-*neo*-ангидропроизводных аллобетулина выделены ранее неизвестные устойчивые озониды.

Практическая значимость. Осуществлён синтез частично растворимых в воде 2-дезоксид- α -*L*-арабино-гексопиранозидов метилового эфира бетулиновой кислоты. Предложены эффективные условия изомеризации бетулина в аллобетулин путем использования трифторуксусной кислоты в качестве кислотного катализатора. Синтезированы и охарактеризованы более 70 новых тритерпеновых производных, среди которых выявлены вещества с противовирусной, гепатопротекторной, противовоспалительной и противоязвенной активностью, антифидантным и инсектицидным действием.

Апробация работы. Результаты исследований доложены на четырёх Молодежных научных школах по органической химии (Екатеринбург 2000 г.,

2002 г.; Новосибирск 2001 г., 2003 г.); XVI Международном симпозиуме по медицинской химии (Болонья, 2000 г.); XII Европейском симпозиуме по органической химии (Гронинген, 2001 г.); Научной конференции, посвященной 70-летию со дня рождения академика В. А. Коптюга "Современные проблемы органической химии" (Новосибирск, 2001 г.), на I и II Всероссийских конференциях "Химия и технология растительных веществ" (Сыктывкар, 2000 г., Казань, 2002 г.); на VI Международной конференции "Биоантиоксидант" (Москва, 2002 г.); Международной конференции по природным и физиологически активным веществам (Новосибирск, 2004 г.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 статей в центральных журналах, тезисы 11 докладов на конференциях и симпозиумах.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из обзора литературы на тему "Нативные и полусинтетические тритерпеноиды в качестве перспективных противоопухолевых и противовирусных агентов", двух глав (обсуждение результатов, экспериментальная часть) и приложения. Список литературы включает 216 наименований. Объем работы составляет 162 страницы, в том числе 14 рисунков, 26 схем, 3 таблицы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

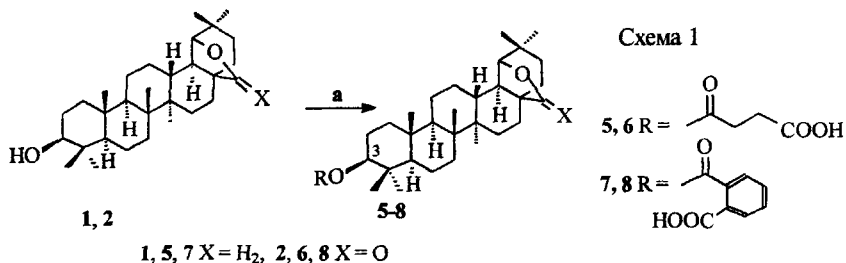
В результате синтетических трансформаций высших терпеноидов в последние годы получены новые убедительные примеры перспективности данного научного направления для медицины. Так, для доклинических исследований нами рекомендуются бетулиновая кислота в качестве ингибитора энтеровирусов, диникотинат бетулина как гепатопротектор и дигидрохинопимаровая кислота как противоязвенный агент. Дальнейшее развитие исследований в этой области направлено, прежде всего, на проведение трансформаций доступного тритерпеноидного метаболита группы лупана - бетулина, имеющего надежные сырьевые источники в России и технологичные методы выделения из отходов деревопереработки коры березы. Поскольку наиболее интересные производные тритерпеноидов

с ценной фармакологической активностью были получены ранее путем обычной модификации различных функциональных групп, то логичным направлением работы является синтез новых ацилатов, гликозидов, гетероциклических и других производных (раздел 1). Кроме бетулина в качестве еще одного объекта для трансформаций нами выбран тритерпеноид олеананового типа *аллюбетулин*, легко синтезируемый из бетулина. Поскольку скелетные превращения бетулина изучены в гораздо меньшей степени, чем трансформации тритерпеноидов с сохранением нативной структуры, нами разработано несколько новых перспективных подходов синтеза А-нор-, А-секо- и Е-нор-производных с использованием в качестве ключевой стадии озонлиза тритерпеновых олефинов (раздел 2).

1. Синтез новых тритерпеновых производных лупанового и 19 β ,28-эпокси-олеананового типов с сохранением нативной структуры

1.1. Синтез ацилатов 3 β -гидрокси- и 3-оксиминотритерпеноидов

Новые группы ацилатов тритерпеновых спиртов: аллюбетулина **1** и 28-оксоаллюбетулина **2**, бетулина **3** и бетулиновой кислоты **4** получены ангидридным и хлорангидридным методами. Гемисукцинаты, гемифталаты аллюбетулина и 28-оксоаллюбетулина **5-8** синтезированы кипячением тритерпеновых спиртов **1, 2** с трёхкратным избытком соответствующего ангидрида в пиридине с выходом 88-95% (схема 1).

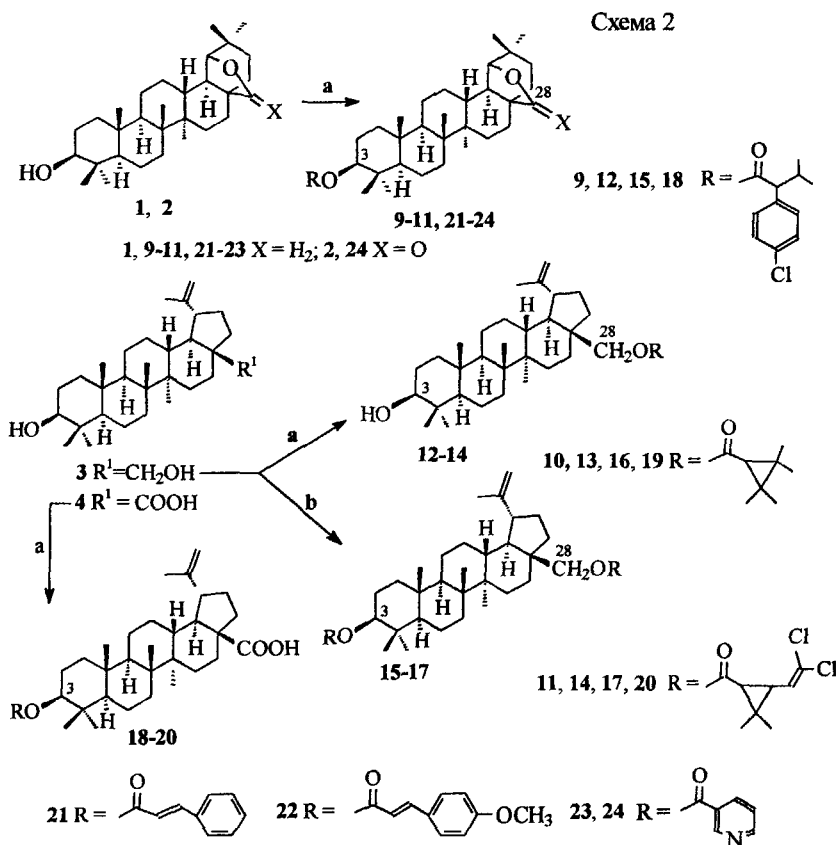


Условия: а. янтарный или фталевый ангидрид, пиридин, 115 °С, 15 ч

Эфиры пиретроидных кислот **9-11** и **15-20**, циннамат **21**, метоксициннамат **22** и никотинаты **23, 24** получены в результате

этерификации спиртов 1-4 избытком соответствующих хлорангидридов кислот, проведённой в смеси пиридина-трибутиламина, с выходами 58-86% после очистки колоночной хроматографией.

28-Монозамещённые ацилаты бетулина 12-14, содержащие фрагменты пиретроидных кислот получены с использованием 1.5 экв. ацилирующего агента (выход 58-64%) (схема 2).



