

Р. Р. Губайдуллин (к.х.н., м.н.с.)¹, А. Ю. Каиров (студ.)², Ю. А. Прочухан (д.х.н., проф.)²

СИНТЕЗ НОВЫХ АЛКИНИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ БЕТУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

¹ Институт нефтехимии и катализа УФИЦ РАН,
лаборатория органического синтеза

450075, г. Уфа, пр. Октября 141, e-mail: rinatg83@mail.ru

² Башкирский государственный университет,

кафедра высокомолекулярных соединений и общей химической технологии

450076, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32, e-mail: kairov.ainur@yandex.ru, dissovet2@rambler.ru

R. R. Gubaidullin¹, A. Yu. Kairov², Yu. A. Prochukhan²

SYNTHESIS OF NOVEL ALKYNYL DERIVATIVES OF BETULINIC ACID AND STUDIES OF THEIR CYTOTOXIC ACTIVITY

¹ Institute of Petrochemistry and Catalysis of Russian Academy of Sciences

141, Prospekt Oktyabrya Str., 450075, Ufa, Russia, e-mail: rinatg83@mail.ru

² Bashkir State University

32, Zaki Validi Str., 450076, Ufa, Russia, e-mail: kairov.ainur@yandex.ru, dissovet2@rambler.ru

Синтезированы новые алкинильные производные тритерпеноидов из C2-пропаргильного производного бетулиновой кислоты реакцией кросс-сочетания по Соногашира. Реакции протекали за короткий промежуток времени в среде DMF под действием катализаторов PdCl₂(PPh₃)₂, CuI и основания Et₃N. Выход продуктов кросс-сочетания **5a-g** составил 50–78 %. Полученные соединения испытаны на противоопухолевую активность в национальном институте рака США (NCI) в отношении девяти различных опухолей человека. Три соединения были идентифицированы как «активные» и отобраны на второй этап испытаний *in vitro*. Соединения **4** и **5g** проявили значительную активность в отношении клеток лейкемии, немелкоклеточного рака легких, рака цнс, рака яичников, рака почек и рака молочных желез.

Ключевые слова: алкинильные производные тритерпеноидов; бетулин; бетулиновая кислота; цитотоксическая активность.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (Проект №16-33-6008).

New alkynyl derivatives of triterpenoids are synthesized from C2 propargyl derivative of betulinic acid via Sonogashira cross-coupling reaction. The reactions proceeded in a short time in DMF under the action of PdCl₂(PPh₃)₂, CuI, and Et₃N base. A yield of cross-coupling products **5a-g** was 50–78 %. The resulting compounds were tested *in vitro* for antitumor activity at the National Cancer Institute (NCI, United States) against nine different human tumors. Three compounds were identified as «active» and selected for the second stage of *in vitro* tests. Compounds **4** and **5g** have significant activity against leukemia cells, non-small cell lung cancer, cancer of CNS, ovarian cancer, renal cancer and breast cancer.

Key words: alkynyl derivatives of triterpenoids; betulin; betulinic acid; cytotoxic activity.

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (Project No. 16-33-6008).

Дата поступления 17.10.18

Бетулин **1**, бетулиновая и бетулоновая **2** кислоты относятся к классу лупановых тритерпеноидов, обладающих разнообразной биологической активностью, например, такой, как противовоспалительная, гепатопротекторная, антивирусная, антипаразитарная и антираковая ^{1–4}. Среди этих биологических свойств, противоопухолевые свойства бетулиновой кислоты и ее производных привлекают значительное внимание во всем мире, поскольку некоторые из них показали весьма многообещающие результаты в лечении различных типов рака ^{4,5}. В связи с этим, в последние годы в нашей исследовательской группе проводятся систематические исследования по выявлению новых биологически активных веществ, полученных синтетическими трансформациями доступных растительных вторичных метаболитов – тритерпеноидов лупанового, урсанового и олеанового семейства ^{6–11}.

Ранее нами были синтезированы С2-пропаргильные производные 3-оксо-тритерпеновых кислот. Известно, что многие природные ацетиленовые метаболиты проявляют высокую антираковую активность ¹². Поэтому нами были проведены исследования по модификации полученного С2-пропаргильного производного бетулоновой кислоты с получением алкинильных производных, которые были протестированы на противоопухолевую активность в национальном институте рака США (NCI) против следующих раковых клеточных линий: лейкемии, рака легких, толстой кишки, центральной нервной системы, меланомы, рака яичников, почек, простаты и рака молочных желез.

В качестве исходного субстрата мы использовали бетулин **1**, который в несколько стадий модифицировали в ацетиленовое производное бетулиновой кислоты **3** взаимодействием пропаргилбромидом с енолят-анионом, полученным обработкой метилового эфира бе-

тулоновой кислоты **2** реагентом $\text{KN}(\text{SiMe}_3)_2\text{-Et}_3\text{B}$ в 1,2-диметоксиэтаноле в разработанных нами ранее условиях ⁶ (схема 1).

Полученное пропаргильное производное **3** трансформировали в соединение **4** галогенолизом в присутствии LiI в ДМФА. Синтез алкинильных производных тритерпеноидов **5a–g** осуществляли кросс-сочетанием с арилиодидами по реакции Соногашира. Реакция протекала в течение 1–3 ч при комнатной температуре в среде ДМФА под действием катализаторов $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$, CuI и основания Et_3N . Выход конечных продуктов кросс-сочетания **5a–g** составил 50–78 % (схема 1).

