

На правах рукописи

Семенова Мария Дмитриевна

**СИНТЕЗ НОВЫХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ
НА ОСНОВЕ ПЕНТАЦИКЛИЧЕСКИХ ТРИТЕРПЕНОИДОВ
ЛУПАНОВОГО И УРСАНОВОГО РЯДА**

1.4.3. Органическая химия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени кандидата химических наук

Новосибирск – 2022

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: **Шульц Эльвира Эдуардовна**
доктор химических наук, профессор
заведующая лабораторией медицинской химии,
ФГБУН Новосибирский институт органической
химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, г.
Новосибирск

Официальные оппоненты: **Яковлева Марина Петровна**
доктор химических наук, доцент
ведущий научный сотрудник Лаборатории
биорегуляторов насекомых Уфимского института
химии – обособленного структурного
подразделения ФГБНУ Уфимского федерального
исследовательского центра Российской академии
наук (УФИХ УФИЦ РАН), г. Уфа

Хлебникова Татьяна Борисовна
кандидат химических наук
ведущий научный сотрудник отдела тонкого
органического синтеза ФГБУН «Федеральный
исследовательский центр Институт катализа им.
Г.К. Борескова СО РАН», г. Новосибирск
Институт технической химии Уральского
отделения Российской академии наук – филиал
Пермского федерального исследовательского
центра УрО РАН (ИТХ УрО РАН), г. Пермь

**Ведущая
организация:**

Защита состоится «07» октября 2022 г. в 12:00 часов на заседании диссертационного совета 24.1.192.01, созданного на базе НИОХ СО РАН по адресу: Российская Федерация, 630090, г. Новосибирск, проспект акад. Лаврентьева, д. 9.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НИОХ 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: <https://vak.minobrnauki.gov.ru/main>.

Отзывы на автореферат в 2-х экземплярах, заверенные печатью, просим отправлять по адресу: Российская Федерация, 630090, г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, д. 9, НИОХ СО РАН, ученому секретарю диссертационного совета 24.1.192.01; e-mail: dissovet@nioch.nsc.ru.

Автореферат разослан «__» августа 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор химических наук

Лузина Ольга
Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Пентациклические тритерпеноиды (бетулин, лупеол, бетулоновая и урсоловая кислоты) обладают большим разнообразием биологических свойств, которые удачно сочетаются с их доступностью и низкой системной токсичностью. Однако, относительно низкий потенциал их биологического действия, плохая растворимость в воде и недостаточная биодоступность из желудочно-кишечного тракта создают серьезные проблемы для продвижения этих соединений в клиническую практику. В связи с этим, большое значение приобретает изучение синтетических модификаций структур с направленным введением фармакофорных групп и гетероциклических фрагментов в качестве заместителей. Наличие в молекулах пентациклических тритерпеновых кислот легко трансформируемых функциональных групп (C(3)-ОН, C(28)ООН) обуславливает их высокий синтетический потенциал, дальнейшие исследования в этой области обещают быть весьма плодотворными и приобретают несомненную актуальность.

Степень разработанности темы. В последние два десятилетия выполнены многочисленные исследования по модификации пентациклических тритерпеноидов (бетулоновой, бетулиновой, урсоловой кислот) с направленным введением в структуру 1,2,3-триазольных заместителей, включая синтез тритерпеноидных конъюгатов, содержащих гликозилированный 1,2,3-триазольный фрагмент. Это направление получило интенсивное развитие по мере разработки способов синтеза тритерпеноидных азидов или тритерпеноидных алкинов и изучении условий их CuAAC реакций. Модификации заместителей по положениям C-3, C-28 и C-30 лупановых тритерпеноидов 1,2,3-триазольным заместителем привели к производным с более высокой биологической активностью. Менее изучены возможности функционализации пентациклических тритерпеноидов по положению C-28 с введением в структуру замещенного 1,3,4-оксадиазольного или 1,2,4-триазольного цикла. Известны единичные примеры модификации указанных тритерпеноидов с введением в структуру фрагментов бис-азолов. Превращения лупановых тритерпеноидов с введением в структуру арилпиримидиновых заместителей по положению C-28 практически не проводились.

Цель работы – разработка эффективных методов направленной модификации пентациклических тритерпеноидов – урсоловой, бетулиновой и бетулоновой кислот с введением азотсодержащих гетероциклических (замещенных оксадиазольных, триазольных и пиримидиновых) и бис-гетероциклических заместителей.

В соответствии с поставленной целью, данная работа сводилась к решению следующих задач:

1. Разработка способов получения производных урсоловой кислоты, содержащих фрагменты 2-амино-1,3,4-оксадиазолов, 2-меркапто-1,3,4-оксадиазолов и 3-меркапто-1,2,4-триазолов, проведение химических модификаций по серосодержащему заместителю и гетероциклическим фрагментам;

2. Разработка селективных методов и подбор условий получения бис-гетероциклических производных урсоловой и бетулиновой кислот посредством

CuAAC-реакции их С-28- и С-3-алкинильных производных с 3-азидометил-4-метил-1,2,5-оксадиазол-2-оксидом или 2-азидометил-5-арил-1,3,4-оксадиазолами;

3. Разработка методов синтеза алкинилкетонов лупановых тритерпеноидов на основе 4-иодфениламида или 4-иодфенэтиламида бетулоновой кислоты;

4. Разработка способов получения конъюгатов лупановых тритерпеноидов с арилпиримидинами;

5. Получение данных о цитотоксичности в ряду гетероциклических производных урсоловой кислоты, содержащих фрагменты 1,3,4-оксадиазолов, 1,2,4-триазолов и бис-гетероциклов. Получение данных о противовоспалительной активности *in vivo* конъюгатов амида бетулоновой кислоты с арилпиримидинами.

Научная новизна.

Предложены эффективные подходы к синтезу гетероциклических производных урсоловой кислоты, содержащих фрагменты 2-меркапто-1,3,4-оксадиазола, 3-меркапто-1,2,4-триазола и 2-бензиламино-1,3,4-оксадиазола, основанные на реакциях соответствующих гидразидов урсанового ряда с сероуглеродом или бензилизотиоцианатами. Изучены условия циклизации ацилтиоосемикарбазидов – производных урсоловой кислоты, приводящие к образованию терпеноидных 2-бензиламино-1,3,4-оксадиазолов. Показана возможность селективного S-алкилирования 2-меркапто-1,3,4-оксадиазолов и 3-меркапто-1,2,4-триазолов – производных урсоловой кислоты, подобраны условия окисления полученных тиоэфиров с получением соответствующих сульфоксидов и сульфонов. Реакцией нуклеофильного замещения метилсульфонильной группы в тритерпеноидных 2-метилсульфонил-1,3,4-оксадиазолах синтезированы производные урсоловой кислоты с 2-диалкиламино- или 2-гидрокси-заместителями в гетероциклическом фрагменте. Реакция аминометилирования урсановых гибридов с 1,3,4-оксадиазол- и 1,2,4-триазолтионами гладко приводила к образованию урсановых тритерпеноидов, содержащих 4-морфолинометил-5-тиоксо-1,3,4-оксадиазольный или 4-морфолинометил-5-тиоксо-1,2,4-триазольный заместители.