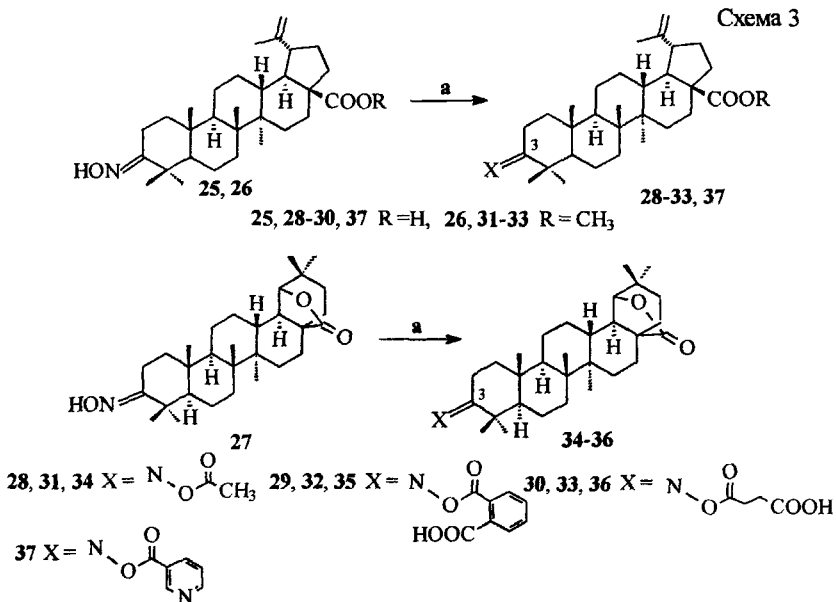
Условия а 15 ммоль хлорангидрида кислоты, C₅H₅N-Bu₃N, 20 °С, 4 ч;

б 30 ммоль хлорангидрида кислоты, C₅H₅N-Bu₃N, 60-70 °С, 3 ч

Строение ацилатов подтверждено данными элементного анализа, ИК и

ЯМР спектров. В спектрах ЯМР ^{13}C сигналы сложноэфирных связей регистрируются в области δ 170.0-173.9 м.д., отмечается также слабopольный сдвиг сигналов атомов C3 и C28.

Синтез тритерпеновых ацилированных оксимов в литературе практически не описан. Нами в результате взаимодействия оксимов бетулоновой кислоты **25**, метилового эфира бетулоновой кислоты **26** и 28-оксоаллобетулона **27** с избытком уксусного, янтарного, фталевого ангидридов или хлорангидрида никотиновой кислоты в среде бензола в присутствии основания (Et_3N) выделены ацетил- **28**, **31**, **34**, гемифталил- **29**, **32**, **35**, гемисукцинил- **30**, **33**, **36** и никотиноил- **37** оксимины с выходами 64-78% после очистки колоночной хроматографией (схема 3).

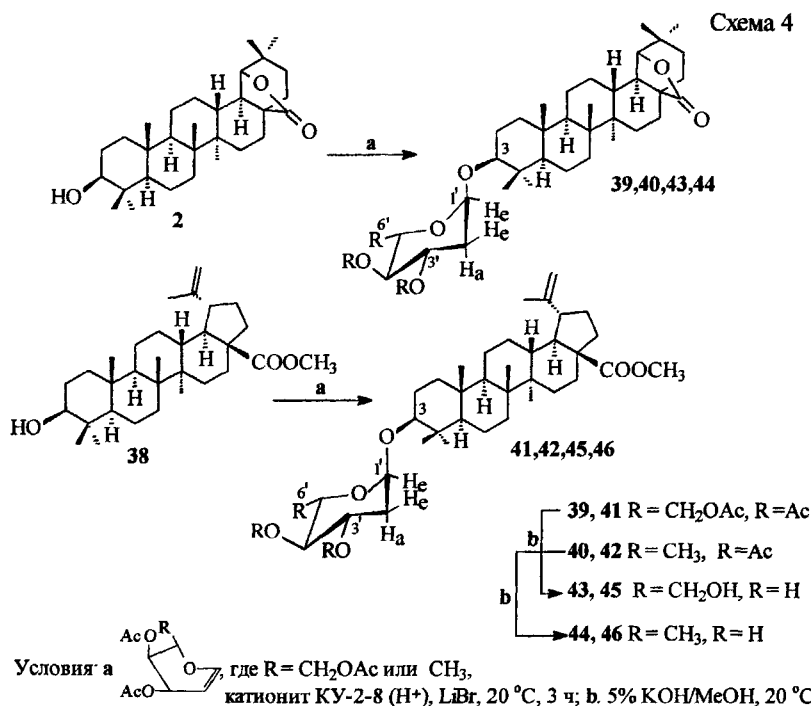


Условия: а уксусный, янтарный, фталевый ангидрид или хлорангидрид никотиновой кислоты, $\text{C}_6\text{H}_6/\text{Et}_3\text{N}$, 25 °С, 4 ч

Структура соединений **28-37** подтверждена данными ЯМР спектров, в которых отмечены характерные сигналы сложноэфирных групп в области δ 171.1-174.7 м.д. и протонов введенных фрагментов кислот.

1.2. Синтез 2-дезоксi- α -гликозидов 28-оксоаллобетулина и метилового эфира бетулиновой кислоты

Синтез новых тритерпеновых 2-дезоксi- α -гликозидов осуществлён гликальным методом. В результате гликозирования 28-оксоаллобетулина 2 и метилового эфира бетулиновой кислоты 38 ацетатами *L*-глюкаля или *L*-рамналя в присутствии сульфокислого катионита КУ-2-8 (H^+ - форма) и LiBr в смеси $CH_2Cl_2 - CH_3CN$ в безводных условиях при комнатной температуре выделены 3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксi- 39, 41 и 3,4-ди-*O*-ацетил-2,6-дидезоксi- α -*L*-арабино-гексопиранозиды 40, 42 с выходом 75-85% (схема 4).



β -Аномеры гликозидов методами ТСХ и ЯМР обнаружены не были.

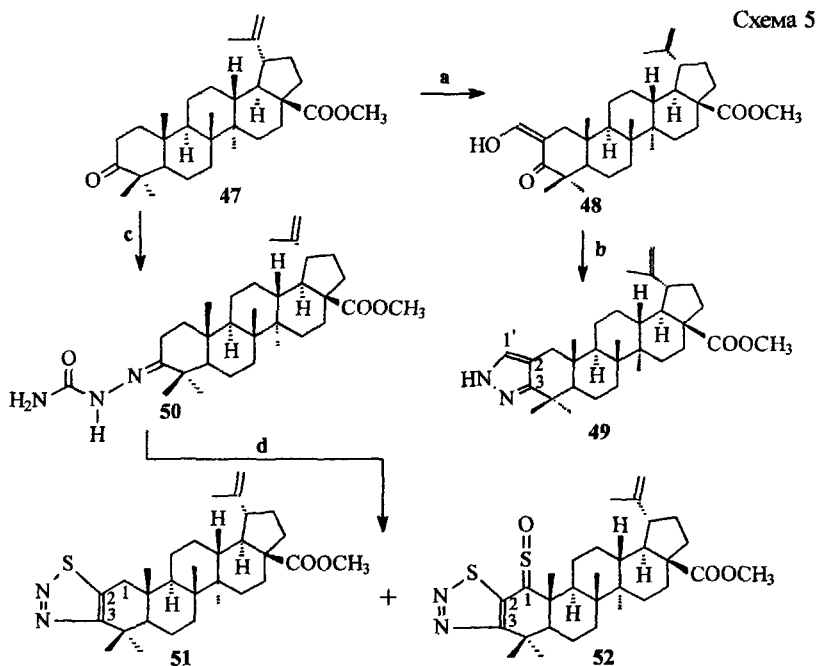
Протоны аномерных центров в спектрах ЯМР 1H 2-дезоксi- α -*L*-арабино-гексопиранозидов 39-42 обнаружены при δ 4.91 м.д. в виде дублета ($J_{1'e,2'e} =$

2.0-2.6 Гц), что говорит об их экваториальной ориентации, а значит, аксиальном расположении C1'-O-связи с агликоном и α-гликозидной связи.