Противоопухолевая активность синтезированных алкинильных производных тритерпеноидов (**7** соединений) была изучена в Национальном институте рака США (NCI) в отношении клеточных культур (приблизительно 60 линий) девяти различных опухолей человека (лейкемии, рака легких, толстой кишки, центральной нервной системы, меланомы, яичников, почек, простаты, молочной железы) по методике, описанной в NCI ^{13–18}.

При первичном тестировании активности соединения вносили в среду культивирования клеток в конечной концентрации 10^{-5} моль·л⁻¹. Каждую клеточную линию предварительно инкубировали на микротитровальной пластинке, после чего добавляли испытуемое соединение и культуру инкубировали 48 ч.

В соответствии с критерием, принятым в NCI (вещества считаются активными в случае, если они ингибируют рост клеток до 32% от контроля или вызывают их гибель), соединения **5a–e** оказались неактивными. Три соединения **4**, **5f**, **5g**, которые ингибировали рост клеток или убивали некоторые клеточные линии, были идентифицированы как «активные».

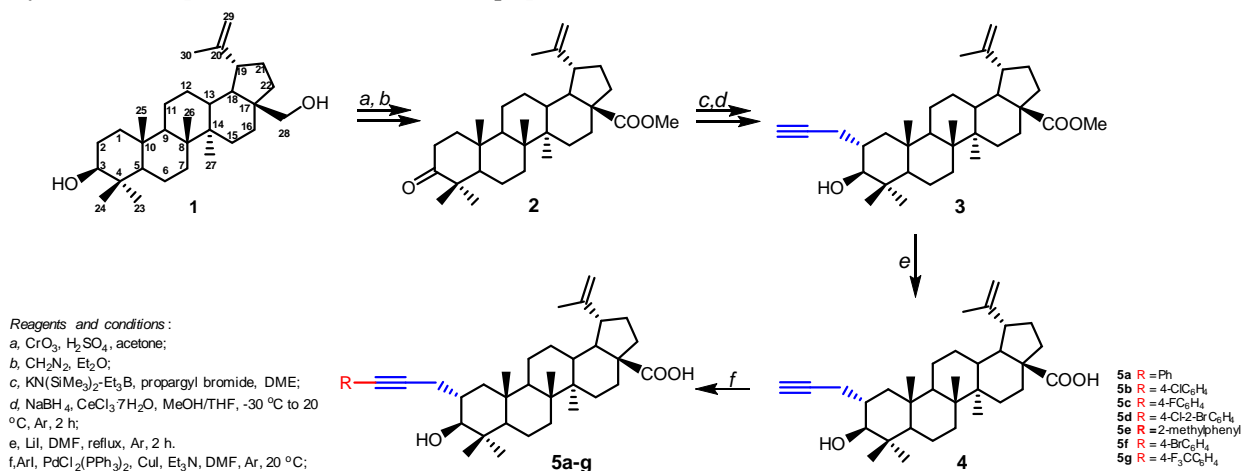


Схема 1

Все три соединения были отобраны на второй этап испытаний на той же панели опухолевых клеток человека, но уже в пяти логарифмических концентрациях (10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} моль·л⁻¹). Оценка в пяти концентрациях проводилась по трем параметрам GI50 (концентрация соединения, вызывающая уменьшение роста клеток на 50%), TGI (концентрация соединения, вызывающая 100% ингибирование роста клеток) и LC50 (концентрация, вызывающая гибель 50% раковых клеток в конце инкубационного периода, 48 ч). Соединения **4** и **5g** показали значительную активность более чем в 5 различных клеточных линиях при концентрации GI50 меньшей, чем 2 мМ. Соединение **5f** продемонстрировало активность в четырех различных клеточных линиях при концентрации GI50 меньшей, чем 3 мМ (табл. 1).

Таким образом нами получено семь новых производных бетулиновой кислоты путем модификации по С-2 позиции кольца А. Полученные соединения испытаны *in vitro* на противоопухолевую активность в Национальном институте рака США (NCI) в отношении девяти различных опухолей человека. Три соединения были идентифицированы как «активные» и отобраны

на второй этап испытаний *in vitro*. Два из них проявили значительную активность более чем в 5 различных клеточных линиях при концентрации GI50 меньше, чем 2 М. Полученные результаты в дальнейшем планируется использовать для синтеза новых производных бетулиновой кислоты с более перспективными противоопухолевыми свойствами.

Экспериментальная часть

ИК-спектры получали на спектрометре «Bruker Vertex 70v» в тонком слое или в растворе CHCl₃. Спектры ЯМР ¹H и ¹³C регистрировали на приборе «Bruker AVANCE-500» (рабочая частота для ¹H 500.13 МГц; для ¹³C 125.78 МГц) или на «Bruker AVANCE-400» (рабочая частота для ¹H 400.13 МГц; для ¹³C 100.62 МГц), внутренний стандарт Me₄Si, растворитель CDCl₃. Масс-спектры записывали на спектрометре «Bruker-Autoflex III» в режиме MALDI TOF с регистрацией положительных ионов и использованием в качестве матриц 2,5-дигидроксибензойной и α-циан-4-гидроксициннамовой кислот. Оптическое вращение определяли на поляриметре «Perkin-Elmer-141», [α]_D – удельное враще-

