

«Институт технической химии Уральского отделения Российской академии наук» - филиал
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального
исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук

На правах рукописи

Коньшева Анастасия Владимировна

**СИНТЕЗ И ПРЕВРАЩЕНИЯ АЛКИЛИРОВАННЫХ
1-ЦИАНО-2,3-СЕКОТРИТЕРПЕНОИДОВ**

1.4.3 – Органическая химия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель
к.х.н., доцент Гришко В.В.

Екатеринбург – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

	Стр.
Введение	3
Глава 1. Распространение в природе, функционализация, синтез и биологическая активность тритерпеноидов с пятичленным циклом А (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)	13
1.1. Биосинтез тритерпеноидов с пятичленным циклом А, их распространение в природе и биологическая активность	13
1.2. Функционализация природных тритерпеноидов цеанотанового типа	33
1.3. Синтез А-пентациклических тритерпеноидов	36
Глава 2. Синтез и модификация алкилированных 2,3-секотритерпеноидов на основе 3-оксобетулина, метилата бетулоновой кислоты и аллобетулона (ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ)	66
2.1. Синтез 2,3-секотритерпеновых 3-алкил-3-кетонов	67
2.2. Внутримолекулярная циклизация 3-алкил-3-кетонов и модификация продуктов синтеза	75
2.3. Синтез и циклизация бромзамещенных 3-алкил-3-кетонов	83
2.4. Синтез и превращения (3 <i>R</i>)-3-гидрокси-3-метил-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18 α <i>H</i> -олеанана	90
Глава 3. Биологическая активность алкилированных 2,3-секотритерпеноидов и их производных	98
3.1. Исследование противовирусных свойств продуктов синтеза	98
3.2. Цитотоксические свойства продуктов синтеза	102
Глава 4. Экспериментальная часть	113
Заключение	159
Перечень исполуемых сокращений	161
Список литературы	163

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности темы исследования.

Разработка методов синтеза новых физиологически активных соединений с минимальными побочными эффектами представляет теоретический и практический интерес для современной органической и медицинской химии. Широкий спектр биологических свойств, отсутствие токсичности и неограниченные возможности синтетической трансформации позволяют рассматривать вторичные метаболиты растительного происхождения, в частности, пентациклический тритерпеноид бетулин, в качестве привлекательной платформы для получения новых терапевтически перспективных агентов.

В литературе приводятся многочисленные данные о значительном повышении уровня биологической активности в результате тривиальной функционализации нативных полициклических тритерпеноидов. В этом плане примеры структурной модификации тритерпеноидов, направленные на сужение или расширение цикла А, изучены в меньшей степени. Согласно известным биосинтетическим схемам, в природе образованию биоактивных тритерпеноидов с пятичленным циклом А предшествует фрагментация кольца А, чаще всего по С(2)–С(3) связи. Идентичные подходы успешно используются в синтезе природных биологически активных А-пентациклических тритерпеноидов и их полусинтетических аналогов. Так, синтез природной анти-ВИЧ-1 активной эпицеанотовой кислоты осуществлен на основе более доступного полусинтетического 2,3-дикарбокси-2,3-секопроизводного бетулина. Кроме того, удобным методом получения новых циклических производных с биологическими свойствами служит введение в структуру А-секотритерпеноида нитрильной группы, способствующей повышению реакционного потенциала молекулы во внутримолекулярной циклизации за счет образования нитрил-аниона в условиях основного катализа. Таким образом, реакцией внутримолекулярной циклизации 2,3-секотритерпеновых альдегидонитрилов получены производные с фрагментом α,β -алкеннитрила в пятичленном цикле А, обладающие выраженными антиретровирусными свойствами.

Известно, что присутствие нитрильной группы в структуре полусинтетических производных способствует значительному повышению уровня их фармакологического действия. В настоящее время на фармацевтическом рынке широко представлены препараты, структура действующего вещества которых включает нитрильную функцию в сочетании с ароматическими, алифатическими и алкеновыми фрагментами. Так, например, агенты с фрагментом алкеннитрила применяются в качестве противоопухолевых средств, в том числе эффективных в случаях лекарственно устойчивых новообразований.

В связи с этим актуальное значение имеют исследования, касающиеся направленного синтеза цианозамещенных А-секотритерпеноидов, их алкилирования, дальнейшей функционализации и структурной модификации в условиях внутримолекулярной циклизации с образованием перспективных интермедиатов и новых биологически активных соединений.

Цель настоящей работы – разработка методов синтеза и исследование реакционной активности С(3) алкилированных 1-циано-2,3-секотритерпеноидов в процессах внутримолекулярной циклизации, оценка противовирусных и цитотоксических свойств продуктов синтеза.

Основные задачи исследования:

- разработать методы синтеза 1-циано-2,3-секотритерпеновых С(3) метилзамещенных производных на основе 3-оксобетулина, метилового эфира бетулоновой кислоты и аллобетулона;
- исследовать процесс внутримолекулярной циклизации 1-циано-2,3-секотритерпеновых метилкетонов и их производных;
- изучить подходы к введению атома брома в А-секокольцо тритерпеновых метилкетонов и возможность последующей функционализации и внутримолекулярной циклизации бромзамещенных тритерпеноидов;
- разработать методы получения 2,3-секо-18 α H-олеананового и 2,3-секолупанового тритерпеноидов с фрагментом этилкетона, их дальнейшей трансформации и циклизации;

– оценить противовирусные и цитотоксические свойства полученных соединений.

Научная новизна и теоретическая значимость исследований. При выполнении исследования осуществлен синтез 64 ранее не описанных в литературе производных бетулина лупанового и олеананового типа. Для осуществления региоселективной структурной трансформации цикла А полициклических тритерпеноидов разработаны методы синтеза 3-алкил-3-оксо-1-цианозамещенных 2,3-секотритерпеноидов, основанные на алкилировании А-циклических гидроксиминокетонов или 2,3-секотритерпеновых альдегидонитрилов в условиях реакции Гриньяра.

Исследованы основные закономерности реакции внутримолекулярной нитрил-анионной циклизации синтезированных 3-алкил-3-кетонов и их производных. Установлено, что внутримолекулярная C(1)–C(3) оксонитрильная циклизация алкилкетонов в условиях основного катализа (*t*-BuOK/*t*-BuOH) протекает региоселективно с сужением цикла А и формированием фрагмента α,β -алкеннитрила в пятичленном кольце А тритерпеноидов. Циклизация бромпроизводных алкилкетонов в аналогичных условиях реализуется преимущественно по нитрил-анионному пути и позволяет функционализировать шестичленное кольцо А тритерпеноидов фрагментом α,β -алкенкетона. Показано, что в отличие от 3-метилзамещенного аналога внутримолекулярная циклизация бромзамещенного 3-этил-3-кетона протекает региоселективно с формированием C(1)–C(31) связи.

Установлено, что восстановление 3-метил-3-кетонов протекает стереоселективно с образованием (3*R*)-гидроксинитрилов, которые в условиях системы H₂SO₄/CH₃COOH претерпевают внутримолекулярную циклизацию с образованием шестичленных алкенкетонов и ϵ -лактона. Согласно предложенному механизму, в качестве ключевых направлений данного процесса можно предположить кислотный гидролиз цианогруппы и дегидратацию гидроксильной функции с формированием карбокатиона и последующей 1,2-миграцией метильной группы. Образование из (3*R*)-гидроксинитрила соответствующего

производного с фрагментом C(4) изопентена в условиях системы $\text{POCl}_3/\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ также свидетельствует в пользу предложенного механизма.

Рентгеноструктурные данные новых тритерпеновых производных внесены в Кембриджский центр кристаллографических данных (www.ccdc.cam.ac.uk) под номерами CCDC 961397 (**8a**), 1940329 (**8b**), 961398 (**10**), 1833332 (**16**), 1833333 (**18**), 1833334 (**27**), 1546452 (**36**), 1833331 (**51**), 1857970 (**57**), 1857974 (**58, 59**), 1940328 (**62a**), 1940332 (**65**), 1940331 (**67**), 1940330 (**68**).

Исследованы противовирусные и противоопухолевые свойства синтезированных тритерпеноидов. В частности, отобран 3-метил-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18 α H-олеан-3-он с ингибирующей активностью в отношении вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-1) и герпеса простого I типа (ВГП-1), перспективный в качестве интермедиата для синтеза новых противовирусных агентов. По данным скрининга *in vitro* противоопухолевых свойств отобран цитотоксичный метиловый эфир 3-бромметил-3-оксо-1-циано-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-30-аль-28-овой кислоты, проапоптотический эффект которого связан с активацией каспаз 8, 3/7.

Практическая значимость работы. Разработаны альтернативные методы синтеза новых тритерпеновых производных, содержащих фрагменты метил- и этилкетона при C(4) атоме. Наиболее оптимальный способ синтеза позволяет получать в три стадии C(3) замещенные 2,3-секотритерпеновые алкилкетоны, в том числе 3-метил-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18 α H-олеан-3-он, сочетающий вирусингибирующую активность в отношении ВГП-1 и ВИЧ-1 (EC_{50} 45,1 и 15,4 мкМ; ХТИ 10,4 и 9,4 соответственно).

Синтезированные 3-алкилзамещенные 2,3-секотритерпеноиды апробированы в условиях реакции внутримолекулярной оксонитрильной циклизации. В результате впервые получена серия 3-алкилзамещенных А-пентациклических α,β -алкеннитрилов, среди которых в качестве активного соединения отобран метиловый эфир 3-метил-1-циано-2-норлуп-1(3),20(29)-диен-28-овой кислоты с умеренными вирусингибирующими свойствами в отношении

ВИЧ-1 (EC_{50} 83,6 мкМ) на фоне высокого химиотерапевтического индекса (ХТИ 93,7).

Установлено, что восстановление 3-метил-3-кетонів протекает стереоселективно с образованием (3*R*)-гидроксипроизводных, среди продуктов превращения которых выявлен (3*R*)-3-ацетокси-3-метил-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18 α *H*-олеанан, активный в отношении ВГП-1 (EC_{50} 39,5 мкМ, ХТИ 22,5). В условиях кислотного гидролиза (H_2SO_4/CH_3COOH) (3*R*)-гидроксинитрил подвергается внутримолекулярной циклизации с образованием семичленного лактона и шестичленных алкенкетонів.

Предложен эффективный метод введения атома брома в С(3) положение 3-алкил-3-кетонів, с использованием которого синтезирован противоопухолевый агент – метиловый эфир 3-бромметил-3-оксо-1-циано-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-30-аль-28-овой кислоты, цитотоксичный (IC_{50} 0,8–25,4 мкМ) в отношении 11 линий культур опухолевых клеток, в т.ч. с множественной лекарственной устойчивостью. Использование 3-бромпроизводных 3-алкил-3-кетонів в реакциях внутримолекулярной циклизации позволяет осуществить синтез тритерпеноидов с фрагментами алкенкетона или гидрокси-алкеннитрила в кольце А.

Синтезированные тритерпеновые производные с ингибирующими свойствами в отношении ВГП-1 и ВИЧ-1 могут быть использованы в дальнейшей разработке на их основе новых противовирусных агентов. Метиловый эфир 3-бромметил-3-оксо-1-циано-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-30-аль-28-овой кислоты, острая токсичность (LD_{50}) которого *in vivo* составляет более 2000 мг/кг, представляет интерес в качестве терапевтически перспективного противоопухолевого агента и требует дополнительных биологических испытаний.

Методология и методы исследования. Основной предшественник для синтетических модификаций, бетулин, выделяли с помощью традиционного для природных соединений метода экстракции. Трансформацию бетулина и его производных проводили с использованием приемов классической и современной органической химии, включая реакции алкилирования по Гриньяру,

фрагментации по Бекману, внутримолекулярной нитрил-анионной циклизации, лактонизации, дегидратации, озонолиза и окислительно-восстановительного превращения. Выделение, аналитический контроль и структурную идентификацию продуктов синтеза осуществляли с применением методов экстракции, тонкослойной, колоночной, флеш- и высокоэффективной жидкостной хроматографии, рентгеноструктурного анализа, хромато-масс-спектрометрии, ИК и ЯМР спектроскопии, поляриметрии. Исследование цитотоксической активности продуктов синтеза *in vitro* в отношении опухолевых клеток человека рабдомиосаркомы RD TE32, меланомы MS, немелкоклеточной карциномы легких A549, колоректальной карциномы HCT116, карциномы гортани HEP-2, аденокарциномы молочной железы MCF-7, карциномы простаты PC-3, а также нераковых клеток почки эмбриона человека HEK293, проводили с помощью стандартного МТТ-теста на базе «ИТХ УрО РАН» (г. Пермь). Дополнительное испытание цитотоксичности соединения-лидера в отношении опухолевых клеток линий рака молочной железы HBL100, хронического миелолейкоза K562, рака ротовой полости KB-3-1 и их устойчивых к доксорубину вариантов – клеток рака молочной железы HBL/Dox, хронического миелолейкоза iS9 и рака ротовой полости KB-8-5 проводили на базе ФГБУН «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва). Противовирусные свойства соединений в отношении ВИЧ-1 и ВГП-1 изучали на базе РНПЦ эпидемиологии и микробиологии Минздрава Республики Беларусь (г. Минск).

Положения, выносимые на защиту.

1. В синтезе 2,3-секотритерпеноидов с фрагментами метил- и этилкетона в качестве исходных соединений для восстановительного алкилирования в условиях реакции Гриньяра целесообразно использовать А-гексациклические тритерпеновые α -кетоксимы.
2. Внутримолекулярная региоселективная оксонитрильная циклизация 2,3-секотритерпеновых алкилкетонов с образованием А-пентациклических α,β -

алкеннитрилов реализуется в условиях основного катализа в системе *t*-BuOK/*t*-BuOH.

3. В условиях основного катализа нитрил-анионная циклизация α -бромметилкетона протекает с образованием А-пентациклического α,β -алкеннитрила с гидроксильной группой в γ -положении, тогда как α -бромэтилкетон циклизуется в шестичленный алкенкетон.

4. В зависимости от используемой системы (POCl₃/C₅H₅N или H₂SO₄/CH₃COOH) вторичный спирт (3*R*)-3-гидрокси-3-метил-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18 α H-олеанана претерпевает дегидратацию и/или внутримолекулярную циклизацию.

5. Синтезированные тритерпеновые производные перспективны для разработки противовирусных и противоопухолевых агентов.

Степень достоверности и апробация результатов. Работа была выполнена с использованием оборудования ЦКП «Исследования материалов и вещества» ПФИЦ УрО РАН и ЦКП «Центр коллективного пользования уникальным научным оборудованием ПГНИУ». Структуры новых соединений установлены на основании данных ИК, ЯМР ¹H и ¹³C спектроскопии, включая данные спектров гомоядерной ¹H-¹H корреляции и гетероатомной ¹³C-¹H корреляции на прямых и дальних константах спин-спинового взаимодействия. Структуры пятнадцати соединений подтверждены данными РСА, полный набор кристаллографических данных которых депонирован в Кембриджской базе структурных данных.

Основные положения диссертации представлены на международных и российских конференциях: IX Всероссийской конференции «Химия и медицина» (Уфа, 2013); X и XII International symposium on the chemistry of natural compounds (Bukhara, 2013; Tashkent, 2017); Уральском научном форуме «Современные проблемы органической химии», XVII Молодежной школе-конференции по органической химии (Екатеринбург, 2014); V Международной конференции «Техническая химия. От теории к практике» (Пермь, 2016); Кластере конференций по органической химии «ОргХим-2016» (Санкт-Петербург, 2016); X

Всероссийской научной конференции и школы молодых ученых «Химия и технология растительных веществ» (Казань, 2017); V Всероссийской конференции с международным участием «Енамины в органическом синтезе» (Пермь, 2017); II Международной научной конференции «Высокие технологии, определяющие качество жизни» (Пермь, 2018); XI Всероссийском конгрессе молодых ученых-биологов с международным участием «Симбиоз-Россия 2019» (Пермь, 2019).

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 30 печатных работ, в том числе 11 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК и входящих в международные базы цитирования WoS и Scopus, 1 статья в журнале РИНЦ, глава в монографии, 2 патента РФ и 10 тезисных докладов на всероссийских и международных конференциях.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 182 страницах машинописного текста, содержит 6 таблиц, 18 рисунков, 49 схем. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, заключения и списка цитируемой литературы, включающего 181 наименование работ отечественных и зарубежных авторов.

Связь работы с научными программами и собственный вклад соискателя. Работа выполнена в соответствии с планом НИР «ИТХ УрО РАН» и является частью исследований, проводимых по теме «Оптически активные терпеноиды в синтезе практически значимых соединений и материалов медицинского назначения» (№ АААА-А18-118030790037-7). Работа поддержана грантами ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2013 годы» (№ 11.519.11.2033), Российского научного фонда (№ 16-13-10245), Российского фонда фундаментальных исследований (№ 13-03-00629, № 14-03-00256, № 16-03-00865), программы УрО РАН «Фундаментальные науки – медицине» (№ 18-7-3-4).

Соискателем осуществлены дизайн и синтетические трансформации полициклических терпеноидов, выделение, очистка и идентификация продуктов

синтеза. Проведен анализ противовирусной и противоопухолевой активности синтезированных соединений, выявлена взаимосвязь биологических свойств и структуры тритерпеноидов. Выполнен аналитический обзор литературных данных и подготовка научных публикаций по теме исследования.

Благодарности. Соискатель выражает благодарность сотрудникам “Института технической химии УрО РАН” – филиала ПФИЦ УрО РАН инженеру О.А. Майоровой; с.н.с., к.х.н. А.А. Горбунову; н.с., к.х.н. Е.В. Байгачевой за техническую помощь в записи ^1H - и ^{13}C -ЯМР, ИК, масс-спектров, проведении элементного анализа; руководителю группы РСА Института органического синтеза им. И.Я. Постовского (г. Екатеринбург), к.х.н. П.А. Слепухину и н.с. кафедры органической химии ПГНИУ, к.х.н. М.В. Дмитриеву за проведение рентгеноструктурного анализа и расшифровку полученных результатов. Автор признателен доценту лаборатории «Комплексных исследований и экспертной оценки органических материалов» Уральского федерального Университета им. первого Президента России Б.Н. Ельцина (г. Екатеринбург) к.х.н. Ельцову О.С. за проведение двумерной ЯМР спектроскопии и расшифровку полученных данных.

Соискатель выражает благодарность сотрудникам Республиканского научно-практического центра эпидемиологии и микробиологии Минздрава Республики Беларусь (г. Минск): заведующему лабораторией, д.м.н., проф. Еремину В.Ф., главному научному сотруднику, д.м.н., проф. Бореко Е.И. и н.с., к.м.н. Савиновой О.В. за исследование противовирусных свойств полученных соединений; сотрудникам «Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва): руководителю лаборатории, д.б.н. Карамышевой А.Ф. и с.н.с., к.б.н. Рыбалкиной Е.Ю., а также сотруднику лаборатории биологически активных соединений “Института технической химии УрО РАН” – филиала ПФИЦ УрО РАН н.с., к.б.н. Д.В. Ерошенко за исследование противоопухолевой активности и механизма действия синтезированных тритерпеноидов.

Автор признателен сотрудникам лаборатории биологически активных соединений “Института технической химии УрО РАН” – филиала ПФИЦ УрО

РАН за постоянную поддержку и ценные рекомендации, особенно с.н.с., к.х.н. Толмачевой И. А. и н.с., к.х.н. Крайновой Г.Ф. за помощь в обсуждении отдельных этапов работы.

Самую глубокую и искреннюю благодарность автор выражает своему научному руководителю заведующему лабораторией, к.х.н., доценту Гришко Виктории Викторовне за внимательность, требовательность, терпение, постоянную заботу, поддержку и неоценимую помощь, проявленные во время работы и написания диссертации.

ГЛАВА 1. РАСПРОСТРАНЕНИЕ В ПРИРОДЕ, ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЯ, СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТРИТЕРПЕНОИДОВ С ПЯТИЧЛЕННЫМ ЦИКЛОМ А

В медицинской химии вторичные метаболиты из природных источников часто рассматриваются в качестве перспективной платформы для создания биологически активных агентов [1-7]. В химии полициклических тритерпеноидов растительного происхождения широко используются возможности методов направленной трансформации, позволяющих значительно расширить спектр биологически активных производных из нативных предшественников [8-11]. При этом существенно повысить уровень биологических свойств природных метаболитов возможно путем структурной трансформации их тритерпенового скелета. Перспективность данных исследований доказана многочисленными фактами регистрации биологически активных тритерпеноидов с перестроенным углеродным остовом, входящих в состав экстрактов растений, используемых в традиционной медицине разных народов мира [2, 12, 13]. Цель настоящего обзора – систематизация литературных данных о природных и полусинтетических тритерпеноидах с пятичленным циклом А, опубликованных за период с 90-х годов по 2022 г. включительно.

1.1 Биосинтез, выделение и биологическая активность природных тритерпеноидов с пятичленным циклом А

Благодаря биосинтетическим трансформациям, наряду с тритерпеноидами с шестичленным циклом А, из растительных источников выделен широкий спектр метаболитов, содержащих А-циклопентильный фрагмент. Отнесение полученных соединений к тритерпеноидам типа лупана, олеанана, урсана, даммарана, ланостана и тирукалана зависит от структуры их биосинтетического предшественника (рисунок 1) [14, 15].

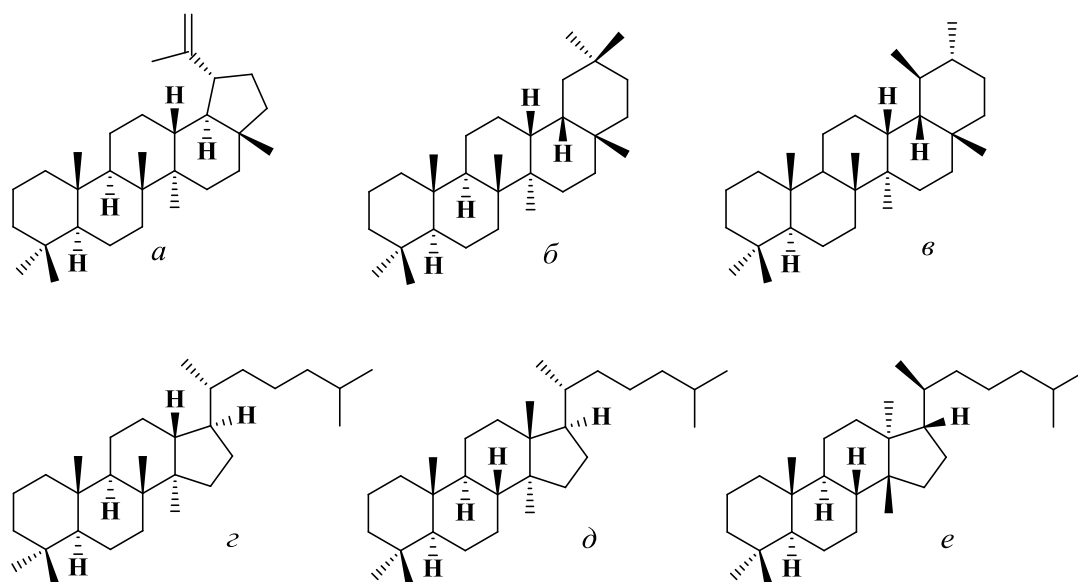


Рисунок 1 – Скелеты пентациклических или тетрациклических тритерпеноидов лупанового (*a*), олеананового (*б*), урсанового (*в*), даммаранового (*г*), ланостанового (*д*) и тирукалланового (*е*) типа

Предполагаемые пути биосинтеза тритерпеноидов с А-пентациклом чаще всего включают серию превращений: селективную фрагментацию С(2)–С(3) связи шестичленного кольца А с последующей циклизацией и формированием пятичленного цикла А с различными функциональными группами при С(1) и С(3) атомах углерода (схема 1, путь А). Так, начальные этапы превращения тритерпеноидов тирукалланового [16], урсанового [17, 18], олеананового [19] и даммаранового [20, 21] типа предполагают ферментативное введение/окисление *О*-содержащих групп в С(2)/С(3) положения шестичленного кольца А тритерпеноидов и последующее селективное расщепление С(2)—С(3) связи кольца А.

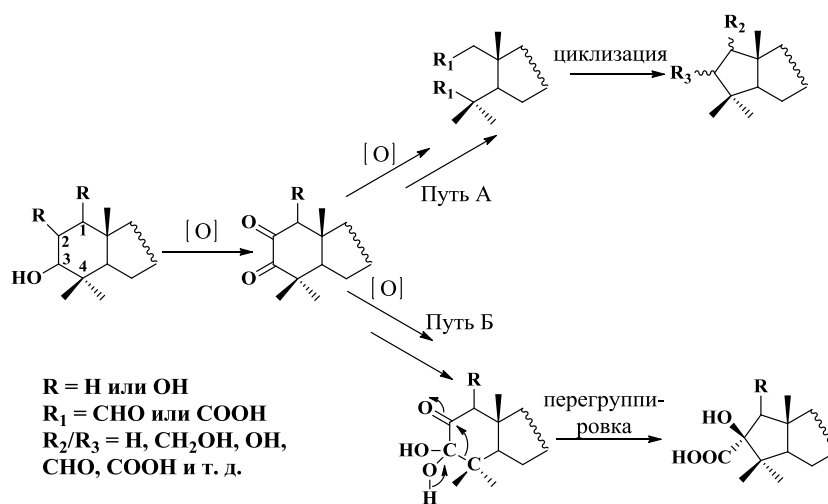


Схема 1

Альтернативный биогенетический путь включает бензильную перегруппировку шестичленного интермедиата, ключевые стадии которой включают образование 2,3-дикетона и расщепление C(3)–C(4)-связи кольца А. Данный путь описан для тритерпеноидов типа урсана [22] и даммарана [20, 21] (схема 1, путь Б).

Рассмотренное на примере представителей типа тирукаллана [23] биосинтетическое формирование пятичленного кольца в тритерпеноидах с ненасыщенным шестичленным А-циклом включает начальную стадию эпексидирования C(1)–C(2) двойной связи и последующую α,β -эпоксикетонную перегруппировку, приводящую к сужению цикла А (схема 2).

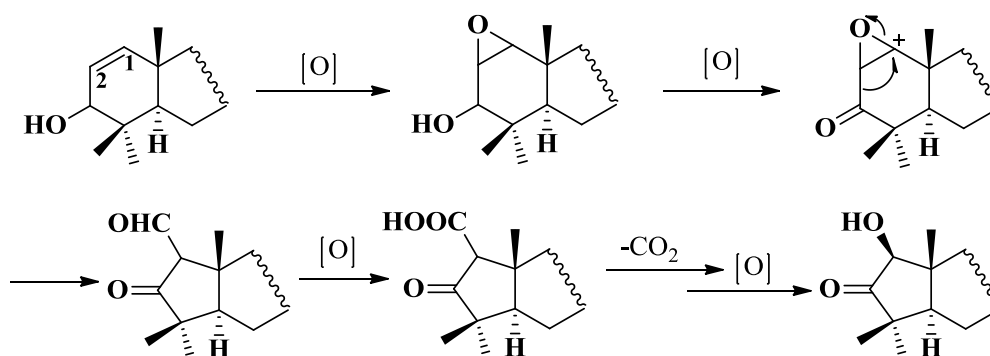
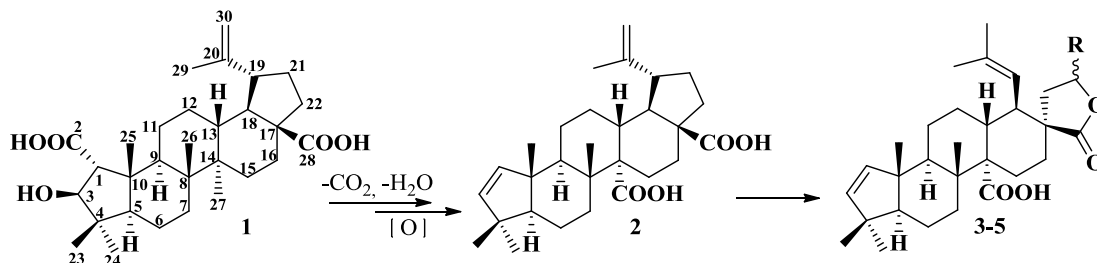


Схема 2

Функционализация кольца А и других фрагментов молекулы тритерпеноида, протекающая в естественных условиях, благодаря воздействию ферментативных систем растений обеспечивает богатое разнообразие нативных тритерпеноидов с пятичленным циклом А. Так, в результате гипотетически

протекающих в *Ziziphus mauritiana* Lam. процессов декарбоксации-дегидратации кольца А и окисления 27-метильной группы цеанотовой кислоты **1** образуется цеанотеновая кислота **2** (схема 3), дальнейшие превращения которой приводят к образованию соединений **3-5** – зизимауритовых кислот А-С [24].



R (3) = α -OCH₃; R (4) = β -OCH₃; R (5) = смесь α - и β -ОН

Схема 3

В то же время, решающую роль в образовании редкой С-С связи между фрагментами флаваноида и тритерпеноида в *Z. jujuba* Mill. играет наличие карбонильного С(2) углеродного фрагмента в пятичленном цикле А тритерпеноидов (схема 4). Так, электрофильное распределение между альдегидным карбокатионом данных тритерпеноидов и С(8) атомом катехина с высокой электронной плотностью приводит к образованию новых тритерпеноидов **6-8**. При этом двойная С(1)–С(2) связь в структуре соединений **7, 8**, вероятнее всего, формируется в результате восстановления и последующей дегидратации С(2) кетонного фрагмента [25].