Мягкое дезацетилирование соединений 39-42 в щелочном метаноле привело к получению целевых 3-O-2-дезоксиде- и 3-O-2,6-дидезокси-α-L-арабино-гексопиранозидов 43-46 с выходами 82-90%. 2-Дезокси-α-гликозиды метилового эфира бетулиновой кислоты 45, 46 полностью растворялись в 50% водном этаноле, растворимость в воде составила ~ 5-7%.

1.3. Синтез гетероциклических производных метилбетулоната

В качестве исходного соединения в синтезе новых гетероциклических производных лупановых тритерпеноидов использовали легко доступный



Условия. а HCOOEt, MeONa, бензол, 81 °С, 3 ч; б N₂H₄·H₂O, EtOH, 81 °С, 2 ч;
 в NH₂NHCONH₂·HCl, NaOAc·3H₂O, 40 °С, 6 ч; д. SOCl₂, CH₂Cl₂, 22 °С, 6 ч

метилловый эфир бетулиновой кислоты 47 (схема 5).

Синтез [3,2-*c*]-пиразола **49** проводили взаимодействием 2-гидроксиметиленпроизводного **48** с гидразин-гидратом при кипячении в EtOH с выходом 80%. Согласно спектру ЯМР ^{13}C , сигналы пиразольного кольца обнаруживаются в слабом поле при δ 112.5 (C2), 134.3 (C1') и 177.0 (C3) м.д.

По реакции Харда-Моури из семикарбазона метилбетулоната **50** взаимодействием с избытком SOCl_2 в среде безводного CH_2Cl_2 получена смесь 1,2,3-тиадиазола **51** (выход 75%) и минорного тион-S-оксида **52** (12%), которые были разделены колоночной хроматографией. В спектрах ЯМР ^{13}C соединений **51**, **52** наблюдаются сигналы тиадиазольного фрагмента (δ 165.3, 145.1 м.д.). Кроме того, в спектрах ЯМР ^1H пиразола **49** и тиадиазолов **51**, **52** прослеживается влияние гетероциклического фрагмента на ХС гем-диметильных групп C23, C24 (слабопольный сдвиг на ≈ 0.5 м.д.).

Таким образом, впервые получены и охарактеризованы [3,2-*c*]-пиразол- и 1,2,3-тиадиазол-производные, аннелированные с кольцом А метилового эфира бетулоновой кислоты.

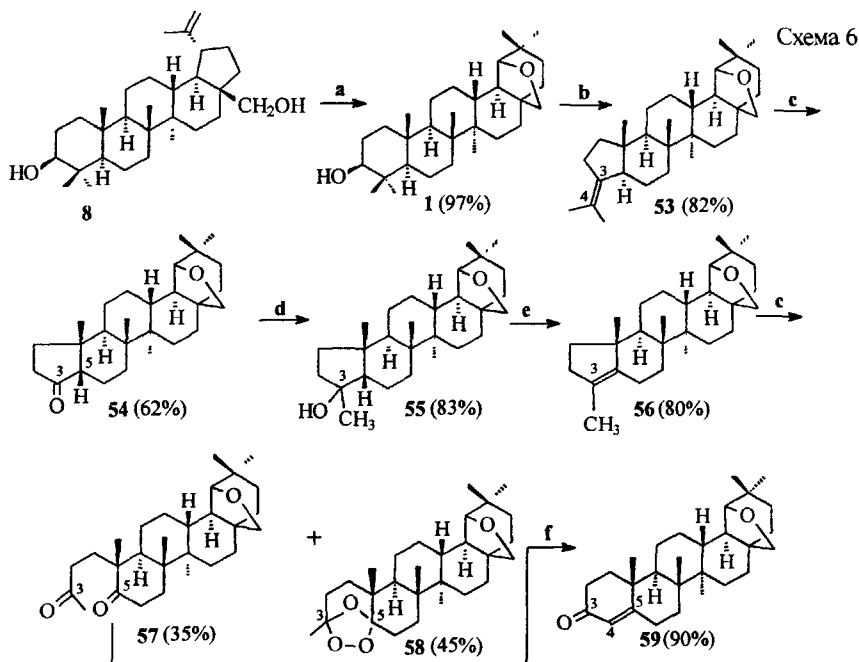
2. Синтез и превращения нор- и секотритерпеноидов

2.1. Синтез стероидоподобного производного 19 β ,28-эпоксиолеанана

Синтез тритерпеноидов, содержащих двойную связь в цикле А, предпринимался неоднократно с целью получения соединений с повышенной базовой фармакологической активностью. Так, производные $\Delta 1(2)$ и $\Delta 4(5)$ 18 α H- и 18 β H-глицирретовой кислот обнаружили мощную противовоспалительную активность. Интерес представляют также превращения, приводящие к стероидоподобным 4,4-динортритерпеноидам, осуществлённые недавно на основе производных олеаноловой, а ранее - глицирретовой кислот. Подобные соединения подавляют активацию ингибитора фактора некроза опухоли в макрофагах и эффективны как ингибиторы выработки NO-синтазы.

Актуальной является разработка схемы синтеза стероидоподобного производного олеананового типа из аллобетулина, легко получаемого

изомеризацией бетулина. Данная катализируемая кислотами перегруппировка известна давно, однако нами обнаружено, что использование в качестве кислотного агента CF_3COOH позволяет достаточно быстро при простой экспериментальной процедуре получать аллобетулин **1** с количественным выходом. Осуществлённый семистадийный синтез стероидоподобного производного представлен на схеме 6.



Условия: а CF_3COOH , CH_2Cl_2 , 20 °С, 8 мин; б PCl_5 , бензол-толуол, 0 °С, 30 мин;
 в O_3 , CH_2Cl_2 , -60 °С, Zn/AcOH или Me_2S ; д MeMgI , ТГФ/ Et_2O , 20 °С, 3 ч;
 е. POCl_3 , пиридин, 20 °С, 1 ч; ф. KOH/MeOH , 60 °С, 30 мин

На первом этапе аллобетулин подвергали дегидратации в присутствии PCl_5 при $T < 0$ °С с образованием 3-изопропилиден-*A*-нео-5 α H-19 β ,28-эпокси-18 α H-олеана **53**, который далее озонировали в CH_2Cl_2 при -60 °С и после восстановления перекисных продуктов (Zn/AcOH , Me_2S или гидрированием над катализатором Линдлара) выделяли 4,23,24-тринор-*A*-нео-5 β H-19 β ,28-эпокси-18 α H-олеан-3-он **54**. С использованием расчетов по

Синтез [3,2-*c*]-пиразола **49** проводили взаимодействием 2-гидроксиметиленпроизводного **48** с гидразин-гидратом при кипячении в EtOH с выходом 80%. Согласно спектру ЯМР ^{13}C , сигналы пиразольного кольца обнаруживаются в слабом поле при δ 112.5 (C2), 134.3 (C1') и 177.0 (C3) м.д.

По реакции Харда-Моури из семикарбазона метилбетулоната **50** взаимодействием с избытком SOCl_2 в среде безводного CH_2Cl_2 получена смесь 1,2,3-тиадиазола **51** (выход 75%) и минорного тион-S-оксида **52** (12%), которые были разделены колоночной хроматографией. В спектрах ЯМР ^{13}C соединений **51**, **52** наблюдаются сигналы тиадиазольного фрагмента (δ 165.3, 145.1 м.д.). Кроме того, в спектрах ЯМР ^1H пиразола **49** и тиадиазолов **51**, **52** прослеживается влияние гетероциклического фрагмента на ХС *гем*-диметильных групп C23, C24 (слабопольный сдвиг на ≈ 0.5 м.д.).