На основе CuAAC-реакции 28-*O*-пропаргильных и 28-*O*-этил-(2-оксопропаргильных) производных урсоловой и бетулиновой кислот с 3-азидометил-4-метил-1,2,5-оксадиазол-2-оксидом или 2-азидометил-5-арил-1,3,4-оксадиазолами предложены региоселективные методы синтеза бис-гетероциклических производных урсоловой и бетулиновой кислот. Найдены условия региоселективной модификации 3β -[4-оксо-4-(проп-2-инилокси)бутаноилокси]урсоловой кислоты с введением фрагмента (1,2,3-триазол-1-илметил)-4-метил-1,2,5-оксадиазол-2-оксида в сукцинильный заместитель. Предложены методы синтеза оригинальных α,β -ацетиленовых кетонов на основе последовательности реакции Соногаширы 4-иодфениламида или 4-иодфенэтиламида бетулоновой кислоты с триметилсилилацетиленом и реакции кросс-сочетания продуктов десилилирования с хлорангидридами бензойных кислот. Установлена высокая активность новых α,β -ацетиленовых кетонов лупанового ряда в реакции циклоконденсации с амидиниевыми солями. Выявлены структурные особенности амидинов, влияющие на реакционную способность в процессе образования замещенного пиримидинового цикла.

Теоретическая и практическая значимость.

Полученный комплекс новых экспериментальных данных по превращениям гидразидов урсанового ряда открывает новые возможности модификаций урсановых тритерпеноидов с селективным введением функционализированных гетероциклических заместителей в структуру тритерпеноидов. Обнаруженные закономерности и особенности реакций кросс-сочетания 4-иодфенил- и 4-иодфенэтил- замещенных производных амида бетулоновой кислоты, позволившие селективно синтезировать соответствующие α,β -ацетиленовые кетоны открывают новые возможности получения гетероциклических производных тритерпеноидов.

Широкое варьирование заместителей в субстратах и реагентах привело к созданию химических библиотек ранее неизвестных соединений, перспективных в плане изучения биологической активности.

По результатам проведенного изучения биологической активности сотрудниками лаборатории фармакологических исследований выявлены соединения, обладающие противовоспалительной активностью, и получены данные о влиянии структурных особенностей в пиримидиновом фрагменте на селективность действия. По результатам изучения цитотоксичности гетероциклических производных тритерпеноидов урсанового и лупанового ряда в отношении опухолевых клеток человека (в ИЦиГ СО РАН), выявлены перспективные для дальнейшего исследования селективные цитотоксические агенты.

Методология и методы исследования.

В ходе выполнения работы использовались современные методы органического синтеза, основанные на реакциях 1,3-диполярного циклоприсоединения и кросс-сочетания, катализируемые соединениями переходных металлов. Выделение и очистка соединений осуществлялась методами экстракции, осаждения, хроматографии и кристаллизации. Положения, выносимые на защиту:

- Методы получения производных урсоловой кислоты, содержащих фрагменты 2-меркапто-1,3,4-оксадиазолов;
- Синтез ацилтиосемикарбазидов урсоловой кислоты и влияние структурных особенностей на их внутримолекулярную циклизацию;
- Модификация тиольной группы 2-меркапто-1,3,4-оксадиазолов и 3-меркапто-1,2,4-триазолов урсоловой кислоты;
- Реакция аминометилирования терпеноидных серозамещенных 1,3,4-оксадиазолов и 1,2,4-триазолов;
- Селективные методы получения бис-гетероциклических производных урсоловой и бетулиновой кислот посредством CuAAC-реакции их C-28-алкинильных производных с 3-азидометил-4-метил-1,2,5-оксадиазол-2-оксидом или 2-азидометил-5-арил-1,3,4-оксадиазолом. Особенности CuAAC реакции 3β -(4-оксо-4-(проп-2-инилокси)бутаноилокси)-урсоловой кислоты с азидометилпроизводными 1,3,4-оксадиазолов или 1,2,5-оксадиазол-2-оксида;
- Способы получения гибридных структур, содержащих фрагменты арилпиримидина и амида бетулоновой кислоты, из оригинальных алкинилкетонów лупанового ряда и амидиниевых солей;

– Анализ строения полученных веществ на основе данных ИК, ЯМР ^1H и ^{13}C спектроскопии с привлечением 2D экспериментов и масс-спектрометрии.

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-спектроскопии (в том числе с привлечением двумерных гомо- и гетероядерных экспериментов (^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HMBSC), масс-спектрометрии высокого разрешения.

Структура диссертации. Работа изложена на 202 страницах машинописного текста, содержит 73 схемы, 6 рисунков и 12 таблиц. Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и заключения, списка цитируемой литературы (206 литературных источников).

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 5.6 "Химические проблемы создания фармакологически активных веществ нового поколения" (программа фундаментальных научных исследований СО РАН № V.41.1, проект V.41.1.6 и V.48.1.5) и при поддержке грантов РФФИ (№18-53-76001 ЭРА и 20-33-90237-Аспиранты).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 5 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, и 6 сообщений в виде тезисов докладов. Получено два патента РФ

Личный вклад соискателя. Результаты, представленные в работе, получены автором или при его непосредственном участии. Автор внёс основной вклад в формирование общего направления исследования, в постановку конкретных задач работы, в планирование и проведение химических экспериментов, в описание, интерпретацию и публикацию полученных результатов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** кратко сформулированы актуальность, цели и задачи исследования, отражена научная новизна и практическая значимость работы. **Первая глава** представляет собой литературный обзор. Рассмотрены подходы к модификации тритерпеновых кислот (бетулиновой **1**, бетулоновой **2** и урсоловой **3** кислот) с введением гетероциклических фрагментов посредством реакции Сузуки-Мияуры, Стилле, Соногаширы и 1,3-циклоприсоединения. Во **второй главе** описаны результаты исследований автора. **Третья глава** содержит описание методик эксперимента, физические и спектральные характеристики полученных соединений.

1. Синтез производных урсоловой кислоты, содержащих фрагменты 1,3,4-оксадиазол-2-аминов, 1,3,4-оксадиазол-2-тионов или 1,2,4-триазол-2-тионов

В качестве исходных синтонов нами были выбраны гидразиды **4** и **5** - производные урсоловой кислоты. Гидразид **5** получен последовательным алкилированием урсоловой кислоты этилхлорацетатом и гидразинолизом терминальной сложноэфирной группы, притом гидразинолиз сложноэфирной группы при С-28 в используемых условиях не происходит из-за стерических препятствий (схема 1). Гидразид **4** синтезирован последовательным С3-О-ацилированием урсоловой кислоты уксусным ангидридом, получением хлорангидрида 3β-О-ацетилурсоловой кислоты и его взаимодействием с гидразином.

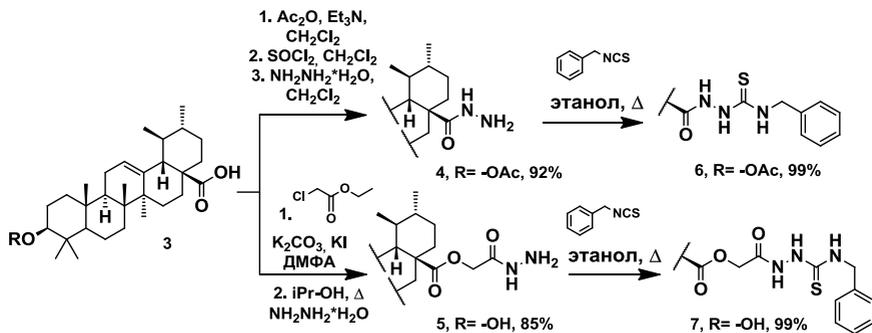


Схема 1

На основе гидразидов **4**, **5** были получены ацилтиосемикарбазиды **6**, **7**, являющиеся исходными синтонами для синтеза 3-меркапто-1,2,4-триазолов и 2-бензиламино-1,3,4-оксадиазолов. Показано, что реакция гидразидов **4**, **5** с бензилизотиоцианатом протекает с количественными выходами (Схема 1) соответствующих ацилтиосемикарбазидов **6**, **7**.