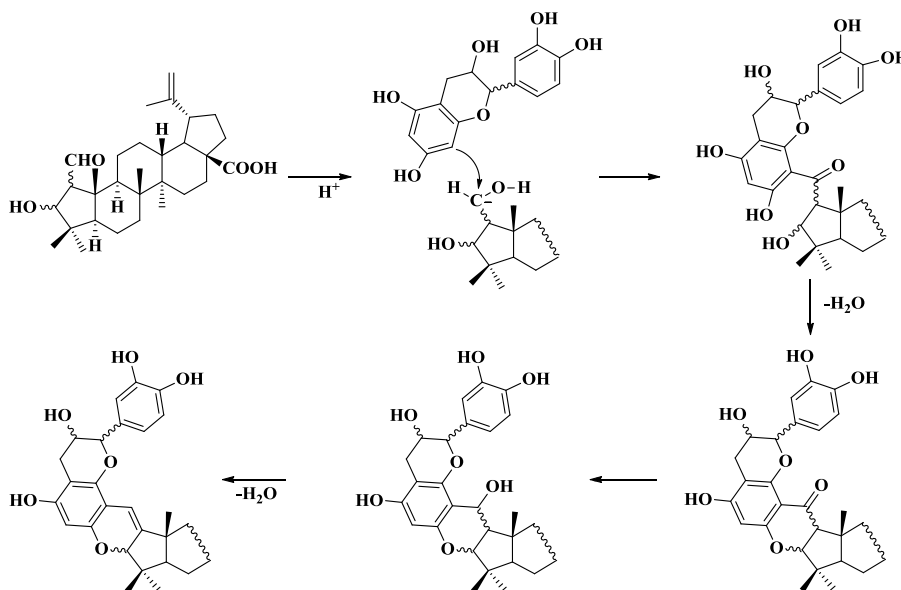
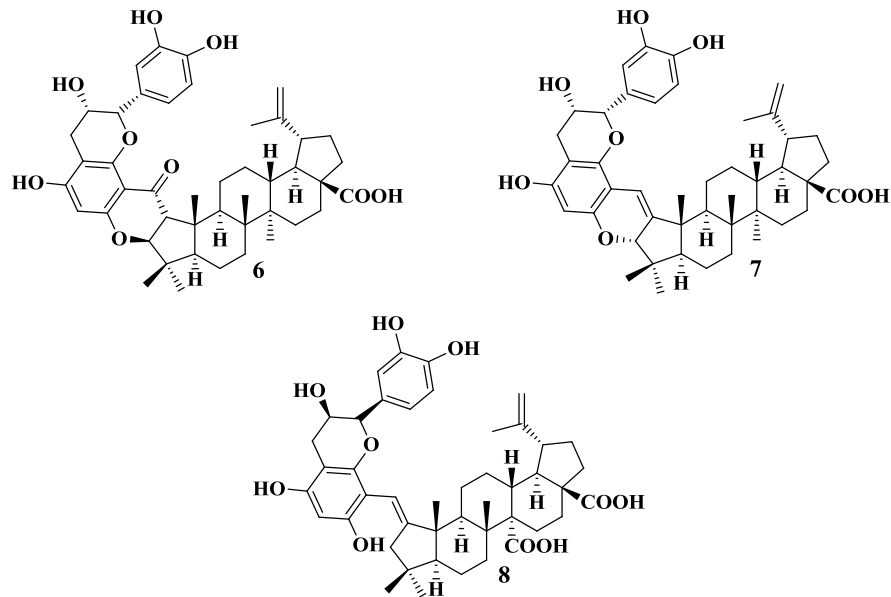


Схема 4



Структурное разнообразие описанных тритерпеноидов с пятичленным циклом А – итог рутинных исследований экстрактов растений с высокой биологической активностью, в которых данные соединения присутствуют лишь в следовых количествах 10^{-2} - 10^{-5} % [26, 27]. По данным многочисленных исследований, надземные и подземные части растений, используемые традиционно в народной медицине стран тропических и умеренных широт Азии, Африки, Индии, Австралии, Европы, Северной и Южной Америки, часто содержат тритерпеноиды с пятичленным циклом А [24, 27-33]. А-пентациклические тритерпеноиды, продуцируемые растениями с ценными биологическими свойствами (антибактериальные, антигрибковые, гипогликемические, кровоостанавливающие, противовирусные, противовоспалительные, противосудорожные и седативные), определяют интерес к исследованию фитохимического состава данных растений. Для получения индивидуальных метаболитов растений используют классические экстрактивные и хроматографические методы выделения и очистки, при этом для оптимизации условий выделения в ряде случаев кислоты переводят в соответствующие метиловые эфиры [20-22, 34, 35].

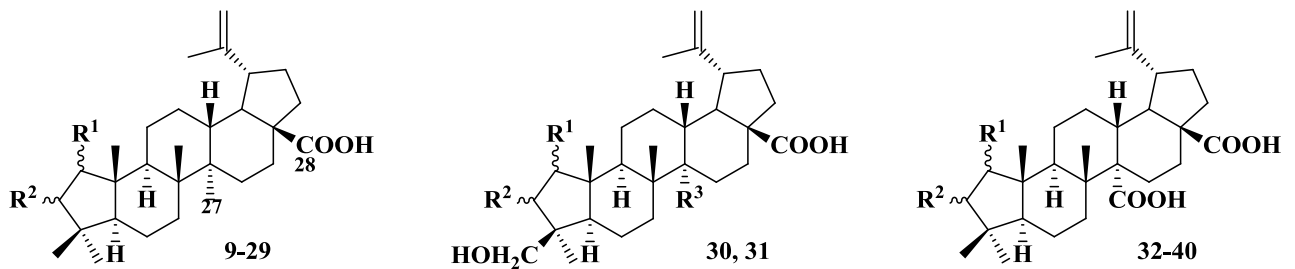
При выделении сухие (реже свежие) и измельченные части растений экстрагируют один или несколько раз при комнатной температуре или при нагревании, реже в специальных экстракторах, используя в качестве растворителя

абсолютные или разбавленные спирты (этанол, метанол). Время экстракции варьируют от нескольких часов до нескольких дней. Затем полученный экстракт выпаривают, сушат и обрабатывают водой, гексаном или петролейным эфиром. Полученную суспензию разделяют на фракции, растворимые в этилацетате, бутиловом спирте, хлороформе, метаноле. Полученные растворы подвергают многостадийной очистке, используя метод колоночной и флэш хроматографии, препаративной высокоэффективной жидкостной и тонкослойной хроматографии, перекристаллизации. Структуры соединений определяют методами одномерной и двумерной ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии, рентгеноструктурного анализа, элементного анализа и т.д.

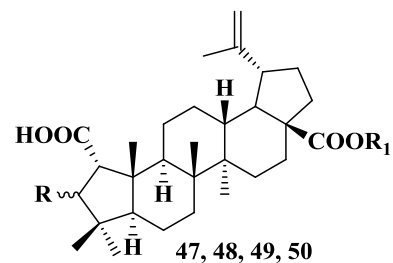
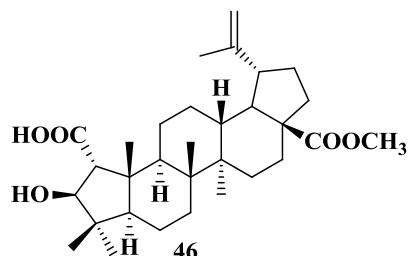
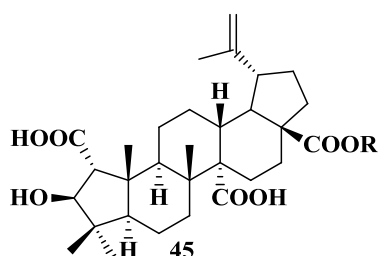
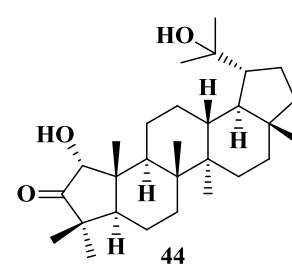
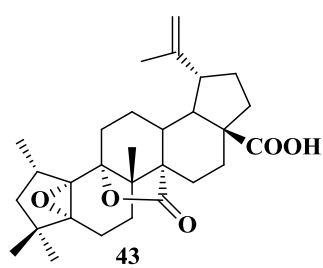
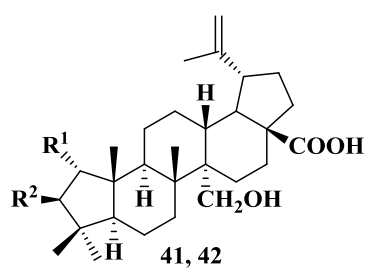
Среди нативных тритерпеноидов с пятичленным циклом А наиболее известна цеанотовая кислота **1**, которая впервые выделена в 1938 г. из внешней части коры корня *Ceanothus americanus* (Rhamnaceae) с выходом 0.12% группой ученых Julian и др. [28]. При этом окончательно структура и стереохимия цеанотовой кислоты были установлены лишь в 1978 г. J. N. Roitman [36]. Многочисленные публикации показывают (таблица 1), что цеанотовая кислота **1** и ее производные широко продуцируются, в большей степени, растениями сем. Rhamnaceae. Также, тритерпеноиды этой группы зарегистрированы в экстрактах отдельных видов растений – *Gleditsia sinensis* (Leguminosae), *Allophylus longipes* (Sapindaceae), *Breynia fruticosa* (Phyllanthaceae), *Dysoxylum hainanense* (Meliaceae). Производные цеанотовой кислоты, отличающиеся друг от друга: характером заместителей в А-кольце (**2-5**, **9-29**), а также присутствием в структуре тритерпеноида – фрагмента ароматического эфира в С(7) положении (**51**, **52**, **59**), О-содержащей функции в С(27) положении (**30-42**, **45**, **53-59**), лактонного фрагмента (**43**), модифицированного изопропилиденового фрагмента (**44**) или метилированного С(28) положения (**46-50**), отнесены к группе тритерпеноидов цеанотанового типа.

Исследованы биологические свойства тритерпеноидов цеанотанового типа, среди которых выявлены соединения с выраженной и умеренной цитотоксической, антибактериальной, антипаразитарной, противовоспалительной

и противовирусной активностью. По проведенному анализу литературных данных видно, что наиболее высокий уровень цитотоксической активности характерен для цеанотановых производных, содержащих в структуре циклопентильного фрагмента незамещенную или замещенную $\Delta^{1(3)}$ связь (цеанотеновая **2**, зизибереналовая **10**, зизимауритовые А-С **3-5** и 2,28-динор-24-гидроксилуп-1,17(22)-диен-27-овая **58** кислоты) [24, 37-40] или С(3) объемный заместитель (3-*O*-ванилилцеанотеновая кислота **17**, 2-метилвый эфир 3-*O*-протокатехоилцеанотеновой кислоты **22**, 3-*O*-ванилилэпицеанотеновая кислота **23**, 2-метилвый эфир 3-*O*-ванилилцеанотеновой кислоты **24**) [38].



- 9:** $R^1 = \beta\text{-CHO}$, $R^2 = \alpha\text{-OH}$; **10:** $R^1 = \text{CHO}$, $R^2 = \text{H}, \Delta^{1(3)}$; **11:** $R^1 = \beta\text{-COOH}$, $R^2 = \alpha\text{-OH}$;
12: $R^1 = \beta\text{-COOH}$, $R^2 = \beta\text{-OH}$; **13:** $R^1 = \beta\text{-CH}_2\text{O-транс-}n\text{-кумароил}$, $R^2 = \alpha\text{-OH}$;
14: $R^1 = \alpha\text{-COOH}$, $R^2 = \beta\text{-COOCH}_3$; **15:** $R^1 = \alpha\text{-COOCH}_3$, $R^2 = \beta\text{-OH}$;
16: $R^1 = \beta\text{-CH}_2\text{OH}$, $R^2 = \alpha\text{-OH}$; **17:** $R^1 = \alpha\text{-COOH}$, $R^2 = \beta\text{-3-O-ванилил}$;
18: $R^1 = \alpha\text{-CHO}$, $R^2 = \text{H}$; **19:** $R^1 = \beta\text{-CHO}$, $R^2 = \text{H}$; **20:** $R^1 = \beta\text{-COOCH}_3$, $R^2 = \beta\text{-OH}$;
21: $R^1 = \beta\text{-CHO}$, $R^2 = \alpha\text{-OCH}_3$; **22:** $R^1 = \alpha\text{-COOCH}_3$, $R^2 = \beta\text{-3-O-протокатехоил}$;
23: $R^1 = \beta\text{-COOH}$, $R^2 = \beta\text{-3-O-ванилил}$; **24:** $R^1 = \alpha\text{-COOCH}_3$, $R^2 = \beta\text{-3-O-ванилил}$;
25: $R^1 = \alpha\text{-COOH}$, $R^2 = \beta\text{-}n\text{-гидроксibenзоил}$;
26: $R^1 = \beta\text{-COOH}$, $R^2 = \beta\text{-}n\text{-гидроксibenзоил}$;
27: $R^1 = \alpha\text{-CH}_2\text{-3-O-протокатехоил}$, $R^2 = \beta\text{-OH}$;
28: $R^1 = \alpha\text{-COOH}$, $R^2 = \beta\text{-3-O-протокатехоил}$; **29:** $R^1 = \alpha\text{-COOH}$, $R^2 = \beta\text{-OH}$;
30: $R^1 = R^2 = \text{H}$, $R^3 = \text{COOH}$, $\Delta^{1(3)}$; **31:** $R^1 = \alpha\text{-COOH}$, $R^2 = \beta\text{-OH}$, $R^3 = \text{CH}_3$;
32: $R^1 = \alpha\text{-CHO}$, $R^2 = \text{H}$; **33:** $R^1 = \alpha\text{-CH}_2\text{OH}$, $R^2 = \text{H}$; **34:** $R^1 = \beta\text{-CH}_2\text{OH}$, $R^2 = \text{H}$;
35: $R^1 = \alpha\text{-COOH}$, $R^2 = \beta\text{-OH}$; **36:** $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{H}$, $\Delta^{1(3)}$; **37:** $R^1 = \alpha\text{-COOH}$, $R^2 = \text{H}$;
38: $R^1 = \alpha\text{-COOCH}_3$, $R^2 = \text{H}$; **39:** $R^1 = \alpha\text{-COOCH}_3$, $R^2 = \beta\text{-OH}$;
40: $R^1 = \alpha\text{-CH}_2\text{OH}$, $R^2 = \beta\text{-OH}$.



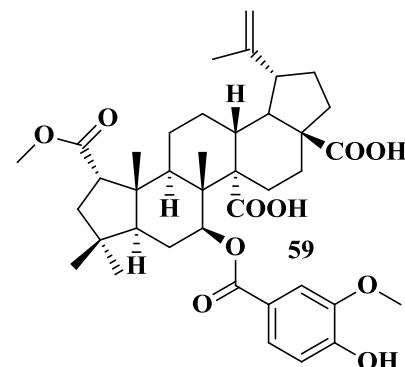
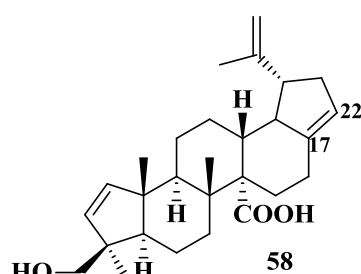
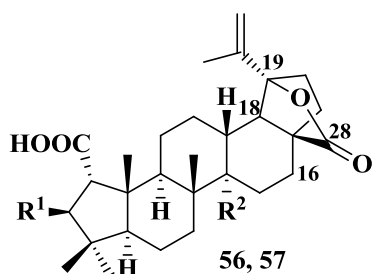
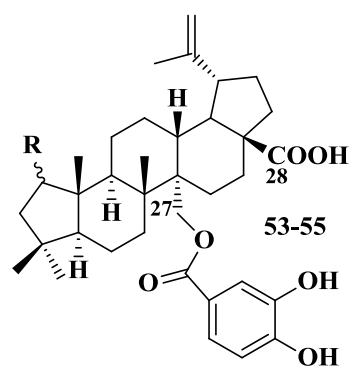
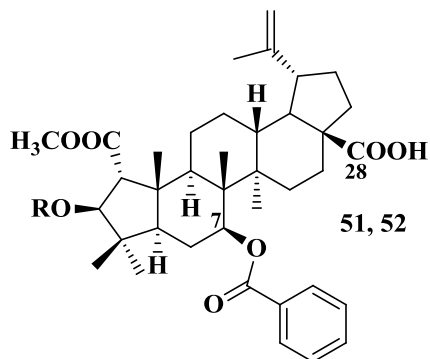
41: $R^1 = \text{COOH}$, $R^2 = \text{OH}$; 42: $R^1 = \text{CH}_2\text{OH}$, $R^2 = \text{OH}$;

45: $R = \beta\text{-D-глюкопиранозид}$; 47: $R = \beta\text{-OH}$, $R^1 = \beta\text{-D-глюкопиранозид}$;

48: $R = \alpha\text{-OH}$, $R^1 = \beta\text{-D-глюкопиранозид}$;

49: $R = \beta\text{-OH}$, $R^1 = \beta\text{-D-глюкопиранозил-(1}\rightarrow\text{6)-}[\beta\text{-D-глюкопиранозил-(1}\rightarrow\text{3)]-}[\beta\text{-D-глюкопиранозил-(1}\rightarrow\text{2)]-}\beta\text{-D-глюкопиранозил-(1}\rightarrow\text{2)-}\beta\text{-D-глюкопиранозид}$;

50: $R = \beta\text{-OH}$, $R^1 = \beta\text{-D-глюкопиранозил-(1}\rightarrow\text{3)-}[\beta\text{-D-глюкопиранозил-(1}\rightarrow\text{2)]-}\beta\text{-D-глюкопиранозил-(1}\rightarrow\text{2)-}\beta\text{-D-глюкопиранозид}$.



51: $R = \text{бензоил}$; 52: $R = \text{ацетил}$; 53: $R = \alpha\text{-CH}_2\text{OH}$; 54: $R = \alpha\text{-CHO}$;

55: $\beta\text{-CHO}$; 56: $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{COOH}$; 57: $R^1 = 3\text{-O-протокатехоил}$, $R^2 = \text{CH}_3$.

Наиболее высокий уровень цитотоксической активности в отношении опухолевых клеток проявили зизимауритовая кислота **В 4** с незамещенной $\Delta^{1(3)}$ связью и модифицированным Е-кольцом (IC_{50} 5.05 (A549), 5.36 (Hela) и 6.24 (BGC-823) мкг/мл) [24], цеанотеновая кислота **2** (IC_{50} 2.6 (KB) мкМ) и 2-метиловый эфир 3-*O*-ванилилцеанотеновой кислоты **24** (IC_{50} 1.9 (HepG2) мкМ) [38, 39]. Цеанотановые тритерпеноиды с насыщенным кольцом А и С(3) заместителем с меньшим объемом (цеанотеновая **1**, изоцеанотеновая **11**, зизибераналовая **9**, 3-*O*-ацетил-цеанотеновая **14** и цеанотаноловая **16** кислоты) не проявляли активности или обладали невысоким уровнем цитотоксических свойств [24-26, 41-45]. По данным М. А. Arai с соавт. [42], зизибераналовая (по другим источникам – колубриновая [29, 30, 42, 46-48]) кислота **9**, обладающая умеренной цитотоксической активностью в отношении клеток PANC1 (IC_{50} 43 мкМ), ингибировала GLI1 опосредованную транскрипцию (IC_{50} 38 мкМ) и экспрессию анти-апоптотического белка BCL2, а также дозозависимо снижала экспрессию белка *Ptch* в клетках PANC1. Брейнцеанотаноловая кислота **43**, содержащая в структуре эпоксидный и лактонный фрагменты, проявила выраженную (IC_{50} 10.2–20.0 мкМ) цитотоксическую активность в отношении линий опухолевых клеток HL-60, SMMC-7721, A-549, MCF-7 и SW480 [49].

В литературе широко представлены исследования, направленные на выявление антибактериальной активности цеанотановых тритерпеноидов. Зизимауритовые кислоты **А 3** и **С 5** значительно ингибировали рост грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* (IC_{50} 2.17 и 12.79 мкг/мл соответственно). При этом авторы отмечали, что С(21) изомер кислоты **3** – зизимауритовая кислота **В 4** оказалась неактивна в отношении исследуемых штаммов бактерий (IC_{50} >20 мкг/мл) [24]. Цеанотеновая **2**, 29-гидроксицеанотеновая **35** и 2 α -формил-А(1)норлуп-20(29)-ен-28-овая **18** кислоты показали высокий уровень антибактериальной активности в отношении грамположительных культур *S. aureus* (МИК 4–8 мкг/мл) и *Enterococcus faecalis* (МИК 16 мкг/мл), оставаясь при этом инертными в отношении грамотрицательных штаммов *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa* [39, 50].

Полученные данные свидетельствовали о высокой избирательной антибактериальной активности исследуемых соединений в отношении грамположительных бактерий *S. aureus*. Цеанотовая кислота **1** эффективно ингибировала рост (МИК 42–62 мкг/мл) грамотрицательных анаэробных пародонтальных патогенов *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, *Prevotella intermedia* и грамположительных кариесогенных бактерий штамма *Actinomyces viscosus* W1053. При этом ее C(27) окисленные аналоги – цеанотетриковая **35** и 27-гидроксицеанотовая **41** кислоты – не проявили активности в отношении данных штаммов культур, что указывает на значительное влияние нативной C(27) метильной группы на уровень антимикробной активности цеанотановых тритерпеноидов [51]. По данным I.C.R. Leal с соавт. [52], 28-метилцеанотат **46** показал высокую ингибирующую активность (МИК 16 мкг/мл) в отношении роста типовых штаммов бактерий *S. aureus* ATCC 29213, ATCC 33591^{MRS}, *S. epidermidis* ATCC 12228 и клинического метициллин-устойчивого штамма бактерий *S. aureus*^{MRS} PVL+. Эпигоуановая кислота А **33** не проявила ингибирующих свойств в отношении исследуемых культур [52]. Цеанотановые тритерпеноиды – гоуановые кислоты А **34** и В **30** – ингибировали рост бактерий *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25792, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella setubal* ATCC 19796, *S. aureus* ATCC 6538p и *S. epidermidis* ATCC 12228 в интервале МИК 75–150 мкг/мл [53]. Увеличение уровня противотуберкулезной активности в отношении штамма *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Ra в ряду зизибераноловая кислота **10** → зизибераноловая кислота **9** → 3-*O*-ваниллилцеанотовая кислота **17** прямо пропорционально увеличению объема заместителя в C(3) положении пятичленного цикла А, показатель МИК которых составил 100, 50 и 25 мкг/мл соответственно [31].

В литературе приводятся результаты исследований антипаразитарной активности цеанотановых тритерпеноидов в отношении простейших, вызывающих лейшманиоз, малярию и трипаносомоз и передаваемых человеку кровососущими насекомыми. Описана [31, 44] высокая антипаразитарная

(антималарийная) активность метилового эфира 3,7-*O,O*-добензоилцеанотовой кислоты **51** и метилового эфира 3-*O*-ацетил-7-*O*-бензоилцеанотовой кислоты **52** в отношении *Plasmodium falciparum* (IC₅₀ 4.67 и 3.07 мкг/мл соответственно), 3-*O*-ваниллилцеанотовой кислоты **17** – в отношении множественно-лекарственно устойчивого штамма *P. falciparum* K1 (IC₅₀ 3.7 мкг/мл). Исследования антималярийных свойств зизибераналовой кислоты **10** показали высокий уровень антипаразитарной активности в отношении штаммов *P. falciparum* и *P. falciparum* K1 (IC₅₀ 4.18 и 3.0 мкг/мл соответственно) [31, 40].

Умеренную ингибирующую активность в отношении *Leishmania amazonensis* IFLA/BR/75/PH8 проявили цеанотовая **1** и 3-*O*-ацетил-цеанотовая **14** кислоты (IC₅₀ 46.4 и 28.2 мкг/мл соответственно). Тогда как цеанотеновая кислота **2** сочетала антипаразитарную активность в отношении *L. amazonensis* и *Trypanosoma cruzi* Tulahuen (IC₅₀ 22.1 и 64.0 мкг/мл соответственно) [26].

Исследованы инсектицидные свойства представителей цеанотанового ряда – цеанотовой **1**, зизибераналовой **9** и зизибераналовой **10** кислот. Так, в отношении личинок *Drosophila melanogaster* высокую острую токсичность (гибель 100% личинок после 24 ч при концентрации 50-70 мкг/мл) проявили кислоты **1**, **9** и **10**, в отношении *Cydia pomonella* – соединения **9** и **10** (100% и 63% погибших личинок через 24 ч при концентрации 50 мкг/мл). В отношении *Tenebrio molitor* данные тритерпеноиды оказались не токсичны. Ингибирующий эффект в отношении роста личинок *Drosophila melanogaster* продемонстрировали соединения **9** и **10** [54].

Описаны противовоспалительные свойства цеанотеновой **2**, зизибераналовой **9**, зизибераналовой **10** и зизиберанальной **32** кислот. Установлено, что тритерпеноиды **2**, **9**, **10**, **32** способны ингибировать процессы образования NO макрофагами и пролиферации спленоцитов в концентрациях 1, 10 и 100 мкг/мл [55].

Эпицеанотовая кислота **12**, содержащая в структуре циклопентильного фрагмента β-ориентированные карбоксильную и гидроксильную группы,

проявила выдающуюся ($EC_{50} < 0.064$ мкг/мл) вирус-ингибирующую активность в отношении ВИЧ-1 [13].

В таблице 1 приведены сведения о других представителях цеанотанового ряда (тривиальное название, растительный источник, выходные данные литературного источника).

Таблица 1 – Распространение в природе тритерпеноидов цеанотанового типа

№ п/п	Источник	Соединение	Ссылка
сем. Leguminosae			
1.	<i>Gleditsia sinensis</i> (колючки)	Эпицеанотовая кислота 12	[13]
2.		Зизибераналовая (или колубриновая) кислота 9	[13]
сем. Meliaceae			
3.	<i>Dysoxylum hainanense</i> (ветки и листья)	Дизоксихаинол 44	[23]
сем. Phyllanthaceae			
4.	<i>Breynia fruticosa</i> (корень)	Бреун-цеанотаноловая кислота 43	[49]
сем. Rhamnaceae			
5.	<i>Alphitonia petriei</i> Braid и С.Т.White (стебли и листья)	Эммоловая кислота 29	[71]
6.	<i>Alphitonia philippinensis</i> (стебли)	Цеанотовая кислота 1	[37]
7.		Цеанотеновая кислота 2	[37]
8.		Зизибераналовая кислота 10	[37]
9.	<i>Alphitonia xerocarpus</i> Baill (листья)	Цеанотеновая кислота 2	[50]
10.		29-Гидроксицеанотеновая кислота 36	[50]
11.		сапонин цеанотовой кислоты - 28-О-β-D-глюкопиранозил-	[50]

		(1→6)-[β-D-глюкопиранозил-(1→3)]-[β-D-глюкопиранозил-(1→2)]-β-D-глюкопиранозилцеанотовая кислота 49	
12.	<i>Ceanothus americanus</i> (кора корня)	Цеанотовая кислота 1	[51]
13.		Цеанотетриковая кислота 35	[51]
14.		27-Гидрокси-цеанотовая кислота 41	[51]
15.	<i>Colubrina asiatica</i> (L.) Brongn (ветви, корни)	Цеанотовая кислота 1	[40, 44]
16.		Колубриновая (зизибераналовая) кислота 9	[40]
17.		Зизибераналовая кислота 10	[40, 44]
18.		Гранулозная (24-Гидрокси-цеанотовая) кислота 31	[40, 44]
19.		Метилловый эфир 3,7- <i>O,O</i> -дibenzoилцеанотовой кислоты 51	[44]
20.		Метилловый эфир 3- <i>O</i> -ацетил-7- <i>O</i> -бензоилцеанотовой кислоты 52	[44]
21.	<i>Colubrina greggii</i> var. <i>yucatanensis</i> (корень)	Цеанотовая кислота 1	[26]
22.		Цеанотеновая кислота 2	[26]
23.		3- <i>O</i> -Ацетил-цеанотовая кислота 14	[26]
24.	<i>Gouania ulmifolia</i> Hook. & Arn. (надземная часть)	Гоуановая кислота В 30	[53]
25.		Гоуановая кислота А 34	[53]
26.	<i>Hovenia dulcis</i> (корни)	27- <i>O</i> -протокатехоил-3-дегидроксиизоцеанотаноловая кислота 53	[45]

27.		27- <i>O</i> -протокатехоил-3-дегидроксиколубриновая кислота 54	[45]
28.		27- <i>O</i> -протокатехоил-3-дегидроксиэпиколубриновая кислота 55	[45]
29.	<i>Hovenia trichocarea</i> (кора)	Цеанотетриковая кислота 35	[73]
30.		Ховетрикозид Н 45	[73]
31.	<i>Jaffrea xerocarpa</i> (Baill.) Н. С. Hopkins & Pillon (=базионим <i>Alphitonia</i> <i>xerocarpus</i> Baill.) (стебель, кора)	Цеанотовая кислота 1	[39]
32.		Цеанотеновая кислота 2	[39]
33.		2 α -Формил-А(1)норлуп-20(29)-ен-28-овая кислота 18	[39]
34.		2 β -Формил-А(1)норлуп-20(29)-ен-28-овая кислота 19	[39]
35.		28- <i>O</i> - β -D-Глюкопиранозил-(1 \rightarrow 3)-[β -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 2)]- β -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -D-глюкопиранозилцеанотовая кислота 50	[39]
36.	<i>Paliurus</i> <i>hemsleyanus</i> Rehd. (корень)	Зизибераналовая (или колубриновая) кислота 9	[46]
37.		Зизибереналовая кислота 10	[46]
38.		2- <i>O</i> -(<i>транс-п</i> -Кумароил)-цеанотаноловая кислота 13	[46]
39.		Цеанотаноловая кислота 16	[46]
40.	<i>Paliurus</i> <i>ramosissimus</i> Poir. (корень, кора стебля)	Цеанотовая кислота 1	[35, 74]

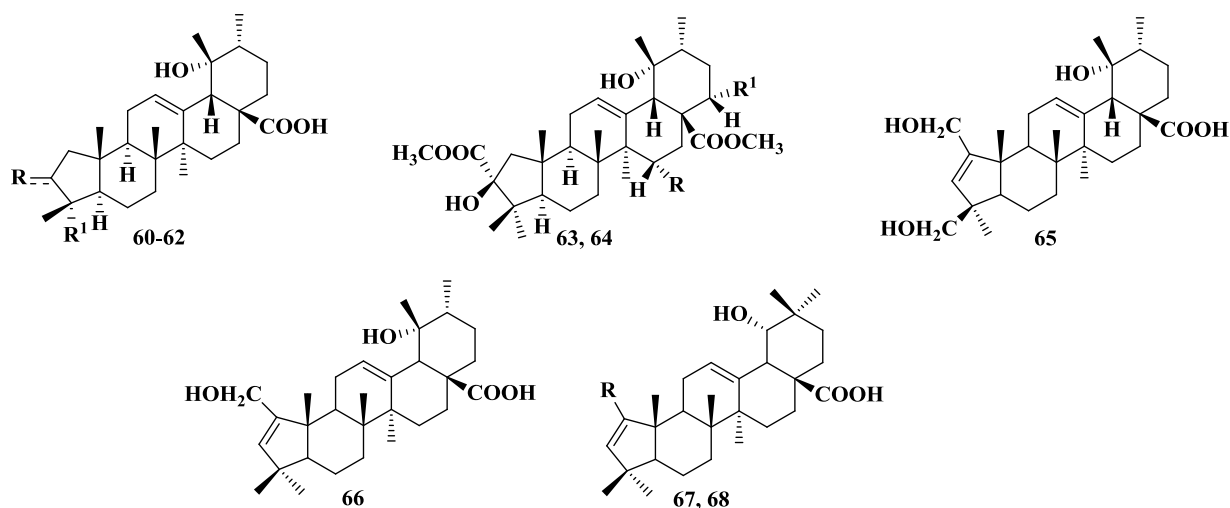
41.		24-Гидрокси-цеанотовая кислота (гранулозная кислота)	[35]
		31	
42.		27-Гидрокси-цеанотовая кислота 41	[35]
43.		28β-D-Глюкопиранозид цеанотовой кислоты 47	[74]
44.		28β-D-Глюкопиранозид изоцеанотовой кислоты 48	[74]
45.	<i>Sageratia theezans</i> (веточки)	Цеанотовая кислота 1	[75]
46.		Эпицеанотовая кислота 12	[75]
47.	<i>Talguenea</i> <i>quinquenervia</i> (надземная часть, корни)	Цеанотовая кислота 1	[54, 76]
48.		Цеанотеновая кислота 2	[76]
49.		Зизибераналовая (или колубриновая) кислота 9	[54, 76]
50.		Зизибераналовая кислота 10	[54, 76]
51.	<i>Trevoa trinervis</i> Miers. (надземная часть)	Зизибераналовая (или колубриновая) кислота 9	[29]
52.	<i>Zizyphus cambodiana</i> Pierre (кора корня, листья)	Цеанотовая кислота 1	[31, 42]
53.		Зизибераналовая (или колубриновая) кислота 9	[31, 42]
54.		Зизибераналовая кислота 10	[31]
55.		Цеанотаноловая кислота 16	[42]
56.		3-О-Ванилил-цеанотовая кислота 17	[31]
57.	<i>Zizyphus glabrata</i> <i>Heyne</i> (syn: <i>Z.</i> <i>trinervia</i> Roxb) (листья, кора стебля)	Цеанотовая кислота 1	[32, 77]

