

УДК 547.92-304.7:547-302

DOI: 10.31040/2222-8349-2020-0-1-32-35

**СИНТЕЗ БРОМО- И АЗИДОПРОИЗВОДНЫХ
2-ЦИАНО-3,4-СЕКО-4(23)-ЕН-28-ОКСО-АЛЛОБЕТУЛОНА**

© А.В. Петрова

Разработка фармакологических агентов на основе доступных тритерпеноидов является актуальным направлением медицинской химии. Большое число публикаций по выделению и модификациям нативных тритерпеноидов свидетельствует о важности этих соединений, как перспективных в синтезе новых фармакологических средств с противоопухолевой, противовоспалительной, противовирусной, антидиабетической и другими типами активностей. Наличие базовой активности у немодифицированных аналогов говорит о возможности использования тритерпеноидов в качестве самостоятельного средства или в сочетании с уже известными препаратами, но ряд недостатков, а именно низкая растворимость и биодоступность, ограничивают их применение. Поэтому значительная часть исследований сосредоточена на поиске подходящих пролекарств, которые обладают хорошими свойствами абсорбции, распределения, метаболизма и выведения. Основная масса публикаций направлена на введение *N*-содержащих функциональных групп, в том числе и гетероциклических (три- и тетразолы, оксадиазолы), а также конденсированных с кольцом А (индоло-, пиразино-, пиразоло-, оксазолопроизводных). По реакции Манниха, взаимодействием с вторичными аминами получают пропаргиламиноалкильные производные, среди которых найдены соединения с противоопухолевой активностью [1]. Другая группа соединений, представляющая интерес, содержит в своей структуре нитрильную группу. Яркий представитель такого класса производных – метилбардоксолон и его производные, имеющие цианофрагмент в С2-положении [2]. С другой стороны, нитрильная группа является привлекательной с целью дальнейшей модификации (восстановление алюмогидридом лития) с получением аминосоединений, которые ввиду большей полярности, а вследствие и растворимости, обладают лучшей биодоступностью. При этом большая часть модификаций проводится по изопрופןильной, карбоксильной и/или спиртовой группе, значительно меньше работ представлено по функционализации кольца А 2-циано-3,4-секопроизводных. В данной работе представлен синтез бромо- и азидопроизводных 3,4-секо-2-циано-28-оксо-аллобетулона. Показано, что 3,4-секо-2-циано-4(23)-ен-24-азидо-28-оксо-аллобетулон обладает цитотоксичностью в отношении клеток лейкемии HL-60(ТВ).

Ключевые слова: А-секо-тритерпеноиды, противоопухолевая активность.

Введение. Природные соединения с различными углеродными остовами и разнообразной биологической активностью являются перспективными платформами в создании новых фармакологически активных агентов. Встречающиеся в природе А-секо-тритерпеноиды обладают противоопухолевой, противовоспалительной и другими типами активности. Так, А-секо-кукурбитановые тритерпеноиды проявили ингибирующую активность в отношении ацетилхолинэстеразы *in vitro* со значениями IC₅₀ 2.6 и 3.1 мМ. [3]. Среди синтезированных аналогов с фрагментированным кольцом А были обнаружены соединения с противовирусной и антидиабетической активностью [4, 5]. А-секолупановые тритерпеноиды с альдегидной функцией в положениях С3 и С30 обладают

выраженным цитотоксическим эффектом (IC₅₀ 0.64–3.49 мМ) в отношении различных раковых клеток [6]. 3,30-Дикарбокси-А-секо-глицциретовая кислота демонстрирует заметное ингибирование репликации ДНК вируса гепатита В с IC₅₀ 12.3 мМ. [7]. В связи с этим актуальным является синтез и модификация новых биологически активных А-секо-производных тритерпеноидов.