2-меркапто-1,3,4-оксадиазольные производные могут быть получены из гидразидов реакцией с сероуглеродом. В основной среде образуется дитиокарбамат, который претерпевает циклизацию при подкислении. В качестве основания мы использовали триэтиламин, что позволило сохранить 3-О-ацетильную группу тритерпеноида в ходе реакции. Реакция гидразидов **4**, **5** протекала с высокими выходами с образованием соединений **8**, **9** (схема 2).

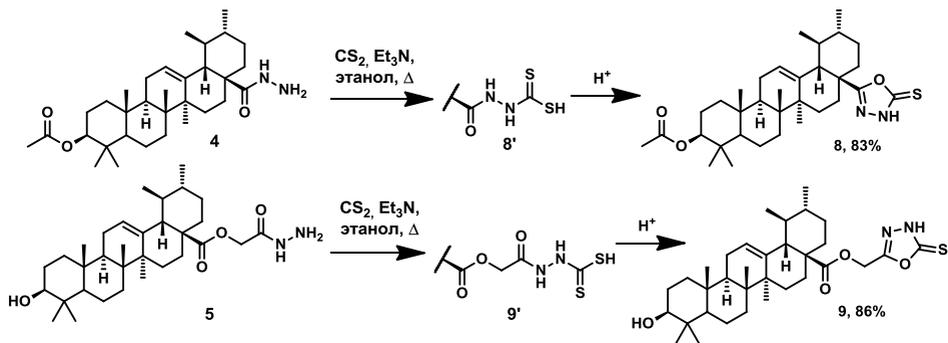


Схема 2

При обработке ацилтиосемикарбазида **6** гидроксидом калия в кипящем этаноле нами был получен 3-меркапто-1,2,4-триазол **10** с выходом 68% (схема 3). Следует отметить, что попытка циклизации тиосемикарбазида **7** в аналогичных условиях не привела к успеху. В качестве продукта реакции выделен деацетилированный тиосемикарбазид **11**. Замыкание триазольного цикла не происходит вследствие стерических препятствий.

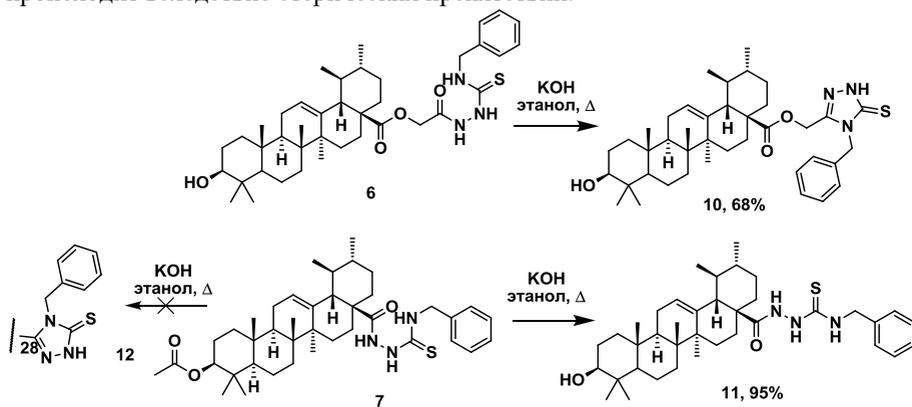


Схема 3

2-Бензиламино-1,3,4-оксадиазолы **13**, **14** были получены из ацилтиосемикарбазилов **6**, **7** с высоким выходом при нагревании с ацетатом ртути в этаноле (схема 4). Мы установили, что альтернативным, менее токсичным, реагентом, позволяющим синтезировать amino-оксадиазольные производные урсоловой кислоты **13**, **14** со сравнимыми выходами, является 2-иодоксибензойная кислота (IBX).

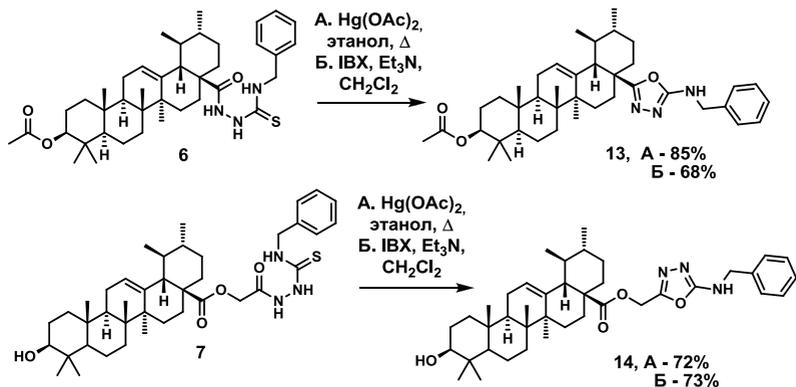


Схема 4

1.1. Модификация тиольной группы 2-мерkapто-1,3,4-оксадиазолов и 3-мерkapто-1,2,4-триазолов урсоловой кислоты: алкилирование и окисление

Для различных субстратов, нами были подобраны условия селективного S-алкилирования и получены с хорошими выходами тиоэфир **15**, **16а-г**, **17**, **18а-е**, **19а-ж**.

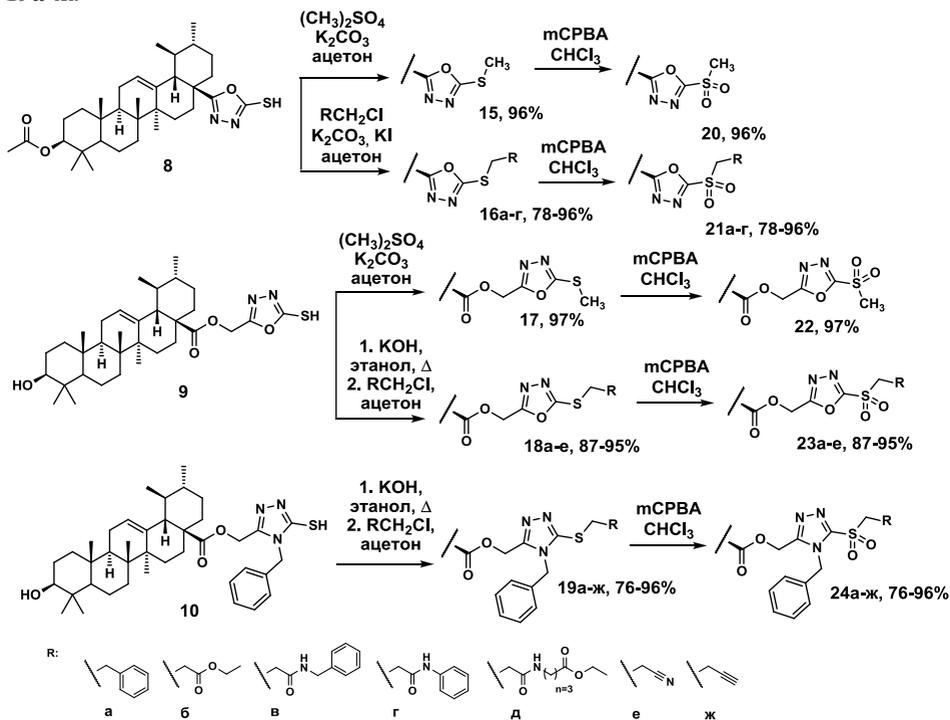


Схема 5

Наилучших выходов 2-метилсульфонил-1,3,4-оксадиазолов **20**, **22** удалось достичь при действии избытка *мета*-хлорнадбензойной кислоты (*m*-CPBA, 7 экв.) в хлороформе. Сульфоксиды **25**, **26а-б** легко образуются под действием 1 экв. *m*-CPBA (схема 6). Важно отметить, что окисление протекает селективно, не затрагивая двойную связь урсоловой кислоты.