58.	<i>Zizyphus joazeiro</i> Mart. (кора)	Эпигоуановая кислота A 33	[52]
59.		C-28 Метилловый эфир цеанотовой кислоты 46	[52]
60.	<i>Zizyphus jujube</i> (кора, корень, плоды, семена)	Цеанотовая кислота 1	[27, 78, 79, 38; 80]
61.		Цеанотеновая кислота 2	[55]
62.		Зизибераналовая (или колубриновая) кислота 9	[30, 47, 55, 81]
63.		Зизиберанальная кислота 32	[55, 81]
64.		<i>Энанцио-</i> эпикатехиноцеанотовая кислота A 6	[25]
65.		<i>Энанцио-</i> эпикатехиноцеанотовая кислота B 7	[25]
66.		Эпикатехино-3- деоксицеанотетровая кислота A 8	[25]
67.		Зизибераналовая кислота 10	[30, 38, 47, 55]
68.		Эпицеанотовая кислота 12	[27, 38, 79]
69.		C-2 Метилловый эфир цеанотовой кислоты 15	[27]
70.		3- <i>O</i> -Ванилил-цеанотовая кислота 17	[38]
71.		24-Гидрокси-цеанотовая кислота (гранулозавая кислота) 31	[38]
72.		C-28 Метилловый эфир цеанотовой кислоты 46	[27]
73.		3-Дегидроксицеанотетровая кислота 37	[38]
74.		Метилловый эфир 3- дегидроксицеанотетр-2-овой кислоты 38	[38]
75.		Метилловый эфир цеанотетр-2- овой кислоты 39	[38]

76.	Метилловый эфир эпицеанотан-2-овой кислоты 20	[38]
77.	3- <i>O</i> -метилзизибераналовая кислота 21	[38]
78.	Метилловый эфир 3- <i>O</i> -протокатехоилцеанотан-2-овой кислоты 22	[38]
79.	3- <i>O</i> -Ванилил-эпицеанотовая кислота 23	[38]
80.	Метилловый эфир 3- <i>O</i> -ванилилцеанотан-2-овой кислоты 24	[38]
81.	3- <i>O</i> -п-гидроксибензоилцеанотовая кислота 25	[38]
82.	3- <i>O</i> -п-Гидроксибензоилэпицеанотовая кислота 26	[38]
83.	2- <i>O</i> -протокатехоилизоцеанотовая кислота 27	[38]
84.	3-Дегидроксицеанотан-27 α -карбоксии-28 β ,19 β -олид 56	[38]
85.	3- <i>O</i> -протокатехоилцеанотан-28 β ,19 β -олид 57	[38]
86.	2,28-Динор-24-гидроксикуп-1,17(22)-диен-27-овая кислота 58	[38]
87.	Метилловый эфир 7 β - <i>O</i> -ванилил-3-дегидроксицеанотетр-2-овая кислота 59	[38]
88.	3- <i>O</i> -Протокатехоилцеанотовая кислота 28	[38]
89.	<i>Zizyphus jujuba</i> var. <i>spinosa</i> (семена и плоды) Эпицеанотовая кислота 12	[82, 83]
90.	<i>Zizyphus jujube</i> Mill. Цеанотовая кислота 1	[82, 84-86]

	var. <i>spinosa</i> (Bunge) Hu (корень, плоды)		
91.		Цеанотеновая кислота 2	[86]
92.		Изоцеанотовая кислота 11	[85]
93.		Эпицеанотовая кислота 12	[86]
94.	<i>Z. jujuba</i> var. <i>inermis</i> (плоды, семена)	Цеанотовая кислота 1	[43, 87]
95.		Зизибераналовая кислота 9	[43, 87]
96.	<i>Zizyphus mauritiana</i> Lam. (корень)	Цеанотовая кислота 1	[24]
97.		Зизимауритовые кислоты А-С 3-5	[24]
98.		Цеанотеновая кислота 2	[24]
99.	<i>Zizyphus xylopyra</i> willd (корень)	Цеанотовая кислота 1	[88]
100.	<i>Zizyphus xylopyrus</i> Retz (стволовая древесина)	Изоцеанотовая кислота 11	[89]
сем. Sapindaceae			
101.	<i>Allophylus longipes</i> (стебли)	Зизибераналовая (или колубриновая) кислота 9	[48]
102.		Зизибераналовая кислота 10	[48]
сем. Vitaceae			
103.	<i>Cyphostemma</i> <i>adenocaulis</i> (Steud. ex A.Rich.) Desc. ex Wild & R.B. Drumm (кора и древесина)	Зизибераналовая (или колубриновая) кислота 9	[73]
104.		Эпигоуановая кислота А 34	[73]
105.		Цифостеммовая кислота А 40	[73]
106.		Цифостеммовая кислота В 42	[73]

Согласно литературным сведениям, в природных источниках в меньшей степени представлены А-циклопентановые тритерпеноиды типа даммарана, ланостана, тирукалана, олеанана и урсана.



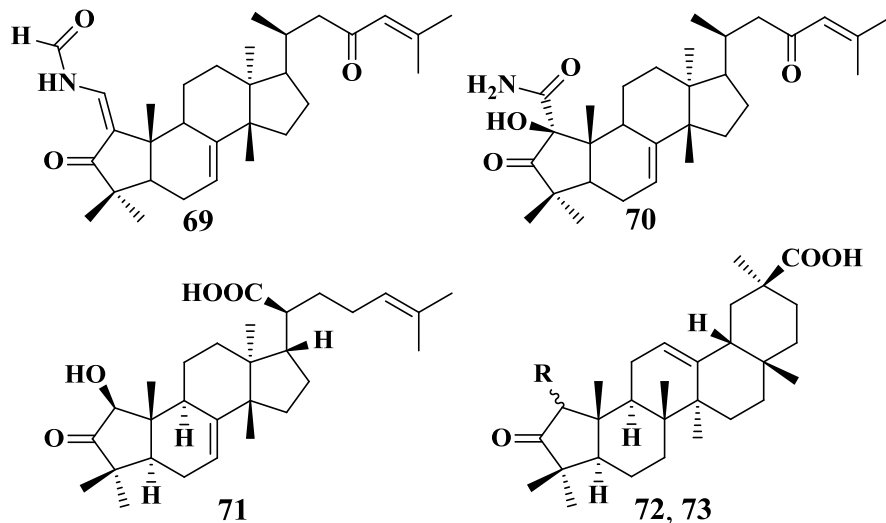
- 60:** R = α -OH, R₁ = COOMe; **61:** R = O, R₁ = CH₂OH;
62: R = α -COOH, R₁ = CH₃; **63:** R = H, R₁ = OH;
64: R = OH, R₁ = H; **67:** R = CH₂OH; **68:** R = CHO

Выделены и идентифицированы тритерпеноиды типа урсана: из коры ветвей *Davidia involucrata* Baill. (Nyssaceae) – давинволуновые кислоты А **60** и В **61** [57], из веточек *Euscaphis japonica* (Thunb.) Kanitz (Staphyleaceae) – эускафовая кислота L **62** [58], из коры корней *Musanga cecropioides* (Сесропиасеае) – мусанкроповые кислоты А и В в виде соответствующих диметилловых эфиров **63**, **64** [22], из корней *Rosa multiflora* (Rosaceae) [56] и *Potentilla fulgens* Wall. Ex Hook. (Rosaceae) [59] – розамултиновая кислота **65**. Урсановая гептадиеновая кислота **66** зарегистрирована в составе экстрактов надземных частей представителей сем. Labiatae – *Hyptis suaveolens* [17] и *Isodon sculponeata* [60], листьев *Platostoma africanum* P. Beauv. и надземной части *Platostoma rotundifolium* (Lamiaceae) [34, 61], корней *Potentilla fulgens* Wall. Ex Hook. (Rosaceae) [59] и культуры каллусной ткани листьев *Eriobotrya japonica* (Rosaceae) [18]. Розамултиновая **65** и гептадиеновая **66** кислоты обладали выраженной α -гликозидазной ингибирующей активностью (IC₅₀ 52.35 и 39.67 мкМ соответственно) [59]. Кроме того, гептадиеновая кислота **66** проявила высокий уровень цитотоксичности в отношении клеточных линий рака полости рта человека HSC-2 и HSG, но была токсична и в отношении нормальных фибробластов десен человека: 18, 18 и 39 мкг/мл соответственно. В тесте ТФА (12-*O*-тетрадеканоилфорбол-13-ацетат)

активации раннего антигена вируса Эпштейна-Барр гептадиеновая кислота **66** проявила 66.1% ингибирование при 500 мольном соотношении/ТФА [18].

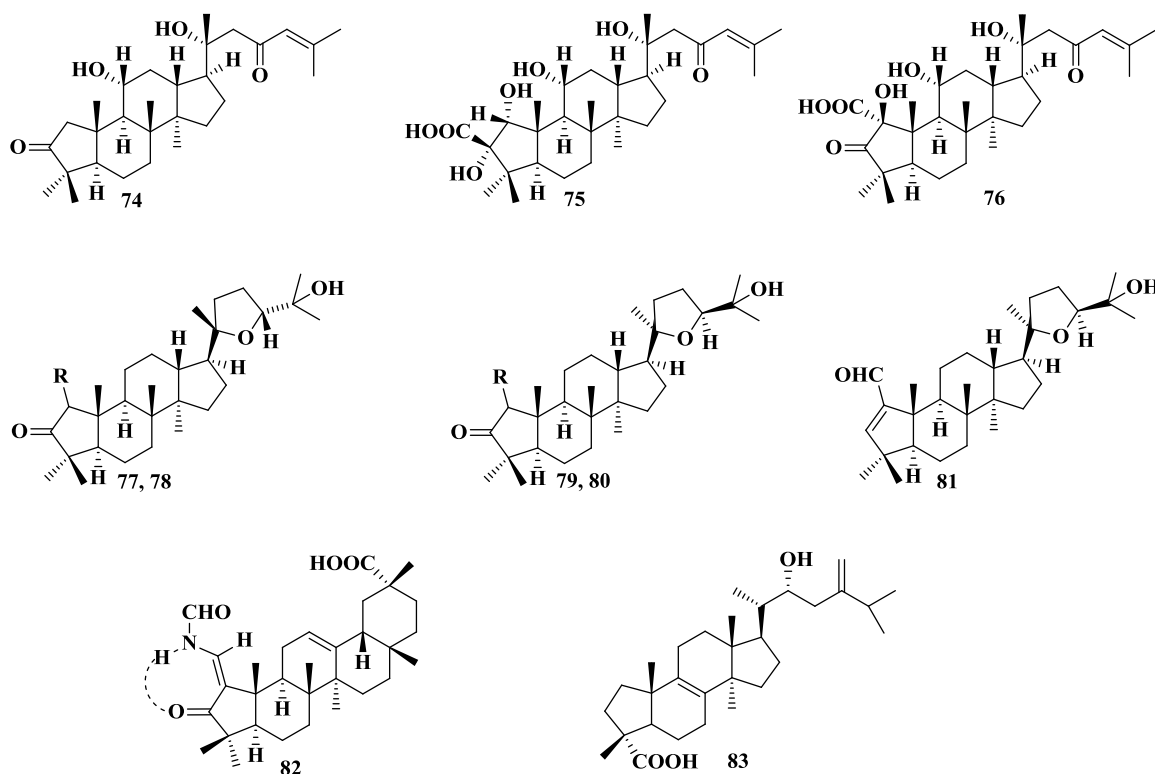
Совместно с гептадиеновой кислотой **66** в экстракте растений *Isodon sculponeata* (надземная часть) обнаружен ее аналог олеананового типа – скулпонеатиновая кислота **67** [60]. Олеанановая русановая кислота В **68**, выделенная из корней *Rosa rugosa* Thunb. (Rosaceae), проявила умеренную α -гликозидазную ингибирующую активность (32.39% ингибирования при концентрации 1.0 мМ) [19].

Из растений сем. Meliaceae выделены тритерпеноиды тирукаланового и урсанового типа: афанамграндины Е **73** и F **74** [16] и дизоксиаиновые кислоты А **72**, В **70** и С **71** [23]. Установлено, что дизоксиаиновые кислоты В **70** и С **71** обладают умеренной (МИК 25-50 мкг/мл) ингибирующей активностью в отношении грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis* ATCC 12228, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Bacillus subtilis* ATCC 6633.



72: R = α -OH; 73: R = β -OH

Выделены и исследованы тритерпеноиды даммаранового типа: вибурнолы Е **80** [62, 63], F **81** и G **82** [20, 21] – из листьев *Viburnum dilatatum* Thunb. (сем. Caprifoliaceae), силваглин А **75** и изосилваглин А **77**, их 1Н- β -эпимеры – силваглин В **76** и изосилваглин В **78**, а также дезоксилваглин **79** с $\Delta^{1(3)}$ связью – из корневой древесины *Aglaia silvestris* (сем. Meliaceae) [64].

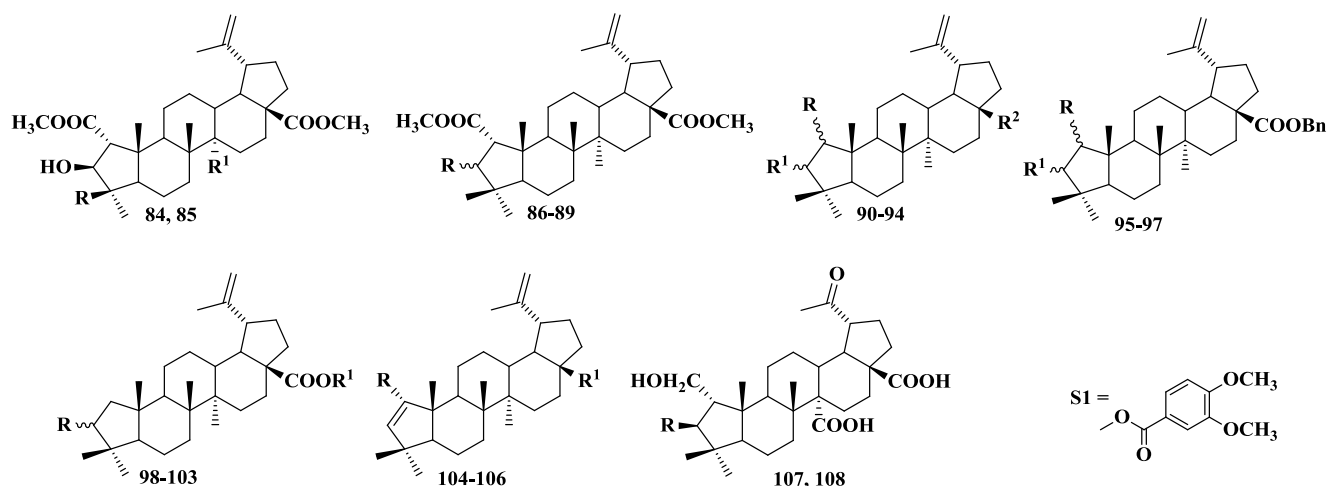


77: R = β -CHO; 78: R = α -CHO; 79: R = β -CHO; 80: R = α -CHO

Из листьев и веток представителя того же семейства Meliaceae – *Dysoxylum hainanense* Merr. выделен олеанановый тритерпеноид дизоксихайнанин А **69** с высокой антибактериальной активностью в отношении грамположительных бактерий *S. aureus* ATCC 25923 (МИК 12.5 мкг/мл), *S. epidermidis* ATCC 12228 (МИК 6.25 мкг/мл), *M. luteus* ATCC 9341 (МИК 12.5 мкг/мл), *B. subtilis* ATCC 6633 (МИК 6.25 мкг/мл) [65]. Ланостановый тритерпеноид гилвсин D **83**, изолированный из плодовых тел грибов *Phellinus gilvus* (Schw.) Pat. (сем. Hymenochaetaceae), проявил умеренную гипогликемическую активность (~50 мкМ) [66].

1.2 Функционализация природных тритерпеноидов цеанотанового типа

Трансформации цеанотовой кислоты **1** и ее 3-ацетилзамещенного производного **14**, описанные в литературных источниках, единичны и направлены на получение сложноэфирных производных путем функционализации гидроксильной С(3), карбоксильных С(1) и С(28) групп исходных соединений [26, 35, 41, 67-69, 76]. Так, 1,28-диметил-цеанотаты **86** и **87** получены метилированием CH_3I соответственно цеанотовой **1** и 3-*O*-ацетил-цеанотовой **14** кислот [26].



- 84:** R = CH₂OH, R¹ = CH₃; **85:** R = CH₃, R¹ = CH₂OH; **86:** R = β-OH;
87: R = β-COOCH₃; **88:** R = O; **89:** R = S1; **90:** R = β-COOCH₃, R¹ = O, R² = COOCH₃;
91: R = α-COOH, R¹ = β-OCOCH₂C(CH₃)₂COOH, R² = COOH;
92: R = α-CH₂OH, R¹ = β-OH, R² = CH₂OH; **93:** R = α-COOH, R¹ = β-CH₃COO, R² = COOH;
94: R = α-COOH, R¹ = O, R² = COOH; **95:** R = α-COOBn, R¹ = β-OH;
96: R = α-COOBn, R¹ = β-OMs; **97:** R = α-COOBn, R¹ = O;
98: R = O, R¹ = H; **99:** R = β-OH, R¹ = H; **100:** R = β-OCOCH₂C(CH₃)₂COOH, R¹ = H;
101: R = R¹ = H; **102:** R = O, R¹ = Bn; **103:** R = OH, R¹ = Bn; **104:** R = R¹ = COOBn;
105: R = R¹ = COOH; **106:** R = H, R¹ = COOH; **107:** R = OH; **108:** R = H.

Метилирование CH₂N₂ трудноразделимых экстрактов (или фракций экстракта) применяется для оптимизации условий выделения карбоксилсодержащих тритерпеноидов, в результате удалось выделить и идентифицировать диметилвые эфиры 24- и 27-гидроксицеанотовых кислот **84** и **85** и метиловый эфир 3-*O*(*O*,*O*)диметилпротокатехоил)-цеанотовой кислоты **89** [35, 70]. Прием ацилирования природных кислот успешно применяется для повышения уровня биологических свойств тритерпеноидов. Так, перевод неактивной природной эммоловой кислоты **29** в ацетат-замещенное производное **93** позволил повысить уровень противовоспалительной активности до умеренной (IC₅₀ 14.7 мкМ) [71]. Предложен [90] эффективный трехстадийный синтез 3-*O*-протокатехоилцеанотовой кислоты **28**, перспективного агониста GPR120, на основе более доступной цеанотовой кислоты **1** (не активирует GPR120), с использованием аллильной защиты карбоксильных групп. Авторы отмечают, что при попытках проведения реакции прямой этерификации цеанотовой кислоты **1**, независимо от условий, образовывались сложные смеси продуктов.

Продукты диметилирования (соединение **86**) или C(1) эпимеризации (соединение **90**) цеанотовой кислоты **1** или ее диметилированного 3-оксопроизводного **88** соответственно получены биотрансформацией исходных тритерпеноидов с использованием культуры *Mycobacterium sp.* NRRL B 3805 [67]. Гидроксикислота **99** синтезирована окислением цеанотовой кислоты **1** PDC до 1-декарбоксии-3-оксопроизводного **98** с последующим восстановлением NaBH₄ [69]. Дальнейшая этерификация кислот **1** и **99** привела к образованию соответствующих C(3) сукцинатов **91** и **100**. Ранее S. S. Lee с соавт. [68] описаны 5-стадийный синтез кислоты **99** и синтез из дибензильного производного **95** продуктов 1/3-элиминирования (соединения **104**, **105**, **106**), кислоты **101** и триола **92**. J. R. Choupa с соавт. [72] приводит описание полусинтетических продуктов – цифостемовых кислот C **107** и D **108**, полученных озонолитическим окислением C(20)/C(29) двойной связи цифостемовой кислоты A **40** и эпигоуановой кислоты A **33** соответственно.

В исследованиях биологической активности полусинтетических цеанотановых производных, по большей части, оценивали уровень их антипаразитарных, противовирусных и противоопухолевых свойств. 1-Нор-производные цеанотовой кислоты **98**, **99** и **106** показали в отношении линий опухолевых клеток OVCAR-3 и HeLa выраженные (IC₅₀ 2.8-9.1 мкг/мл) цитотоксические свойства [68]. Стоит отметить, что соединения **98** и **99** индуцировали апоптоз избирательно и не проявили выраженной токсичности в отношении фибробластов крайней плоти человека [41]. Сукцинаты **91** и **100** проявили выраженный ингибирующий эффект в отношении активации раннего антигена вируса Эпштейна-Барр (95-96% ингибирование при 1000 мольном соотношении/ТФА) [69]. Умеренную антипаразитарную активность в отношении *Leishmania amazonensis* IFLA/BR/75/PH8 и *Trypanosoma cruzi* Tulahuen (IC₅₀ 40.2 и 56.2 мкг/мл соответственно) проявил 3-*O*-ацетил-1,28-диметилцеанотат **87**, тогда как его деацетилированное производное **86** показало селективный ингибирующий эффект в отношении роста *L. amazonensis* IFLA/BR/75/PH8 (IC₅₀ 20.6 мкг/мл) [26].

1.3 Синтез А-пентациклических тритерпеноидов

Разнообразные биологические свойства природных А-пентациклических тритерпеновых метаболитов и продуктов их функционализации послужили причиной для рассмотрения данных соединений в качестве платформы для получения новых терапевтически перспективных полусинтетических производных. При этом крайне низкое содержание тритерпеноидов с пятичленным циклом А в природных ресурсах обуславливает интерес к исследованиям, направленным на разработку и оптимизацию методик синтеза их структурных аналогов. В качестве основных подходов к получению полусинтетических тритерпеноидов с пятичленным кольцом А применяют методы сужения или фрагментации/циклизации шестичленного кольца А их более доступных предшественников.

Кислотно-катализируемая перегруппировка Вагнера-Меервейна особенно часто используется как синтетический метод сужения цикла алициклических соединений с формированием циклопентильного фрагмента, в частности, в кольце А тритерпеноидов [91]. В зависимости от условий реакции образующийся при отщеплении 3β -гидроксильной группы нативных тритерпеноидов промежуточный карбокатион претерпевает перегруппировку Вагнера-Меервейна, что приводит к тритерпеновым производным с пятичленным циклом А и Δ^3 , $\Delta^{3(5)}$ или Δ^9 двойной связью [92-94]. Возможные механизмы образования продуктов перегруппировки Вагнера-Меервейна с пятичленным циклом А (схема 5) представлены в работе [95].

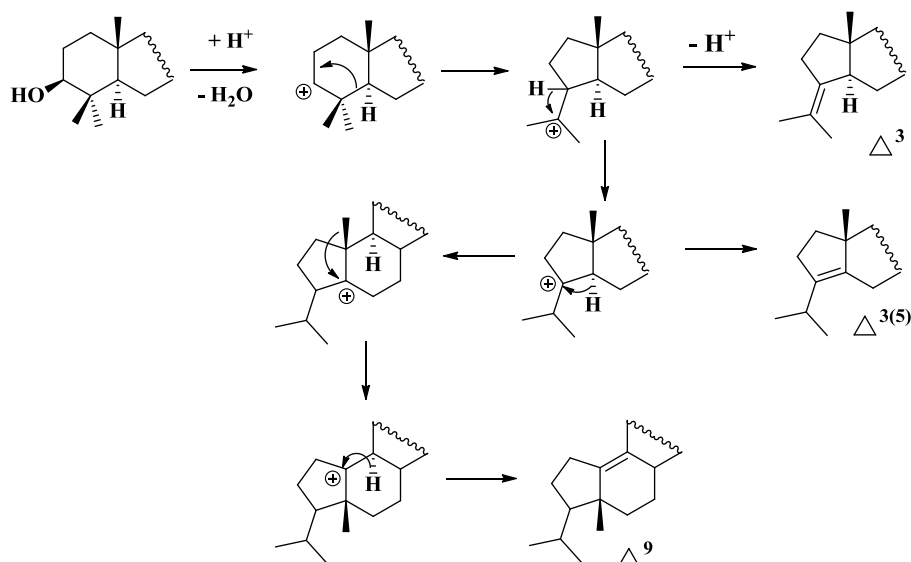


Схема 5

В условиях гетерогенного катализа монтмориллонитом K10 в CH_2Cl_2 [93] или адсорбированным на $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ гидратом FeCl_3 [94] аллобетулин **112** претерпевал перегруппировку Вагнера-Меейрвейна с образованием дегидрированных $\Delta^{3(5)}$ и Δ^9 производных **114** и **116** (схема 6). Получение смеси соединений **114** и **116** также возможно при взаимодействии аллобетулина **112** с дегидратирующими агентами (PCl_5 , P_2O_5 , фуллерова земля) [96-98] или при обработке δ -аллобетулина **118** монтмориллонитом K10 [93].

Бетулин **109** и бетулиновая кислота **110** под действием монтмориллонита K10 в зависимости от условий реакций образовывали смеси тритерпеноидов, из которых колоночной хроматографией на $\text{AgNO}_3\text{-SiO}_2$ выделены и далее идентифицированы в том числе производные с пятичленным циклом А **114**, **115** и **119**, **120** (схема 6) [93]. Возможный диагенез в бурых углях природных лупановых тритерпеноидов **109**, **110** [99, 100] экспериментально подтвержден получением олеанановых тритерпеноидов **114** и **115** в описанных в работе [93] условиях. Кроме того, тритерпеноиды **114** и **115** служат биомаркерами в геохимических исследованиях.

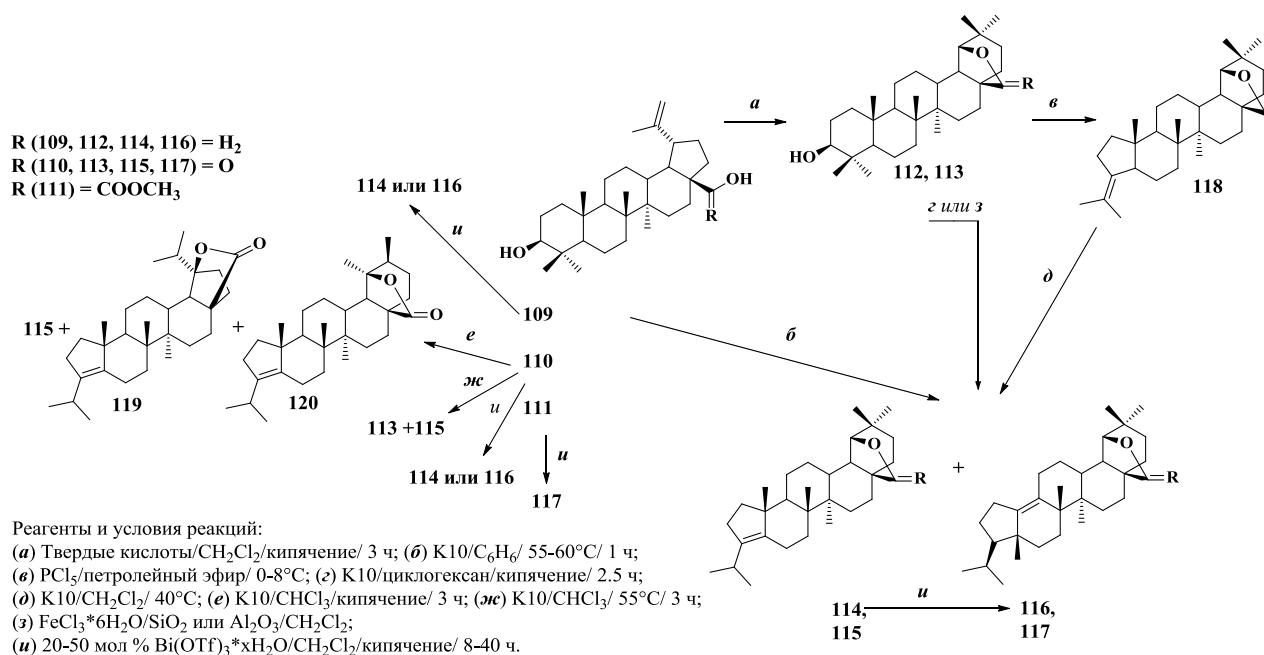


Схема 6

Замена монтмориллонита K10 на $Bi(OTf)_3 \cdot H_2O$ приводила к увеличению селективности синтеза $\Delta^{3(5)}$ и Δ^9 производных **114** и **116**, которая определялась условиями реакции [95]. Так, изомеризация бетулина **109** напрямую зависела от количества (20 или 50 мол. %) вводимого в реакцию катализатора и приводила к преобладанию (>95%) изомера **114** или **116** соответственно (схема 6). Тогда как селективностей превращения бетулоновой кислоты **110** или эфира **111** в соответствующее 28-оксипроизводное **115** или **117** (20 мол. %, выход 82-92%) зависела исключительно от продолжительности реакции.

Исследована возможность кислотно-катализируемых (HCl, монтмориллонит K10, $VF_3 \cdot Et_2O$) перегруппировок дигидробетулина, дигидробетулиновой кислоты и *абео*-лупановых эпоксидов с образованием новых производных цеанотанового типа [96]. Обработкой дигидробетулина **122** и его ацетильного производного **121** HCl или K10 получены *абео*-лупановые олефины **123**, **124**, **126**, **127** (схема 7). Эпоксидирование тритерпеновых алкенов **123**, **124**, **126**, **127** в системе *m*-CPBA/ $NaHCO_3/CHCl_3$ приводило к образованию соответствующих 3,5- (**128**, **130**) и 9,10- (**129**, **131**) эпоксидов. В присутствии протонных кислот или кислот Льюиса эпоксиды **128-131** претерпевают перегруппировку с образованием

соответствующих лупановых производных с диеновым **132-143** или бицикло[3.3.1]-нонановым **140-144** фрагментами.