Результаты и их обсуждение. 3,4-Секонитрил 28-оксоаллобетулон **1** [8], содержащий одну изопрופןильную группу в цикле А, был выбран для проведения запланированных модификаций. Аллильное бромирование тритерпеноида **1** *N*-бромсукцинимидом в среде сухого СС₄ приводило к образованию 24-бромпроизводного **2**, дальнейшее взаимодей-

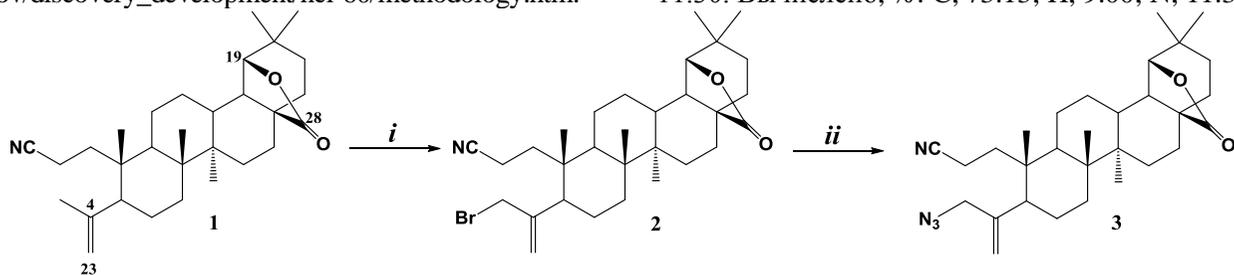
ствии которого с NaN_3 в присутствии NH_4Cl давало азид **3** (рис.). О получении соединений **2** и **3** судили по данным ЯМР-спектроскопии. Так, в спектре ЯМР ^1H для 24-бромида **2** наблюдается сигнал метиленовой группы в виде дублет дублета в области 3.85 и 4.00 м.д., замена брома на азидо-группу смещал сигнал в область 3.60 и 3.78 м.д. В спектрах ЯМР ^{13}C наблюдается смещение сигналов C4(23) двойной связи (146(114)→144(117) м.д.), а также для соединения **3**, наблюдается появление сигнала при 57 м.д., характерного для метиленового углерода при азидной функции.

Полученные соединения были протестированы Национальным Институтом Рака (NCI, USA) в отношении 60 клеточных линий 9 типов рака человека в концентрации 100 мкМ. Исходный 3,4-секонитрил **1** и его бромид **2** не проявили противоопухолевой активности. Замена брома на азидо-функцию выявило цитотоксичность в отношении клеток HL-60(ТВ) лейкемии со значением ингибирования роста 22.68% (табл.).

Экспериментальная часть. Температуры плавления определяли на микростолике "Voetius". Оптическое поглощение измеряли на поляриметре "Perkin-Elmer 241 MC" (Германия) в трубке длиной 1 дм. ТСХ-анализ проводили на пластинках Сорбфил (ЗАО Сорбполимер, Россия), используя систему растворителей хлороформ-этилацетат, 40:1. Вещества обнаруживали 10% раствором серной кислоты с последующим нагреванием при 100–120°C в течение 2–3 мин. Элементный анализ осуществляли на CHNS-анализаторе EuroEA-3000, основной стандарт ацетанилид. Колоночную хроматографию проводили на SiO_2 (Silica 60, Macherey-Nagel). Спектры ЯМР ^1H , ^{13}C зарегистрированы на импульсном спектрометре «Bruker» Avance III с рабочей частотой 500.13 МГц (^1H и ^{13}C). Химические сдвиги в спектрах ЯМР ^1H и ^{13}C приведены в м.д. относительно сигнала внутреннего стандарта тетраметилсилана (ТМС). 3,4-Секо-2-циано-28-оксо-аллобетулон **1** получали по описанной ранее методике [8]. Методика тестирования противоопухолевой активности *in vitro* соединений **1-3** в NCI (США) описана на сайте https://dtp.cancer.gov/discovery_development/nci-60/methodology.htm.