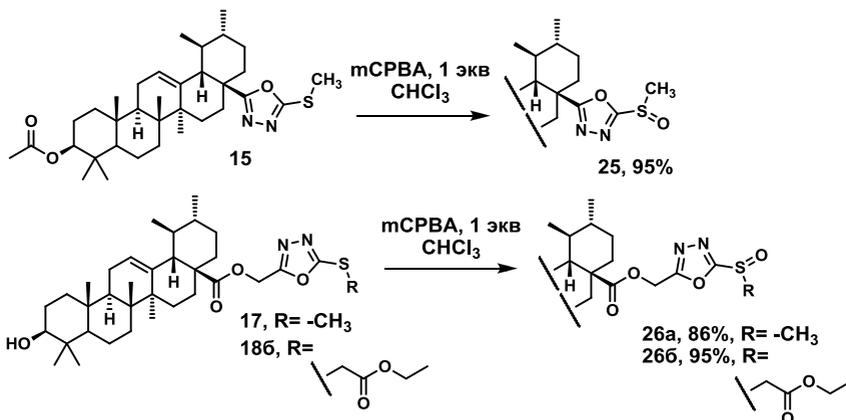


Схема 6

Используя условия, подобранные на примере тиометильных производных, мы получили ряд сульфоновых производных **23 а-в**, **24 а-в** (схема 5). Следует отметить, что тиоалкильные производные 1,2,4-триазолов **19а-ж** отличаются большей реакционной способностью в сравнении с производными с 1,3,4-оксадиазольным фрагментом, сульфоны **24а-г** получены при реакции с 4 экв *m*-CPBA.

Таким образом, нами показана возможность селективного S-алкилирования 2-мерkapто-1,3,4-оксадиазолов и 3-мерkapто-1,2,4-триазолов - производных урсоловой кислоты, подобраны условия окисления полученных тиоэфиров до соответствующих сульфонов.

1.2. Взаимодействие 2-метилсульфонил-1,3,4-оксадиазолов **20**, **22** с нуклеофильными агентами

Нуклеофильное замещение метилсульфонильной группы 1,3,4-оксадиазолов обычно осуществляют с использованием избытка вторичного амина в среде ДМФА в присутствии K₂CO₃. Реакция производных урсоловой кислоты **20** и **22** в указанных условиях приводила к образованию смеси продуктов. Мы показали, что терпеноидные сульфоны **20**, **22** реагируют с эквимолярным количеством вторичных аминов, в ДМСО, при нагревании до 120°C (Схема 7).

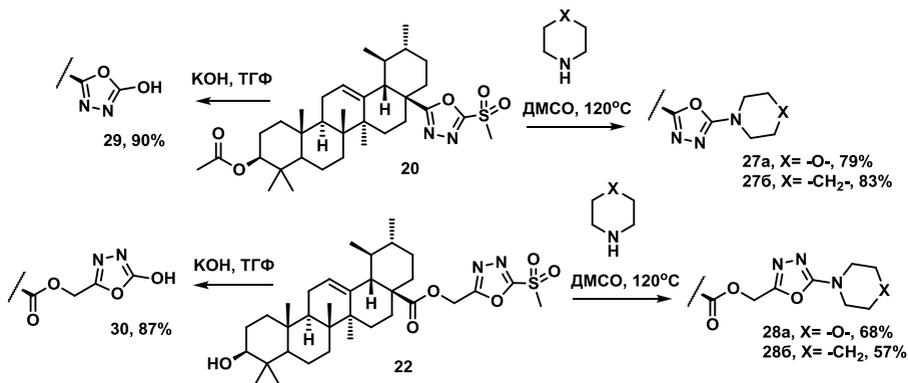


Схема 7

Известно, что образование 2-гидрокси-оксадиазолов возможно при непосредственном взаимодействии 2-алкилсульфонилзамещенных оксадиазолов с неорганическим основанием. В связи с высокой липофильностью тритерпеновых производных, синтез 2-гидрокси-1,3,4-оксадиазолитритерпеноидов **29**, **30** проводили обработкой метилсульфонов **20**, **22** действием КОН в водн. ТГФ при комнатной температуре в течение 30 мин (схема 7). Реакция соединения **20** протекала селективно, с сохранением 3-*O*-ацетатной группы тритерпеноида. Следует отметить, что образование 2-гидрокси-1,3,4-оксадиазола **30** в качестве побочного продукта нуклеофильного замещения наблюдалось при проведении реакции окисления тиозэфиров **17** и **18а-в** до соответствующих сульфонов в присутствии большого избытка *m*-CPBA и масштабировании реакции при продолжительной обработке водным раствором NaHSO_3 , связанной с удалением избытка *m*-CPBA.

Таким образом, нуклеофильным замещением метилсульфонильной группы в тритерпеноидных 2-метилсульфонил-1,3,4-оксадиазолах синтезированы производные урсоловой кислоты с 2-диалкиламино- или 2-гидрокси-заместителями в гетероциклическом фрагменте.

1.3. Реакция Манниха с участием 2-меркапто-1,3,4-оксадиазолов **8**, **9** и 3-меркапто-1,2,4-триазола урсоловой кислоты **10**

Реакции Манниха для 2-меркапто-1,3,4-оксадиазолов или 3-меркапто-1,2,4-триазолов, присоединенных к терпеновому остову, в литературе не описаны. Мы нашли, что реакция тритерпеноидных оксадиазолов **8**, **9** или триазола **10** с параформом и морфолином протекает при нагревании в изопропанолу с образованием соответствующих аминотильных производных **31-33** (Схема 8).

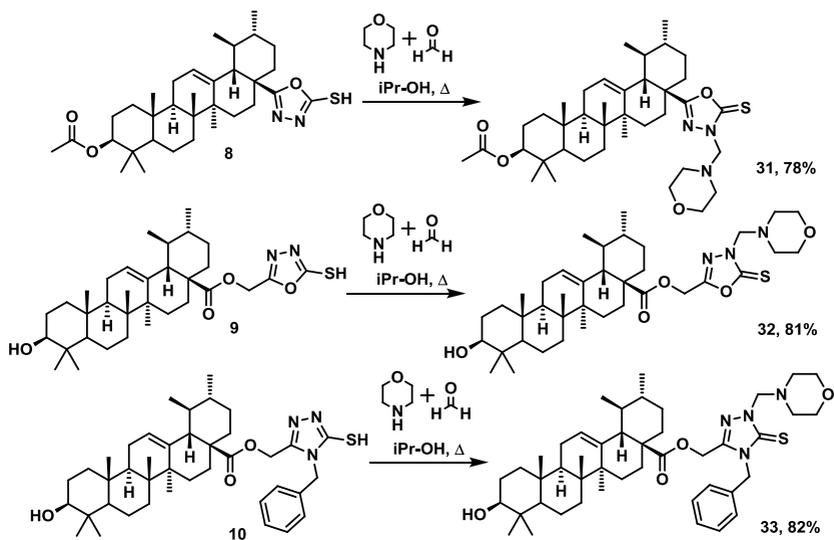


Схема 8

Как видно, аминотилирование урсановых гибридов с 1,3,4-оксадиазол- и 1,2,4-триазолтионами приводило к образованию новых потенциально биологически активных производных пентациклических тритерпеноидов, содержащих 3-морфолинометил-2-тиоксо-1,3,4-оксадиазольный или 2-морфолинометил-3-тиоксо-1,2,4-триазольный заместители.