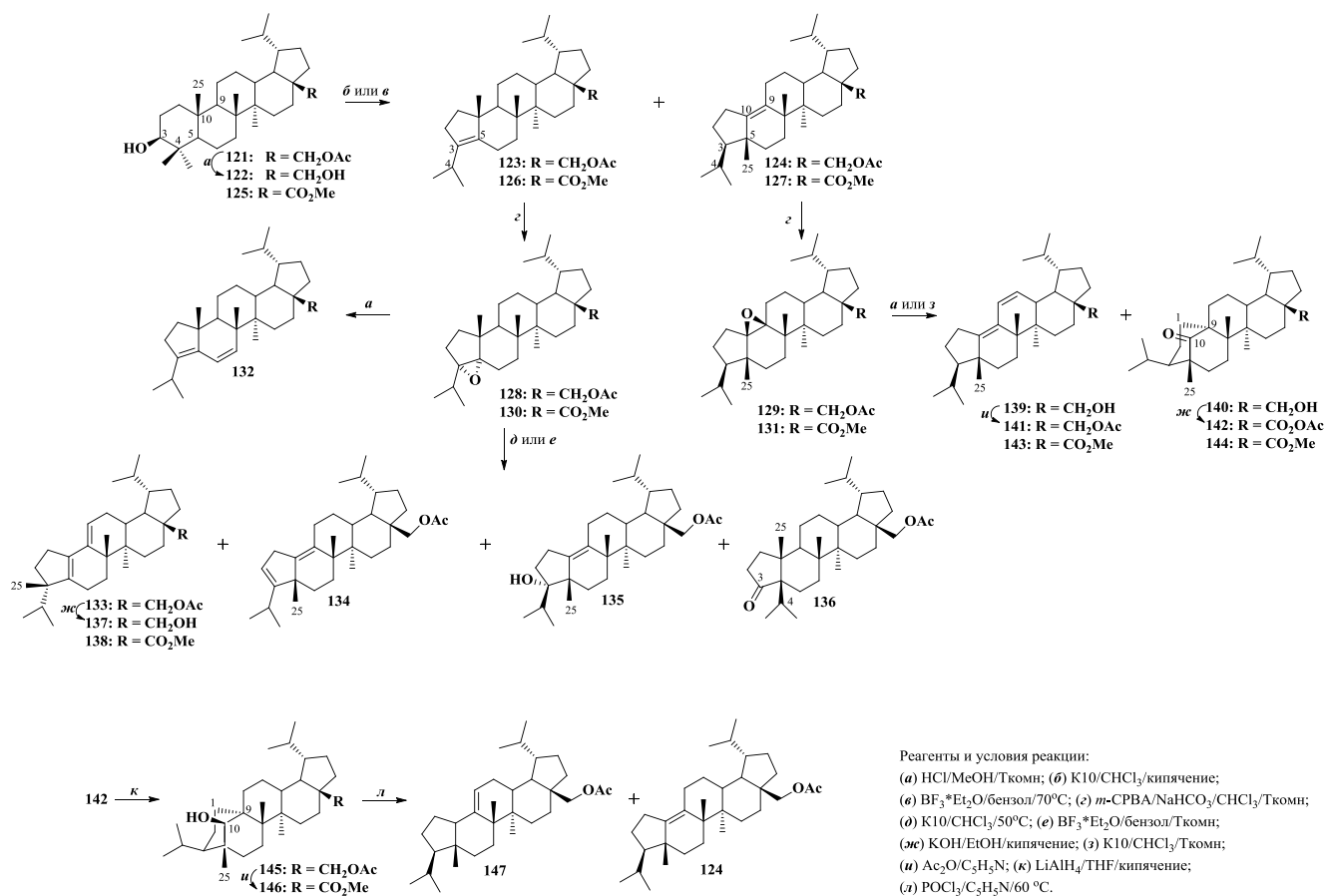


Схема 7

Авторами установлено, что структура синтезированных тритерпеноидов напрямую зависит от природы используемого в реакции катализатора. Так, согласно предполагаемым механизмам реакции (схема 8, 9), использование в качестве катализатора протонной кислоты приводит к разрыву связи С-О и образованию спирта, который далее претерпевает процесс 1,4-элиминирования воды. В то время как в присутствии VF₃*Et₂O наблюдается перегруппировка путем алкильной миграции. В случае монтмориллонита K10 чаще всего происходит элиминирование молекулы воды, однако продукты миграции С-С связи также обнаруживаются в значительном количестве.

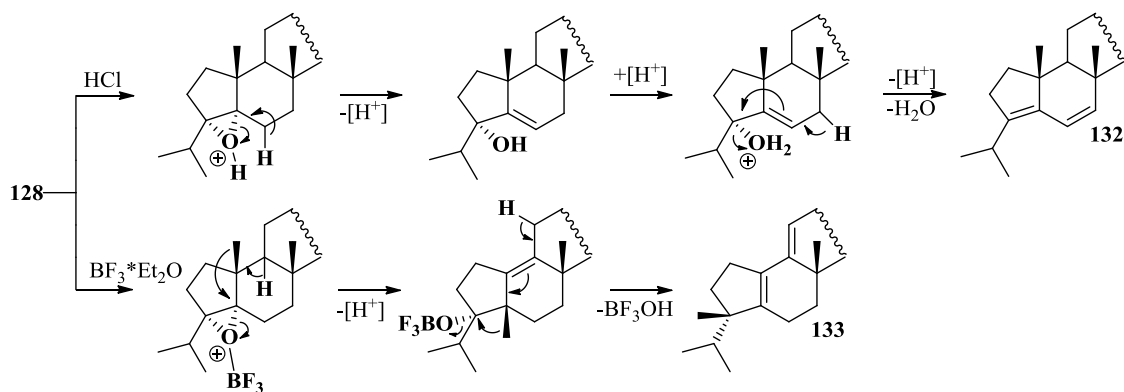


Схема 8

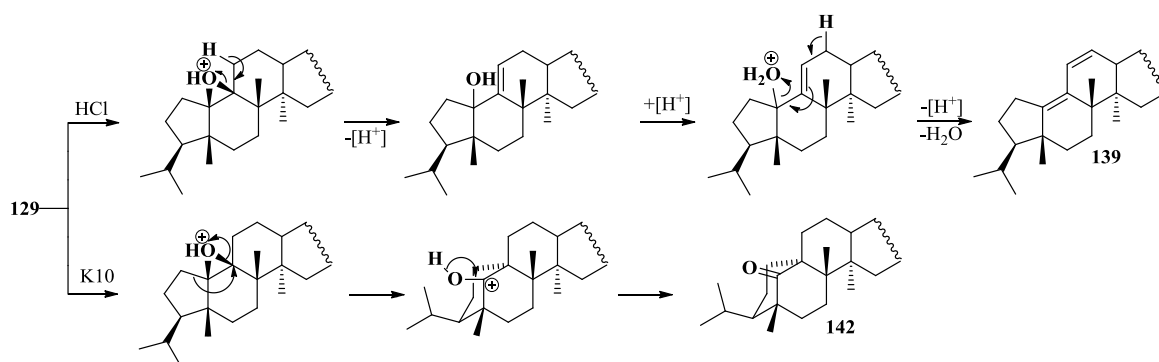
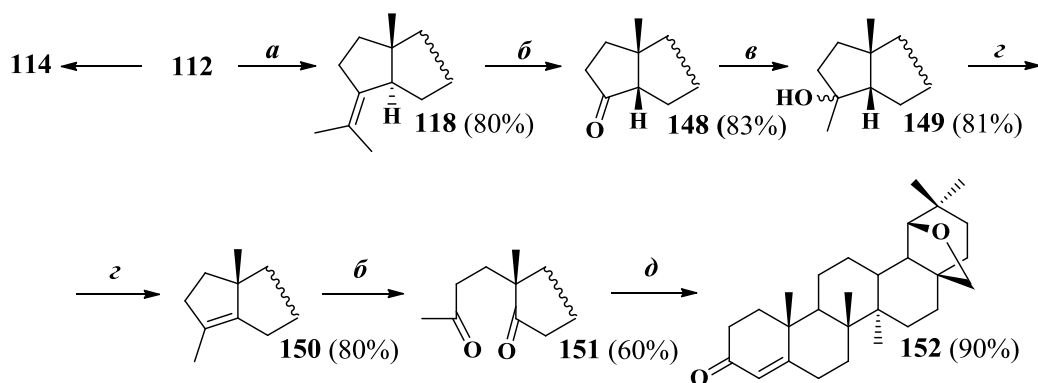


Схема 9

Тритерпен-стероидная трансформация [102-108] успешно применена в синтезе 23,24-диноролеан-4-ен-3-он-производного **152** из аллобетулина **112** (схема 10) [109].



Реагенты и условия реакций:

(a) $\text{PCl}_5/\text{C}_6\text{H}_6$ -толуол/ $-10-0^\circ\text{C}$ / 30 мин ; (б) $\text{O}_3/\text{CH}_2\text{Cl}_2/ -60^\circ\text{C}$;

(в) $\text{CH}_3\text{MgI}/\text{Et}_2\text{O}/\text{THF}/ 22^\circ\text{C}$, 3 ч; (г) $\text{POCl}_3/ 22^\circ\text{C}/ 24$ ч;

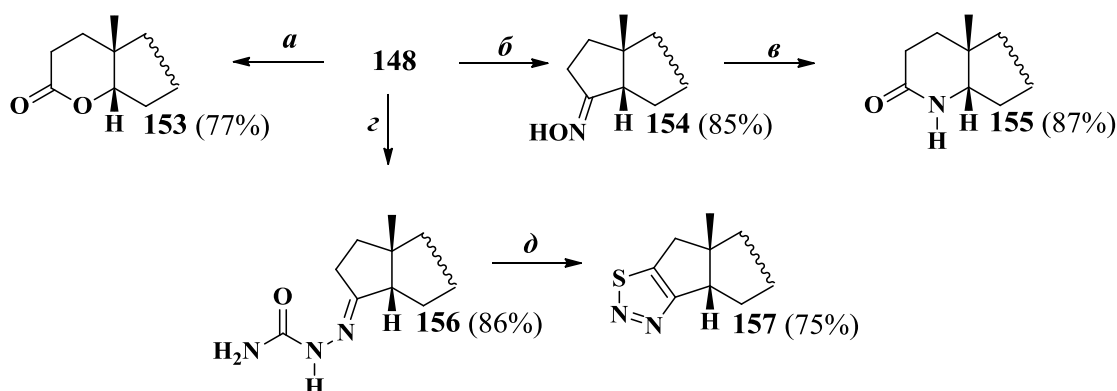
(д) $\text{KOH}/\text{MeOH}/ 64^\circ\text{C}/ 30$ мин.

Схема 10

При обработке PCl_5 в условиях пониженных температур ($-10-0^\circ\text{C}$) аллобетулин **112** претерпевал перегруппировку Вагнера-Меервейна с образованием 3-изопропилиденового производного **118** [109, 110], тогда как при

использовании той же системы при более высоких температурах (5-10 °С) реакция протекала с образованием изомерного А-нортритерпеноида **114** с эндо-циклической $\Delta^{3,5}$ -связью [110]. Озонолизом соединения **118** авторами [109] синтезирован известный $5\beta H$ -кетон **148** [98], реакцией Гриньяра которого получена смесь диастереомерных спиртов **149**. Альдольная конденсация А-секодикетона **151** в 5% метанольном растворе КОН привела к образованию енона **152** с общим выходом 70% (из бетулина).

$5\beta H$ -Кетон **148** является удобным интермедиатом для синтеза соединений с модифицированным кольцом А. Так, длительное окисление *m*-ClC₆H₄CO₃H по Байеру-Виллигеру кетона **148** привело к образованию лактона **153** (схема 11) [110]. Кроме того, на основе $5\beta H$ -кетона **148** авторами [110] описан эффективный синтез оксима **154**, лактама **155**, семикарбазида **156** и тиадиазола **157**.



Реагенты и условия реакций:

(*a*) 1. *m*-ClC₆H₄CO₃H/CH₂Cl₂/ 7 дней; 2. Zn/AcOH/ 0°C/ 1 ч;

(*b*) NH₂OH·HCl/C₅H₅N/кипячение/ 2 ч; (*c*) SOCl₂/диоксан/ Т комн./ 5 ч;

(*z*) NH₂NHCONH₂/HCl/EtOH/ 40°C/ 6 ч; (*d*) SOCl₂/CH₂Cl₂.

Схема 11

Двойная С(3)–С(5)-связь А-нортритерпеноида **114** с эндо-циклической $\Delta^{3,5}$ -связью под действием озона подвергается окислению, в результате которого из реакционной смеси авторам [111] удалось выделить стабильные изомеры – 1,2,4-триоксоланы **158**, **159** и минорный $5\alpha H$ -эпоксид **160** (схема 12). Из полученных продуктов реакции только у 1,2,4-триоксолана **158** выявлены цитотоксические свойства в отношении клеток рака кожи KB и MeWo (IC₅₀ 4.93 и 87.00 мкМ соответственно) [112]. Под действием ацетилхлорида в CH₃CN соединение **114** изомеризуется до Δ^9 производного **116** с выходом 75%. В результате

озонирования соединения **116** получены кетон **161** (продукт аллильного окисления) и диэпоксид **162** [113, 114]. В случае озонлиза алкена **150** в качестве единственного продукта реакции выделен 1,2,4-диоксолан **163**, конфигурацию асимметрического центра которого по данным ЯМР установить не удалось [111]. При обработке реакционной смеси, полученной после озонлиза соединения **114**, системой Zn/AcOH синтезирован 4,5-секодикетон **164**.

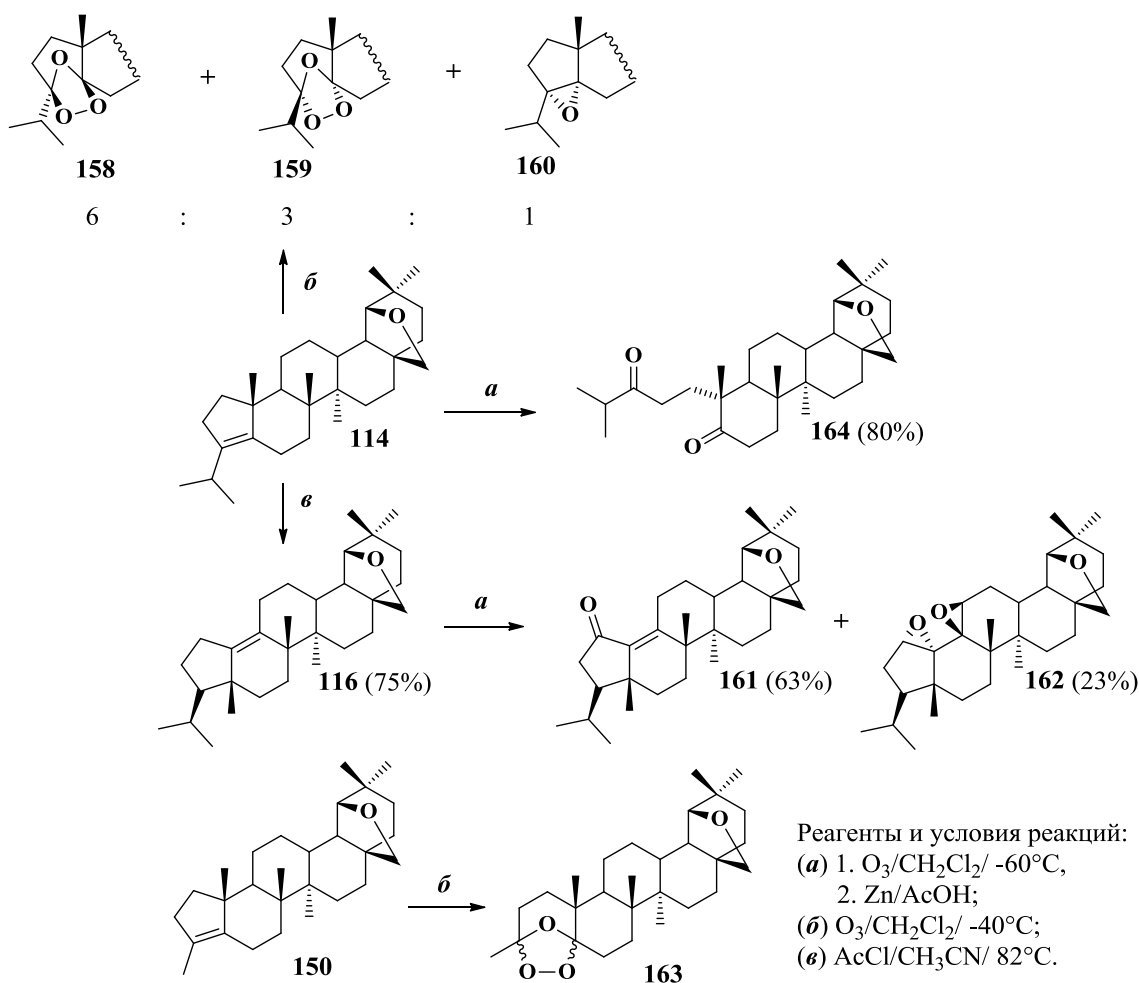
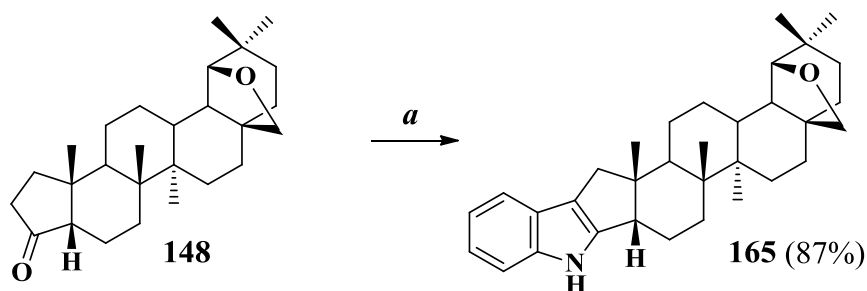


Схема 12

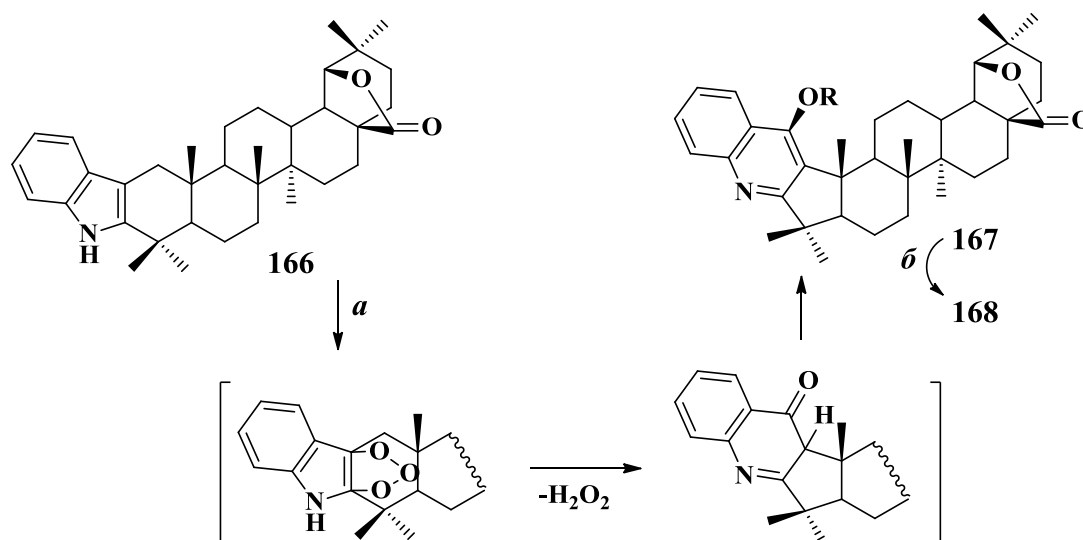
Реакцией Фишера на основе олеананового 5 β H-норкетона **148** получен 2,3-индол **165** (схема 13) [115]. Исследования цитотоксических свойств индола **165** в отношении 60 клеточных линий рака человека выявили слабую (IC₅₀ > 87.00 мкМ) активность полученного тритерпеноида.



Реагенты и условия реакций:
(*a*) PhNHNH₂/AcOH/кипячение/7 ч.

Схема 13

Озонолизом индолил-производного **166** получен оксихинолин **167**, в результате ацилирования которого получено соответствующее ацетоксипроизводное **168** (схема 14).



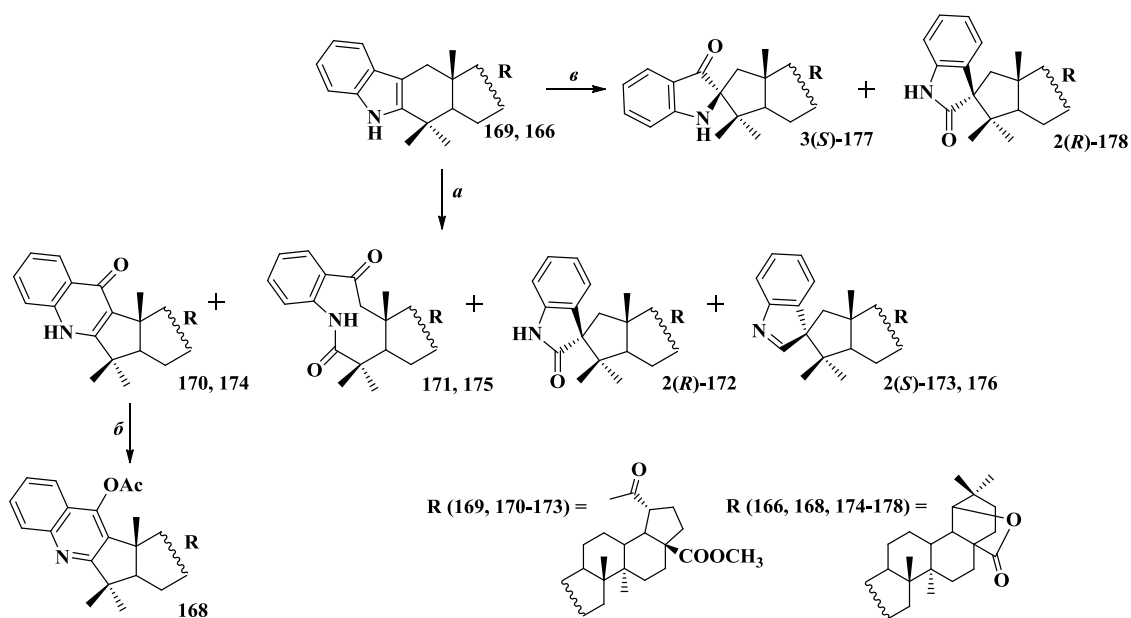
Реагенты и условия реакций:
(*a*) O₃/CH₂Cl₂/-40°C; (*б*) Ac₂O/C₅H₅N/115°C.
R (167) = H
R (168) = COCH₃

Схема 14

Возможный механизм реакции включает присоединение озона к двойной C(2)–C(3) связи с образованием нестабильного 1,2,3-оксолана, сигматропная перегруппировка которого приводит к образованию кетона и переходу последнего в более стабильный оксихинолин **167** (схема 14) [116].

Озонолитическим окислением индола оксоплатановой кислоты синтезированы соответствующие тритерпеновые хинолон **170** и изомерные спироиндолы **173**, **175** с пятичленным циклом А, а также девятичленный оксолактам **171** (схема 15) [117]. В случае индола 28-оксо-аллобетулона из

реакционной смеси методом колоночной хроматографии удалось выделить только А-пентациклические хинолон **174**, (2*S*)-спироиндол **176** и 2,3-секо-оксолактам **175**. Авторы отмечают, что снижение температуры реакции до $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ способствует увеличению селективности процесса окисления. В случае 20-оксолупановых производных регистрируется преимущественное образование тритерпеноида с пятичленным циклом А **170** (выход 89%) и отсутствуют А-пентациклические спиропроизводные **172**, **173**. В случае 28-оксо-олеананового индола реакция протекает с исключительным образованием хинолона **174**. При этом побочные спироиндолы **172**, **173** в реакционной смеси не обнаруживались. Выделить спиропроизводные **172**, **173** и **176** с максимальными выходами (20 %, 9 % и 10% соответственно) удалось при проведении реакции при $20\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Реагенты и условия реакции:

(a) $\text{O}_3/\text{CH}_2\text{Cl}_2/-40\text{ }^{\circ}\text{C}$; (b) $\text{Ac}_2\text{O}/\text{C}_5\text{H}_5\text{N}/115\text{ }^{\circ}\text{C}$; (c) $\text{DMSO}/\text{ацетон}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Схема 15

Согласно предложенному механизму, синтез соединений **170**, **171**, **174** и **175** аналогичен получению продуктов озонолитического окисления индолов в реакции окисления Виткопа-Винтерфельда, которое включает окислительную фрагментацию двойной C(2)–C(3) связи скелета индола (окисление Виткопа) с формированием девятичленного лактама и последующей конденсацией альдольного типа (циклизация Кэмпа) до соответствующего хинолонового кольца. Формирование соединений **170**, **171**, **174** и **175** можно объяснить 1,3-

диполярным циклоприсоединением озона по двойной C(2)–C(3) связи индола **169** (Схема 16, путь А-В). Альтернативный путь основан на 1,2-циклоприсоединении озона к двойной связи с последующей внутримолекулярной перегруппировкой 2,3-эпокси-интермедиата в спиропроизводные **172**, **173** и **176** (Схема 16, путь Г-Е). Возможность образования спиропроизводных через эпексидирование ненасыщенной C(2)–C(3) связи продемонстрирована на примере окисления индолотритерпена **166** диметилдиоксираном (реагентом для синтеза спироиндолинонов).

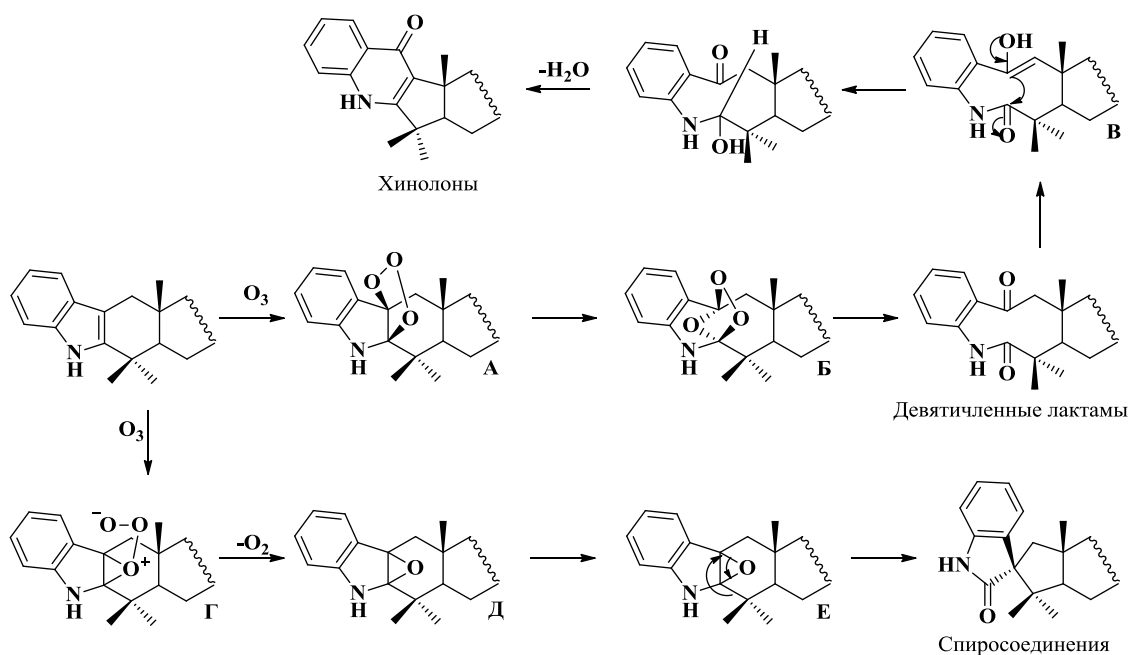


Схема 16

Противовирусная активность тритерпеноидов **166**, **170**, **174**, **168** и **177** исследована в отношении цитомегаловируса, вируса герпеса простого 1 типа и папилломы человека. Среди исследуемых соединений только тритерпеновые хинолоны **170** и **174** проявили выраженные (EC_{50} 2.61 и 0.45 мкМ соответственно) противовирусные свойства в отношении вируса папилломы человека 11 типа.

Авторами также приводятся результаты исследования цитотоксических свойств спиропроизводного **177**. Согласно которым, тритерпеноид **177** не проявил противоопухолевой активности в отношении 60 клеточных линий девяти различных типов опухолевых клеток человека (легкого, толстого кишечника, ЦНС, яичника, почек, простаты, головного мозга, лейкемии, меланомы) [118].

Чешскими исследователями [119-121] описаны многочисленные окислительно-восстановительные трансформации А-нортритерпеноида **114** с эндо-циклической $\Delta^{3,5}$ -связью и его производных (схема 17, 18). Окисление соединения **114** *m*-хлорнадбензойной кислотой протекало селективно, с образованием в качестве основного продукта α -эпоксида **160a** (выход 92%) и минорного β -эпоксида **160b** (выход 3%) (схема 17) [119]. При изменении температуры реакции соотношение изомеров не изменялось. В результате окисления алкена **114** $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ образовывалась трехкомпонентная смесь, из которой с выходом 75% выделен ненасыщенный $\Delta^{3(5)}$ -кетон **169**, а в качестве минорных продуктов – **160a** и **171b**.

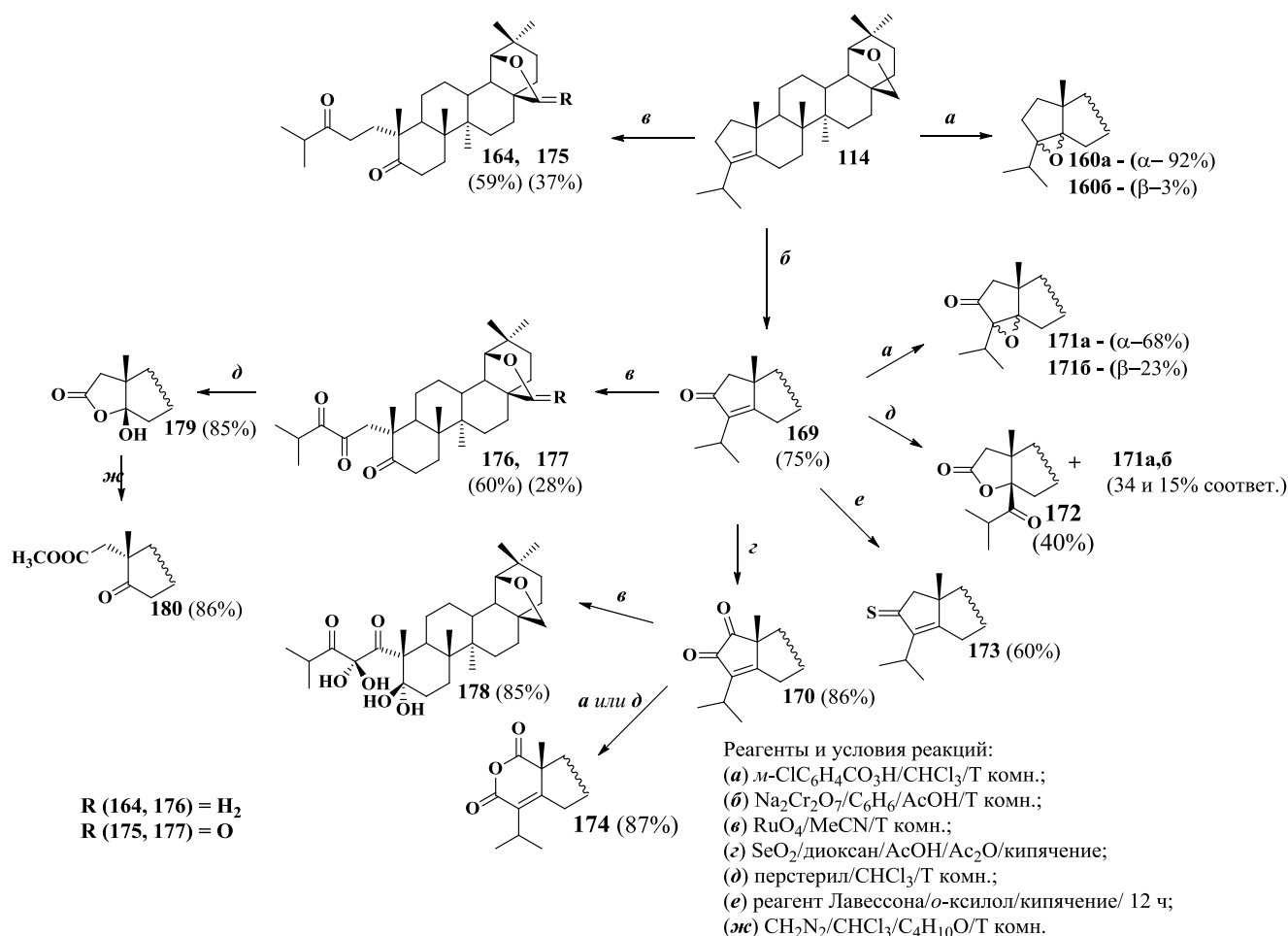
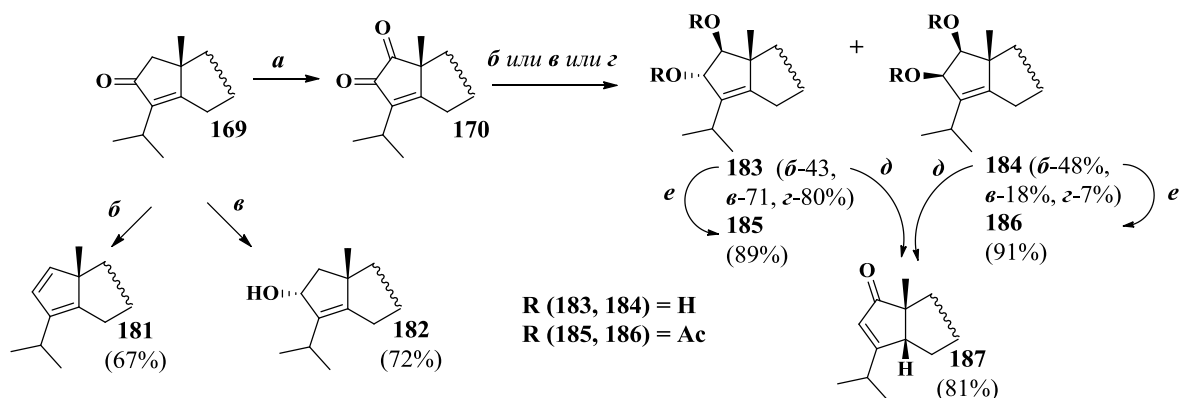


Схема 17

В отличие от алкена **114** эпексидирование $\Delta^{3(5)}$ -кетона **169** под действием *m*-хлорнадбензойной кислоты протекало неселективно с образованием смеси эпоксикетонов **171a** и **171b** в соотношении 3:1, а при воздействии на кетон **169** перстерила из реакционной смеси выделены эпоксикетоны **171a,b** и лактон **172**.