Таким образом, впервые получены и охарактеризованы [3,2-*c*]-пиразол- и 1,2,3-тиадиазол-производные, аннелированные с кольцом А метилового эфира бетулоновой кислоты.

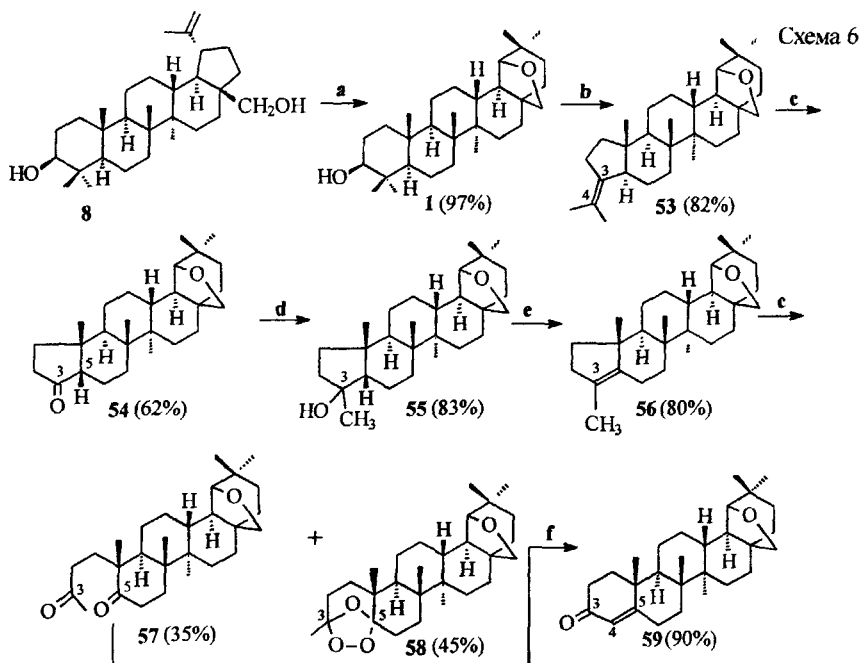
2. Синтез и превращения нор- и секотритерпеноидов

2.1. Синтез стероидоподобного производного 19 β ,28-эпоксиолеанана

Синтез тритерпеноидов, содержащих двойную связь в цикле А, предпринимался неоднократно с целью получения соединений с повышенной базовой фармакологической активностью. Так, производные $\Delta 1(2)$ и $\Delta 4(5)$ 18 α -H- и 18 β -H-глицирретовой кислот обнаружили мощную противовоспалительную активность. Интерес представляют также превращения, приводящие к стероидоподобным 4,4-динортритерпеноидам, осуществлённые недавно на основе производных олеаноловой, а ранее - глицирретовой кислот. Подобные соединения подавляют активацию ингибитора фактора некроза опухоли в макрофагах и эффективны как ингибиторы выработки NO-синтазы.

Актуальной является разработка схемы синтеза стероидоподобного производного олеананового типа из аллобетулина, легко получаемого

изомеризацией бетулина. Данная катализируемая кислотами перегруппировка известна давно, однако нами обнаружено, что использование в качестве кислотного агента CF_3COOH позволяет достаточно быстро при простой экспериментальной процедуре получать аллобетулин **1** с количественным выходом. Осуществлённый семистадийный синтез стероидоподобного производного представлен на схеме 6.



Условия: а. CF_3COOH , CH_2Cl_2 , 20 °С, 8 мин; б. PCl_5 , бензол-толуол, 0 °С, 30 мин;
 в. O_3 , CH_2Cl_2 , -60 °С, Zn/AcOH или Me_2S ; д. MeMgI , ТФГ/ Et_2O , 20 °С, 3 ч,
 е. POCl_3 , пиридин, 20 °С, 1 ч, ф. KOH/MeOH , 60 °С, 30 мин

На первом этапе аллобетулин подвергали дегидратации в присутствии PCl_5 при $T < 0$ °С с образованием 3-изопропилиден-*A*-нео-5 α H-19 β ,28-эпокси-18 α H-олеана **53**, который далее озонировали в CH_2Cl_2 при -60 °С и после восстановления перекисных продуктов (Zn/AcOH , Me_2S или гидрированием над катализатором Линдлара) выделяли 4,23,24-тринор-*A*-нео-5 β H-19 β ,28-эпокси-18 α H-олеан-3-он **54**. С использованием расчетов по

аддитивным схемам и интерпретации спектров ЯМР ^{13}C с модуляцией константы СН-взаимодействия и двумерной спектроскопии СН-корреляции нами проведено отнесение сигналов углеродных и протонных атомов в спектрах А-норкетона **54**. Эти данные свидетельствуют об изменении конфигурации протона Н5 с α - в олефине **53** на β - в норкетоне **54** и сочленения циклов А/В с *транс*- в более стабильное *цис*-состояние.

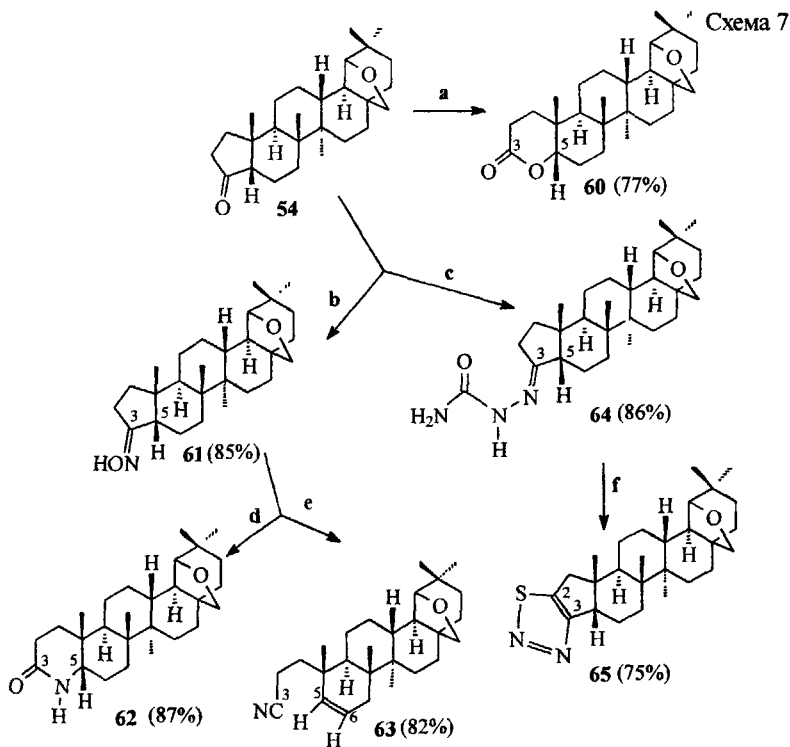
В результате действия реагента Гриньяра на А-норкетон **54** получен спирт **55** в виде смеси изомеров (соотношение 1:4 по данным спектра ЯМР ^1H). Дегидратация спирта **55** в пиридине в присутствии POCl_3 протекала при комнатной температуре с образованием 3-метил-4,23,24-тринор-А-нео-19 β ,28-эпокси-18 α Н-олеан-3(5)-ена **56**, что подтверждалось наличием сигналов двойной связи C3(5) в спектре ЯМР ^{13}C (δ 126.1, 141.6 м.д.). Озонирование олефина **56** проводили в CH_2Cl_2 при -60°C и после восстановления перекисей в реакционной смеси содержались два продукта: целевой 3,5-секо-3,5-дикетон **57** (35%) и 3,5-озонид **58** (45%), выделенные в индивидуальном состоянии после очистки колоночной хроматографией и охарактеризованные ЯМР и масс-спектрами. Последним этапом схемы **6** стала альдольная конденсация 3,5-секодикетона **57**, осуществлённая в среде MeOH в присутствии KOH . Выход 23,24-динор-19 β ,28-эпокси-18 α Н-олеан-3-он-4(5)-ена **59** в пересчёте на исходный бетулин составил 16%.