Таблица 1

Противораковая активность полученных соединений

Панель / клеточная линия	4			Панель / клеточная линия	4			Панель / клеточная линия	4		
	GI50				GI50				GI50		
Лейкемия				Рак толстой кишки				Рак яичников			
CCRF-CEM	2.36	3.57	2.99	SW-620	1.98	3.73	2.85	OVCAR-8	2.17	5.84	3.55
HL-60(TB)	2.57	22.4	6.2	Рак ЦНС				NCI/ADR-RES	2.03	62.6	4.73
K-562	2.32	15.6	1.93	SF-268	2.81	6.23	2.54	SK-OV-3	2.39	20.2	
MOLT-4	3.16	4.44	2.75	SF-295	1.45	12.6	2	Рак почек			
RPMI-8226	1.68	9.09	4.01	SF-539	2.68	22.5	2.22	786-0	1.71	5.27	3.2
SR	3.12	9.33	3.23	SNB-19	3.04	6.19	3.29	A498	1.88	2.42	3.16
Немелкоклеточный рак легкого				SNB-75	1.95	13.5	1.73	ACHN	1.5	13.5	4.04
A549/ATCC	1.31	2.8	2.6	U251	1.57	2.12	1.98	CAKI-1		15.6	2.63
EKVX	2.63		3.82	Меланома				RXF 393	1.7	5.5	2.39
HOP-62	2.08	12.4	2.37	LOX IMVI	2.63	5.65	2.09	SN12C	2.98	2.99	2.12
HOP-92	1.7	17	3.09	MALME-3M	2.53	3.48	2.11	TK-10	1.85	23.7	6.11
NCI-H226	2.05	24.2	2.91	M14	2.05	2.66	1.86	UO-31	1.83	> 100	6.52
NCI-H23	1.38	3.83	2.93	MDA-MB-435	3.03	4.94		Рак простаты			
NCI-H322M	3.09	15.5	4.38	SK-MEL-2	2.4	2.58	2.08	PC-3	1.5	3.31	1.58
NCI-H460	1.62	57.1	3.38	SK-MEL-28	2.75	2.62	1.79	DU-145	3.23	7.59	3.52
NCI-H522	2.95	29.5	1.9	SK-MEL-5	2.27	32.4	8.97	Рак молочной железы			
Рак толстой кишки				UACC-257	3.73	> 100		MCF7		4.94	2.89
COLO 205	2.09	18.2	3.72	UACC-62	2.64	2.69	2.03	MDA-MB-231/ATCC	2.32	3.67	2.02
HCC-2998	4.44	36	8.48	Рак яичников				HS 578T	2.34	6.26	3.88
HCT-116		4.34	2.34	IGROV1	4.21	4.07	3.56	BT-549	2.52	21	10.9
HCT-15	1.89	25.8	3.95	OVCAR-3	1.7	4.73	2.49	T-47D	1.79	9.02	4.75
HT29	1.93	4.83	3.01	OVCAR-4	1.93	4.95	2.18	MDA-MB-468	2.21	7.25	2.68
KM12	1.64	4.54	2.78	OVCAR-5	3.07	94.3	2.39				

ние, $(\text{град}\cdot\text{мл}\cdot(\text{г}\cdot\text{дм})^{-1})^{-1}$, c – концентрация раствора, $\text{г}\cdot(100\text{ мл})^{-1}$. Элементный анализ выполнен на анализаторе «Karlo Erba 1106». Реактивы и растворители были приобретены у коммерческих поставщиков (Aldrich, Sigma и т.д.) и использовались без дальнейшей очистки. Тритерпеноиды **3** и **4** получали, как описано ранее ⁶. Данные анализа всех новых соединений отвечали вычисленным.

Общая методика синтеза 2 α -алкинильных производных тритерпенов **5a-g** в условиях реакции Соногаширы.

К раствору тритерпеноида **4** (0.3 ммоль) в 4,5 мл DMF поочередно добавили арилиодид (0.25 ммоль) и 0.34 мл Et_3N (2.47 ммоль). Затем к реакционной смеси добавили 4.6 мг CuI (0.03 ммоль) и 8.6 мг $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (0.01 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1–3 ч в атмосфере аргона (контроль – ТСХ). После завершения реакции добавили H_2O (6 мл) и экстрагировали EtOAc (3×10 мл). Органическую фазу сушили над безводным сульфатом магния. Продукты очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюент гексан– EtOAc 5:1). Получили соединения **5a-g**.