Окислением кетона **169** SeO₂ синтезирован ненасыщенный Δ³⁽⁵⁾-дикетон **170**, дальнейшая обработка которого *m*-хлорнадбензойной кислотой или перстерилом приводила к образованию лактона **174**. Расщеплением двойной C(3)–C(5) связи олефина **114**, ненасыщенных кетона **169** и дикетона **170** каталитическим количеством RuO₄ синтезированы 4,5-секопроизводные **164** и **175**, **176** и **177**, **178** соответственно. Авторами [119] отмечена нестабильность соединений **176**, **177**, которые разрушались под действием кислорода в течение нескольких дней. Трикетон **176** подвергали также направленному окислению перстерилом до соответствующего гидросилактона **179**, обработка которого диазометаном привела к образованию метилового эфира оксокислоты **180**. Взаимодействием Δ³⁽⁵⁾-кетона **169** с реагентом Лавессона при повышенных температурах синтезирован тиокетон **173** [120].

Восстановление ненасыщенных кетонов редко связано с элиминированием аллильных гидроксигрупп. Однако, взаимодействием кетона **169** с NaBH₄ в MeOH получен продукт элиминирования – диен **181**, и лишь при добавлении к восстановительному реагенту CeCl₃ удалось синтезировать ожидаемый аллильный спирт **182** с α-конфигурацией гидроксильной группы (схема 18) [121].



Реагенты и условия реакций:

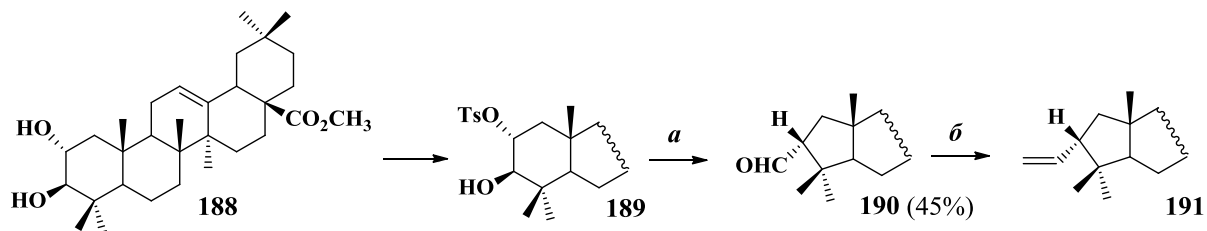
- (a) SeO₂/диоксан/AcOH/Ac₂O/кипячение; (б) NaBH₄/MeOH/ 5 ч; (в) NaBH₄/CeCl₃/MeOH/ 10 ч;
 (z) B₂H₆-DMS/THF/ 3 ч; (д) 10% HCl/AcOH/ 1 ч; (e) Ac₂O/C₆H₆.

Схема 18

При этом авторы [121] отметили, что спирт **182** крайне нестабилен в сильноокислых условиях, поэтому при его выделении HCl вынуждено заменили на лимонную. В отличие от кетона **169** использование реагентов описанных выше или добавление диборан–диметилсульфида к дикетону **170** всегда приводило к

образованию смеси изомерных диолов **183** и **184**, соотношение которых менялось в зависимости от условий реакции. Синтез соответствующих ацетоксипроизводных **185** и **186** осуществлен путем взаимодействия диолов **183** и **184** с AcOH в пиридине. Диолы **183** и **184** аналогично спирту **182** были нестабильны к кислой среде и при обработке 10% HCl легко превращались в енон **187**. Скрининг цитотоксических свойств синтезированных А-пентациклических продуктов выявил невысокую ($IC_{50} > 20$ мкМ) активность лишь у гидроксипроизводных **183** и **184**.

Формирование циклопентанового кольца А тритерпеноидов осуществлено согласованной 2(3)→4-абео-перегруппировкой C(2) тозилата метилового эфира маслиновой кислоты **189** в условиях реакции ацетоллиза (схема 19) [122]. В результате реакции в качестве основного продукта с выходом 45% выделено А-нео-3α-формильное производное **190**, взаимодействием которого с системой C₁₉H₁₈BrP (бромид метилтрифенилфосфония)–*sec*-BuLi получено экзо-C(3)-этилензамещенное производное **191**.

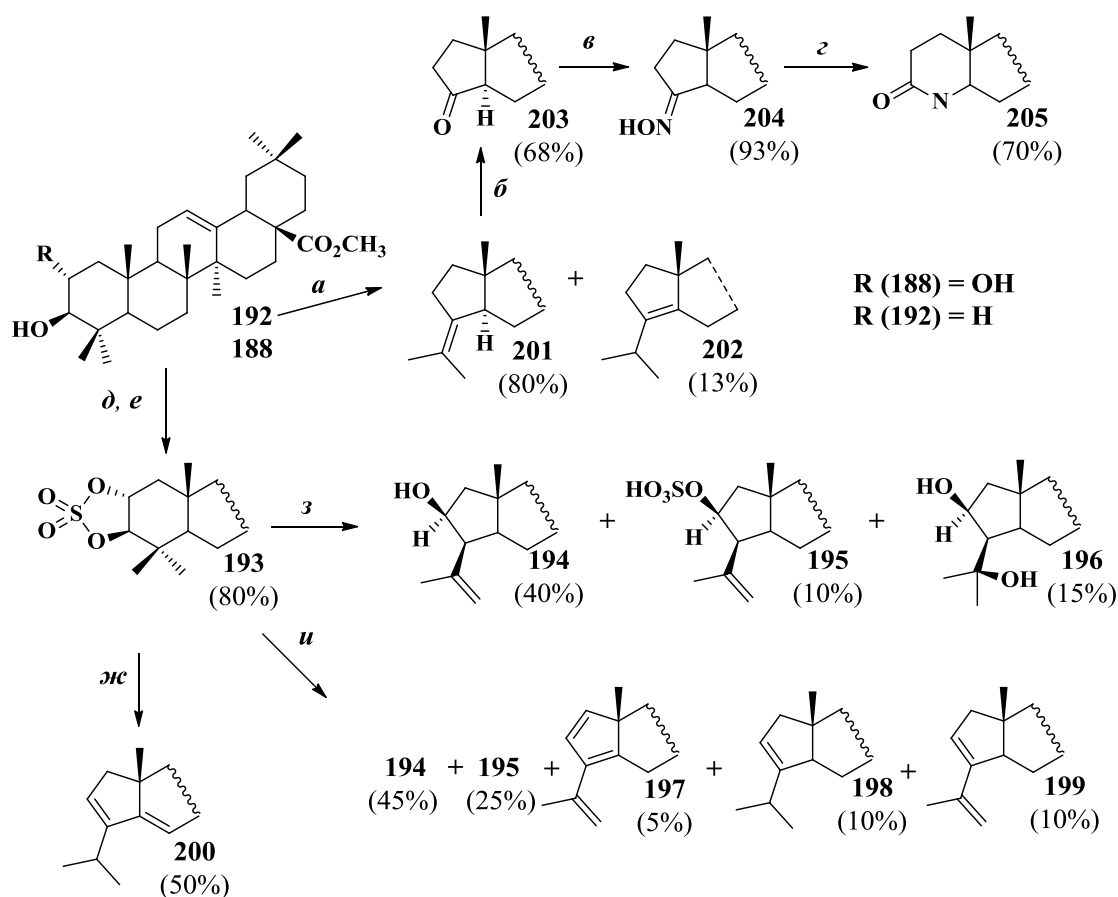


Реагенты и условия реакций:

(a) KOAc/AcOH/кипячение/ 30 мин; (b) CH₃P(C₆H₅)₃/*sec*-BuLi.

Схема 19

На основе метиловых эфиров маслиновой **188** и олеаноловой **192** кислот получена смесь стабильных изомерных сульфитов, которые далее, без разделения, были окислены до циклического сульфата **193** (схема 20) [123].



Реагенты и условия реакций:

(а) $\text{PCl}_5/\text{Cl}_4\text{C}_2/-15^\circ\text{C}$; (б) $\text{O}_3/\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{C}_5\text{H}_5\text{N}/-72^\circ\text{C}$; (в) $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}/\text{C}_5\text{H}_5\text{N}/50^\circ\text{C}$;

(з) $\text{PCl}_5/\text{Et}_2\text{O}/\text{T}$ комн.; (д) $\text{Cl}_2\text{SO}/\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{C}_5\text{H}_5\text{N}/5$ мин/ 0°C ;

(е) $\text{RuCl}_3\cdot 3\text{H}_2\text{O}/\text{NaIO}_4/\text{CH}_3\text{CN}/\text{CCl}_4/\text{H}_2\text{O}/0^\circ\text{C}$; (жс) $\text{SiO}_2/\text{pH} = 7/\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{кипячение}/3$ ч;

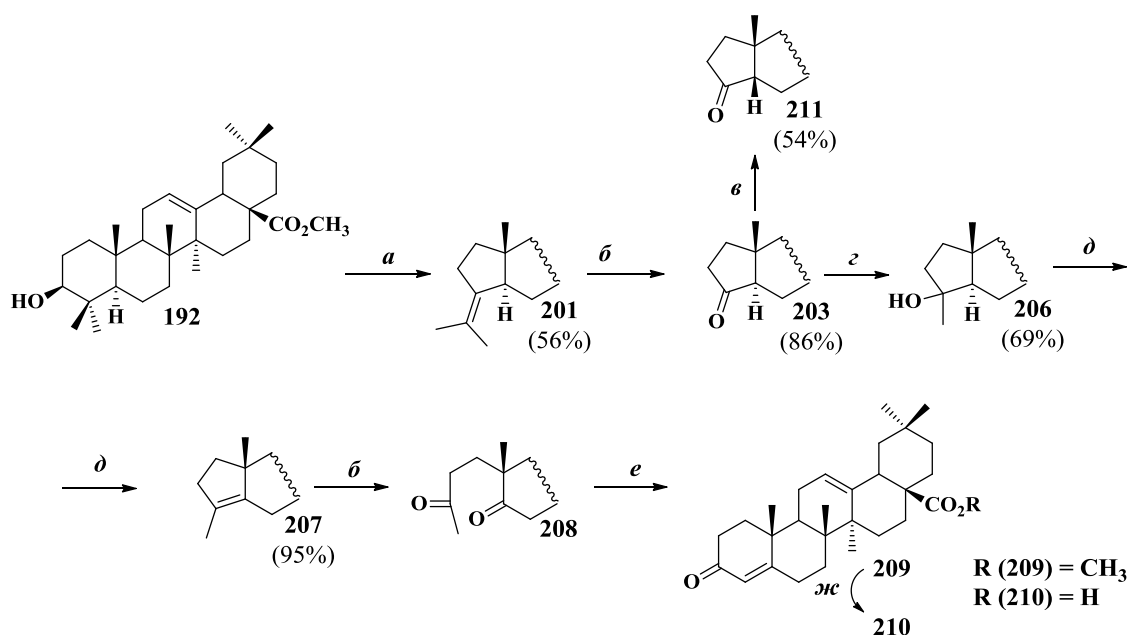
(з) 1. $\text{NaN}_3/\text{DMF}/\text{кипячение}/1$ ч; 2. 20% H_2SO_4 ; (и) NaBH_4 или $\text{NaBH}_3\text{CN}/\text{DMF}/\text{кипячение}/3$ ч.

Схема 20

Исследования показали, что при воздействии на сульфат **193** нуклеофильных реагентов образуется смесь гидрокси-содержащих А-пентациклических продуктов **194-196**, тогда как при использовании восстановительных систем наряду с соединениями **194, 195** образуются продукты **197-199** с пятичленным циклом А, содержащих одну, две или три двойные связи. Стоит также отметить, что в присутствии силикагеля сульфат **193** претерпевал С-3(4)→С-5-перегруппировку с образованием А-пентациклического диена **200**. Авторами работы [123] также представлен путь получения А-циклопентильного фрагмента в тритерпеноидах, основанный на обработке метилового эфира олеаноловой кислоты **192** сильным дезоксигенирующим агентом (PCl_5) и протекающий с образованием Δ^3 и $\Delta^{3(5)}$ -производных **201, 202** (схема 20). В результате последовательных реакций озонолитического окисления и

оксимирования основного продукта **201** получен А-нор-оксим **204**, перегруппировка Бекмана которого протекала селективно, с образованием C(4)-аза-производного **205**.

В результате взаимодействия метилового эфира олеаноловой кислоты **192** с PCl_5 в условиях пониженных температур осуществлен синтез Δ^3 -производного **201**, который далее с использованием классического подхода к 23,24-деметилованию через образование А-пентациклического интермедиата [102-107] переходит в тритерпеноид-стероидные гибриды **209**, **210** (схема 21) [108].



Реагенты и условия реакций:

(а) $\text{PCl}_5/\text{C}_6\text{H}_6$ -толуол/ 0°C ; (б) $\text{RuO}_4/\text{CCl}_4/\text{T}$ комн./ 2 ч;

(в) $\text{AcOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{T}$ комн.; (з) $\text{CH}_3\text{MgBr}/\text{Et}_2\text{O}/ 0^\circ\text{C}$; (д) $\text{POCl}_3/\text{C}_5\text{H}_5\text{N}/ 0^\circ\text{C}$;

(е) $\text{NaOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}/\text{кипячение}/ 1$ ч; (ж) $\text{LiI}/\text{DMF}/\text{кипячение}/ 5$ ч.

Схема 21

В качестве ключевых интермедиатов авторами выделены и описаны тритерпеноиды с пятичленным циклом А **203**, **206**, **207**, а также А-секопроизводное **208**. В ходе исследований выявлено, что в процессе колоночной хроматографии на SiO_2 или при обработке уксусной кислотой кетон **203** подвергается частичной изомеризации с образованием $5\beta\text{H}$ -эпимера **211** с выходом 54% [108].

При обработке метилового эфира 11-дезоксоглицирретовой кислоты **212** системой $\text{PCl}_5\text{-C}_6\text{H}_6$ -толуол протекала перегруппировка Вагнера-Меервейна и происходило образование, в зависимости от температуры реакции, $\Delta^{3(5)}$ **185** или Δ^3

215 производных (схема 22) [124]. Дальнейшее окисление А-пентациклических алкенов **213** и **215** RuO₄ привело к образованию соответственно 5α-эпоксида **214** или смеси изомерных 5βН- **216** и 5αН- **217** А-нор-кетонов (2:1), выделенных в индивидуальном виде колоночной хроматографией на Al₂O₃. Селективное образование 5βН-кетона **216** осуществлено озонлизом соединения **217** и последующей обработкой реакционной смеси Zn/АсОН.

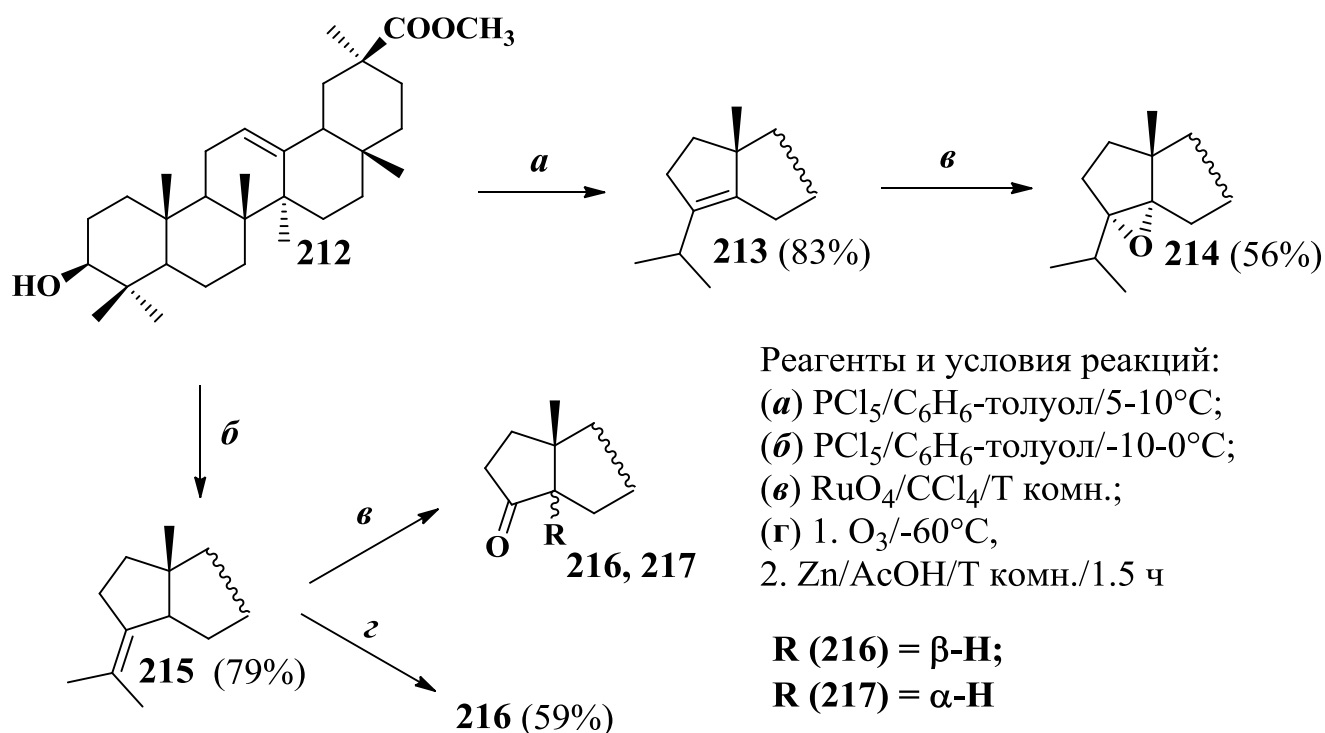
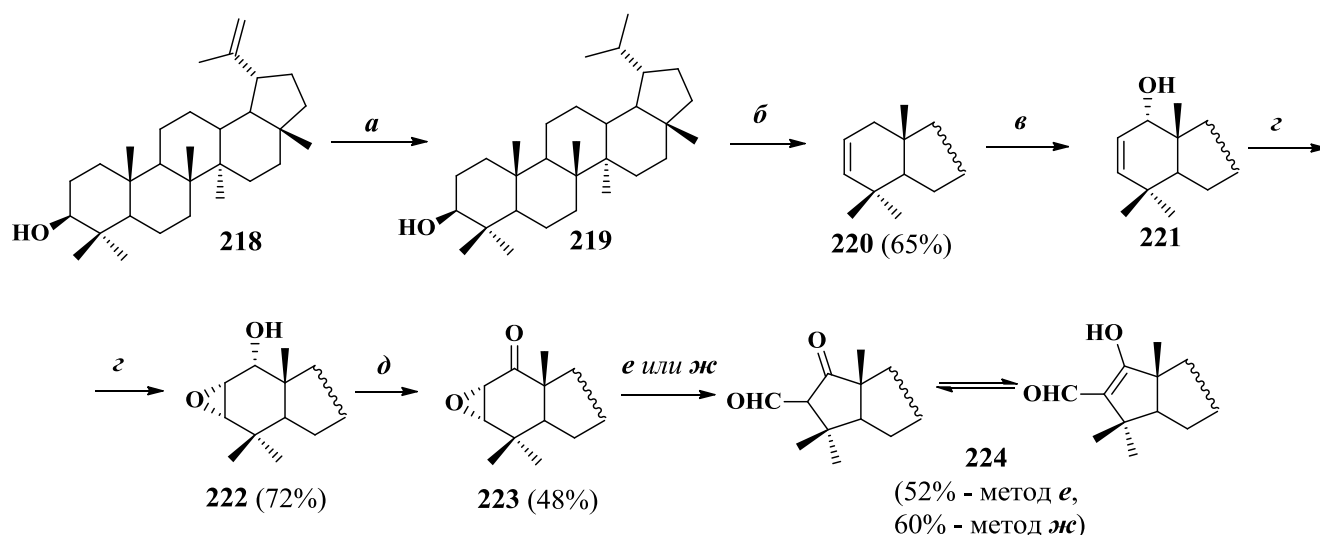


Схема 22

Метод образования А-циклопентильного фрагмента в структуре тритерпеноидов путем сужения эпоксирированного шестичленного кольца [91] возможен, например, при формировании циклопентанкарбоксихальдегидов [125-128]. Так, на основе природного тритерпеноида лупеола **218** получен соответствующий 2,3-эпоксид **223**, перегруппировка которого в условиях катализа VF₃*O(C₂H₅)₂ или фотолиза приводила к образованию альдегидокетона **224**, кетонный карбонил которого енолизирован в растворе (схема 23) [129].



Реагенты и условия реакций:

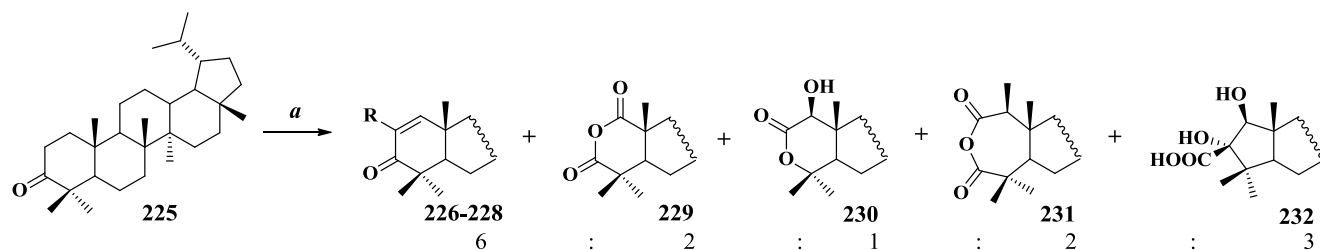
(*a*) $H_2/Pd-C/EtOAc/T$ комн./4 ч; (*b*) $POCl_3/C_5H_5N/T$ комн./4 ч;

(*в*) $SeO_2/$ диоксан/кипячение/6 ч; (*z*) $m-ClC_6H_4CO_3H/CHCl_3/5^\circ C/72$ ч; (*d*) $CrO_3/C_5H_5N/5^\circ C/48$ ч;

(*e*) $BF_3 \cdot O(C_2H_5)_2/C_6H_6/T$ комн./1 ч; (*жс*) $h\nu > 290$ нм/диоксан/ T комн./0.5 ч.

Схема 23

В результате длительного кипячения с обратным холодильником лупанона **225** в системе $SeO_2-t-BuOH$ получена смесь тритерпеновых производных **226-232**, в том числе с пятичленным циклом А – 3-карбокситетрагидрокси-А-норлупан **232** (схема 24) [130].

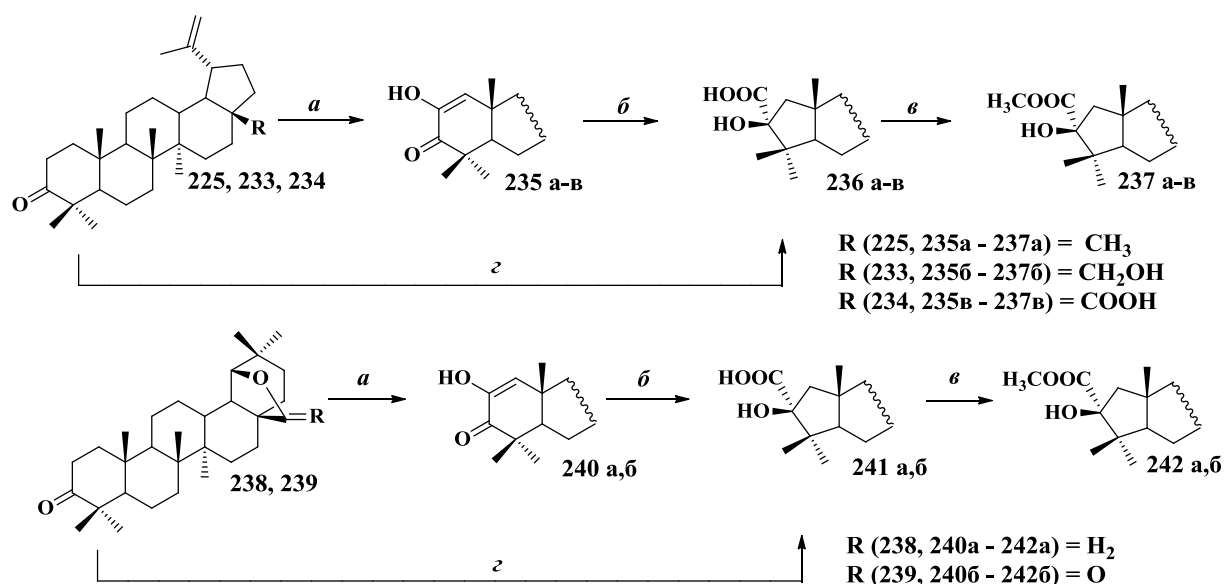


Реагенты и условия реакций: (*a*) $SeO_2/t-BuOH/$ кипячение.

R (**226**) = H; R (**227**) = SeH; R (**228**) = Se-SeH.

Схема 24

Высокий потенциал в синтезе биологически активных полициклических структур, содержащих пятичленный цикл А, имеет бензиловая перегруппировка [131, 132]. Зависимость стереоселективности данной перегруппировки от условий реакции наглядно показана на примере диосфенолов **235** и **240**, полученных из лупенона **225**, бетуллона **233**, бетулоновой кислоты **234**, аллобетуллона **238** и 3-оксо-18 α -олеанан-28,19 β -олида **239** (схема 25) [133]. Кроме того установлено, что стереоселективность реакции не зависит от различий в структуре Е-кольца исследуемых тритерпеноидов.



Реагенты и условия реакций:

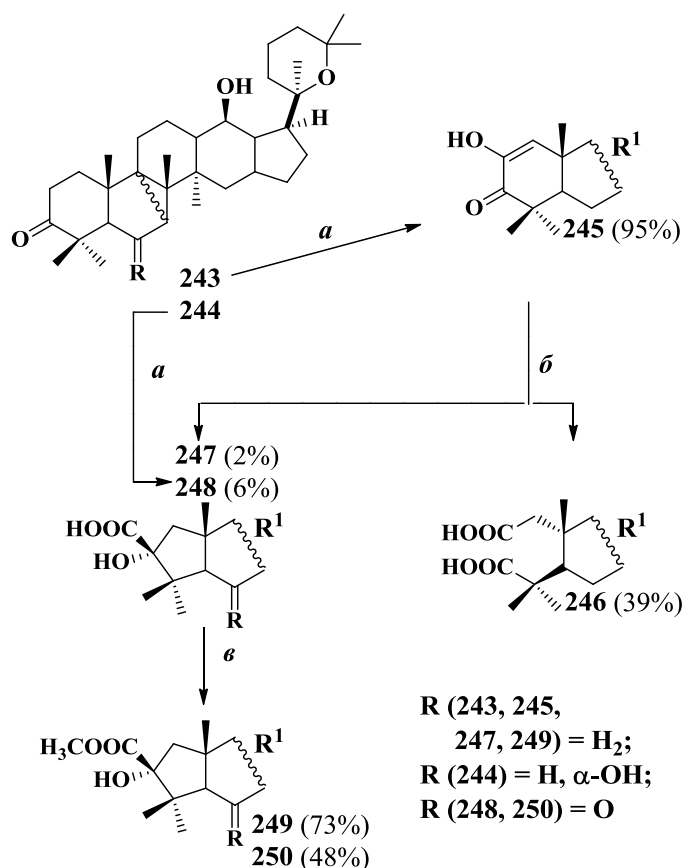
(a) O₂/t-BuOK/t-BuOH; (б) KOH/H₂O/t-BuOH/ 75°C/ 11 ч;

(в) CH₂N₂/Et₂O/ 30 мин; (г) O₂/t-BuOK/t-BuOH/ -40°C/ 1 ч/H₂O/ 70-75 °C/ 24 ч.

Схема 25

Согласно результатам ЖХ-МС и ЯМР спектроскопии, при обработке диосфенолов **235**, **240** системой KOH/t-BuOH реакция протекала стереоселективно с образованием в качестве основных продуктов (*S*)-изомерных α-гидрокси-кислот **236** и **241** с выходом 95%. Значительное снижение селективности реакции сужения цикла А наблюдалось при воздействии на диосфенолы **235**, **240** систем KOH/MeOH или KOMe/MeOH ((*S*)/(*R*)-соотношение составило 81/19 и 78/22 соответственно). Авторами [133] предложен альтернативный «one pot» метод окисления/сужения 3-оксотерпеноидов **225**, **233**, **234**, **238**, **239** с образованием (*S*)-α-гидрокси кислот **236** и **241**, основанный на прерывании поступления тока кислорода и добавления воды в реакционную смесь после полной конверсии исходных соединений. Образование (*S*)-α-гидрокси-кислот **236** и **241** подтверждено этерификацией с использованием диазометана до соответствующих метиловых эфиров **237** и **242**.

Пропусканием тока воздуха через раствор 3-оксопроизводных панаксадиолов **243** или **244** в t-BuOH в присутствии t-BuOK осуществлено окисление кольца А тритерпеноидов, в результате которого получены соответственно диосфенол **245** и А-нор-даммарановая α-гидрокси кислота с пятичленным циклом А **248**, выход которой не превышал 6.2% (схема 26) [134].