2. Реакция Cu-катализируемого 1,3-циклоприсоединения в синтезе бис-гетероциклических производных тритерпеновых кислот

Синтез производных тритерпеновых кислот с 1,2,3-триазольным фрагментом посредством Cu-катализируемой реакции азид-алкинового циклоприсоединения является перспективным направлением для моделирования новых, биоактивных соединений. При этом описаны лишь единичные примеры получения бис-гетероциклических производных тритерпеновых кислот.

В качестве ацетиленовых интермедиатов, нами был получен ряд терминальных алкинов бетулоновой, бетулиновой и урсоловой кислот, в том числе новые соединения **35**, **37**, **38** (Схема 9).

2-(Бетулиноилокси)уксусная кислота **34** и 2-(урсолоилокси)уксусная кислота **36** получены последовательным алкилированием тритерпеновых кислот этилхлорацетатом с последующим омылением терминальных сложноэфирных групп. Алкилирование соединений **34**, **36** пропаргилбромидом протекало с препаративным выходом в ДМФА, в присутствии K_2CO_3 и KI, с образованием пропаргильных эфиров **35**, **37**.

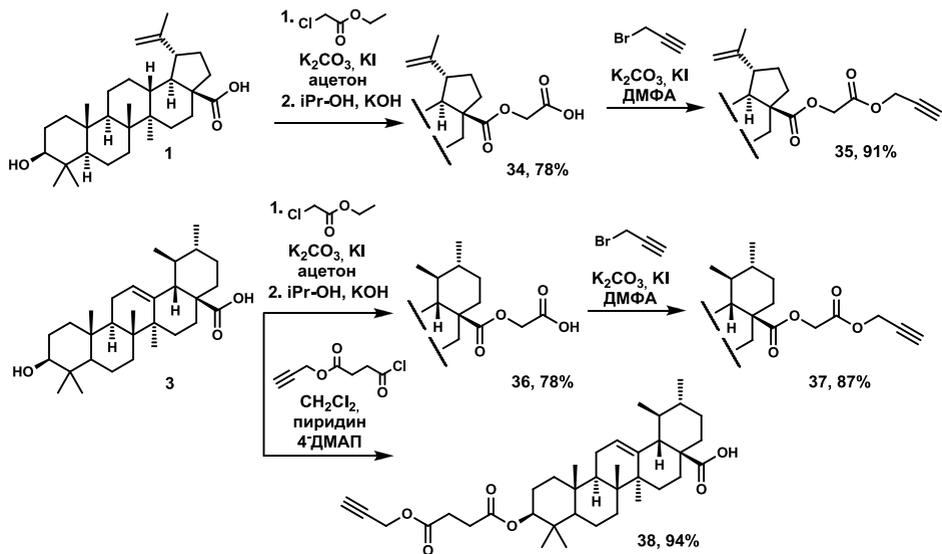


Схема 9

3β-[4-Оксо-4-(проп-2-инилокси)бутаноилокси]-урсоловую кислоту **38** синтезировали с высоким выходом посредством С3-О-ацилирования урсоловой кислоты пропаргил 4-хлор-4-оксобутаноатом. Свежеприготовленный хлорангидрид (4 экв) реагирует с урсоловой кислотой в CH_2Cl_2 , в присутствии 4-ДМАП (4-N,N-диметиламинопиридин) и триэтиламина (схема 9).

В качестве азидной компоненты нами были получены гетероциклические производные: 2-азидометил-1,3,4-оксадиазол-5-арилы **42а-г** и 3-азидометил-4-метил-1,2,5-оксадиазол-2-оксид **40** (схема 10), соединение **40** описано впервые.

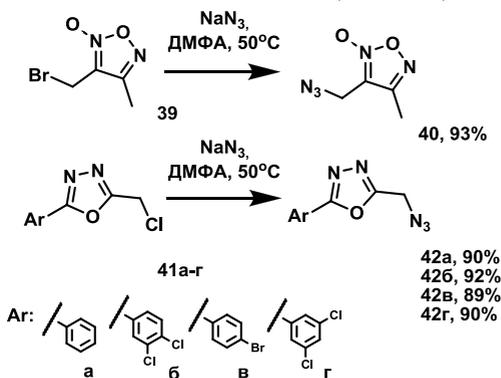


Схема 10

Пропаргиловые эфиры бетулиновой, бетулоновой и урсоловой кислот **43**, **44**, **45** были получены нами по известным методикам. На примере пропаргилового эфира бетулоновой кислоты **43** и 3-азидометил-4-метил-1,2,5-оксадиазол-2-оксида **40**, мы подобрали условия азид-алкинового циклоприсоединения (**схема 11**).

Показано, что реакция успешно протекает в присутствии $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.2 экв), аскорбата натрия (0.2 экв) и триэтиламина. Полная конверсия достигнута в диметилформамиде, при незначительном нагревании. Далее, с использованием подобранных условий, мы получили ряд бис-гетероциклических производных бетулоновой **47а-г** и урсоловой **48а-г** кислот с хорошими выходами.

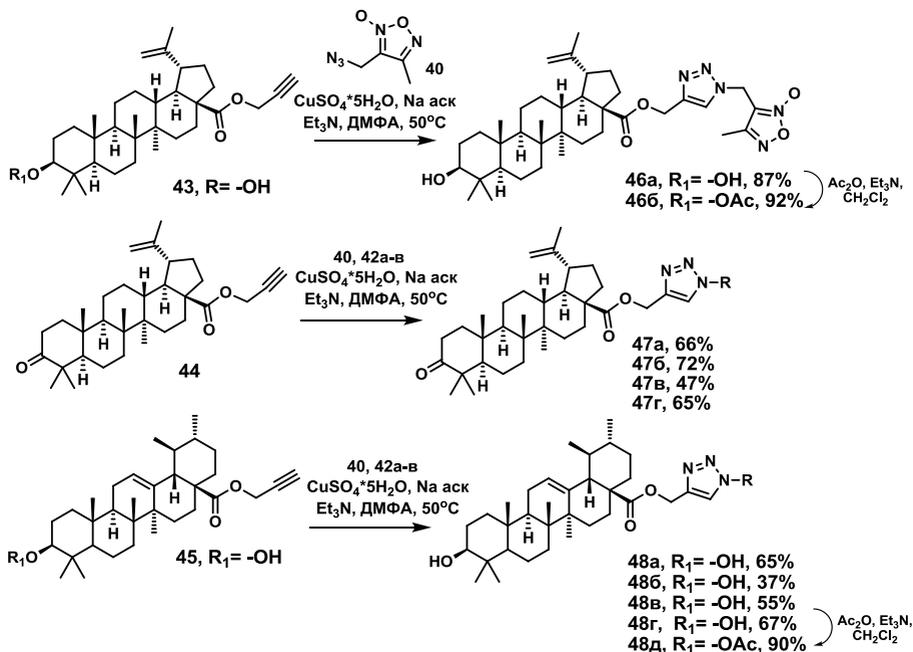


Схема 11

Полученные нами в качестве исходных синтонов терминальные алкины **35**, **37** были введены в реакцию 1,3-циклоприсоединения в аналогичных условиях (**схема 12**), получен ряд бис-гетероциклических производных **49**, **50а-б** с оксоэтильным линкером, с высокими выходами.

Терминальный алкин **19ж**, полученный при модификации 3-меркапто-1,2,4-триазола **10**, был введен в реакцию с азидоэтилацетатом (**схема 12**), в присутствии сульфата меди и аскорбата натрия. Таким образом, нами было получено бис-гетероциклическое производное **51**, имеющее в структуре 1,2,3-триазольный и 1,2,4-триазольный фрагменты.