2 α -фенилпропинил-3 β -гидрокси-луп-20(29)-ен-28-овая кислота (5a). Выход 0.06 г (68%), белый порошок, т.пл. 228–230 °С. $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ –10 (c 0.37, CHCl_3). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., CDCl_3 , 400 МГц): 0.78 (1H, д, $J = 8.8$ Гц, H-5), 0.83, 0.92, 0.98, 1.01, 1.03 (по 3H, все с, H-23–H-27), 1.72 (3H, с, H-30), 2.33–0.88 (22H, м, CH, CH_2 в пентациклическом скелете и 2H, $\text{H}^{\text{a-1}}$, $\text{H}^{\text{b-1}}$), 2.56 (1H, дд, $J = 16.8$, 6.4 Гц, $\text{H}^{\text{b-1}}$), 2.65 (1H, дд, $J = 16.8$, 3.6 Гц, $\text{H}^{\text{a-1}}$), 3.04 (1H, м, H-19), 3.10 (1H, д, $J = 10.4$ Гц, H-3), 4.77, 4.63 (2H, оба уш с, H-29), 7.30 (3H, м, аром), 7.43 (2H, м, аром). Спектр ЯМР ^{13}C (δ , м.д., CDCl_3 , 100 МГц): 14.8 (C-27), 16.1 (C-24), 16.3 (C-25), 17.0 (C-26), 18.5 (C-6), 19.4 (C-30), 20.9 (C-11), 23.5 (C-1'), 25.5 (C-12), 28.4 (C-23), 29.7 (C-15), 30.6 (C-21), 32.2 (C-16), 34.3 (C-7), 35.4 (C-2), 37.1 (C-22), 37.5 (C-4), 38.5 (C-13), 39.2 (C-10), 40.7 (C-8), 42.5 (C-14), 45.2 (C-1), 47 (C-19), 49.3 (C-18), 50.5 (C-9), 55.5 (C-17), 56.4 (C-5), 81.9 (C-3), 82.3 (C-3'), 88.6 (C-2'), 109.8 (C-29), 124.0, 127.5, 128.2, 131.7 (Аром), 150.4 (C-20), 182.5 (C-28). ИК (CHCl_3): 1697 (C=O) см^{-1} . Вычислено $\text{C}_{39}\text{H}_{54}\text{O}_3$: С, 82.06; Н, 9.54. Найдено: С, 82.29; Н, 9.52.

2 α -(4-хлорфенилпропинил)-3 β -гидрокси-луп-20(29)-ен-28-овая кислота (5b). Выход 0.06 г (70%), светло-желтый порошок, т.пл. 251–253 °С. $[\alpha]_{\text{D}}^{23}$ –11 (c 0.08, CHCl_3). Спектр ЯМР

^1H (δ , м.д., CDCl_3 , 500 МГц): 0.77 (1H, д, $J = 9.0$ Гц, H-5), 0.82, 0.91, 0.97, 1.00, 1.02 (по 3H, все с, H-23–H-27), 1.71 (3H, с, H-30), 2.31–0.85 (22H, м, CH, CH_2 в пентациклическом скелете и 2H, $\text{H}^{\text{a-1}}$, $\text{H}^{\text{b-1}}$), 2.51 (1H, дд, $J = 17.0$, 7.0 Гц, $\text{H}^{\text{b-1}}$), 2.65 (1H, дд, $J = 17.0$, 4.0 Гц, $\text{H}^{\text{a-1}}$), 3.02 (1H, м, H-19), 3.06 (1H, д, $J = 10.5$ Гц, H-3), 4.76, 4.62 (2H, оба уш с, H-29), 7.28 (2H, м, аром), 7.35 (2H, д, $J = 8.0$ Гц, аром). Спектр ЯМР ^{13}C (δ , м.д., CDCl_3 , 125 МГц): 14.8 (C-27), 16.1 (C-24), 16.2 (C-25), 17.0 (C-26), 18.5 (C-6), 19.4 (C-30), 20.9 (C-11), 23.5 (C-1'), 25.5 (C-12), 28.4 (C-23), 29.7 (C-15), 30.5 (C-21), 32.2 (C-16), 34.2 (C-7), 35.4 (C-2), 37.1 (C-22), 37.5 (C-4), 38.4 (C-13), 39.2 (C-10), 40.7 (C-8), 42.5 (C-14), 45.2 (C-1), 46.9 (C-19), 49.3 (C-18), 50.5 (C-9), 55.5 (C-17), 56.4 (C-5), 81.2 (C-3'), 81.9 (C-3), 89.8 (C-2'), 109.8 (C-29), 122.5, 128.5, 132.9, 133.5 (Аром), 150.4 (C-20), 182.2 (C-28). ИК (CHCl_3): 1695 (C=O) см^{-1} . Вычислено $\text{C}_{39}\text{H}_{53}\text{ClO}_3$: С, 77.39; Н, 8.83. Найдено: С, 77.15; Н, 8.87.

2 α -(4-фторфенилпропинил)-3 β -гидрокси-луп-20(29)-ен-28-овая кислота (5c). Выход 0.06 г (67%), белый порошок, т.пл. 141–143 °С. $[\alpha]_{\text{D}}^{22}$ –37 (c 0.49, CHCl_3). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., CDCl_3 , 500 МГц): 0.77 (1H, м, H-5), 0.81, 0.91, 0.97, 1.01, 1.02 (по 3H, все с, H-23–H-27), 1.71 (3H, с, H-30), 2.31–0.85 (22H, м, CH, CH_2 в пентациклическом скелете и 2H, $\text{H}^{\text{a-1}}$, $\text{H}^{\text{b-1}}$), 2.50 (1H, дд, $J = 16.8$, 6.9 Гц, $\text{H}^{\text{b-1}}$), 2.65 (1H, дд, $J = 16.8$, 3.6 Гц, $\text{H}^{\text{a-1}}$), 3.03 (1H, м, H-19), 3.07 (1H, д, $J = 10.5$ Гц, H-3), 4.76, 4.62 (2H, оба уш с, H-29), 7.00 (2H, t, $J = 8.5$ Гц, аром), 7.40 (2H, м, аром). Спектр ЯМР ^{13}C (δ , м.д., CDCl_3 , 125 МГц): 14.8 (C-27), 16.1 (C-24), 16.2 (C-25), 17.0 (C-26), 18.5 (C-6), 19.4 (C-30), 20.9 (C-11), 23.4 (C-1'), 25.5 (C-12), 28.4 (C-23), 29.7 (C-15), 30.6 (C-21), 32.2 (C-16), 34.2 (C-7), 35.4 (C-2), 37.1 (C-22), 37.5 (C-4), 38.4 (C-13), 39.2 (C-10), 40.7 (C-8), 42.5 (C-14), 45.2 (C-1), 47.0 (C-19), 49.3 (C-18), 50.5 (C-9), 55.5 (C-17), 56.4 (C-5), 81.2 (C-3'), 81.9 (C-3), 88.3 (C-2'), 109.8 (C-29), 115.4, 120.1, 133.4, 162.1 (Аром), 150.4 (C-20), 182.5 (C-28). ИК (CHCl_3): 1696 (C=O) см^{-1} . Вычислено $\text{C}_{39}\text{H}_{53}\text{FO}_3$: С, 79.55; Н, 9.07. Найдено: С, 79.75; Н, 9.11.