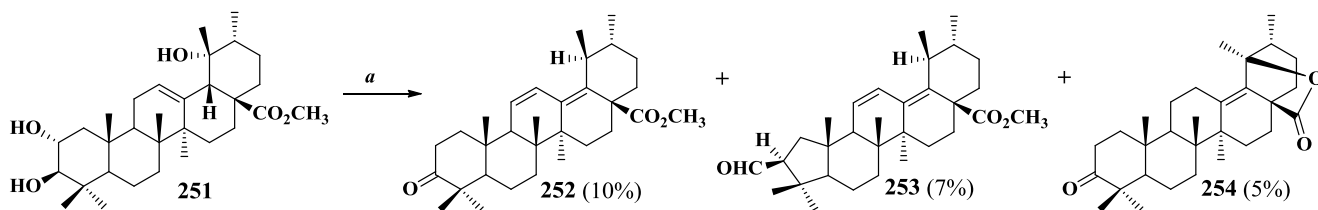
Реагенты и условия реакций:
 (а) *t*-BuOK/*t*-BuOH/40°C/40 мин;
 (б) H₂O₂/KOH/MeOH/кипячение/100 мин;
 (в) MeOH/(CH₃)₃SiCHN₂/T комн./30 мин.

Схема 26

Последующее окисление диосфенола **245** системой H₂O₂–KOH–MeOH сопровождалось одновременным протеканием двух конкурирующих реакций – фрагментации и бензильной перегруппировки кольца А. В результате получены соответственно 2,3-секодиокислота **246** с выходом 38.8% и в качестве минорного (2%) продукта α-гидроксикислота **247**. Для определения конфигурации асимметрического С(2) атома А-нор-даммарановых производных α-гидроксикислоты **247** и **248** обрабатывали (CH₃)₃SiCHN₂ с образованием метиловых эфиров **249** (72.5%) и **250** (48.2%). Ориентацию 2-метоксикарбонильных групп соединений **249** и **250** определяли на основании характерных NOE корреляций в NOESY эксперименте. По данным скрининга синтезированных тритерпеноидов, А-нор-даммарановые производные с карбоксильной группой в А-кольце **247** и **248** проявили умеренную ингибирующую активность в отношении протеазы ВИЧ (IC₅₀ 10.0 и 29.9 мкМ,

соответственно), в то время как их сложноэфирные аналоги **249** и **250** были не активны (> 190 мкМ). Проявление кислотой **247** с пятичленным циклом А выраженных анти-ВИЧ свойств авторы работы [134] связывают с сочетанием С(6)-экзометиленовой и С(3)-карбоксильной групп в структуре тритерпеноида.

Другая стратегия синтеза А-пентациклических тритерпеноидов основана на сужении шестичленного А-цикла вицинальных диолов в условиях пинаколиновой перегруппировки [91]. Так, кислотнo-катализируемой пинаколиновой перегруппировкой 1,2-диола **251** (метил торментат), сопровождающейся изомеризацией Δ^{12} двойной связи с образованием диеновой системы, получен А-пентациклический С(3)-альдегид **253**, выход которого не превышал 7% [135]. Выход продуктов с шестичленным циклом А **252**, **254** составил соответственно 10 и 5% (схема 27).

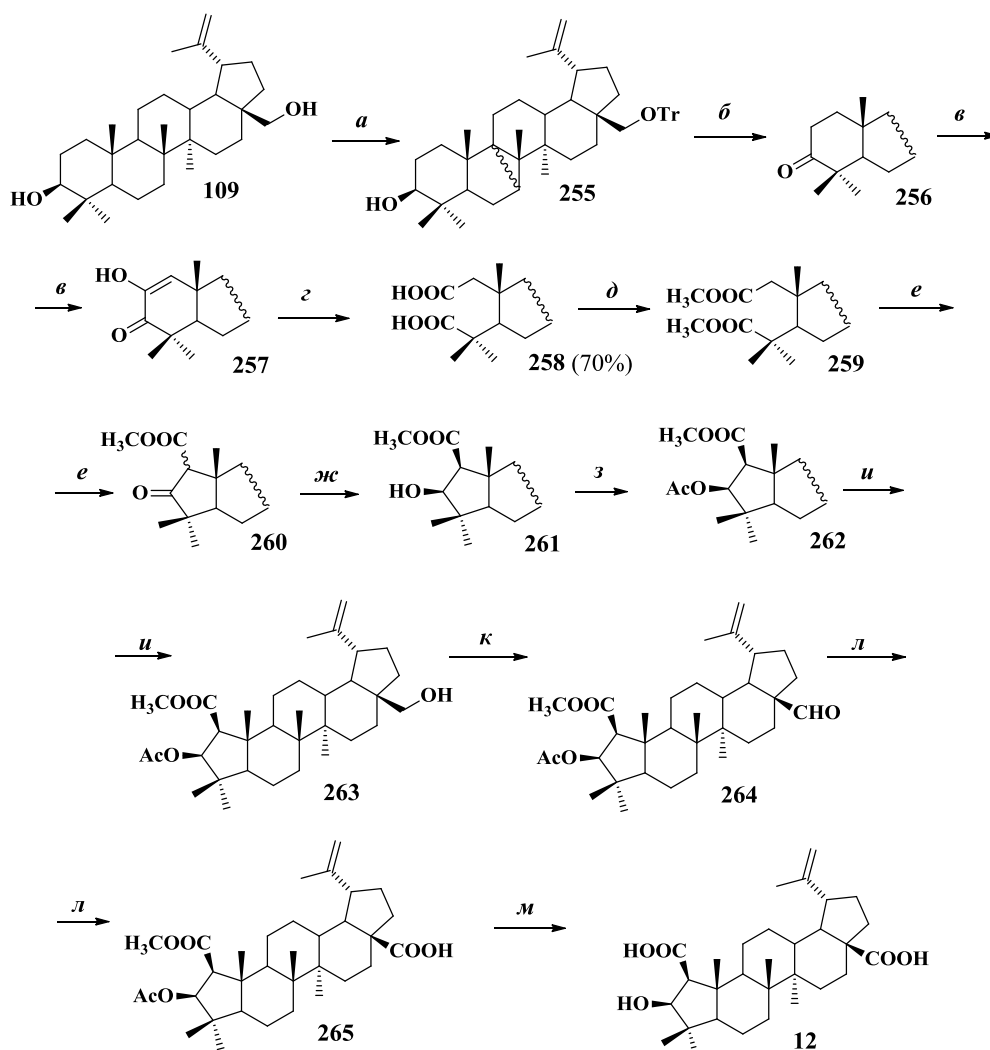


Реагенты и условия реакций: (а) конц. $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{C}_6\text{H}_6/\text{кипячение}/3.5$ ч.

Схема 27

Методика формирования А-циклопентильного фрагмента в тритерпеновой структуре из производных с шестичленным циклом А включает последовательные реакции фрагментации и образования новой углерод-углеродной связи. При этом синтез основных А-секо-интермедиатов осуществляют путем окислительного расщепления А-диосфенолов или фрагментации по Бекману тритерпеноидов, с оксимированным циклом А [136]. Эффективный синтез в 12 стадий редкой природной эпицеанотовой кислоты **12** с высокими анти-ВИЧ свойствами [13] осуществлен с общим выходом 10% из легкодоступного тритерпеноида бетулина **109** (схема 28) [137]. Ключевые стадии синтеза включают расщепление кольца А диосфенола бетулина **257** [138] до 2,3-секодикислоты **258**, последующую конденсацию Дикмана соответствующего сложноэфирного производного **259**, на основе которого получена смесь

изомерных А-пентациклических оксоэфиров **260**. В результате последовательных процессов восстановления, ацелирования, окисления и гидролиза оксоэфиров **260** (через интермедиаты **261-265**) получена целевая эпицеанотовая кислота **12**.



Реагенты и условия реакций:

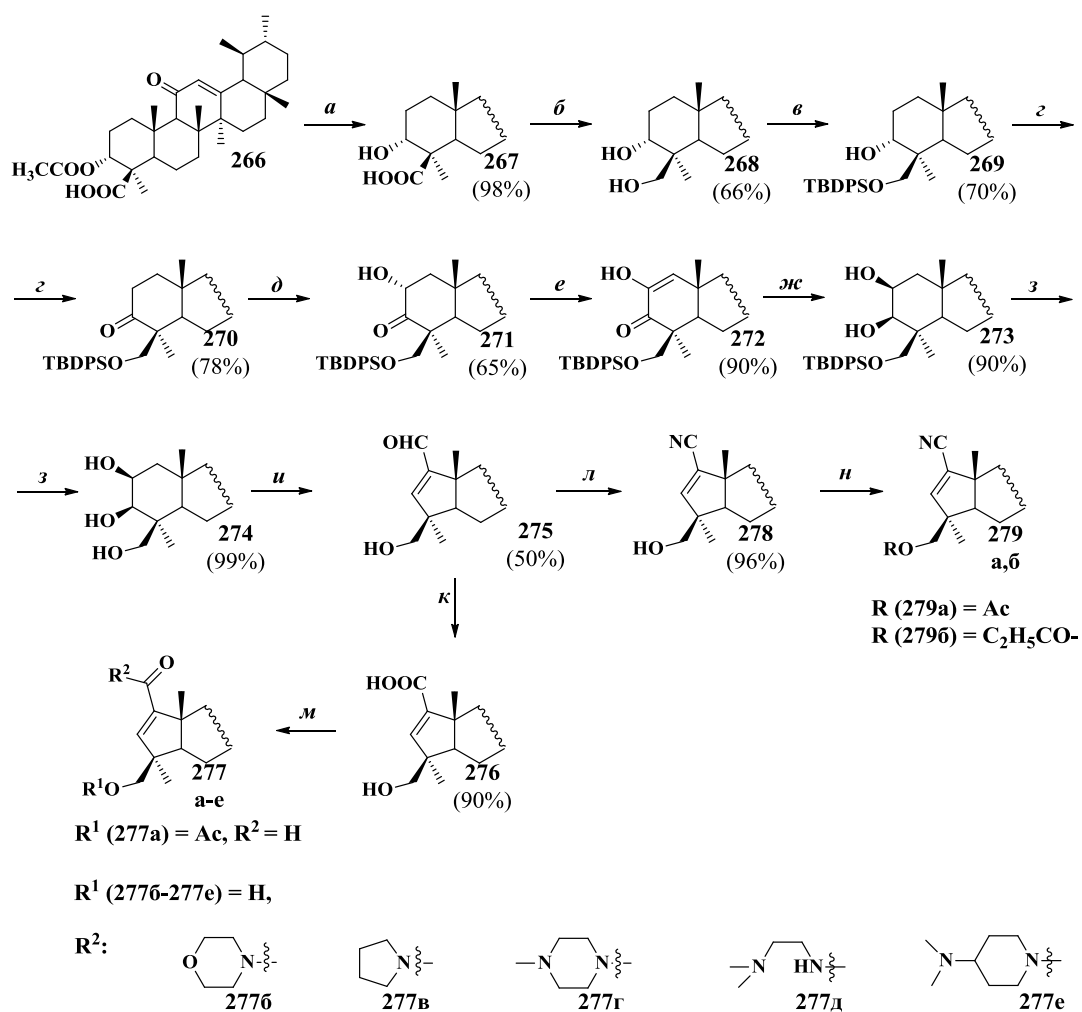
- (*a*) TrCl/DMF/DMAPI/ 60°C; (*б*) PCC/CH₂Cl₂/ 0°C;
 (*в*) *t*-BuOK/*t*-BuOH/ 30°C; (*г*) KOH/H₂O₂/MeOH/кипячение;
 (*д*) MeI/K₂CO₃/DMF/Т комн.; (*е*) *t*-BuOK/толуол/кипячение;
 (*ж*) NaBH₄/EtOH/THF/Т комн.; (*з*) Ac₂O/C₅H₅N/Т комн.;
 (*и*) PPTs/EtOH/кипячение; (*к*) PCC/CH₂Cl₂/Ткомн.;
 (*л*) NaClO₂/NaH₂PO₄/*t*-BuOH/THF/изопентен/ 0°C; (*м*) KOH/MeOH/кипячение.

Схема 28

Скрининг вирусингибирующих свойств полученных интермедиатов показал, что А-пентациклические производные **262-265** не активны в отношении ВИЧ. Авторы предполагают, что этерификация или ацилирование свободных карбоксильных и гидроксигрупп в А-кольце играют ключевую роль в снижении уровня анти-ВИЧ-активности. В то же время интермедиат с пятичленным циклом А **265** проявил высокую цитотоксическую активность в отношении

немелкоклеточной карциномы легких (A549) и аденокарциномы молочной железы (MCF-7) человека (IC_{50} 0.89 и 0.33 мкМ соответственно).

Синтетическая стратегия для получения А-пентациклических производных природной 3-*O*-ацетил-11-кето- β -босвеллиевой кислоты **266** включала расщепление C(2)–C(3)-связи интермедиата **274** путем окислительного крекинга 2,3-*цис*-гидроксильных групп и последующую альдольную конденсацию с рециклизацией и формированием циклопентильного фрагмента соединения **275** (схема 29) [139]. Ключевой интермедиат **269** синтезирован последовательными реакциями деацетилирования, селективного восстановления и окисления, с использованием TBDPSCl (трет-бутилдифенилхлорсилан) для защиты первичной гидроксильной группы соединения **268**. Селективное образование кислоты **276** из альдегида **275** осуществлено окислением Пинника, а введение циано-группы в пятичленное кольцо А – реакцией с использованием йода в аммиачной воде до образования продукта **278** с высоким (96%) выходом. Для исследования зависимости уровня цитотоксических свойств А-пентациклических продуктов от их структуры синтезированы амиды **277 а-е** и сложные эфиры **279 а,б** из производных **276** и **278** соответственно. Цитотоксический скрининг синтезированных продуктов показал, что сужение нативного кольца А 3-*O*-ацетил-11-кето- β -босвеллиевой кислоты **266** приводило к незначительному снижению противоопухолевых свойств. Однако амидирование полученных тритерпеноидов с пятичленным циклом А значительно увеличивало цитотоксичность исходных продуктов и среди полученных амидов наибольшую активность проявил продукт **277д** (IC_{50} 2.83-6.74 мкМ).

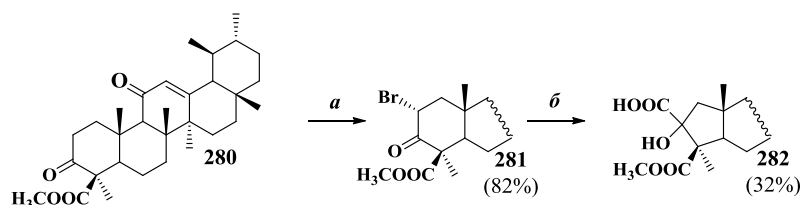


Реагенты и условия реакций:

- (а) 10% NaOH/MeOH/кипячение; (б) 1. HOBT/EDC/TEA/DCM/Т комн., 2. NaBH₄/ТГФ/Т комн.;
 (в) TBDPSCI/TEA/DMAP/DCM/ 0 °C; (z) PDC/4A молек. сита/DCM/Т комн.;
 (д) m-ClC₆H₄CO₃H/H₂SO₄/MeOH-DCM/Т комн./темнота; (е) CuCl₂/ТГФ/ 80 °C;
 (жс) NaBH₄/ТГФ-MeOH/ 0 °C; (з) 1M TBAF/ТГФ/Т комн.;
 (и) 1. NaIO₄-SiO₂/DCM/Т комн., 2. PhCOOH/пирролидин/DCM/ 40 °C;
 (κ) NaClO₂/NaH₂PO₄/изопентенил/*t*-BuOH-H₂O-ТГФ/Т комн.; (л) 25% NH₄OH/I₂/ТГФ/Т комн.
 (м) R²H/TEA/HOBT/EDC/DCM/Т комн./ 4 ч; (и) ROCl/DCM/C₅H₅N/ 0 °C/ 2 ч.

Схема 29

R. Csuk с соавт. [140] установили, что бромирование производного 3-*O*-ацетил-11-кето-β-босвеллиевой кислоты **280**, полученного последовательными реакциями деацетилирования, метилирования и окисления, протекает стереоселективно с образованием экваториально-ориентированного бромзамещенного тритерпеноида **281** (схема 30).



Реагенты и условия реакций:

(а) HOAc/Br₂/ 25 °С/ 30 мин; (б) K₂CO₃/ацетон/кипячение/ 25ч.

Схема 30

Обработка соединения **281** K₂CO₃ в ацетоне приводила к сужению кольца А, в результате которого из реакционной смеси с выходом 32% выделена А-пентациклическая гидроксикислота **282**. Формирование соединения **282**, вероятно, включало замену атома брома на гидроксигруппу, дальнейшее окисление на воздухе полученного интермедиата приводило к образованию 1,2-дикарбонильного производного, которое далее в присутствии избытка гидроксил-ионов претерпевало бензильную перегруппировку с образованием продукта **282**. Синтезированный тритерпеноид с пятичленным циклом А **282** проявил слабую (IC₅₀ 47-56 мкМ) цитотоксическую активность в отношении клеточных линий DLD-1, А-253, НТ29, А2780, НСТ-8.

Синтез А-пентациклических структур как промежуточных интермедиатов успешно апробирован для введения ¹³С-2 меток в структуры олеаноловой кислоты **283** и мирицерона **284** (схема 31) [141].

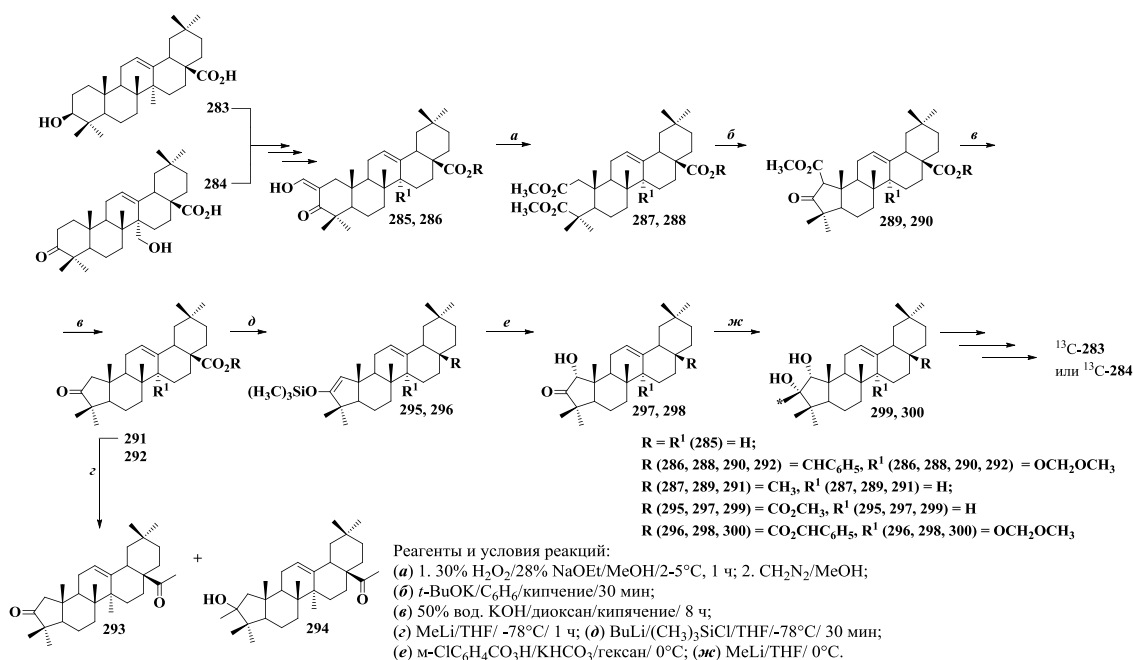
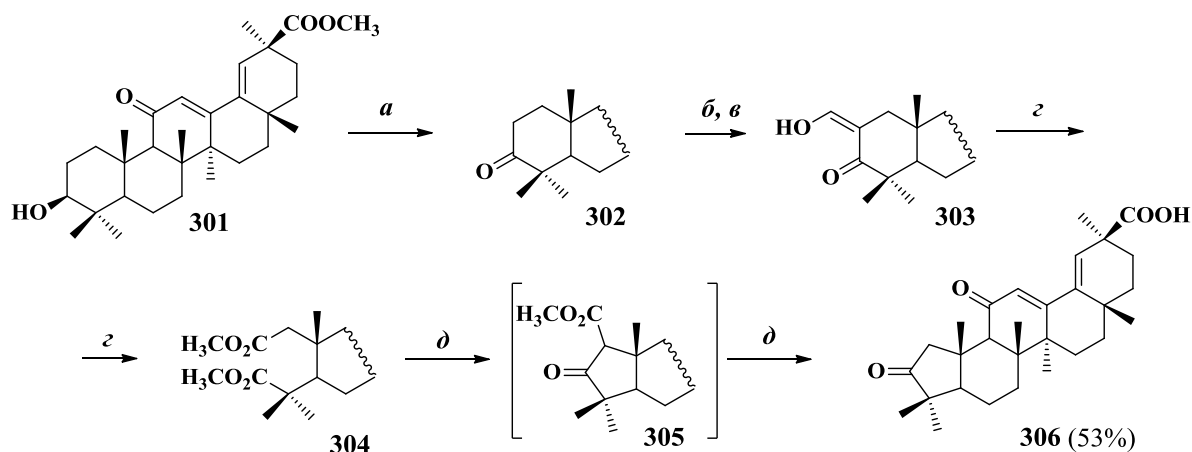


Схема 31

Введение изотопного углерода в С(2) положение тритерпеновой структуры осуществлено с использованием в качестве источника изотопа ^{13}C -MeLi. При воздействии H_2O_2 в щелочном растворе шестичленный цикл А исходных тритерпеноидов подвергается фрагментации с образованием 2,3-секодиметилловых эфиров **285**, **286**, конденсацией по Дикману которых получены кетоэфиры с пятичленным циклом А **289**, **290**. В ходе дальнейшей химической модификации в качестве ключевых А-пентациклических интермедиатов авторами выделены и описаны соответствующие А-пентациклические 2-нор-3-кетоны **291** и **292**, а также их С(1), С(3) замещенные производные **293-300**.

2-Нор-олеанан-3-кетон с пятичленным циклом А **306** получен в результате последовательных реакций фрагментации и циклизации из метилового эфира 18,19-дегидроглицирретовой кислоты **301** (схема 32) [142]. Авторы отметили, что ожидаемый в результате конденсации Дикмана оксоэфир **305** выделить из реакционной смеси не удалось, возможно, из-за параллельно протекающих реакций декарбоксилирования и гидролиза С(30) сложноэфирной группы в избытке *t*-BuOK.



Реагенты и условия реакций:

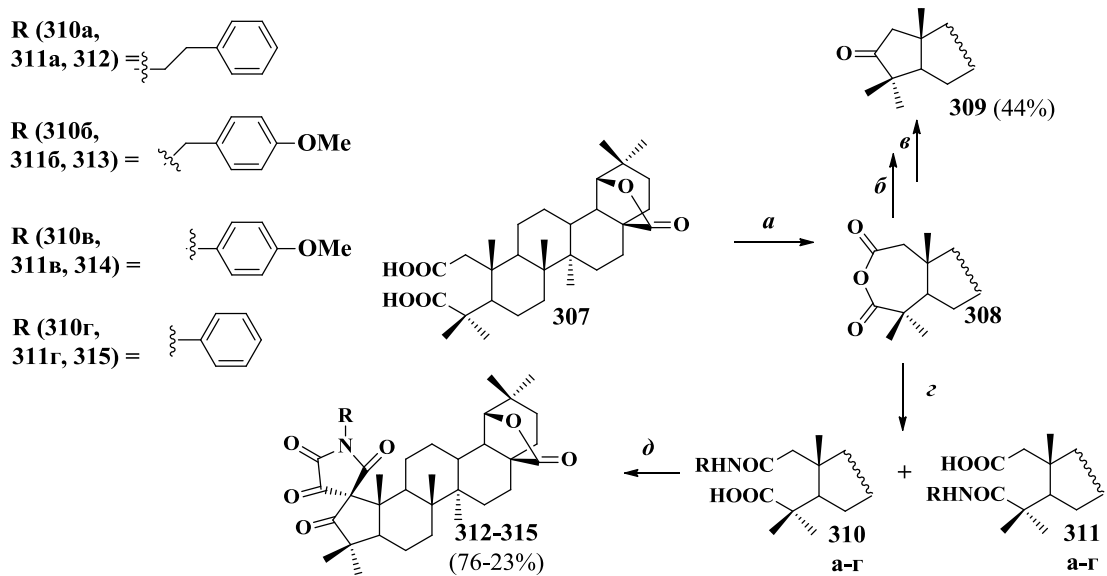
(a) PDC/ CH_2Cl_2 ; (б) $\text{HCO}_2\text{Et}/28\% \text{ NaOMe/MeOH}$; (в) $30\% \text{ H}_2\text{O}_2/28\% \text{ NaOMe/MeOH}$;

(z) $\text{CH}_2\text{N}_2/\text{MeOH/Et}_2\text{O}$; (d) *t*-BuOK/ C_6H_6 .

Схема 32

Альтернативная методика синтеза $18\alpha\text{H}$ -олеананового 2-нор-3-кетона **309** основана на пиролитическом разложении в атмосфере аргона смеси амидов, полученных при взаимодействии циклического ангидрида **308** и $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{NH}_2$ в ТГФ (схема 33) [143]. При обработке ангидрида **308** первичными аминами при

комнатной температуре получена смесь региоизомерных C(2)/C(3) амидов **310** и **311**, выделенных в индивидуальном виде методом колоночной хроматографии. Реакцией C(2) амидов **310 а-г** с оксалилхлоридом синтезированы А-пентациклические C(1) спиропродукты **312-315** (схема 33), предполагаемый механизм образования которых представлен в схеме 34 [143, 144].



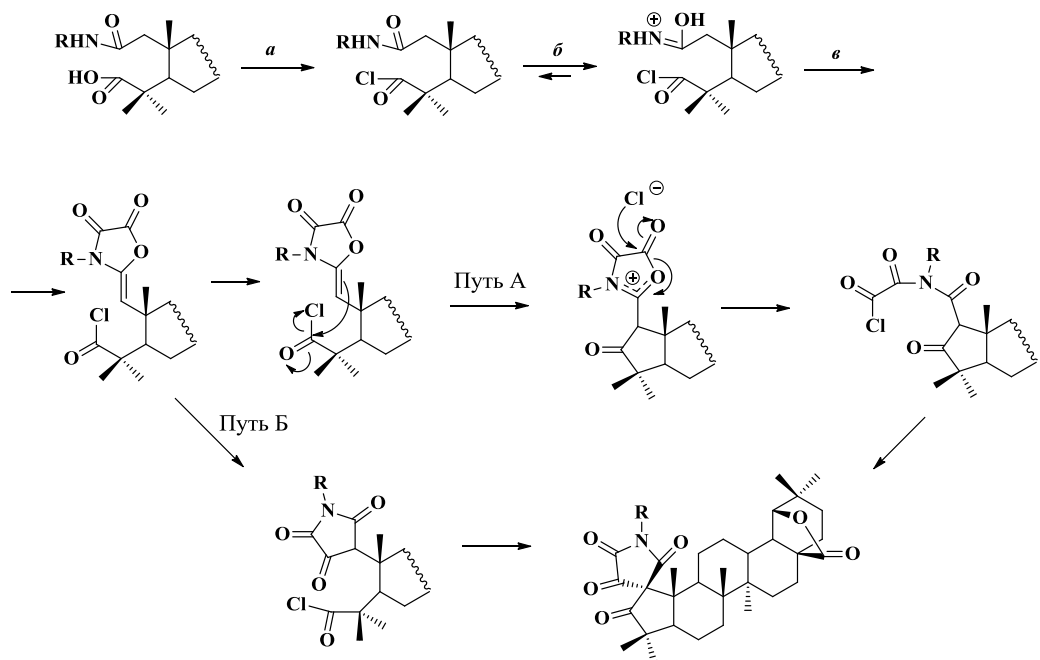
Реагенты и условия реакций:

(а) $(\text{COCl})_2/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ или $\text{PCl}_5/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, кипячение/30 мин; (б) $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{NH}_2/\text{THF}$;

(в) $\text{Ar}/130\text{-}220^\circ\text{C}/3$ ч; (з) $\text{RNH}_2/\text{растворитель}/\text{T}$ комн./ 24-72 ч;

(д) $(\text{COCl})_2/\text{THF}/\text{T}$ комн./ 24-48 ч.

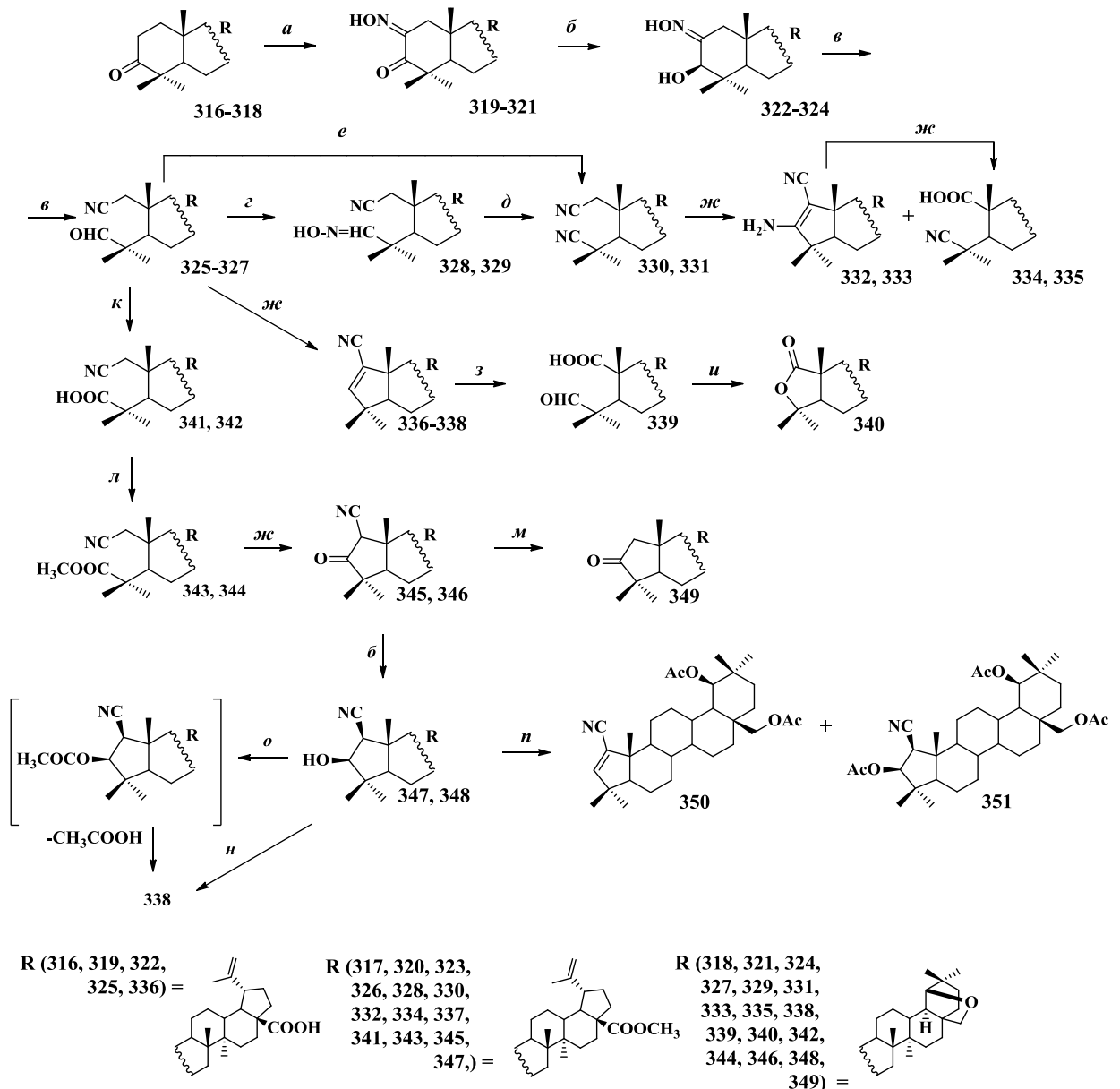
Схема 33



Реагенты и условия реакций: (а) $(\text{COCl})_2$; (б) HCl ; (в) $(\text{COCl})_2$.