Таким образом, нами впервые реализована схема синтеза производного 19 β ,28-эпоксиолеанана со стероидным кольцом А из бетулина.

2.2. Синтез и превращения А-тринортритерпеноидов

4,23,24-Тринор-5 β Н-кетон **54** является перспективным соединением для синтеза модифицированных нортритерпеноидов с *цис*-сочленением циклов А/В. С использованием окисления по реакции Байера-Виллигера, Бекмановской перегруппировки первого и второго рода кетоксима и построения тиadiaзольного фрагмента по реакции Харда-Моури получены производные **60-65** (схема 7). Так, окисление А-нор-5 β Н-кетона **54** *m*-CPBA давало лактон **60** с хорошим выходом, причем для полной конверсии

исходного соединения потребовалось 7 дней. Перегруппировка оксима **61** под действием SOCl_2 в абсолютном диоксане протекала с количественным образованием лактама **62**. В соединениях **60** и **62** *цис*-сочленение колец А/В сохраняется, что подтверждается сигналом H5 в виде уширенного синглета с малыми КССВ.



Условия. а *m*-CPBA, 20 °С, 7 дней; б. $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, пиридин, 115 °С, 2 ч; в $\text{NH}_2\text{NHCONH}_2\text{HCl}$, $\text{EtOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$, 40 °С, 6 ч; д. SOCl_2 , диоксан, 22 °С, 5 ч; е. *p*-TsCl, пиридин, 115 °С, 5 ч; ф SOCl_2 , CH_2Cl_2 , 22 °С, 6 ч

В результате перегруппировки Бекмана второго рода оксима **61** под действием *n*-TsCl в пиридине выделили тритерпеновый 3,5-секо-нитрил **63**. Реакция гетероциклизации семикарбаза **64** протекала в присутствии

аддитивным схемам и интерпретации спектров ЯМР ^{13}C с модуляцией константы СН-взаимодействия и двумерной спектроскопии СН-корреляции нами проведено отнесение сигналов углеродных и протонных атомов в спектрах А-норкетона **54**. Эти данные свидетельствуют об изменении конфигурации протона Н5 с α - в олефине **53** на β - в норкетоне **54** и сочленения циклов А/В с *транс*- в более стабильное *цис*-состояние.

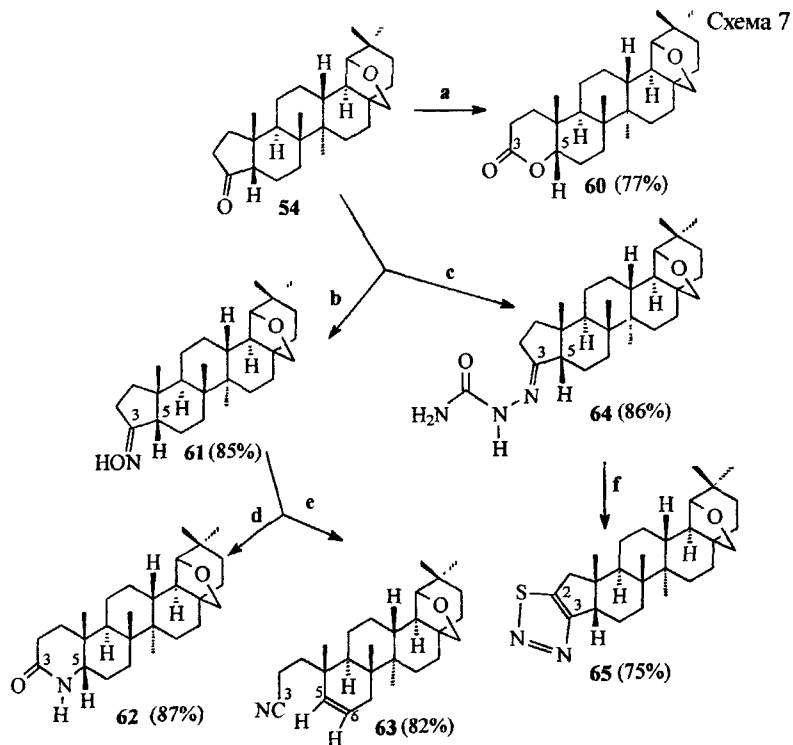
В результате действия реагента Гриньяра на А-норкетон **54** получен спирт **55** в виде смеси изомеров (соотношение 1:4 по данным спектра ЯМР ^1H). Дегидратация спирта **55** в пиридине в присутствии POCl_3 протекала при комнатной температуре с образованием 3-метил-4,23,24-тринор-А-нео-19 β ,28-эпокси-18 α Н-олеан-3(5)-ена **56**, что подтверждалось наличием сигналов двойной связи C3(5) в спектре ЯМР ^{13}C (δ 126.1, 141.6 м.д.). Озонирование олефина **56** проводили в CH_2Cl_2 при -60°C и после восстановления перекисей в реакционной смеси содержались два продукта: целевой 3,5-секо-3,5-дикетон **57** (35%) и 3,5-озонид **58** (45%), выделенные в индивидуальном состоянии после очистки колоночной хроматографией и охарактеризованные ЯМР и масс-спектрами. Последним этапом схемы **6** стала альдольная конденсация 3,5-секодикетона **57**, осуществлённая в среде MeOH в присутствии KOH . Выход 23,24-динор-19 β ,28-эпокси-18 α Н-олеан-3-он-4(5)-ена **59** в пересчёте на исходный бетулин составил 16%.

Таким образом, нами впервые реализована схема синтеза производного 19 β ,28-эпксиолеанана со стероидным кольцом А из бетулина.

2.2. Синтез и превращения А-тринортритерпеноидов

4,23,24-Тринор-5 β Н-кетон **54** является перспективным соединением для синтеза модифицированных нортритерпеноидов с *цис*-сочленением циклов А/В. С использованием окисления по реакции Байера-Виллигера, Бекмановской перегруппировки первого и второго рода кетоксима и построения тиadiaзольного фрагмента по реакции Харда-Моури получены производные **60-65** (схема 7). Так, окисление А-нор-5 β Н-кетона **54** *m*-CPBA давало лактон **60** с хорошим выходом, причем для полной конверсии

исходного соединения потребовалось 7 дней. Перегруппировка оксима **61** под действием SOCl_2 в абсолютном диоксане протекала с количественным образованием лактама **62**. В соединениях **60** и **62** *цис*-сочленение колец А/В сохраняется, что подтверждается сигналом H5 в виде уширенного синглета с малыми КССВ.

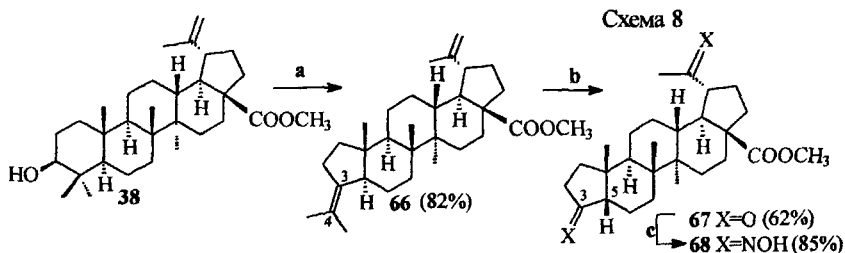


Условия. а *m*-CPBA, 20 °С, 7 дней; б. $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$, пиридин, 115 °С, 2 ч; в $\text{NH}_2\text{NHCONH}_2 \cdot \text{HCl}$, $\text{EtOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$, 40 °С, 6 ч; д SOCl_2 , диоксан, 22 °С, 5 ч, е. *p*-TsCl, пиридин, 115 °С, 5 ч; ф SOCl_2 , CH_2Cl_2 , 22 °С, 6 ч

В результате перегруппировки Бекмана второго рода оксима **61** под действием *p*-TsCl в пиридине выделили тритерпеновый 3,5-секо-нитрил **63**. Реакция гетероциклизации семикарбазона **64** протекала в присутствии

избытка SOCl_2 в CH_2Cl_2 с образованием 1,2,3-триадиозола **65** (74%), структура которого подтверждена ЯМР и масс-спектрами.