2 α -(4-хлор-2-бромфенилпропинил)-3 β -гидрокси-луп-20(29)-ен-28-овая кислота (5d). Выход 0.05 г (50%), желтый порошок, т.пл. 158–160 °С. $[\alpha]_{\text{D}}^{22+1}$ (c 0.59, CHCl_3). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., CDCl_3 , 500 МГц): 0.78 (1H, м, H-5), 0.82, 0.91, 0.96, 1.00, 1.02 (по 3H, все с, H-23–H-27), 1.70 (3H, с, H-30), 2.31–0.84 (22H, м, CH, CH_2 в пентациклическом скелете и 2H, $\text{H}^{\text{a-1}}$, $\text{H}^{\text{b-1}}$

1), 2.65 (2H, м, H^a-1' and H^b-1'), 3.04 (1H, м, H-19), 3.21 (1H, д, $J = 10.5$ Гц, H-3), 4.75, 4.62 (2H, оба уш с, H-29), 7.24 (1H, д, $J = 8.0$ Гц, аром), 7.36 (1H, д, $J = 8.0$ Гц, аром), 7.60 (1H, д, $J = 1$ Гц, аром). Спектр ЯМР ¹³C (δ, м.д., CDCl₃, 125 МГц): 14.7 (C-27), 16.1 (C-24), 16.2 (C-25), 17.0 (C-26), 18.5 (C-6), 19.4 (C-30), 20.9 (C-11), 23.5 (C-1'), 25.5 (C-12), 28.4 (C-23), 29.7 (C-15), 30.6 (C-21), 32.2 (C-16), 34.3 (C-7), 35.2 (C-2), 37.1 (C-22), 37.5 (C-4), 38.4 (C-13), 39.2 (C-10), 40.7 (C-8), 42.5 (C-14), 45.0 (C-1), 46.9 (C-19), 49.3 (C-18), 50.5 (C-9), 55.5 (C-17), 56.4 (C-5), 80.1 (C-3'), 81.3 (C-3), 95.0 (C-2'), 109.8 (C-29), 124.7, 126.0, 127.4, 132.1, 133.8 (Аром), 150.4 (C-20), 182.4 (C-28). ИК (CHCl₃): 1698 (C=O) см⁻¹. Вычислено C₃₉H₅₂BrClO₃: С, 68.46; Н, 7.66. Найдено: С, 68.32; Н, 7.63.

2α-(2-метилфенилпропинил)-3β-гидрокси-луп-20(29)-ен-28-овая кислота (5e). Выход 0.07 г (78%), белый порошок, т.пл. 241-242 °С. $[\alpha]_D^{25}$ -12 (с 0.49, CHCl₃). Спектр ЯМР ¹H (δ, м.д., CDCl₃, 400 МГц): 0.78 (1H, д, $J = 8.8$ Гц, H-5), 0.83, 0.92, 0.98, 1.01, 1.03 (по 3H, все с, H-23-H-27), 1.72 (3H, с, H-30), 2.31-0.92 (22H, м, CH, CH₂ в пентациклическом скелете и 2H, H^a-1, H^b-1), 2.46 (3H, с, MePh), 2.58 (1H, дд, $J = 16.8, 6.4$ Гц, H^b-1'), 2.71 (1H, дд, $J = 16.8, 3.2$ Гц, H^a-1'), 3.04 (1H, м, H-19), 3.14 (1H, д, $J = 10.8$ Гц, H-3), 4.77, 4.63 (2H, оба уш с, H-29), 7.16 (1H, м, аром), 7.21 (2H, м, аром), 7.39 (1H, д, $J = 7.6$ Гц, аром). Спектр ЯМР ¹³C (δ, м.д., CDCl₃, 100 МГц): 14.7 (C-27), 16.1 (C-24), 16.2 (C-25), 17.0 (C-26), 18.5 (C-6), 19.4 (C-30), 20.9 (C-11), 21.0 (MePh), 23.6 (C-1'), 25.5 (C-12), 28.4 (C-23), 29.7 (C-15), 30.6 (C-21), 32.2 (C-16), 34.3 (C-7), 35.5 (C-2), 37.1 (C-22), 37.4 (C-4), 38.5 (C-13), 39.2 (C-10), 40.7 (C-8), 42.5 (C-14), 45.2 (C-1), 47.0 (C-19), 49.3 (C-18), 50.6 (C-9), 55.6 (C-17), 56.4 (C-5), 81.2 (C-3'), 81.8 (C-3), 92.7 (C-2'), 109.8 (C-29), 123.9, 125.5, 127.5, 129.3, 131.9 (Аром), 150.4 (C-20), 182.3 (C-28). ИК (CHCl₃): 1696 (C=O) см⁻¹. Вычислено C₄₀H₅₆O₃: С, 82.14; Н, 9.65. Найдено: С, 81.94; Н, 9.62.