Схема 34

В работах [145-148] описаны синтез и модификация лупановых и олеанановых тритерпеноидов с фрагментом α,β -алкеннитрила в пятичленном цикле А (схема 35, 36). Так, α,β -алкеннитрилы **336-338** получены в результате фрагментации по Бекману α -гидроксиоксимов **322-324** с последующей оксонитрильной циклизацией полученных 2,3-секоальдегидонитрилов **325-327** в классических основных условиях, запускающих хемоселективную циклизацию между нитрил-анионом и карбонильной группой (схема 35).



Реагенты и условия реакций:

- (*a*) i -C₅H₁₁ONO/ t -BuOK/ t -BuOH/Т комн.; (*b*) NaBH₄/MeOH/Т комн.; (*в*) TsCl/C₅H₅N/кипячение;
 (*з*) NH₂OH*HCl/EtOH-C₅H₅N/кипячение; (*д*) Ac₂O/AcONa/кипячение; (*е*) NH₂OH*HCl/KF/Al₂O₃, DMF/ 100°C;
 (*жс*) t -BuOK/ t -BuOH/кипячение; (*з*) 1. O₃/CH₂Cl₂/ -50 °C/ 30 мин, 2. Me₂S/CH₂Cl₂/ 0 °C/ 24 ч; (*и*) (COCl)₂/CH₂Cl₂;
 (*к*) Cr₂O₃/H₂SO₄/(CH₃)₂CO; (*л*) CH₃I/K₂CO₃/(CH₃)₂CO; (*м*) 15% KOH/CH₂OH/кипячение; (*н*) LiAlH₄/ТГФ/кипячение;
 (*о*) CH₃COCl/ДМАП/C₆H₅N/кипячение; (*п*) (CH₃CO)₂O/кипячение.

Схема 35

В результате реакции внутримолекулярной циклизации Торпа-Циглера из динитрилов **330** и **331** получены енаминонитрилы **332**, **333**. В основных условиях соединения **332**, **333** фрагментируются до соответствующих 1,3-секокислот **334** и **335**. При обработке диметилсульфидом полученной в результате озонлиза $18\alpha H$ -олеананового алкеннитрила **338** реакционной смеси с выходом 78% получена 1,3-секо-альдегидокислота **339**, в результате активации карбоксильной функции которой оксалихлоридом получен А-пентациклический лактон **340** [146].

Реакцией оксонитрильной циклизации C(3) метиловых эфиров кислот **343**, **344** синтезированы соответствующие β -кетонитрилы с пятичленным циклом А **345**, **346**, последующее восстановление которых протекает стереоселективно, с образованием β -гидроксипроизводных **347**, **348** [148]. На примере олеананового гидроксинитрила **348** показано, что применение в качестве восстанавливающего реагента LiAlH_4 или ацилирующего агента CH_3COCl , аналогично приведенному в работе [142] механизму реакции, протекает элиминирование карбокси-/ацетокси групп с образованием фрагмента α,β -алкеннитрила в пятичленном цикле А тритерпеноида **338**. Замена ацилирующего реагента на $(\text{CH}_3\text{CO})_2$ приводит к параллельно протекающему процессу фрагментации $19\beta,28$ -эпоксидного цикла с образованием производных **350** и **351**. В результате щелочного гидролиза кетонитрила **346** происходит элиминирование цианогруппы до соответствующего 3-оксо-2-нор-олеананового продукта **349**.

Среди синтезированных алкеннитрилов с пентациклическим А-кольцом выраженную (EC_{50} 23.37 мкг/мл) анти-ВИЧ активность *in vitro* проявил лупановый тритерпеноид **337** [145].

На основе известного $18\alpha H$ -олеананового 3,4-секометилкетона **352** [149] в виде смеси C(2) диастереомеров (соотношение изомеров 7:3) синтезирован кетонитрил **357**, реакцией дегидрирования по C(1)–C(2) связи которого получен кетон с фрагментом алкеннитрила в пятичленном цикле А **358** [147] (схема 36). Ключевой интермедиат – нитрилсодержащая 3,4-секокислота **355** – выделен в качестве основного (41%) продукта в результате реакции исчерпывающего

бромирования метилкетона **352** с последующим элиминированием CHBr_3 при кипячении.

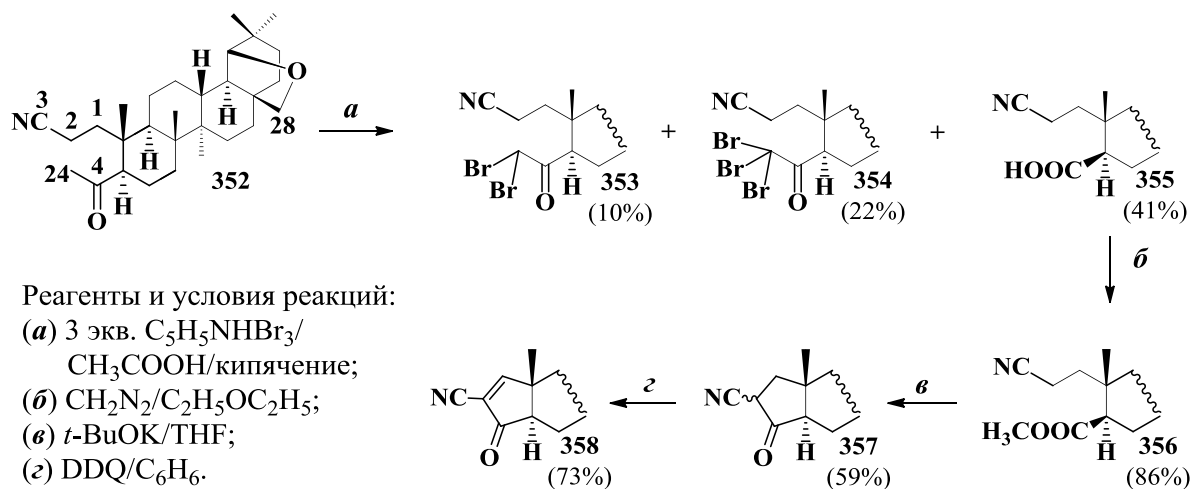


Схема 36

Обзор литературных данных показывает, что в природе наиболее часто обнаруживаются тритерпеноиды с пятичленным циклом А лупанового (цеанотанового) типа и значительно реже – даммаранового, ланостанового, олеананового, урсанового и тирукаланового типов. Группа тритерпеноидов цеанотанового типа в настоящее время насчитывает около 60 представителей, которые могут успешно применяться как хемотаксономические маркеры растений сем. Rhamnaceae [82]. Среди биологических свойств природных цеанотановых тритерпеноидов следует отметить антибактериальные, антипаразитарные, инсектицидные, противовоспалительные, противовирусные и цитотоксические.

Нативные тритерпеноиды с шестичленным кольцом А могут быть использованы в качестве доступной платформы для получения полусинтетических тритерпеноидов с циклопентильным блоком. Стратегия синтеза тритерпеноидов с пятичленным циклом А направлена на сужение или рециклизацию шестичленного кольца А с использованием таких методов органической химии как перегруппировка Вагнера-Меервейна, пинаколиновая перегруппировка и типа бензиловой кислоты, конденсация Дикмана. Однако, сведения о биологической активности широкого спектра синтезированных тритерпеноидов с пятичленным циклом А немногочисленны. Р. Zhang с соавт. [137] предложили метод синтеза эффективного ВИЧ-ингибитора – эпицеанотовой

кислоты **12**, выделенной в микроколичествах из экстрактов растений *Z. jujuba* [27, 79, 82, 83] и *G. sinensis* [13], путем рециклизации дикарбоксипроизводного доступного природного метаболита бетулина **109**. В то же время, тритерпеновые гидроксиды с пятичленным циклом А, выделенные в результате бензильной перегруппировки [134], и А-пентациклические тритерпеноиды с фрагментом α,β -алкеннитрила, синтезированные оксонитрильной циклизацией или Торпа-Циглера из 2,3-секотритерпеноидов [145], могут рассматриваться как перспективные предшественники для разработки анти-ВИЧ активных агентов.

ГЛАВА 2. (ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ)
СИНТЕЗ И МОДИФИКАЦИЯ АЛКИЛИРОВАННЫХ
2,3-СЕКОТРИТЕРПЕНОИДОВ НА ОСНОВЕ 3-ОКСОБЕТУЛИНА,
МЕТИЛАТА БЕТУЛОНОВОЙ КИСЛОТЫ И АЛЛОБЕТУЛОНА

Учитывая описанные в литературном обзоре данные о высоком терапевтическом потенциале и малое содержание в природных источниках тритерпеноидов с пятичленным циклом А, синтез данных соединений на основе их более доступных предшественников с использованием различных химических подходов представляет важную и актуальную задачу исследований. Один из подходов к формированию пятичленных циклов А в тритерпеноидах включает стадию фрагментации по Бекману доступных тритерпеноидов с шестичленным циклом А и последующую циклизацию полученных А-секотритерпеноидов. Удобными предшественниками для такого рода превращений могут служить доступные природные метаболиты бетулин и бетулиновая кислота, а также их полусинтетические производные [11, 150-152].

В настоящей работе в качестве синтетического подхода в разработке новых биологически активных тритерпеновых производных использовано сочетание реакций Гриньяра и Бекмана. Реакция алкилирования Гриньяра успешно применяется в химии тритерпеноидов для модификации атома С(3) нативного кольца А, а также для повышения уровня биологических свойств природного метаболита бетулиновой кислоты [153-156]. Так, получены 3-этинилпроизводные бетулиновой кислоты, обладающие значительной цитотоксической и противовоспалительной активностью [153, 154]. С. Genet с соавт. [155, 156] реакцией Гриньяра с использованием различных реагентов синтезировали серию производных бетулиновой кислоты с аллильным, метилаллильным, циклопропильным, арильным и др. заместителями при С(3) углеродном атоме. Обнаружено также, что С(3) алкилирование тритерпеноидов путем введения небольших заместителей приводит к образованию селективных агонистов TGR5 (мембранных рецепторов желчных кислот).

Настоящее исследование включало синтез и изучение реакционной активности C(3) алкилированных 1-циано-2,3-секотритерпеноидов в реакциях внутримолекулярной циклизации.

В процессе реализации плана синтетических исследований решались задачи, направленные на:

1. разработку способов получения 1-циано-2,3-секотритерпеновых C(3) метилзамещенных производных на основе 3-оксобетулина, метилового эфира бетулоновой кислоты и аллобетулона;

2. исследование процесса внутримолекулярной циклизации 1-циано-2,3-секотритерпеновых метилкетонов и их производных;

3. изучение подходов введения атома брома в А-секокольцо тритерпеновых метилкетонов и возможности последующей функционализации и внутримолекулярной циклизации бром-замещенных тритерпеноидов;

4. апробацию методов получения 2,3-секо-18 α H-олеананового и 2,3-секолупанового тритерпеноидов с фрагментом этилкетона, их дальнейшей трансформации и циклизации.

2.1 Синтез 2,3-секотритерпеновых 3-алкил-3-кетонов

В рамках настоящего исследования на основе полученных ранее в лаборатории биологически активных соединений «ИТХ УрО РАН» гидроксиминокетонов метилового эфира бетулоновой кислоты **320** и аллобетулона **321** разработаны альтернативные методы синтеза перспективных интермедиатов – 2,3-секотритерпеноидов с фрагментами метил- **361**, **362** и этил- **369**, **370** кетона (схема 37).

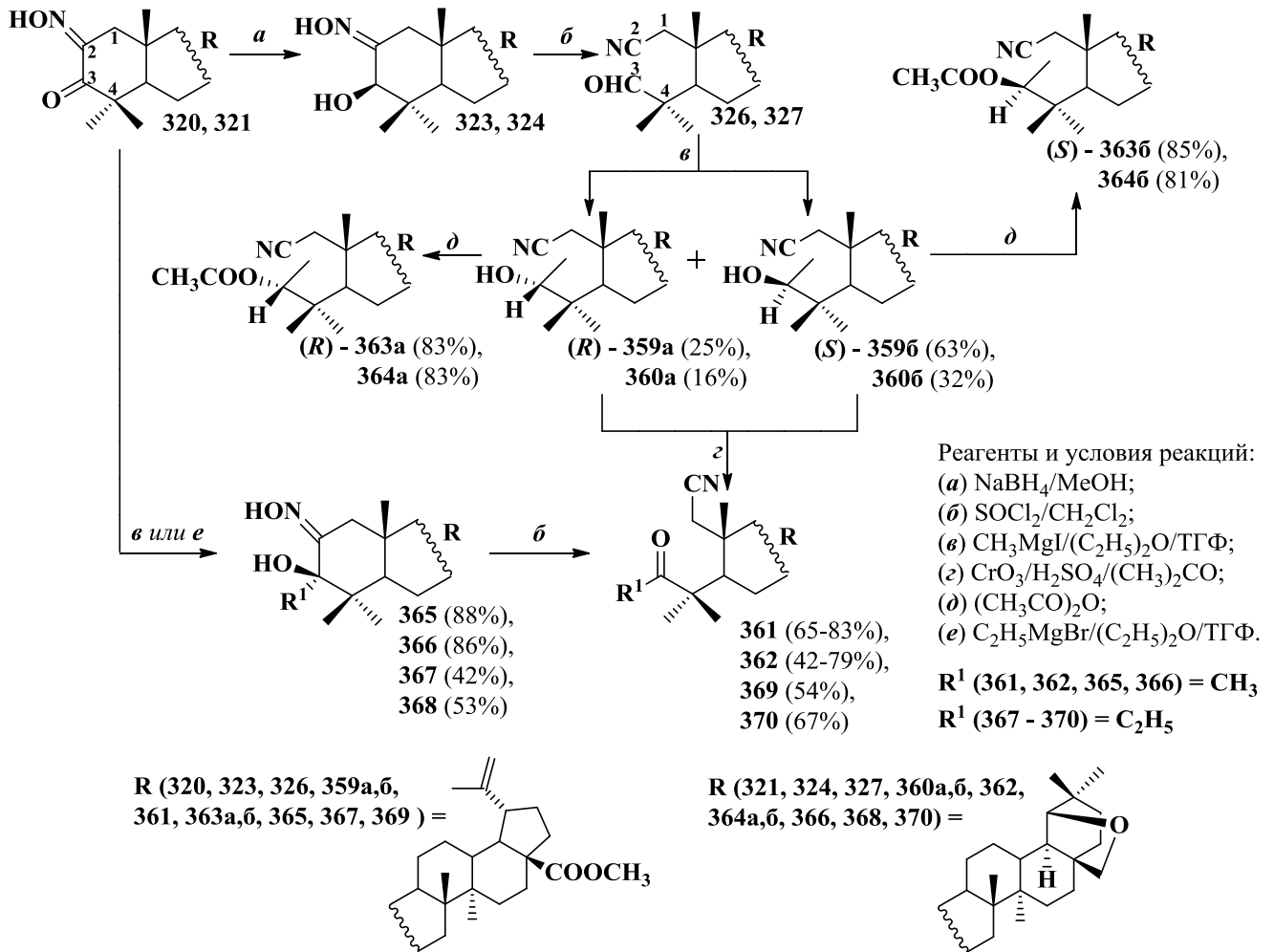


Схема 37

Пятистадийный способ синтеза 2,3-секолупановых и 2,3-секо-олеанановых производных с фрагментом метилкетона **361**, **362** в качестве ключевых стадий включал взаимодействие синтезированных по известной методике 2,3-секотритерпеновых альдегидонитрилов **326**, **327** с реактивом Гриньяра (CH₃MgI) до соответствующих диастереомерных (3*R*)-**359а**, **360а** и (3*S*)-**359б**, **360б** гидроксинитрилов, выделенных в индивидуальном виде с помощью метода колоночной хроматографии. Наличие гидроксильной группы в соединениях **359а,б** и **360а,б** подтверждается: присутствием в ИК спектрах широкой полосы валентных колебаний в области 3425-3538 см⁻¹; в спектрах ЯМР ¹H – квадруплетного сигнала C(3) протона при 3.85 м.д. и КССВ 6.9 Гц (для соединения **359а**), 3.84 м.д. и КССВ 6.4 Гц (для соединения **360а**), 3.82 м.д. и КССВ 6.3 Гц (для соединения **359б**), 3.80 м.д. и КССВ 7.8 Гц (для соединения **360б**), смещающегося в более слабое поле в случае (3*R*)-изомеров по сравнению с

таким для (3*S*)-изомеров; в спектрах ЯМР ^{13}C – сигнала атома C(3) при 72.83-73.10 м.д.

Соотношение индивидуальных (*S*)- **359б**, **360б** и (*R*)- **359а**, **360а** диастереомеров в смеси продуктов реакции установлено на основании данных об интегральной интенсивности дублетов C(1) метиленовых протонов и составляет 2.5:1 и 2:1 соответственно. Относительная конфигурация C(3) гидроксильной группы соединений **360а,б** определена с использованием данных двумерных спектров ЯМР ^1H - ^1H и ^{13}C - ^1H (HMBC, HSQC, NOESY, COSY). Спектральные данные ЯМР ^1H и ^{13}C представлены в таблице 2.

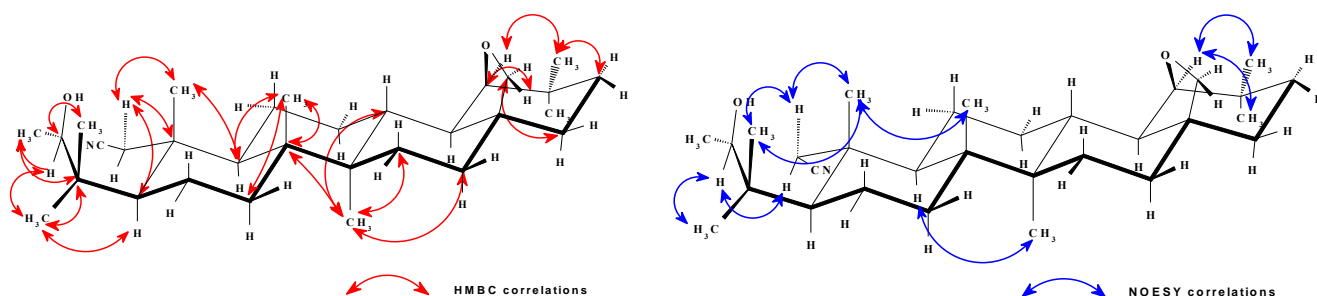


Рисунок 2 – HMBC и NOESY корреляции для соединения **360а**

Так, в NOESY спектре (3*S*)-изомера **360б** регистрируется кросс-пик, характерный для взаимодействия протонов H(3) и H(5), в то время как для (3*R*)-изомера **360а** H(3)/H(5) NOE взаимодействие отсутствует (рисунок 2, 3).

В спектрах HMBC как наиболее информативные можно отметить кросс-пики: H(1)/C(5), H(1)/C(9), H(1)/C(10), H(1)/C(25), H(3)/C(4), H(3)/C(24), H(28)/C(17), H(28)/C(18), H(28)/C(19), H(28)/C(22), H(19)/C(18), H(19)/C(20), H(19)/C(21), H(19)/C(30) (рисунок 2, 4).

Последующим окислением смеси полученных диастереомерных ϵ -гидроксинитрилов **359 а,б** и **360 а,б** реактивом Джонса в ацетоне синтезированы 2,3-секометилкетоны **361**, **362**. В спектрах ЯМР ^1H соединений **361**, **362** регистрируется характерный сигнал метилкетонного фрагмента при 2.28 и 2.29 м.д. соответственно. В спектрах ЯМР ^{13}C фиксируется сигнал карбонильного атома углерода C(3) при 214.41 и 214.39 м.д. соответственно.

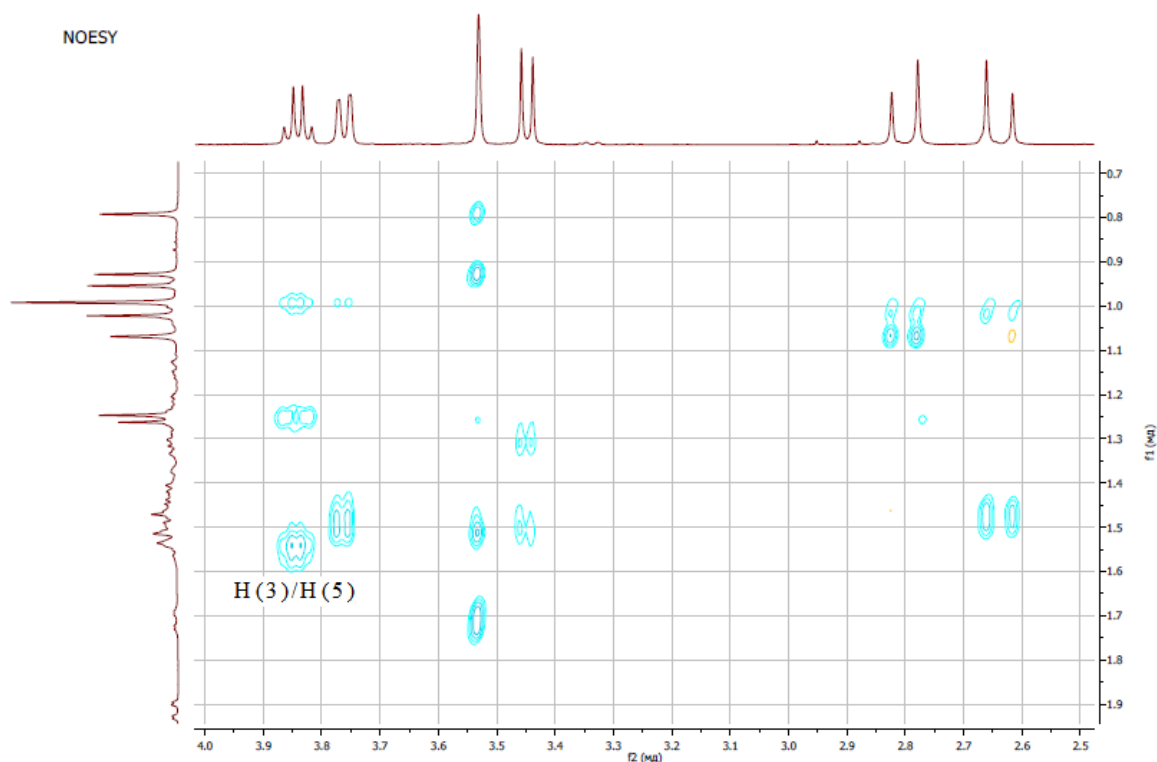


Рисунок 3 – Фрагмент спектра ЯМР ^1H - ^1H NOESY ϵ -гидроксинитрила **360б**

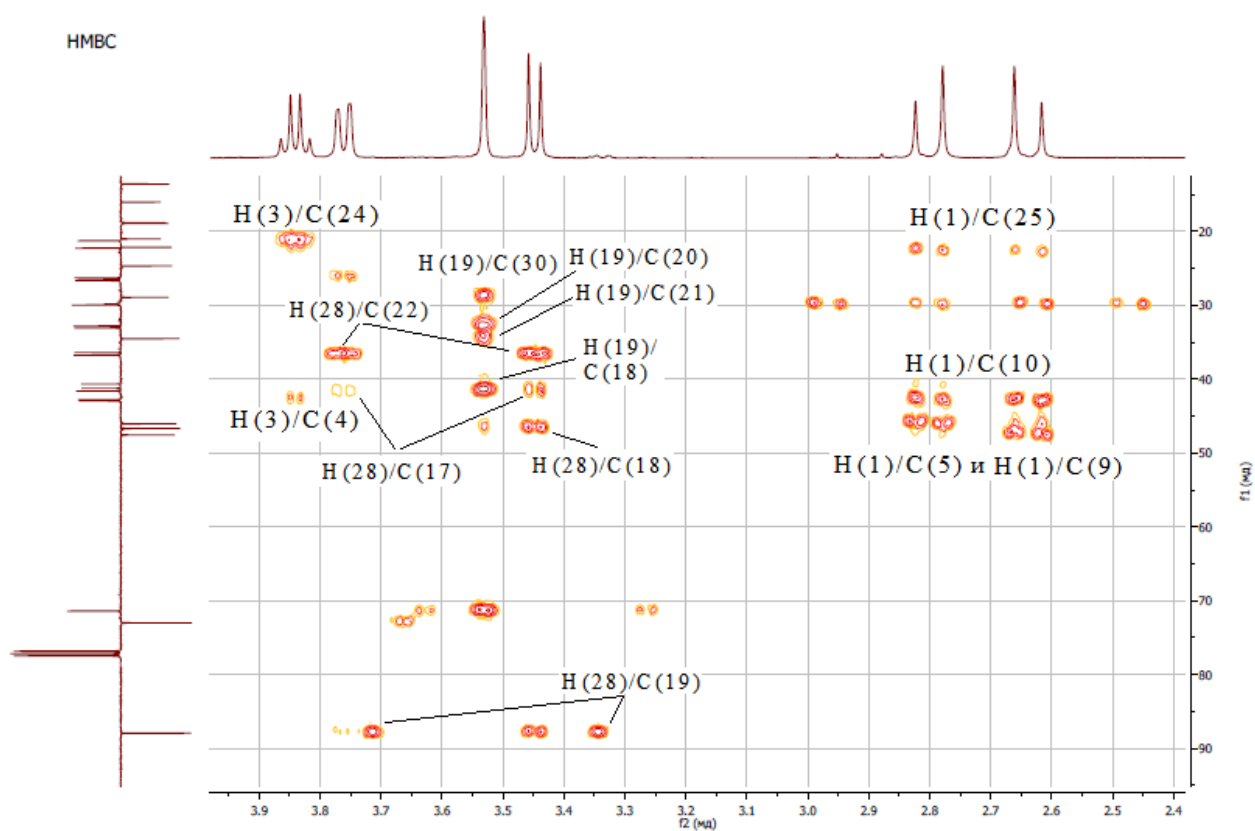


Рисунок 4 – Фрагмент двумерного спектра ЯМР ^{13}C - ^1H HMBC ϵ -гидроксинитрила **360б**

Таблица 2 – Данные спектров ЯМР ^{13}C и ^1H соединений **360a** и **360b** (δ , м.д., J/Гц)

Атом	360a (δ_{C})	360a (δ_{H})	360b (δ_{C})	360b (δ_{H})
1.	29.8 (CH ₂)	2.80-2.61, AB система, $J = 18.2$	29.9 (CH)	2.82-2.62, AB система, $J = 17.9$
2.	119.3 (CN)	-	119.4 (CN)	-
3.	73.1 (CH)	3.84, к, $J = 6.4$	73.0 (CH)	3.80, к, $J = 7.8$
4.	42.6 (C)	-	42.8 (C)	-
5.	47.4 (CH)	1.84, уш.д, $J = 9.09$	47.5 (CH)	1.54-1.50 м
6.	21.3 (CH ₂)	1.54-1.50 м	21.2 (CH ₂)	1.54-1.50 м
7.	33.1 (CH ₂)	1.12-1.09 м	33.1 (CH ₂)	1.54-1.50 м
8.	40.8 (C)	-	40.7 (C)	-
9.	46.2 (CH)	1.91, уш.д, $J = 11.4,$	46.1 (CH)	1.91, дд, $J = 12.4, 2.4$
10.	42.9 (C)	-	42.9 (C)	-
11.	22.3 (CH ₂)	1.43-1.30, м	22.2 (CH ₂)	1.54-1.40 м
12.	26.7 (CH ₂)	1.43-1.30, м	26.6 (CH ₂)	1.54-1.50 м
13.	34.5 (CH)	1.43-1.30, м	34.5 (CH)	1.54-1.40 м
14.	41.3 (C)	-	41.2 (C)	-
15.	26.3 (CH ₂)	1.49-1.45, м 1.72-1.69, м	26.3 (CH ₂)	1.49-1.45, м 1.73-1.69, м
16.	26.5 (CH ₂)	1.43-1.30, м	26.6 (CH ₂)	1.54-1.40 м
17.	41.6 (C)	-	41.6 (C)	-
18.	46.7 (CH)	1.54-1.49 м	46.7 (CH)	1.54-1.50 м
19.	87.9 (CH)	3.53, уш.с	87.9 (CH)	3.53, уш.с
20.	32.8 (C)	-	32.8 (C)	-
21.	36.4 (CH ₂)	1.43-1.30, м	36.4 (CH ₂)	1.48-1.25, м
22.	36.7 (CH ₂)	1.43-1.30, м	36.7 (CH ₂)	1.48-1.25, м
23.	21.2 (CH ₃)	1.10, с	21.0 (CH ₃)	1.07, с
24.	23.1 (CH ₃)	0.84, с	22.1 (CH ₃)	0.99, с
25.	18.3 (CH ₃)	1.03, с	18.9 (CH ₃)	1.02, с
26.	16.0 (CH ₃)	0.99, с	16.0 (CH ₃)	0.99, с
27.	13.5 (CH ₃)	0.95, с	13.6 (CH ₃)	0.95, с
28.	71.4 (CH ₂)	3.77-3.43, AB система, $J = 7.8$	71.4 (CH ₂)	3.76-3.45, AB система, $J = 7.8$

29.	24.7 (CH ₃)	0.79, с	24.7 (CH ₃)	0.93, с
30.	28.9 (CH ₃)	0.92, с	28.9 (CH ₃)	0.79, с
31.	18.8 (CH ₃)	1.12, с	18.8 (CH ₃)	1.25, с

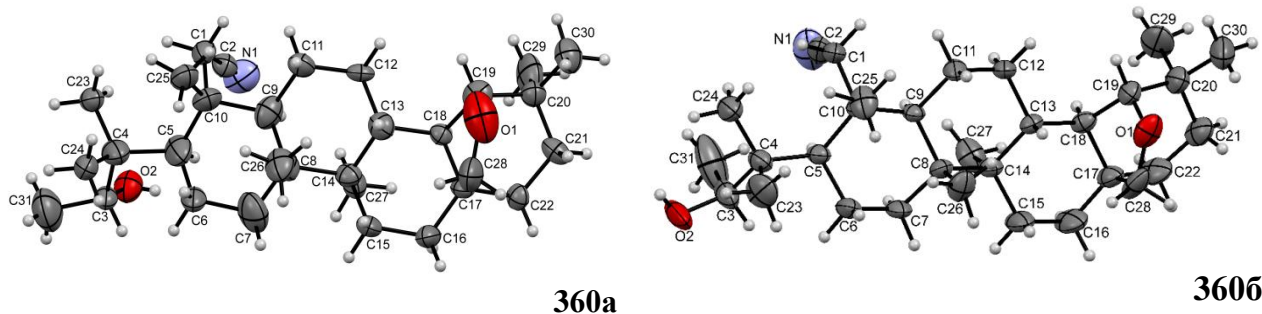
Ацилированием диастереомерных спиртов **359а**, **360а** и **359б**, **360б** получены соответствующие ацетаты **363а**, **364а** и **363б**, **364б**. В спектрах ЯМР ¹H тритерпеноидов **363а,б** и **364а,б** обнаруживаются синглеты протонов, характерные для ацетоксигруппы в области 2.03-2.13 м.д., кроме того, квадруплетные сигналы C(3) протонов сдвигаются в более слабopольную область спектра (5.06-5.10 м.д., *J* 6.0-6.6 Гц) по сравнению с исходными гидроксинитрилами **359а,б**, **360а,б**. В спектрах ЯМР ¹³C присутствуют сигналы C(3) углеродного атома в области 74.33-75.38 м.д. и карбонильного атома углерода ацетоксигруппы – 170.77-171.45 м.д.