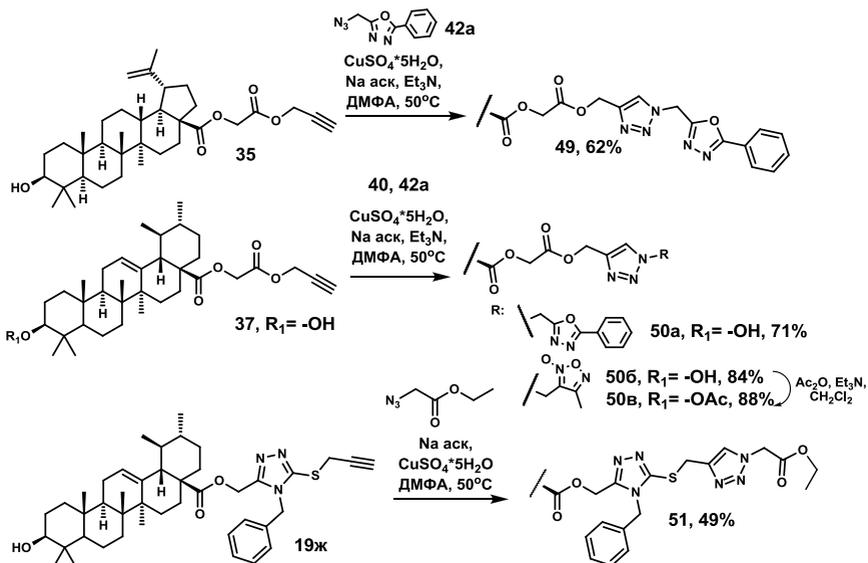


Схема 12

Производные 1,2,5-оксадиазол-2-оксида **46а**, **48г**, **50б**, были ацилированы по С-3 гидроксильной группе уксусным ангидридом (схемы **11**, **12**), для исследования влияния ацетатной группы при С-3 на биологическую активность. С-3-*O*-ацетатные бис-гетероциклические производные **46б**, **48д**, **50в** получены с препаративными выходами в CH_2Cl_2 , в присутствии триэтиламина.

β -[4-оксо-4-(проп-2-инилокси)бутаноилокси]-урсоловая кислота **38** не реагировала с азидами в присутствии $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ и аскорбата натрия. Бис-гетероциклические производные алкина **38** были синтезированы с использованием в качестве катализатора CuBr (0.1 экв) и основания диэтилопропиламина (ДИПЕА, 0.1 экв). Реакция осуществлена при комнатной температуре в атмосфере азота (схема **13**).

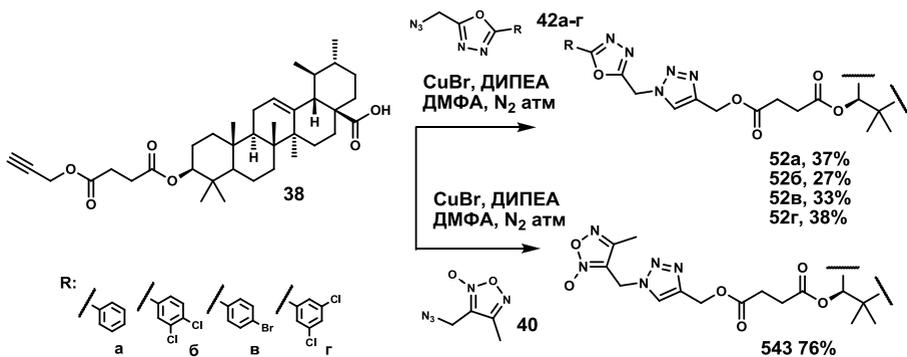


Схема 13

Таким образом, изучены условия CuAAC реакций пропаргиловых эфиров урсанового и лупанового ряда в положения С-28 и С3 тритерпенового остова с 2-азидометил-1,3,4-оксадиазол-5-арилами **42а-г** и 3-(азидометил)-4-метил-1,2,5-оксадиазол-2-оксидом **40**. Предложены условия проведения CuAAC реакции 3β-(4-оксо-4-(проп-2-инилокси)бутаноилокси)-урсоловой кислоты **38** с азидометилпроизводными 1,3,4- или 1,2,5-оксадиазол-2-оксида. Получены новые бис-гетероциклические производные тритерпеновых кислот с 1,3,4-оксадиазольным или 1,2,5-оксадиазольным и 1,2,3-триазольным фрагментом.

3. Синтез алкинилкетонов на основе амида бетулоновой кислоты

Мы рассмотрели примеры получения гетероциклических соединений на примере циклизации гидразидов и тиосемикарбазидов, а также посредством 1,3-циклоприсоединения. На основе терминальных алкинов могут быть синтезированы α,β-алкинилкетоны, которые так же являются перспективными синтонами для получения гетероциклических производных различной структуры.

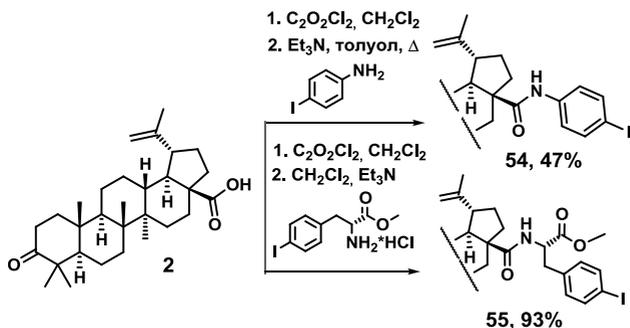


Схема 14

В качестве исходных синтонов для синтеза терпеноидзамещенных α,β-алкинилкетонов, мы получили амидные производные бетулоновой кислоты с пара-иодфенильным фрагментом. Пара-иоданилид **54** получен реакцией хлорангидрида бетулоновой кислоты с анилином в кипящем толуоле (схема 14), производное фенилаланина **55** получено с высоким выходом реакцией хлорангидрида бетулоновой кислоты с гидрохлоридом метилового эфира пара-иодфенилаланина (схема 14), в хлористом метиле.

Нами была исследована реакция кросс-сочетания арилиодидов **54**, **55** с триметилсилилацетиленом (схема 15), показано, что алкильные производные **56**, **58** образуются в классических условиях реакции Соногаширы с выходом 75-89%. При подборе условий десилилирования соединений **56**, **58** мы использовали карбонат калия, и соли фтора, наибольшего выхода продуктов десилилирования **57**, **59** удалось достичь при использовании тетрабутиламмония фтористого.

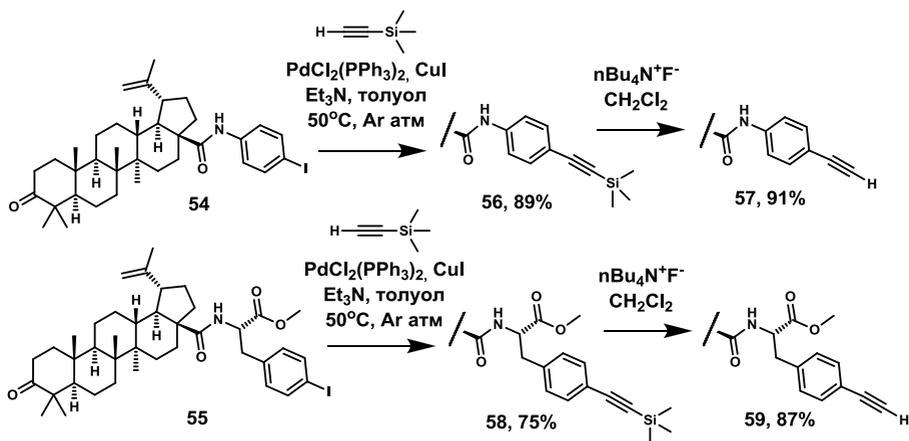


Схема 15

α,β -Ацетиленовые кетоны лупановых тритерпеноидов **61a-в** и **62a-б** получали реакцией кросс-сочетания терминальных алкинов **57**, **59** с хлорангидридами карбоновых кислот **60a-в** в толуоле в присутствии $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (0.07 экв.), трифенилфосфина (0.03 экв.), иодида меди (0.03 экв.) и триэтиламина (3 экв.) в качестве основания при нагревании (75°C, баня) в течение 10 ч (схема 16). Добавление трифенилфосфина позволяет связать присутствующие в реакционной смеси следы кислорода, а также способствует генерации комплекса Pd^0 , играющего ключевую роль на стадии окислительного присоединения. Выход алкинилкетонов после обработки и колоночной хроматографии составил 59-71%.