Для получения производных тетранорлупана нами реализован описанный выше подход, заключающийся в окислительном расщеплении озонлизом изопропилиденового фрагмента в олефине **66**, который может быть легко получен из метилового эфира бетулиновой кислоты **38** в результате перегруппировки Вагнера-Меервейна (схема 8). Озонлиз ангидропроизводного **66** привел к получению метилового эфира 4,23,24,29-тетранор-*A*-нео-5βH-3,20-диоксо-луп-28-овой кислоты **67** с *цис*-сочленением колец А/В, что подтверждается значением ХС атома С5 в спектре ЯМР ^{13}C (δ 57.8 м.д.).



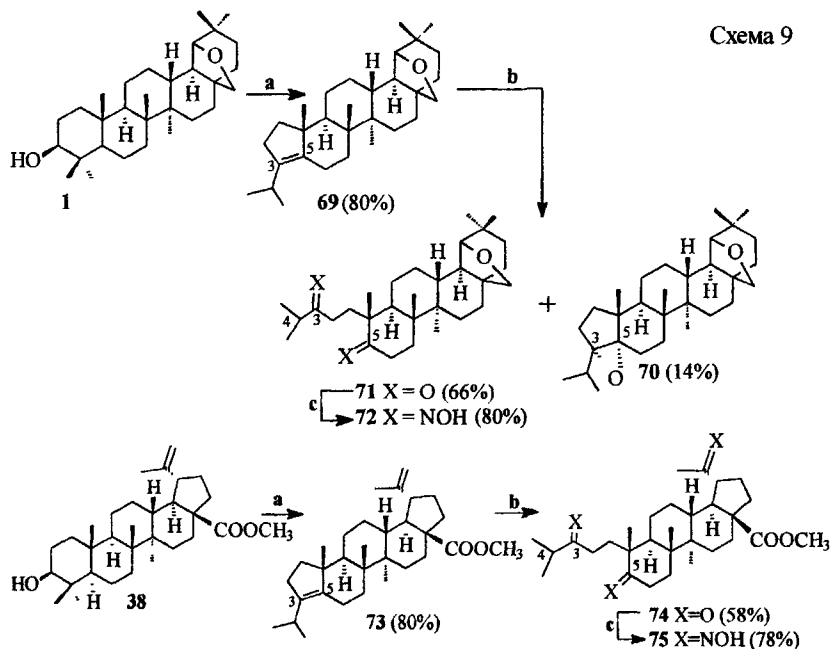
Тритерпеновый кетон **67** был охарактеризован в виде соответствующего оксима **68**, полученного стандартной реакцией с $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ в пиридине, что подтверждается сигналами атомов при С3, С20 при δ 165.7, 162.3 м.д. в спектре ЯМР ^{13}C .

Таким образом, впервые получены производные тринор-19β,28-эпокси-18α-олеана **60-65** и тетранор-лупана **67**, **68** с *цис*-сочленением циклов А/В.

2.3. Синтез 4,5-секотритерпеноидов и устойчивых озонидов аллобетулина

Известно, что дегидратация 3β-гидрокситритерпеноидов в присутствии PCl_5 при $T = 0-10$ °С позволяет получать олефины с *эндо*-положением

двойной связи в кольце А. В результате перегруппировки Вагнера-Меервейна из аллобетулина **1** и метилового эфира бетулиновой кислоты **38** нами получены и охарактеризованы 3(5)-ен-производные **69** и **73** (схема 9). Их озонлиз в CH_2Cl_2 при -60°C с восстановлением перекисных продуктов позволил получить новые производные 4,5-секо-3,5-диоксо-19 β ,28-эпокси-18 α -олеана **71** и 4,5-секо-3,5,20-триоксо-29-норлупана **74**, охарактеризованные в виде соответствующих оксимов **72** и **75**.



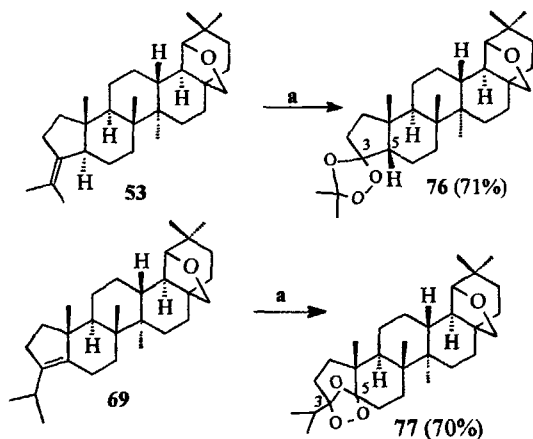
Условия **a** PCl_5 , бензол-толуол, 5-10 $^\circ\text{C}$, 30 мин, **b** O_3 , CH_2Cl_2 , -60°C , Zn/AcOH или Me_2S ;
c $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, пиридин, 115 $^\circ\text{C}$, 3 ч

В качестве минорного продукта озонлиза указанного ангидропроизводного аллобетулина **69**, содержащего стерически затруднённую двойную связь, был выделен 3 α ,5 α -эпоксид **70**, структура которого подтверждена РСА. При озонировании ангидропроизводного метилбетулината **73** аналогичный эпоксид в индивидуальном состоянии

выделен не был, что, по-видимому, связано с трудностью хроматографирования реакционной массы.

Выше нами отмечалось (раздел 2.1.), что при озонлизе олефина **56** был выделен озонид **58**, который оказался устойчив к действию таких восстановителей как $Zn/AcOH$ или Me_2S . Отметим, что наличие перекисных фрагментов положительно сказывается на проявлении биологических свойств (например, дитерпеноид секо-кадалинового ряда артемизинин известен своей высокой противомаларийной активностью). Мы предположили, что устойчивые озониды можно получить из других производных аллобетулина, содержащих затруднённую двойную связь.

Схема 10



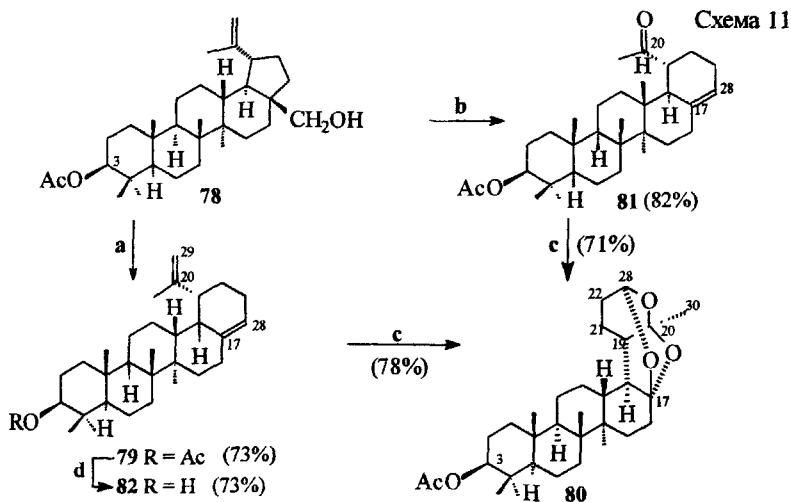
Условия: а. O_3 , CH_2Cl_2 , $-60^\circ C$

Действительно, после озонирования ангидропроизводных **53**, **69** без восстановления перекисных продуктов с последующей очисткой реакционной массы колоночной хроматографией нами были выделены озониды **76** и **77** (схема 10), физико-химические свойства которых не изменялись в течение двух лет при хранении в обычных условиях. Согласно масс-спектрам, озониды **76** и **77** имеют состав $C_{30}H_{48}O_4$, в спектрах ЯМР отмечены соответствующие сигналы карбонильных атомов (δ 110.5 и 112.0 м.д. для соединения **76** и δ 113.2 и 118.7 м.д. для соединения **77**).