Синтез 3,4-секо-2-циано-24-бромо-4(23)-ен-28-оксо-аллобетулона (2) Смесь 1 ммоль соединения **1** (0.45 г) и 1.7 ммоль N-бромсукцинимида (0.3 г) в сухом CCl_4 (15 мл) кипятили 2 ч. Далее реакционную смесь выливали в H_2O (30 мл), органический слой отделяли, промывали H_2O (2×30), сушили над CaCl_2 . Сырой продукт хроматографировали на колонке с SiO_2 элюируя смесью петролейный эфир – этилацетат (15:1→9:1) с получением кристаллов белого цвета. Выход 85% (0.45 г). R_f 0.84. Т.пл. 167 °C. $[\alpha]_D^{20} + 17.3$ (с 0.025, CHCl_3). Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м.д.: 0.81, 0.89, 0.98, 1.07, 1.70 (15H, с, 5 CH_3), 1.10–2.40 (24H, м, CH, CH_2), 3.85 и 4.00 (2H, оба д, $\text{CH}_2\text{-Br}$), 3.95 (1H, CH, H-19), 5.02 и 5.40 (2H, оба с, H-4). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3), δ , м.д.: 11.4, 13.5, 14.1, 15.6, 20.2, 21.7, 22.7, 23.9, 24.1, 25.5, 25.9, 27.8, 28.7, 31.9, 32.1, 32.3, 33.6, 34.3, 36.0, 39.7, 40.3, 41.1, 46.1, 46.6, 50.6, 85.9 (C-19), 114.1 (C-23), 120.2 (CN), 146.9 (C-4), 179.7 (C-28). Найдено для $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{BrNO}_2$ (530.59), %: C, 67.85; H, 8.41; Br, 15.11; N, 2.69. Вычислено, %: C, 67.91; H, 8.36; Br, 15.06; N, 2.64.

Синтез 3,4-секо-2-циано-24-азидо-4(23)-ен-28-оксо-аллобетулона (3). Смесь 1 ммоль соединения **2** (0.53 г) и 1 ммоль NaN_3 (0.07 г) в 20 мл сухого MeCN кипятили 24 ч, затем реакционную смесь выливали в $\text{H}_2\text{O}/\text{H}^+$ (50 мл), осадок отфильтровывали, промывали до нейтральной среды, сушили на воздухе. Сырой продукт хроматографировали на колонке с SiO_2 элюируя смесью петролейный эфир – этилацетат (15:1→9:1) с получением кристаллов белого цвета. Выход 95% (0.47 г). R_f 0.80. Т.пл. 179 °C. $[\alpha]_D^{20} + 85$ (с 0.025, CHCl_3). Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м.д.: ^1H 0.83, 0.89, 0.90, 1.00, 1.02 (15H, с, 5 CH_3), 1.00–2.35 (24H, м, CH, CH_2), 3.60 и 3.78 (2H, оба д, $\text{CH}_2\text{-N}_3$), 3.95 (1H, CH, H-19), 5.05 и 5.25 (2H, оба с, H-4). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3), δ , м.д.: 11.5, 13.5, 15.5, 19.7, 21.7, 23.9, 24.9, 25.5, 25.9, 27.8, 28.7, 31.9, 32.2, 32.3, 33.6, 34.5, 35.9, 39.7, 40.2, 40.3, 41.1, 46.1, 46.6, 47.2, 57.2 ($\text{CH}_2\text{-N}_3$), 85.9 (C-19), 117.7 (C-23), 119.8 (CN), 144.6 (C-4), 179.6 (C-28). Найдено для $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_2$ (492.71), %: C, 73.20; H, 9.16; N, 11.30. Вычислено, %: C, 73.13; H, 9.00; N, 11.37.



Реагенты и условия: *i*. NBS, CCl_4 , 2 ч, Δ ; *ii*. NaN_3 , NH_4Cl , CH_3CN , 24 ч, Δ .