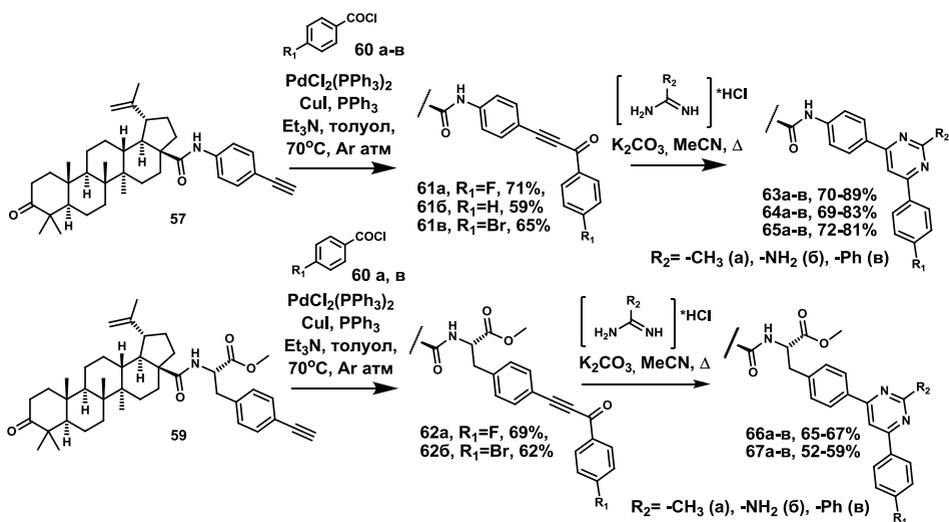


Схема 16

Удобным синтетическим подходом к получению функционализированных пиримидинов является конденсация амидинов с алкинилкетонами. Нами изучены условия конденсации синтезированных алкинилкетонных солями ацетамидина (а), гуанидина (б) и бензамидина (в) в присутствии оснований (схема 16). В качестве основания литературные источники предлагают использовать триэтиламин, карбонаты натрия и цезия. Растворитель варьируется в зависимости от природы субстрата и выбранного основания, также играет роль противоион амидина. В ходе работы нами были использованы разные основания (триэтиламин, гидроксид натрия, карбонат натрия), карбонаты и гидрохлориды амидинов, в качестве растворителя использовались спирты и ацетонитрил. Показано, что наибольший выход пиримидин-тритерпеноидных конъюгатов **63а-в**, **64а-в**, **65а-в**, **66а-в**, **67а-в** (52-89%), достигается при проведении реакции в ацетонитриле (80°C) в присутствии K_2CO_3 (5 экв.).

Таким образом, посредством реакции Соногаширы селективно получены производные бетулоновой кислоты с терминальной тройной связью, изучена реакция кросс-сочетания терминальных алкинов бетулоновой кислоты **57**, **59** с образованием α,β -ацетиленовых кетонов. Впервые получены и охарактеризованы гибридные соединения, содержащие в структуре фармакофорные фрагменты амида бетулоновой кислоты и арилпиримидина.

4. Исследование биологической активности полученных соединений

Исследование цитотоксичности выполнено на базе Института цитологии и генетики ИЦИГ УФИЦ СО РАН к.б.н. Голубевой Т.С. Получены данные о цитотоксичности в отношении клеточных культур MCF-7 (рак молочной железы), U-87 (глиобластома человека), A549 (мелкоклеточный рак легкого), HepG2 (гепатоцеллюлярная карцинома) и (hTERT) (линия легочных фибробластов человека в качестве неракового контроля) с использованием МТТ-теста. В качестве препарата сравнения использовали доксорубин. Исследована цитотоксичность 2-меркапто-1,3,4-оксадиазольных производных урсоловой кислоты (17 соединений), 3-меркапто-1,2,4-триазольных производных урсоловой кислоты (9 соединений), 2-бензиламино-1,3,4-оксадиазолов – производных урсоловой кислоты **13**, **14** и бис-гетероциклических производных тритерпеновых кислот (15 соединений). Для переданных на анализ соединений рассчитана доза ингибирования роста клеток GI_{50} .

Среди исследованных соединений наибольшую ингибирующую активность и селективность в отношении линии MCF-7 проявили 2-бензиламино-1,3,4-оксадиазол **13** (GI_{50} 8.6 мкМ, SI=8) и C3-О-ацилированное бис-гетероциклическое производное урсоловой кислоты **47д** (GI_{50} 1.6 мкМ, SI=7). Способ получения и данные о биологической активности соединений защищены патентами РФ.

Противовоспалительная активность 15 производных бетулоновой кислоты с 2,4,6-тризамещенным пиримидиновым фрагментом изучена под руководством д.б.н. Сорокиной И.В., на базе Лаборатории Фармакологических исследований НИОХ СО РАН. В качестве препарата сравнения использовали индометацин в дозе 20 мг/кг, соединения вводили в дозе 50 мг/кг. Исследование проводили на

моделях воспаления, индуцированных гистамином (модель иммуногенного воспаления) и конканавалином А (модель острого воспаления).

Среди исследованных соединений наибольшую противовоспалительную активность на гистаминовой модели проявило соединение **636** (ПВА 46%, индометацин 38%), на конканавалиновой модели воспаления наибольшую активность проявили соединения **656** (ПВА 58%, индометацин 58%) и **666** (ПВА 42%, индометацин 48%).

ВЫВОДЫ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Разработаны подходы к синтезу тритерпеноидных производных 2-бензиламино-1,3,4-оксадиазолов, 2-меркапто-1,3,4-оксадиазолов и 3-меркапто-1,2,4-триазолов с использованием гидразидов и ацилтиосемикабазидов урсанового типа.

На основе тритерпеноидных гидразидов получены с высокими выходами урсановые и 28-нор-урсановые соединения, содержащие 2-меркапто-1,3,4-оксадиазольный фрагмент.

Показано, что циклизация ацилтиосемикабазидов под действием 2-иодоксibenзойной кислоты является альтернативным методом синтеза 2-амино-1,3,4-оксадиазолов наряду с гидрообессериванием с использованием солей ртути.

Обнаружены стерические ограничения циклизации урсолоил-бензилацилтиосемикарбазида **6** в производное 3-меркапто-1,2,4-триазола **12**, обусловленные пространственным строением субстрата. При введении линкерной группы между гидразидом и тритерпеновым остовом, циклизация легко осуществима.

2. Разработаны эффективные методы модификации 2-меркапто-1,3,4-оксадиазолов и 3-меркапто-1,2,4-триазолов, обеспечивающие получение алкилсульфидов гетероциклических тритерпеновых соединений.