Таким образом, при озонлизе тритерпеновых олефинов впервые получены производные 4,5-секо-олеана и 4,5-секо-лупана. Впервые обнаружено образование устойчивых тритерпеновых озонидов при озонлизе 3(4)- и 4(5)-*en*-производных 19 β ,28-эпокси-18 α H-олеана без восстановления перекисных продуктов.

2.4. Новая модификация цикла Е тритерпеноидов типа лупана

Модификация кольца Е лупановых тритерпеноидов проводилась, в основном, исходя из производных 18(19)-лупена с использованием окислителя RuO₄ с образованием три-, тетранорпроизводных, в ряде случаев обладающих противоопухолевой активностью.



Условия: а POCl₃, пиридин, 100 °С, 2 ч; б O₃, -60 °С, Zn/AcOH или Me₂S, TsCl, пиридин, 20 °С, 48 ч, NaOAc/AcOH, 100 °С, 2 ч, в. O₃, CH₂Cl₂ - MeOH, -60 °С, Zn/AcOH или Me₂S, д 5% KOH/MeOH, 22 °С, 2 ч

Нами предложено новое направление скелетной модификации цикла Е тритерпеноидов типа лупана, базирующееся на озонлизе производных 22(17→28)-*abeo*-луп-17(28),20(29)-диена. 3 β -*O*-Ацетил-22(17→28)-*abeo*-луп-17(28),20(29)-диен 79 был синтезирован из 3 β -*O*-ацетилбетулина 78 нагреванием в пиридине при 100 °С в присутствии POCl₃ (схема 11), его строение установлено РСА.

Озонолиз диена **79** в растворе при -60°C с последующим восстановлением перекисных продуктов и очисткой колоночной хроматографией привёл к получению продукта, не содержащего ожидаемых карбонильных групп. Согласно масс-спектру, соединение имеет состав $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_5$. Спектр ЯМР ^{13}C характеризуется сигналами трёх углеродных атомов, связанных с атомами кислорода (δ 94.8, 104.5 и 105.5 м.д.), что указывает на наличие триоксанового фрагмента в кольце E. Это позволило определить структуру продукта озонолиза как кеталь **80**. Для подтверждения строения был проведен озонолиз 3β -O-ацетил-22(17→28)abeo-29-нор-20-кето-луп-17(28)-ена **81**, полученного из 3β -O-ацетилбетулина **78** в три стадии. После восстановления продуктов озонолиза кетона **81** выделено соединение, которое по своим физико-химическим и спектральным данным было идентично кеталю **80**.

Таким образом, при восстановительном превращении перекисных продуктов озонолиза производных 3β -O-ацетил-22(17→28)abeo-луп-17(28),20(29)-диена в результате перэтерификации ацеталь-кетального типа получено соединение с триоксановым фрагментом, что является новым направлением скелетной модификации цикла E тритерпеноидов типа лупана.

3. Фармакологическая активность и антифидантное действие тритерпеновых производных лупановой и олеанановой групп*

Противовирусные свойства тритерпеноидов **26**, **27**, **49**, **50**, **51**, **54**, **79**, **80**, **82**, **84** определяли в экспериментах на культурах клеток с вирусами герпеса простого типа 1 (ВГП-1), гриппа A/FPV/Rostock/34 (H7N1) и энтеровирусом ЕСНО6.

Установлено, что все изученные соединения обладают противовирусными свойствами, однако отмечено неодинаковое влияние строения соединений на степень активности.

Высокоактивным в отношении вируса герпеса оказался пиразол метилового эфира бетулоновой кислоты **49** и 3β -O-ацетил-22(17→28)abeo-луп-17(28),20(29)-диен **79**. Метилвый эфир дигидробетулиновой кислоты **84**

и оксим метилбетулопата **26** обладают умеренной противовирусной активностью в отношении вируса герпеса простого типа 1 и не активны в отношении двух других использованных вирусов. Малоактивными в отношении ВГП-1 оказались соединения **50, 51, 54, 79** и **80**.

В отношении вируса гриппа активность средней степени выраженности проявил кеталь **80**. Слабой противовирусной активностью обладали соединения **49, 50, 54, 51, 79**. В отношении энтеровируса ЕСНО6 соединения **26, 27** показали слабую активность.

Исследование гепатопротекторной активности оксима бетулоновой кислоты **25** показало, что соединение обладает выраженной желчегонной активностью, близкой к активности известного гепатопротектора карсила. Кроме того, данное соединение предотвращает образование деструкций слизистой оболочки желудка, однако его противоязвенная активность уступает действию препарата вентера.

Скрининг ацилатов бетулина позволил выявить соединение **16**, которое обладало противовоспалительной активностью аналогично препарату сравнения ортофену.

Исследование эффективности аллобетулина **1** и его ацилатов **9 - 11, 24** в отношении личинок колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* показало, что аллобетулин **1** и его эфир с перметриновой кислотой **11** проявляют антифидантную активность во всех использованных концентрациях, последний также сочетает ее с инсектицидным действием.

Таким образом, выявлены новые тритерпеновые соединения, обладающие противовирусной, гепатопротекторной, противоязвенной, противовоспалительной активностью и антифидантным действием.

* Изучение противовирусной активности производных тритерпеноидов выполнено в НИИ эпидемиологии и микробиологии МЗ Беларуси под руководством д.м.н. Е.И. Борко; изучение гепатопротекторной, противоязвенной и противовоспалительной активности выполнено в лаборатории Новых лекарственных средств ИОХ УНЦ РАН под руководством к.б.н. Басченко Н. Ж., изучение антифидантной активности выполнено в лаборатории Биохимии адаптивности насекомых ИБГ УНЦ РАН под руководством д.б.н. Николенко А. Г.

Выводы

1. Разработаны новые направления скелетной модификации колец А и Е бетулина, позволившие получить производные А-динор-, А-тринор-, А-секоолеанана и А-тринор-, Е-нор-, тетранор-, А-секолулана.
2. Осуществлён синтез стероидоподобного тритерпеноида 23,24-динор-19 β ,28-эпокси-18 α -олеан-3-он-4(5)-ена из бетулина с общим выходом 16%. На основе 4,23,24-тринор-А-нео-5 β H-19 β ,28-эпокси-18 α -олеан-3-она получены нортритерпеновые производные с *цис*-сочленением циклов А/В, содержащие фрагменты лактона, лактама, триадиазола и секонитрила.
3. Предложен перспективный подход синтеза 4,5-секо-тритерпеноидов, основанный на озонолитическом расщеплении 4(5)-ен-производных аллобетулина и метилбетулината. При озонировании А-нео-ангидропроизводных аллобетулина впервые выделены устойчивые озониды.
4. Установлено, что в результате восстановительного превращения перекисных продуктов озонлиза производных 3 β -О-ацетил-22(17 \rightarrow 28)абелуп-17(28),20(29)-диена происходит перезтерификация ацеталь-кетального типа с образованием тритерпенового производного, содержащего триоксановый фрагмент в цикле Е.
5. Проведена функционализация бетулина и аллобетулина с получением производных [3,2-с]пиразола, 1,2,3-триадиазола, 3-О-2-дезоксиде-, и 3-О-2,6-дидезокси- α -L-арабино-гексопиранозидов. Синтезировано 30 новых ацилатов 3 β -гидрокси- и 3-оксиминотритерпеноидов.
6. Среди новых тритерпеновых производных бетулина и аллобетулина выявлены вещества, обладающие противовирусной, гепатопротекторной, противоязвенной, противовоспалительной активностью, антифидантным и инсектицидным действием.