Рис. Синтез азида **3** из 3,4-секонитрил 28-оксоаллобетулона **1**

Противоопухолевая активность *in vitro* соединений 1-3
по отношению к клеткам рака человека 60 линий в концентрации 100 мкМ

Соединение	Средний рост, %	Диапазон роста, %	Чувствительность к клеточной линии
1	96.86	От 71.85 до 121.10	Не активный
2	93.43	От 72.66 до 120.02	Не активный
3	75.03	От 22.68 до 100.12	Leukemia: HL-60(TB) 22.68 %

Заключение. Таким образом, проведена новая модификация 28-оксоаллобетулона с получением бромо- и азидопроизводных как эффективных субстратов для проведения дальнейших трансформаций, включая разнообразные *N*-содержащие алифатические и гетероциклические производные.

Работа выполнена по теме Госзадания № АААА-А19-119020890014-7. Авторы благодарят National Cancer Institute, США за определение противоопухолевой активности *in vitro* соединений 1-3.

Литература

1. Khusnutdinova E.F., Petrova A.V., Kukovinets O.S., Kazakova O.B. Synthesis and cytotoxicity of 28-*N*-propargylaminoalkylated 2,3-indolotriterpenic acids // Nat. Prod. Comm. 2018. V. 13. P. 665–668.
2. Fu L., Lin Q.X., Onyango E.O., Liby K.T., Sporn M.B., Gribble G.W. Design, synthesis, and biological activity of second-generation synthetic oleanane triterpenoids // Org. Biomol. Chem. 2017. V. 15. P. 6001–6005.
3. Liu Y., Chen G., Chen X., Chen S.X., Gan L.S., Yuan T. Colocynthenins A-D, ring A seco-cucurbitane triterpenoids from the fruits of *Citrulluscolocynthis* // J. Nat. Prod. 2018. V. 81. P. 2115–2119.
4. Wang H., Yu F., Peng Y., Wang Q., Han X., Xu R., Zhou X., Wan C., Fan Z., Jiao P., Zhang Y., Zhang L., Zhou D., Xiao S. Synthesis and biological evaluation of ring A and/or C expansion and opening echinocystic acid derivatives for anti-HCV entry inhibitors // Europ. J. Med. Chem. 2015. V. 102. P. 594–599.
5. Liu Q.C., Guo T.T., Zhang L., Yu Y., Wang P., Yang J.F., Li Y.X. Synthesis and biological evaluation of oleanolic acid derivatives as PTB1B inhibitors // J. Nat. Prod. 2010. V. 73. P. 1743–1750.
6. Tolmacheva I.A., Nazarov A.V., Eroshenko D.V., Grishko V.V. Synthesis, cytotoxic evaluation, and molecular docking studies of the semi-synthetic «triterpenoid-steroid» hybrids // Steroids. 2018. V. 140. P. 131–143.
7. Li Z., Min Q., Huang H., Liu R., Zhu Y., Zhu Q. Design, synthesis and biological evaluation of seco-A-

pentacyclic triterpenoids-3,4-lactone as potent non-nucleoside HBV inhibitors // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2018. V. 28. P. 1501–1506.

8. Казакова О.И., Медведева Н.И., Ямансаров Э.Ю., Спирихин Л.В., Хуснутдинова Э.Ф., Куковинец О.С., Толстикова Г.А. Синтез хлорвиниловых производных на основе бетулина // Химия в интересах устойчивого развития. 2011. Т. 19. С. 373–376.