2α-(4-бромфенилпропинил)-3β-гидрокси-луп-20(29)-ен-28-овая кислота (5f). Выход 0.07 г (70%), светло-желтый порошок, т.пл.

247-249 °С. $[\alpha]_D^{25}$ -13 (с 0.45, CHCl₃). Спектр ЯМР ¹H (δ, м.д., CDCl₃, 400 МГц): 0.77 (1H, д, $J = 9.2$ Гц, H-5), 0.82, 0.91, 0.97, 1.00, 1.01 (по 3H, все с, H-23-H-27), 1.71 (3H, с, H-30), 2.32-0.84 (22H, м, CH, CH₂ в пентациклическом скелете и 2H, H^a-1, H^b-1), 2.5 (1H, дд, $J = 16.8, 6.4$ Гц, H^b-1'), 2.65 (1H, дд, $J = 16.8, 3.6$ Гц, H^a-1'), 3.02 (1H, м, H-19), 3.06 (1H, д, $J = 10.4$ Гц, H-3), 4.76, 4.62 (2H, оба уш с, H-29), 7.28 (2H, м, аром), 7.44 (2H, д, $J = 8.4$ Гц, аром). Спектр ЯМР ¹³C (δ, м.д., CDCl₃, 100 МГц): 14.2 (C-27), 16.0 (C-24), 16.2 (C-25), 17.0 (C-26), 18.5 (C-6), 19.4 (C-30), 20.9 (C-11), 23.5 (C-1'), 25.5 (C-12), 28.4 (C-23), 29.7 (C-15), 30.5 (C-21), 32.2 (C-16), 34.2 (C-7), 35.4 (C-2), 37.1 (C-22), 37.5 (C-4), 38.4 (C-13), 39.2 (C-10), 40.7 (C-8), 42.5 (C-14), 45.2 (C-1), 46.9 (C-19), 49.3 (C-18), 50.5 (C-9), 55.5 (C-17), 56.4 (C-5), 81.2 (C-3'), 81.9 (C-3), 90.0 (C-2'), 109.8 (C-29), 121.7, 123, 131.4, 133.1 (Аром), 150.4 (C-20), 181.8 (C-28). ИК (CHCl₃): 1695 (C=O) см⁻¹. Вычислено C₃₉H₅₃BrO₃: С, 72.09; Н, 8.22. Найдено: С, 71.88; Н, 8.23.

2α-(трифторметилфенил)пропинил-3β-гидрокси-луп-20(29)-ен-28-овая кислота (5g). Выход 0.07 г (70%), белый порошок, т.пл. 214-216 °С. $[\alpha]_D^{25}$ -13 (с 0.51, CHCl₃). Спектр ЯМР ¹H (δ, м.д., CDCl₃, 400 МГц): 0.78 (1H, д, $J = 9.2$ Гц, H-5), 0.82, 0.92, 0.97, 1.01, 1.02 (по 3H, все с, H-23-H-27), 1.71 (3H, с, H-30), 2.31-0.85 (22H, м, CH, CH₂ в пентациклическом скелете и 2H, H^a-1, H^b-1), 2.53 (1H, дд, $J = 16.8, 6.8$ Гц, H^b-1'), 2.70 (1H, дд, $J = 16.8, 3.6$ Гц, H^a-1'), 3.02 (1H, м, H-19), 3.06 (1H, д, $J = 10.4$ Гц, H-3), 4.76, 4.62 (2H, оба уш с, H-29), 7.54 (4H, м, аром). Спектр ЯМР ¹³C (δ, м.д., CDCl₃, 100 МГц): 14.7 (C-27), 16.1 (C-24), 16.2 (C-25), 16.9 (C-26), 18.5 (C-6), 19.4 (C-30), 20.9 (C-11), 23.5 (C-1'), 25.5 (C-12), 28.4 (C-23), 29.7 (C-15), 30.6 (C-21), 32.2 (C-16), 34.2 (C-7), 35.4 (C-2), 37.1 (C-22), 37.5 (C-4), 38.4 (C-13), 39.2 (C-10), 40.8 (C-8), 42.5 (C-14), 45.2 (C-1), 46.9 (C-19), 49.3 (C-18), 50.5 (C-9), 55.5 (C-17), 56.4 (C-5), 81.1 (C-3'), 81.8 (C-3), 91.6 (C-2'), 109.7 (C-29), 125.1, 127.9, 129.3, 131.9 (Аром), 150.4 (C-20), 181.6 (C-28). ИК (CHCl₃): 1694 (C=O) см⁻¹. Вычислено C₄₀H₅₃F₃O₃: С, 75.20; Н, 8.36. Найдено: С, 75.04; Н, 8.40.