Основное содержание работы изложено в публикациях:

1. Флехтер О. Б., Медведева Н. И., Карачурина Л. Т., Балтина Л. А., Зарудий Ф. С., Галин Ф. З., Толстиков Г. А. "Синтез и противовоспалительная активность новых ацилпроизводных бетулина" // Хим.-фарм. журнал. – 2002. – Т. 36. - №9. - С. 29-32.
2. Нигматуллина Л. Р., Флехтер О. Б., Балтина Л. А., Медведева Н. И., Толстиков Г. А. "Синтез метилового эфира [3,2-с]-пиразол-луп-20(29)-ен-28-овой кислоты" // Химия природ. соедин. - 2002. - №6. - С. 458-459.
3. Флехтер О. Б., Третьякова Е. В., Медведева Н. И., Балтина Л. А., Галин Ф. З., Толстиков Г. А., Бакулев В. А. "Синтез терпеновых 1,2,3-триадиазолов на основе циклопентанонпимаровой и бетулоновой кислот" // ЖОрХ. – 2004. - Т. 40. – Вып. 1. - С. 99-101.
4. Медведева Н. И., Флехтер О. Б., Балтина Л. А., Галин Ф. З., Толстиков Г. А. "Синтез 4,5-секо-производных аллобетулина" // Химия природ. соедин. - 2004. - №3. - С. 209-211.
5. Флехтер О. Б., Бореко Е. И., Нигматуллина Л. Р., Павлова Н. И., Медведева Н. И., Николаева С. Н., Третьякова Е. В., Савинова О. В., Балтина Л. А., Карачурина Л. Т., Галин Ф. З., Зарудий Ф. С., Толстиков Г. А. "Синтез и фармакологическая активность ацилированных оксимов бетулоновой кислоты и 28-оксо-аллобетулона" // Хим.-фарм. журнал. – 2004. - Т. 38. - №3. - С. 31-34.
6. Флехтер О. Б., Бореко Е. И., Нигматуллина Л. Р., Павлова Н. И., Медведева Н. И., Николаева С. Н., Ашавина О. Ю., Савинова О. В., Балтина Л. А., Галин Ф. З., Толстиков Г. А. "Синтез и противовирусные свойства производных лупановых тритерпеноидов" // Хим.-фарм. журнал. – 2004. - Т. 38. - №7. - С. 10-13.
7. Медведева Н. И., Флехтер О. Б., Третьякова Е. В., Галин Ф. З., Балтина Л. А., Спирихин Л. В., Толстиков Г. А. "Синтетические трансформации высших терпеноидов. XI. Синтез производных А-нор-5ВН-19β,28-эпокси-18α-олеан-3-она" // ЖОрХ. – 2004. - Т. 40. – Вып. 8. - С. 1140-1145.
8. Флехтер О. Б., Медведева Н. И., Карачурина Л. Т., Балтина Л. А., Галин Ф. З., Зарудий Ф. С., Толстиков Г. А. "Синтез и фармакологическая активность эфиров бетулина, бетулиновой кислоты и аллобетулина" // Хим.-фарм. журнал. – 2005. - Т. 39. - №8. - С. 9-12.
9. Медведева Н. И., Флехтер О. Б., Балтина Л. А., Галин Ф. З., Толстиков Г. А. "Синтез 2-дезоксид-α-гликозидов бетулиновой кислоты" // Тезисы докладов Молодежной научной школы по органической химии. - Екатеринбург, 2-6 мая 2000 г. - С. 242.
10. Флехтер О. Б., Балтина Л. А., Нигматуллина Л. Р., Медведева Н. И., Ашавина О. Ю., Толстиков Г. А., Галин Ф. З. "Синтез физиологически активных веществ на основе бетулина и его производных" // Тезисы докладов Всероссийской конференции «Химия и технология растительных веществ». - Сыктывкар, 25-30 сентября 2000 г. – С.148.
11. Flekhter O., Nigmatullina L., Medvedeva N., Tret'yakova E., Ashavina O., Tolstikov G. "Development of betulinic and quinopimaric acids as a route to new

drugs" // From the Book of Abstracts of XVI International Symposium on Medicinal Chemistry. – Bologna. – Italy, 18-22 September 2000. - PA-153.

12. Медведева Н.И., Флехтер О.Б., Балтина Л.А., Галин Ф.З., Толстиков Г.А. "Ацилирование бетулина и аллобетулина" // Тезисы докладов Молодежной научной школы-конференции "Актуальные проблемы органической химии". - Новосибирск, 2-6 апреля 2001 г. - С. 179.

13. Flekhter O.B., Nigmatullina L.R., Medvedeva N.I., Ashavina O.Y., Tret'yakova E.V., Barzilova A.B., Baltina L.A., Galin F.Z., Tolstikov G.A. "New transformations of lupane triterpenoids" // From the Book of abstracts of the 12th European Symposium on Organic Chemistry. - Groningen, July 13-18, Netherlands 2001. - P2-76.

14. Flekhter O.B., Nigmatullina L.R., Medvedeva N.I., Ashavina O.Y., Tret'yakova E.V., Baltina L.A., Galin F.Z., Tolstikov G.A. "Transformations of lupane triterpenoids" // Тезисы докладов научной конференции, посвященной 70-летию со дня рождения академика В. А. Коптюга "Современные проблемы органической химии". - Новосибирск, 17-21 сентября 2001 г. - С. 100.

15. Медведева Н. И., Флехтер О. Б., Балтина Л. А., Галин Ф. З., Толстиков Г. А. "Синтез норпроизводных метилбетулината" // Тезисы докладов V Молодежной научной школы-конференции по органической химии. - Екатеринбург, 22-26 апреля 2002 г. - С. 293.

16. Карачурина Л. Т., Флехтер О. Б., Сапожникова Т. А., Хисамутдинова Р. Ю., Макара Н. С., Третьякова Е. В., Медведева Н. И., Зарудий Ф. С., Галин Ф. З., Толстиков Г. А. "Противовоспалительные свойства ди- и тритерпеноидов" // Тезисы докладов VI Международной конференции "Биоантиоксидант". - Москва, 16-19 апреля 2002 г. - С. 249-250.

17. Флехтер О. Б., Бореко Е. И., Нигматуллина Л. Р., Медведева Н. И., Балтина Л. А., Толстиков Г. А., Карачурина Л. Т., Галин Ф. З. "Химические трансформации и биологическая активность лупановых тритерпеноидов" // Материалы II Всероссийской конференции "Химия и технология растительных веществ". – Казань, 24-27 июня 2002 г. - С. 26.

18. Медведева Н. И., Флехтер О. Б., Смирнова И. Е., Галин Ф. З., Балтина Л. А., Толстиков Г. А. "Синтез производных А-нор-5 β H-19 β ,28-эпокси-18 α -олеан-3-она" // Тезисы докладов Международной научной школы-конференции "Актуальные проблемы органической химии". - Новосибирск, 29 сентября-3 октября 2003 г. – Д42.

19. Medvedeva N. I., Flekhter O. B., Galin F. Z., Tolstikov G. A. "Synthesis of a new triterpenoid – steroid hybrid molecule from betulin" // From the Book of Abstracts of 2th International Conference on Natural Products and Physiologically Active Substances Italy, 12-17 September 2004. - PA-115.

№ 15812

РНБ Русский фонд

2006-4

15959

Отпечатано в типографии БИРО

Подписано в печать 23.08.05.

Тираж 125 экз. Заказ 093.

450005, Уфа, ул. Мингажева, 120