References

1. Khusnutdinova E.F., Petrova A.V., Kukovinets O.S., Kazakova O.B. Synthesis and cytotoxicity of 28-*N*-propargylaminoalkylated 2,3-indolotriterpenic acids. Nat. Prod. Comm., 2018, vol. 13, pp. 665–668.
2. Fu L., Lin Q.X., Onyango E.O., Liby K.T., Sporn M.B., Gribble G.W. Design, synthesis, and biological activity of second-generation synthetic oleanane triterpenoids. Org. Biomol. Chem., 2017, vol. 15, pp. 6001–6005.
3. Liu Y., Chen G., Chen X., Chen S.X., Gan L.S., Yuan T. Colocynthenins A-D, ring A seco-cucurbitane triterpenoids from the fruits of *Citrulluscolocynthis*. J. Nat. Prod., 2018, vol. 81, pp. 2115–2119.
4. Wang H., Yu F., Peng Y., Wang Q., Han X., Xu R., Zhou X., Wan C., Fan Z., Jiao P., Zhang Y., Zhang L., Zhou D., Xiao S. Synthesis and biological evaluation of ring A and/or C expansion and opening echinocystic acid derivatives for anti-HCV entry inhibitors. Europ. J. Med. Chem., 2015, vol. 102, pp. 594–599.
5. Liu Q.C., Guo T.T., Zhang L., Yu Y., Wang P., Yang J.F., Li Y.X. Synthesis and biological evaluation of oleanolic acid derivatives as PTB1B inhibitors, J. Nat. Prod., 2010, vol. 73, pp. 1743–1750.
6. Tolmacheva I.A., Nazarov A.V., Eroshenko D.V., Grishko V.V. Synthesis, cytotoxic evaluation, and molecular docking studies of the semi-synthetic «triterpenoid-steroid» hybrids. Steroids, 2018, vol. 140, pp. 131–143.
7. Li Z., Min Q., Huang H., Liu R., Zhu Y., Zhu Q. Design, synthesis and biological evaluation of seco-A-pentacyclic triterpenoids-3,4-lactone as potent non-nucleoside HBV inhibitors. Bioorg. Med. Chem. Lett., 2018, vol. 28, pp. 1501–1506.
8. Kazakova O.B., Medvedeva N.I., Yamansarov E.Yu., Spirikhin L.V., Khusnutdinova E.F., Kukovinets O.S., Tolstikov G.A. Synthesis of vinyl chloride derivatives on the basis of betulin. Chemistry for Sustainable Development, 2011, vol. 19, pp. 335–338.



**SYNTHESIS OF BROMO- AND AZIDODERIVATIVES
OF 2-CYANO-3,4-SECO-4(23)-EN-28-OXO-ALLOBETULONE**

© **A.V. Petrova**

Ufa Institute of Chemistry – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre
of the Russian Academy of Sciences,
69, prospect Oktyabrya, 450054, Ufa, Russian Federation

The development of pharmacological agents based on available triterpenoids is an important area of medicinal chemistry. A large number of publications on the isolation and modification of native triterpenoids indicates the importance of these compounds as promising in the synthesis of new pharmacological agents with antitumor, anti-inflammatory, antiviral, antidiabetic and other types of activities. The presence of basic activity in unmodified analogues indicates the possibility of using triterpenoids as an independent agent or in combination with already known drugs, but having a number of disadvantages, owing mainly to their low solubility and bioavailability, limit their use. Therefore, a significant part of the research has focused on finding suitable prodrugs that have good absorption, distribution, metabolism and excretion properties. Most publications are directed to the introduction of N-containing functional groups, including heterocyclic (tri- and tetrazoles, oxadiazoles), as well as condensed with ring A (indole-, pyrazine-, pyrazole-, oxazole-derivatives). According to the Mannich reaction, by interaction with secondary amines, propargylaminoalkyl derivatives with antitumor activity were obtained. Another group of compounds of interest contains nitrile groups in its structure. A striking representative of this class of derivatives is methylbardoxolone, and its derivatives having a cyano fragment in the C2 position. On the other hand, the nitrile group is attractive for the purpose of further modification (reduction with lithium aluminum hydride) to obtain amino compounds, which, due to their higher polarity and, due to their solubility, have better bioavailability. Moreover, most of the modifications are carried out on the isopropenyl, carboxyl and/or alcohol groups, much less work is presented on the functionalization of the A ring of 2-cyano-3,4-sec derivatives. This work presents the synthesis of bromo- and azido-derivatives of 3,4-seco-2-cyano-28-oxo-allobetulone. It has been shown that 3,4-seco-2-cyano-4(23)-en-24-azido-28-oxo-allobetulone has cytotoxicity with respect to HL-60 leukemia cells (TB).

Key words: A-seco-triterpenoids, antitumor activity.