Литература

1. Cichewicz R.H., Kouzi S.A. Chemistry, biological activity, and chemotherapeutic potential of betulinic acid for the prevention and treatment of cancer and HIV infection // *Med. Res. Rev.*— 2004.— V.24, №1.— Pp.90-114.
2. Sarek J., Kvasnica M., Vlk M., Urban M. The Potential of Triterpenoids in the Treatment of Melanoma.— Vukovar: IntechOpen, 2011.— Pp.125-158.
3. Mukherjee R., Kumar V., Srivastava S. K., Agarwal S. K., and Burman A. C. Betulinic acid derivatives as anticancer agents: structure activity relationship // *Anticancer. Agents Med. Chem.*— 2006.— V.6, №3.— Pp.271-279.
4. Csuk R. Betulinic acid and its derivatives: a patent review (2008–2013) // *Expert Opin. Ther. Pat.*— 2014.— V.24, №8.— Pp.913-923.
5. Zhang H., Li F., Zhu P., Liu J., Yao H., Jiang J., Ye W., Wu X., and Xu J. Synthesis and Biological Evaluation of Oxygen-containing Heterocyclic Ring-fused 23-Hydroxybetulinic Acid Derivatives as Antitumor Agents // *Chem. Biol. Drug Des.*— 2015.— V.86, №4.— Pp.424-431.
6. Spivak A.Y., Gubaidullin R.R., Galimshina Z.R., Nedopekina D.A., and Odinkov V.N. Effective synthesis of novel C(2)-propargyl derivatives of betulinic and ursolic acids and their conjugation with β -*d*-glucopyranoside azides via click chemistry // *Tetrahedron.*— 2016.— V.72, №9.— Pp.1249-1256.
7. Gubaidullin R.R., Yarmukhametova D.S., Nedopekina D.A., Khalitova R.R., Spivak A.Y. Effective synthesis of novel furan-fused pentacyclic triterpenoids via anionic 5-exo dig cyclization of 2-alkynyl-3-oxotriterpene acids // *Arkivoc.*— 2017.— V.2017, №5.— Pp.100-116.
8. Spivak A.Y., Nedopekina D.A., Khalitova R.R., Gubaidullin R.R., Odinkov V.N., Bel'skii Y.P., Bel'skaya N.V., Khazanov V.A. Triphenylphosphonium cations of betulinic acid derivatives: synthesis and antitumor activity // *Med. Chem. Res.*— 2017.— V.26, №3.— Pp.518-531.
9. Nedopekina D.A., Gubaidullin R.R., Odinkov V.N., Maximchik P.V., Zhivotovsky B., Bel'skii Y.P., Khazanov V.A., Manuylova A.V., Gogvadze V., Spivak A.Y. Mitochondria-targeted betulinic and ursolic acid derivatives: synthesis and anticancer activity // *Med. Chem. Commun.*— 2017.— V.8, №10.— Pp.1934-1945.
10. Spivak A.Y., Keiser J., Vargas M., Gubaidullin R.R., Nedopekina D.A., Shakurova E.R., Khalitova R.R., and Odinkov V.N. Synthesis and activity of new triphenylphosphonium derivatives of betulin and betulinic acid against *Schistosoma mansoni* in vitro and *in vivo* // *Bioorg. Med. Chem.*— 2014.— V.22, №21.— Pp.6297-6304.
11. Gubaidullin R.R., Khalitova R.R., Galimshina Z.R., and Spivak A.Y. Synthesis of novel [3,2-*b*] furan-fused pentacyclic triterpenoids via gold - Catalyzed intramolecular heterocyclization of 2-alkynyl-3-oxotriterpene acids // *Tetrahedron.*— 2018.— V.74, №15.— Pp.1888-1899.

References

1. Cichewicz R.H., Kouzi S.A. [Chemistry, biological activity, and chemotherapeutic potential of betulinic acid for the prevention and treatment of cancer and HIV infection]. *Med. Res. Rev.*, 2004, vol.24, no.1, pp.90-114.
2. Sarek J., Kvasnica M., Vlk M., Urban M. [The Potential of Triterpenoids in the Treatment of Melanoma]. Vukovar, IntechOpen, 2011, pp.125-158.
3. Mukherjee R., Kumar V., Srivastava S. K., Agarwal S. K., and Burman A. C. [Betulinic acid derivatives as anticancer agents: structure activity relationship]. *Anticancer. Agents Med. Chem.*, 2006, vol.6, no.3, pp.271-279.
4. Csuk R. [Betulinic acid and its derivatives: a patent review (2008–2013)]. *Expert Opin. Ther. Pat.*, 2014, vol.24, no.8, pp.913-923.
5. Zhang H., Li F., Zhu P., Liu J., Yao H., Jiang J., Ye W., Wu X., and Xu J. [Synthesis and Biological Evaluation of Oxygen-containing Heterocyclic Ring-fused 23-Hydroxybetulinic Acid Derivatives as Antitumor Agents]. *Chem. Biol. Drug Des.*, 2015, vol.86, no.4, pp.424-431.
6. Spivak A.Y., Gubaidullin R.R., Galimshina Z.R., Nedopekina D.A., and Odinkov V.N. [Effective synthesis of novel C(2)-propargyl derivatives of betulinic and ursolic acids and their conjugation with β -*d*-glucopyranoside azides via click chemistry]. *Tetrahedron*, 2016, vol.72, no.9, pp.1249-1256.
7. Gubaidullin R.R., Yarmukhametova D.S., Nedopekina D.A., Khalitova R.R., and Spivak A.Y. [Effective synthesis of novel furan-fused pentacyclic triterpenoids via anionic 5-exo dig cyclization of 2-alkynyl-3-oxotriterpene acids]. *Arkivoc*, 2017, vol.2017, no.5, pp.100-116.
8. Spivak A.Y., Nedopekina D.A., Khalitova R.R., Gubaidullin R.R., Odinkov V.N., Bel'skii Y.P., Bel'skaya N.V., and Khazanov V.A. [Triphenylphosphonium cations of betulinic acid derivatives: synthesis and antitumor activity]. *Med. Chem. Res.*, 2017, vol.26, no.3, pp.518-531.
9. Nedopekina D.A., Gubaidullin R.R., Odinkov V.N., Maximchik P.V., Zhivotovsky B., Bel'skii Y.P., Khazanov V.A., Manuylova A.V., Gogvadze V., and Spivak A.Y. [Mitochondria-targeted betulinic and ursolic acid derivatives: synthesis and anticancer activity]. *Med. Chem. Commun.*, 2017, vol.8, no.10, pp.1934-1945.
10. Spivak A.Y., Keiser J., Vargas M., Gubaidullin R.R., Nedopekina D.A., Shakurova E.R., Khalitova R.R., and Odinkov V.N. [Synthesis and activity of new triphenylphosphonium derivatives of betulin and betulinic acid against *Schistosoma mansoni* in vitro and *in vivo*]. *Bioorg. Med. Chem.*, 2014, vol.22, no.21, pp.6297-6304.
11. Gubaidullin R.R., Khalitova R.R., Galimshina Z.R., and Spivak A.Y. [Synthesis of novel [3,2-*b*] furan-fused pentacyclic triterpenoids via gold - Catalyzed intramolecular heterocyclization of 2-alkynyl-3-oxotriterpene acids]. *Tetrahedron*, 2018, vol.74, no.15, pp.1888-1899.