Осуществлено селективное окисление ряда алкилсульфидов метаклорнадбензойной кислотой, определены условия, обеспечивающие преимущественное образование сульфонов или сульфоксидов гетероциклических производных урсановых тритерпеноидов. Это первый пример окисления сульфанильных производных тритерпеноидов до сульфоксидов и сульфонов с сохранением ненасыщенного терпенового остова

Изучено нуклеофильное замещение метилсульфоновой группы 1,3,4-оксадиазольных урсановых производных. При взаимодействии с вторичными аминами получены 2-морфолино-, 2-пиперидино- производные 1,3,4-оксадиазолов. Образование 2-гидрокси-1,3,4-оксадиазолов протекало хемоселективно с сохранением 3-О-ацетаной группы при тритерпеновом остове.

Найдены условия аминотилирования урсановых производных 2-меркапто-1,3,4-оксадиазолов и 3-меркапто-1,2,4-триазолов.

3. Подобраны условия CuAAC реакций пропаргиловых эфиров урсанового и лупанового ряда, присоединенных в положения при С-28 или С-3 тритерпенового остова, с 3-азидометил-4-метил-1,2,5-оксадиазол-2-оксидом или 2-азидометил-5-арил-1,3,4-оксадиазолами. Получены новые бис-азольные

производные тритерпеновых кислот с 1,3,4-оксадиазольным или 1,2,5-оксадиазольным фрагментом и 1,2,3-триазольной линкерной группой.

4. Разработаны эффективные методы синтеза алкинилкетонов лупановых тритерпеноидов, включающих последовательность реакций Соногаширы 4-иодфениламида или 4-иодфенэтиламида бетулоновой кислоты с триметилсилилацетиленом, десилилирования и кросс-сочетания терминальных алкинов с хлорангидридами бензойных кислот. Предложен метод синтеза конъюгатов амида бетулоновой кислоты с арилпиримидинами. Изучено действие различных оснований на выход продуктов реакции гетероциклизации.

5. На базе Лаборатории Фармакологических Исследований НИОХ СО РАН исследована противовоспалительная активность впервые синтезированных конъюгатов амидов бетулоновой кислоты с 2,4,6-тризамещенными пиримидинами, и найдены перспективные агенты. В результате тестирования *in vitro* на базе Федерального исследовательского центра Института цитологии и генетики СО РАН в ряду серо- и аминзамещенных гетероциклических производных урсоловой кислоты и бис-гетероциклических производных бетулоновой, бетулиновой и урсоловой кислот выявлены ингибиторы роста опухолевых клеток человека, действие которых на клеточные линии рака молочной железы аналогично действию доксорубина.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

Статьи в рецензируемых журналах:

1. S. A. Popov, M. D. Semenova, D. S. Baev, T. S. Frolova, E. E. Shults, Ch. Wang, M. Turks. Synthesis of cytotoxic urs-12-ene- and 28-nor-urs-12-ene-type conjugates with amino- and mercapto-1,3,4-oxadiazoles and mercapto-1,2,4-triazoles. *Steroids*. – 2020. – V. 153. – Article N 108524.

2. S. A. Popov, M. D. Semenova, D. S. Baev, T. S. Frolova, M. A. Shestopalov, Ch. Wang, Zh. Qi, E. E. Shults, M. Turks. Synthesis and cytotoxicity of hybrids of 1,3,4- or 1,2,5-oxadiazoles tethered from ursane and lupane core with 1,2,3-triazole. *Steroids*. – 2020. – V. 162. – Article N 108698.

3. M. D. Semenova, S. A. Popov, T. S. Golubeva, D. S. Baev, E. E. Shults, M. Turks. Synthesis and cytotoxicity of sulfanyl, sulfinyl and sulfonyl group containing ursane conjugates with 1,3,4-oxadiazoles and 1,2,4-triazoles. *Chemistry Select*. – 2021. – V. 6. – N 7. – P. 6472-6477.

4. M. D. Semenova, S. A. Popov, E. E. Shul'ts, M. Turks. Synthesis of new ursane-type hybrids with morpholinomethyl-, dialkylamino-, and hydroxyl-substituted azoles. *Chem. Nat. Compd.* – 2021. – V. 58. – N 1. – P. 65-70.

5. M. D. Semenova, S. A. Popov, I. V. Sorokina, Yu. V. Meshkova, D. S. Baev, T. G. Tolstikova, E. E. Shults. Conjugates of lupane triterpenoids with arylpyrimidines: Synthesis and anti-inflammatory activity. – *Steroids*. – 2022. – V. 184. – Article N 109042.

Патенты по теме диссертации:

6. С. А. Попов, М. Д. Семенова, Т. С. Фролова, Э.Э. Шульц. (17S)-N-бензил-5-((3β-ацетокси-28-нор-урс-12-ен)-17-ил)-1,3,4-оксадиазол-2-амин,

обладающий селективной цитотоксичностью в отношении клеток рака молочной железы MCF-7. Патент РФ 2 708 400. Бюлл. № 34, 2019 опубликовано: 06.12.2019

7. С. А. Попов, М. Д. Семенова, Э. Э. Шульц, Т. С. Фролова. ({[(3 β -Ацетоксиурс-12-ен-28-оилоксиацетокси)метил]-1Н-1,2,3-триазол-1-ил} метил)-4-метил-1,2,5-оксадиазол-2-оксид, обладающий селективной противоопухолевой активностью в отношении клеток рака молочной железы MCF-7. Патент РФ 2 739 559, Бюлл. № 36, 2020 опубликовано: 25.12.2020

Материалы диссертационной работы представлены на конференциях:

8. М. Д. Семенова, С. А. Попов, Э. Э. Шульц. Синтез новых конъюгатов 1,3,4-оксадиазолов и тритерпеноидов лупанового и урсанового ряда. Материалы Молодёжной научной школы-конференции "Актуальные проблемы органической химии". С. 167. Шерегеш, Россия, 09-16 Марта 2018 (стендовый доклад).

9. М. Д. Семенова. Получение биологически активных производных тритерпеноидов лупанового и урсанового ряда с пятичленными азотсодержащими гетероциклами. Материалы 57-й Международной научной студенческой конференции. С. 57. Новосибирск, 14 апреля 2019 г. (устный доклад).

10. M. Semenova, S. Popov, E. Shults. New nitrogen-containing ursolic acid heterocycles with thiol group: synthesis and biological activity. Материалы 4-й Российской конференции по медицинской химии «МедХим-Россия 2019». С. 268. г. Екатеринбург, Россия, 9-14 июня 2019 г. (стендовый доклад).

11. М. Д. Семенова, С. А. Попов, Э. Э. Шульц. Конъюгаты 1,3,4-, 1,2,5-оксадиазолов и 1,2,3-триазолов с тритерпеноидами урсанового и лупанового ряда: Синтез и изучение биологической активности. Тезисы докладов XI Всероссийской научной конференции "Химия и технология растительных веществ", С. 203. г. Сыктывкар, Россия. 27-31 мая 2019 (стендовый доклад)

12. М. Д. Семенова, С. А. Попов, Э. Э. Шульц. Синтез и модификация серосодержащих гетероциклов, присоединенных к тритерпеновому остову. Сборник тезисов Научной конференции «Марковниковские чтения. Органическая химия: от Марковникова до наших дней», Школа-конференция молодых ученых «Органическая химия: традиции и современность», С. 94. Пансионат МГУ Красновидово, 17-20 января 2020 г. (устный доклад).

13. М. Д. Семенова, С. А. Попов, Э. Э. Шульц. Получение 2,4,6-пиримидиновых производных бетулоновой кислоты. Материалы Первой всероссийской школы по медицинской химии для молодых ученых MEDCHEMSCHOOL2021, С. 124. Новосибирск, 4-9 июля 2021 г. (устный доклад).