12. Galm U., Hager M.H., Van Lanen S.G., Ju J., Thorson J.S., and Shen B. Antitumor Antibiotics: Bleomycin, Eneidyne, and Mitomycin // *Chem. Rev.*— 2005.— V.105, №2.— Pp.739-758.
13. Alley M.C; Scudiero D.A; Monks A; Hursey M; Czerwinski M.J; Fine D.L; Abbott B.J; Mayo J.G; Shoemaker R; and Boyd M.R. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay // *Cancer Res.*— 1988.— V.48, №3.— Pp.589-601.
14. Grever M.R., Schepartz S.A., Chabner B.A. The National Cancer Institute: cancer drug discovery and development program // *Semin. Oncol.*— 1992.— V.19, №6.— Pp.622-638.
15. Boyd M.R., Paull K.D. Some practical considerations and applications of the national cancer institute *in vitro* anticancer drug discovery screen // *Drug Dev. Res.*— 1995.— V.34, №2.— Pp.91-109.
16. Shoemaker R.H. The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen // *Nat. Rev. Cancer.*— 2006.— V.6, №10.— Pp.813-823.
17. Weinstein J.N., Myers T.G., O'Connor P.M., Friend S.H., Fornace A.J., Kohn K.W., Fojo T., Bates S.E., Rubinstein L.V., Anderson N.L., Buolamwini J.K., Van Osdol W.W., Monks A.P., Scudiero D.A., Sausville E.A., Zaharevitz D.W., Bunow B., Viswanadhan V.N., Johnson G.S., Wittes R.E., Paull K.D. An information-intensive approach to the molecular pharmacology of cancer. // *Science.*— 1997.— V.275, №5298.— Pp.343-349.
18. Monks A., Scudiero D., Skehan P., Shoemaker R., Paull K., Vistica D., Hose C., Langley J., Cronise P., Vaigro-wolff A., Gray-goodrich M., Campbell H., Mayo J., Boyd M. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. // *J. Natl. Cancer Inst.*— 1991.— V.83, №11.— Pp.757-766.
12. Galm U., Hager M.H., Van Lanen S.G., Ju J., Thorson J.S., and Shen B. [Antitumor Antibiotics: Bleomycin, Eneidyne, and Mitomycin]. *Chem. Rev.*, 2005 vol.105, no.2, pp.739-758.
13. Alley M.C; Scudiero D.A; Monks A; Hursey M; Czerwinski M.J; Fine D.L; Abbott B.J; Mayo J.G; Shoemaker R; and Boyd M.R. [Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay]. *Cancer Res.*, 1988, vol.48, no.3, pp.589-601.
14. Grever M.R., Schepartz S.A., Chabner B.A. [The National Cancer Institute: cancer drug discovery and development program]. *Semin. Oncol.*, 1992, vol.19, no.6, pp.622-638.
15. Boyd M.R., Paull K.D. [Some practical considerations and applications of the national cancer institute *in vitro* anticancer drug discovery screen]. *Drug Dev. Res.*, 1995, vol.34, no.2, pp.91-109.
16. Shoemaker R.H. [The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen]. *Nat. Rev. Cancer.*, 2006, vol.6, no.10, pp.813-823.
17. Weinstein J.N., Myers T.G., O'Connor P.M., Friend S.H., Fornace A.J., Kohn K.W., Fojo T., Bates S.E., Rubinstein L.V., Anderson N.L., Buolamwini J.K., Van Osdol W.W., Monks A.P., Scudiero D.A., Sausville E.A., Zaharevitz D.W., Bunow B., Viswanadhan V.N., Johnson G.S., Wittes R.E., Paull K.D. [An information-intensive approach to the molecular pharmacology of cancer]. *Science*, 1997, vol.275, no.5298, pp.343-349.
18. Monks A., Scudiero D., Skehan P., Shoemaker R., Paull K., Vistica D., Hose C., Langley J., Cronise P., Vaigro-wolff A., Gray-goodrich M., Campbell H., Mayo J., Boyd M. [Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines]. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1991, vol.83, no.11, pp.757-766.