Трехстадийный метод синтеза 2,3-секотритерпеновых метилкетонов (схема 32) основан на алкилировании в условиях реакции Гриньяра гидроксиминокетонов **320**, **321** с образованием, в зависимости от алкилирующего агента CH₃MgI или C₂H₅MgBr, 3β-гидрокси-3α-метил- **365**, **366** или 3β-гидрокси-3α-этил- **367**, **368** производных соответственно, последующая фрагментация по Бекману которых приводит к целевым 2,3-секотритерпеновым метил- **361**, **362** и этил- **369**, **370** кетонам соответственно. В ИК спектрах соединений **365-368** регистрируются полосы валентных колебаний C=N (1642-1654 см⁻¹) и OH (3314-3460 см⁻¹) групп. В спектрах ЯМР ¹H соединений **365-368** присутствуют характерные дублетные сигналы метиленовых C(1) протонов в области 1.61-2.15 и 3.29-3.35 м.д. (АВ-система, *J* 12.0-13.3 Гц). В ЯМР ¹H спектрах 3-метилзамещенных гидроксикетонов **365**, **366** наблюдаются уширенные синглеты гидроксильных групп в области 4.72-5.24 м.д. В спектрах ЯМР ¹H соединений **367**, **368** регистрируются характерные сигналы этильной группы: триплет C(32)/C(33) метильной группы в области 0.66-0.67 м.д. (*J* 7.2-7.5 Гц) и кватер протонов C(31) метиленовой группы при 1.78 м.д. (*J* 7.2 Гц) для соединения **368**. В случае соединения **367** квадруплетный сигнал C(32) метиленовой группы накладывается на сигналы лупанового остова, что затрудняет его описание. В

спектрах ЯМР ^{13}C β -гидроксиминокетонов **365-368** регистрируются сигналы атомов углерода, связанных с гидроксильной (75.62-78.72 м.д.) и гидроксиминной (159.52-162.63 м.д.) группами. Структура этилкетонов **369**, **370** подтверждена наличием в ИК спектрах интенсивных полос поглощений карбонильной (1704 см^{-1}) и циано- ($2237\text{-}2239\text{ см}^{-1}$) групп, в спектре ЯМР ^1H – двух дублетных сигналов С(1) метиленовых протонов с центрами при 2.31-2.34 и 2.48-2.50 м.д. (АВ-система, J 18.0-18.5 Гц), протонов этильной группы – триплета метильной группы при 1.02-1.03 (J 7.2 Гц) и двух дублетов кватретонов (J 17.7 и 7.2 Гц) метиленовых протонов с центрами 2.49-2.50 и 2.68-2.69 м.д. В спектре ЯМР ^{13}C соединений **369**, **370** присутствуют характерные сигналы углеродных атомов циано- (118.01-118.54 м.д.) и кетогрупп (216.27-216.78 м.д.).

Следует отметить, что аналогично описанным ранее R. Csuk с соавт. продуктам С(3) алкилирования бетулоновой кислоты [153] α -кетоксимы **365-368** реагируют с реактивом Гриньяра стереоспецифично. Из-за стерической загруженности, обусловленной аксиально ориентированными С(4) и С(10) метильными группами, атака реагентом Гриньяра возможна только в α -положение, что в итоге и приводит к аксиально-ориентированной С(3) алкильной группе оксимов **365-368**.

Структуры полученных тритерпеновых производных определены на основании данных спектров ИК, ЯМР ^1H и ^{13}C . Абсолютная структура и конфигурация асимметрических центров подтверждены данными РСА для соединений **360a**, **360b**, **362**, **368** и **370** (рисунок 5).



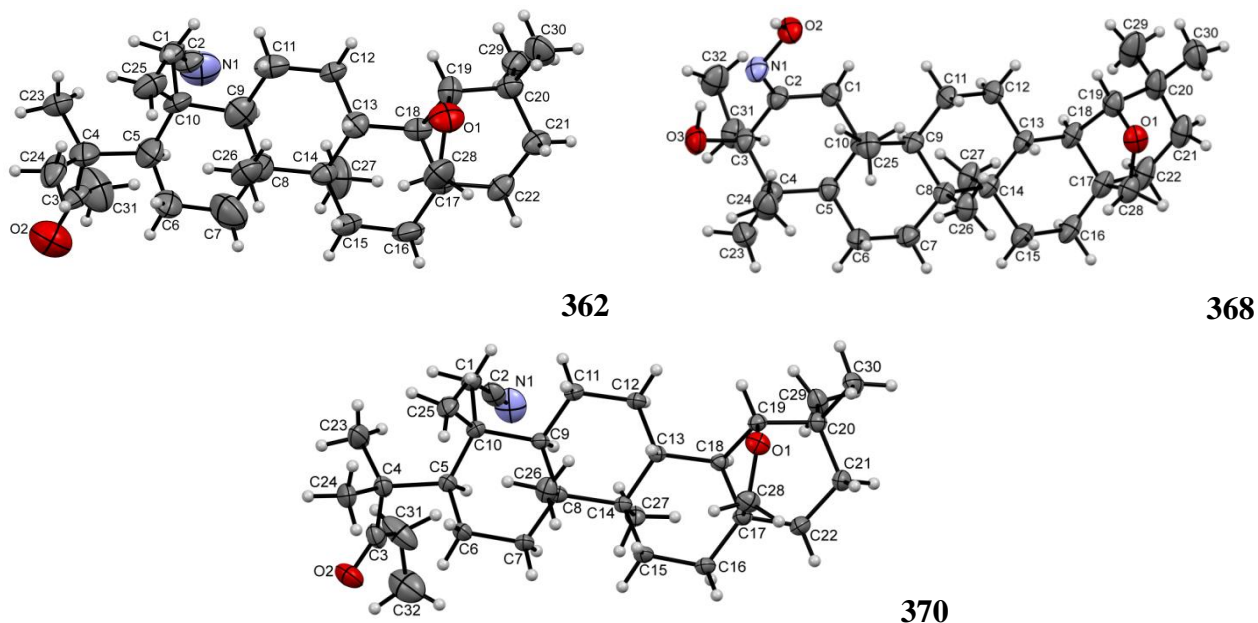


Рисунок 5 – Структуры соединений **360а**, **360б**, **362**, **368** и **370** по данным РСА

Разработанный 3-х стадийный метод реализован также при получении 2,3-секолупанового метилкетона **375** на основе бетулина. При этом в качестве исходного соединения в реакции Гриньяра использовали описанный ранее [158] 2-гидроксимино-3-оксобетулин **371** с гидроксильным заместителем при С(28) атоме (схема 38). Для предотвращения циклизации с участием 28-гидроксильной группы гидроксиминокетона **372** в реакции С(2)–С(3) фрагментации по Бекману в качестве защитной группы использована бензоильная защита, которую удаляли щелочным гидролизом с образованием целевого 28-гидроксиметилкетона **375**.

В ИК спектрах β -гидроксиминокетонов **372**, **373** регистрируются полосы валентных колебаний С=N связи (1641 см^{-1}) и гидроксильной группы гидроксиминового фрагмента ($3452\text{--}3502\text{ см}^{-1}$). В спектрах ЯМР ^1H соединений **372**, **373** обнаруживаются дублетные сигналы, характерные для метиленовых С(1) протонов в области 1.92-1.98 и 3.40-3.44 м.д. (АВ-система, J 12.9 Гц), в спектрах ЯМР ^{13}C – сигнал углеродного С(2) атома при 149.58-149.75 м.д.

Структура целевого 2,3-секометилкетона **375** и его 28-бензоильного предшественника **374** подтверждена наличием в спектрах ЯМР ^1H данных соединений характерного сигнала протонов метильной группы фрагмента метилкетона при 2.28 и 2.21 м.д. соответственно, в спектрах ЯМР ^{13}C – сигнала карбонильного атома углерода С(3) в области 213.67-213.79 м.д.

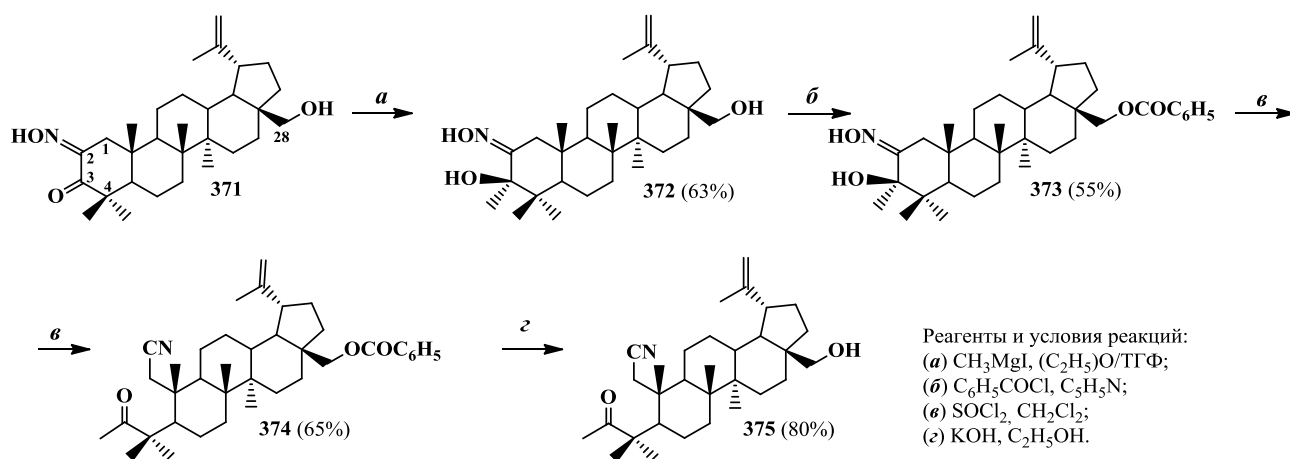


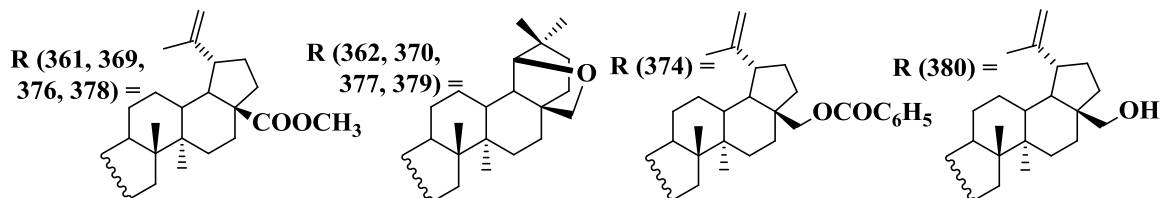
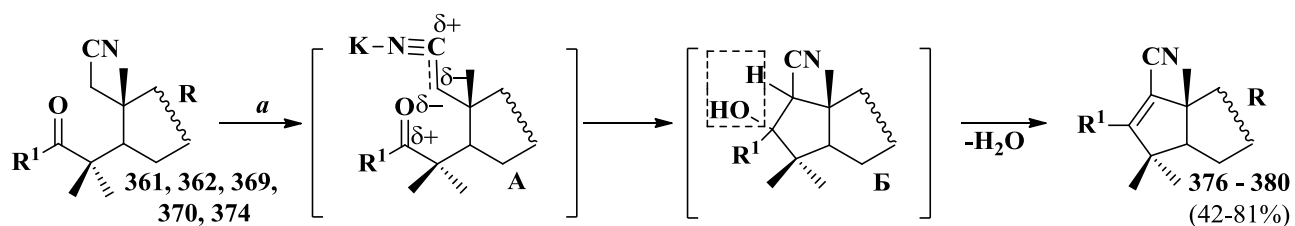
Схема 38

Описанный в данном разделе материал опубликован в работах [159-163].

2.2 Внутримолекулярная циклизация 3-алкил-3-кетоноров и модификация продуктов синтеза

Реакция внутримолекулярной оксо-нитрильной циклизации является удобным подходом для получения новых алкеннитрильных производных, наличие в структуре которых нитрильной группы и двойной С-С связи может оказывать значительное влияние на проявление биологических свойств. При этом механизм реакции включает взаимодействие между субстратом и растворителем, каталитическую активацию, делокализацию заряда и индуктивную стабилизацию [164].

Установлено, что реакция внутримолекулярной оксо-нитрильной циклизации 2,3-секотритерпеновых 3-метил-3-кетоноров **361**, **362**, **374** и 3-этил-3-кетоноров **369**, **370** в условиях использования традиционной для данной реакции системы $t\text{-BuOK}/t\text{-BuOH}$ протекает типично с сужением цикла А и формированием фрагмента алкеннитрила, что приводит к образованию А-пентациклических 3-метил- **376**, **377**, **380** и 3-этилзамещенных **378**, **379** α,β -алкеннитрилов соответственно (схема 39).



R^1 (361, 362, 374, 376, 377, 380) = CH_3

R^1 (369, 370, 378, 379) = C_2H_5

Реагенты и условия реакции: (a) *t*-BuOK/*t*-BuOH.

Схема 39

Хемоселективность реакции обеспечивается более высокой электрофильностью карбонильной группы, по сравнению с таковой нитрильной функции. Возможный механизм при этом включает нуклеофильную атаку нитрил-аниона по атому углерода карбонильной группы и дальнейшую внутримолекулярную циклизацию до промежуточного продукта Г, в результате дегидратации которого формируются А-пентациклические α,β -алкеннитрилы **376–380** [158, 164].

В пользу образования α,β -алкеннитрилов **376–380** свидетельствует наличие в ИК спектрах полос валентных колебаний двойной связи ($1593\text{--}1726\text{ см}^{-1}$) и цианогруппы ($2205\text{--}2207\text{ см}^{-1}$). Кроме того, в спектрах ЯМР ^1H 3-метилзамещенных А-пентациклических продуктов **376**, **377**, **380** присутствуют синглетные сигналы протонов метильного заместителя при sp^2 -гибридизованном атоме С(3) в области 1.79–1.85 м.д. В спектрах ЯМР ^1H 3-этилзамещенных тритерпеноидов **378**, **379** регистрируются сигналы этильной группы: триплет С(32)/С(33) метила в области 1.07–1.17 м.д. (J 7.6 Гц), дублет кватетов С(32) метиленовых протонов с центром 2.22 м.д. (J 1.6, 7.6 Гц) для соединения **378** и кватет С(31) метиленовых протонов с центром 2.32 м.д. (J 7.6 Гц) для соединения **379**. В спектрах ЯМР ^{13}C α,β -алкеннитрилов **376–380** обнаруживаются характерные сигналы атомов углерода алкеннитрильного фрагмента: С(1) –

119.91-120.56 м.д., C(2) – 117.75-119.91 м.д. и C(3) – 166.67-172.45 м.д. (рисунок 6А).

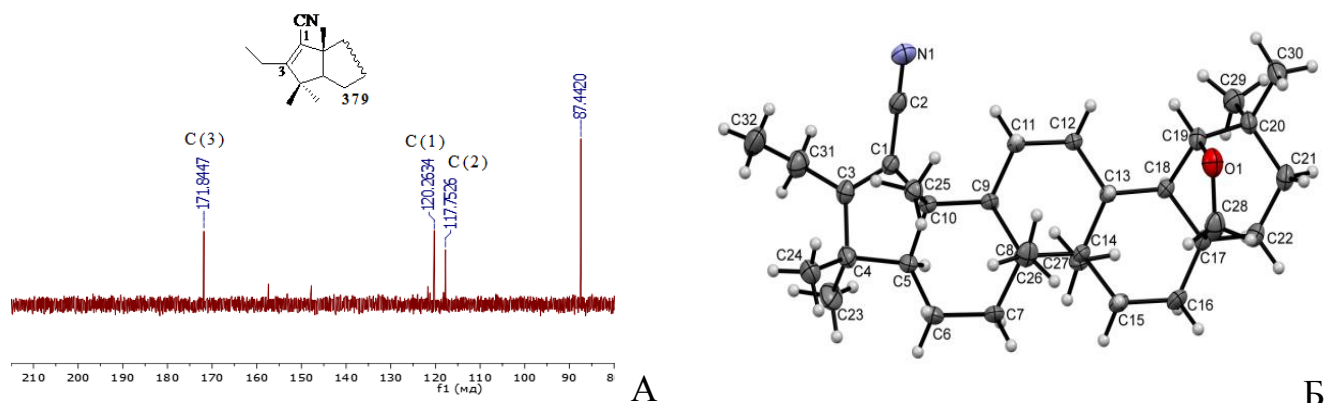
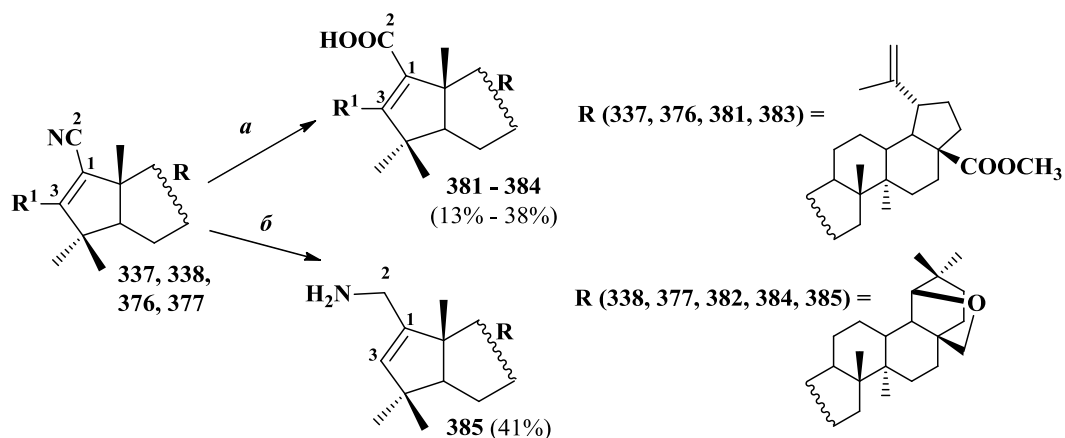


Рисунок 6 – Фрагмент спектра ЯМР ^{13}C (А) и абсолютная структура по данным РСА (Б) α,β -алкеннитрила **379**

В случае лупанового производного **374** с фрагментом метилкетона процесс оксонитрильной циклизации кольца А в условиях основного катализа сопровождался гидролитическим отщеплением C(28) бензоильной защиты, что приводило к образованию лупанового α,β -алкеннитрила **380** с 28-гидроксильной группой. Строение α,β -алкеннитрилов **376-380** подтверждено с помощью данных РСА на примере абсолютной структуры олеананового алкеннитрила **379** (рисунок 6Б).

Возможность гидролитического и восстановительного превращения циано-группы синтезированных 3-метилзамещенных α,β -алкеннитрилов **376**, **377** исследована в сравнении с известными C(3) незамещенными аналогами **337**, **338** [145] (схема 40). Установлено, что при длительном кипячении в течение 5 сут в основных условиях нитрильная группа алкеннитрилов **337**, **338**, **376**, **377** подвергается гидролизу с образованием α,β -ненасыщенных А-пентациклических кислот **381-384**. При этом выход незамещенных продуктов **383** (38%), **384** (35%) превосходит таковой 3-метилзамещенных аналогов **381** (24%), **382** (13%).



Реагенты и условия реакций:

(a) 15%KOH/C₂H₅OH/кипячение/5 сут;
 (б) DIBAL-H/THF/-78°C/3 ч.

Схема 40

В ИК спектрах синтезированных кислот **381-384** обнаруживаются характеристические полосы валентных колебаний карбоксильной группы в области 3171-3373 см⁻¹ (OH) и 1663-1727 см⁻¹ (C=O). В спектрах ЯМР ¹H незамещенных продуктов **383**, **384** присутствует синглетный сигнал C(3) протона при 5.86 и 5.88 м.д. соответственно. В спектрах ЯМР ¹³C соединений **381-384** фиксируются характерные сигналы атомов углерода: C(2) карбоксильной группы – в области 172.20-173.85 м.д., а также атомов C(1) – 143.16-143.77 м.д. и C(3) – 146.32-149.67 м.д.

Синтезированные 1-карбоксипроизводные с пятичленным циклом А **381-384** могут быть использованы в качестве структурных аналогов биологически активных природных кислот цеанотанового типа или интермедиатов для их получения, в частности зизибереналовой кислоты [37, 55].

В условиях региоселективного восстановления цианогруппы реактивом DIBAL-H в режимах варьирования температуры, соотношения реагентов или растворителя алкеннитрилы **337**, **376**, **377**, оставались инертны. Только при введении в реакцию А-пентациклического 18αH-олеананового α,β-алкеннитрила **338**, независимо от условий реакции, зарегистрировано селективное образование амина **385** с выходом 41%. Данные об использованных реакционных системах и выходе продуктов реакции представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Региоселективное восстановление алкен-нитрида **338**
с участием DIBAL-H

№	Темпе- ратура, °С	DIBAL-H, экв. соотн.	Раство- ритель	Выход, %	
				Алкен-нитрил, 338	Амин 385
1	-78	2	дихлорметан	99	-
2	-20	1	дихлорметан	99	-
3	-20	2	дихлорметан	50	17
4	-78	2	толуол	15	34
5	-78	1	толуол	45	12
6	-20	2	толуол	100	-
7	-78	1	ТГФ	54	41

В ИК спектре тритерпенового амина **385** регистрируются полосы валентных колебаний аминогруппы при 1731 и 3404 см^{-1} . Спектр ЯМР ^1H включает триплетный сигнал С(3) протона (5.34 м.д., J 1.6 Гц) и два дублета дублетов метиленовых С(2) протонов (4.12 и 4.19 м.д., J 14.2, 1.6 Гц), спектр ЯМР ^{13}C – сигналы атомов С(3) и С(1) при 154.87 и 134.67 м.д. соответственно.

В синтезе лупановых А-пентациклических производных с модифицированным фрагментом изопропилидена использовано два подхода: окислительная трансформация исходных метилкетона **361** и этилкетона **369** с дальнейшей внутримолекулярной оксонитрильной циклизацией, а также прямое окисление

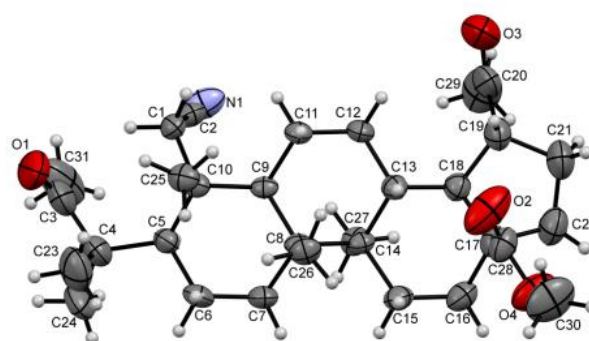


Рисунок 7 – Структура соединения **386**
по данным РСА

А-пентациклических α,β -алкеннитрилов. Так, путем озонолитического окисления алкилкетонов **361**, **369** осуществлено расщепление С(20)–С(29) двойной связи с образованием соответствующих 3,20-диметилкетона **386** и 20-метил-3-этилкетона

387 с выходами 73% и 42% соответственно (схема 41). В ИК спектрах соединений **386**, **387** регистрируются характеристические полосы поглощения карбонильных (1707 см^{-1}) и нитрильной (2238 см^{-1}) групп. В спектрах ЯМР ^1H продуктов **386**, **387** можно отметить два синглетных сигнала метилкетонных фрагментов при 2.10 и 2.21 м.д. в случае соединения **386** или при 2.10 м.д. в случае соединения **387**. В спектре ЯМР ^1H соединения **387** также наблюдаются характерные для этильной группы триплет при 1.02 м.д. ($J\ 7.2\ \text{Гц}$) и два дублета кватретонов ($J\ 17.7$ и $7.2\ \text{Гц}$) с центрами 2.49 и 2.68 м.д. Спектры ЯМР ^{13}C данных соединений содержат по два сигнала карбонильных групп в области 211.13-216.83 м.д. и сигнал углеродного атома C(2) при 117.91-118.36 м.д. Структуры соединений **386**, **387** также подтверждены данными РСА на примере соединения **386** (рисунок 7).

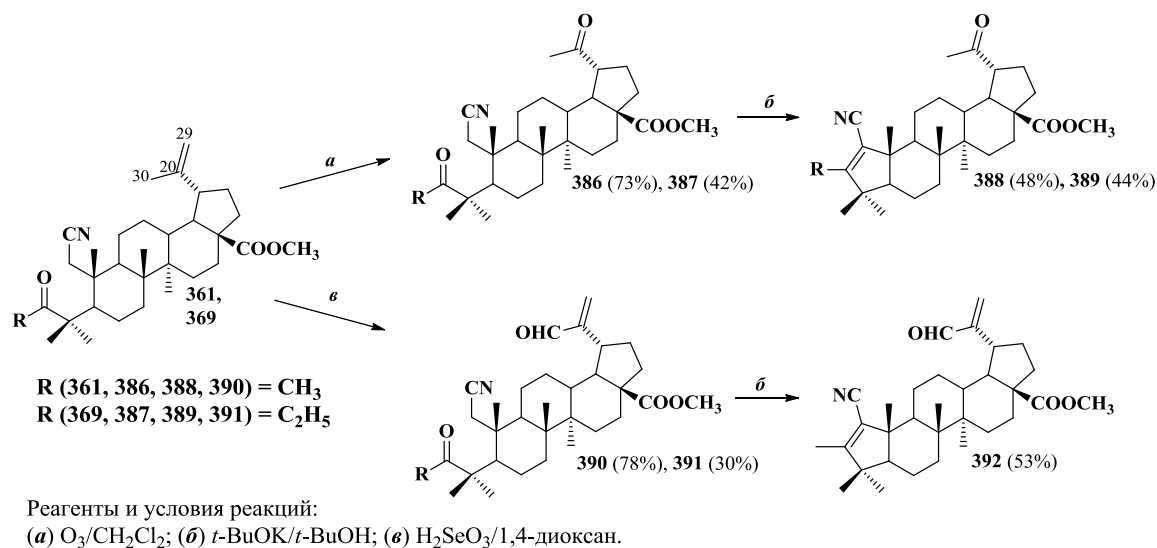


Схема 41

Введение альдегидной группы в положение C(30) реализовано в условиях окисления селенистой кислотой алкилкетонов **361**, **369** до альдегидов **390** (выход 78%) и **391** (выход 30%). В ИК спектрах соединений **390**, **391** сохраняются характеристические полосы валентных колебаний групп $\text{C}=\text{O}$ ($1694\text{-}1711\text{ см}^{-1}$), COOCH_3 ($1711\text{-}1723\text{ см}^{-1}$) и $\text{C}\equiv\text{N}$ ($2239\text{-}2242\text{ см}^{-1}$). В спектрах ЯМР ^1H регистрируется появление нового характерного для протона альдегидной группы синглетного сигнала при 9.46 м.д. и сдвиг синглетов протонов метиленовых C(29) атомов в слабопольную область (5.85 и 6.20 м.д.). В спектрах ЯМР ^{13}C сигналы атомов углерода C(20) и C(29) сдвигаются в слабопольную область (155.84-156.29

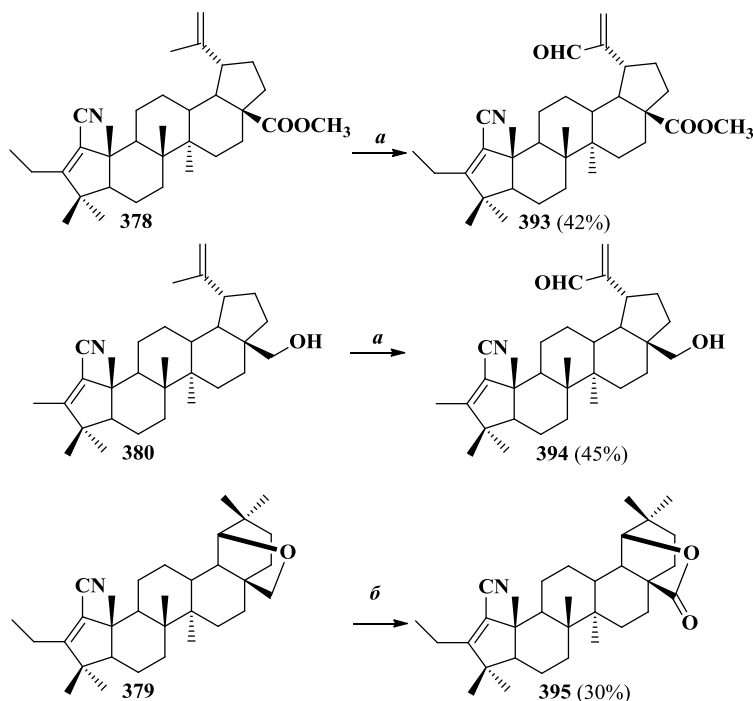
м.д. и 133.17-133.71 м.д. соответственно), а также фиксируется появление сигнала С(30) карбонильного углерода при 194.23-194.75 м.д.

Внутримолекулярной оксонитрильной циклизацией алкилкетонов **386**, **387** и **390** в условиях основного катализа с выходом 44-53% получены соответствующие А-пентациклические α,β -алкеннитрилы **388**, **389**, **392**, в ИК спектрах которых обнаруживаются интенсивные полосы поглощения карбонильной и цианогрупп в области 1692-1713 см^{-1} и 2205-2206 см^{-1} соответственно. В спектрах ЯМР ^1H алкеннитрилов **388**, **389**, **392** регистрируются характерные синглетные сигналы при 1.79 м.д. протонов метильного заместителя при sp^2 -гибризованном атоме С(3) – для соединений **388**, **392**, или сигналы этильной группы: триплет С(33) метила при 1.06 м.д. (J 7.2 Гц) и квартет С(32) метиленовых протонов с центром 2.21 м.д. (J 7.2 Гц) – для соединения **389**, а также характерный сигнал С(20) метилкетонного фрагмента при 2.09 и 2.11 м.д. (соединения **388**, **389**) или характерный для протона альдегидной группы синглетный сигнал при 9.46 (соединение **392**). В спектрах ЯМР ^{13}C тритерпеноидов **388**, **389**, **392** присутствуют характерные сигналы алкеннитрильного фрагмента: С(1) – 119.88-120.45 м.д., С(2) – 117.74-118.28 м.д., С(3) – 166.51-172.40 м.д., и карбонильных углеродных атомов: С(20) – 211.36-211.96 м.д. (для соединений **388**, **389**), С(30) 194.34 м.д. (для соединения **392**).

На примере 3-этилзамещенного α,β -алкеннитрила **378** и 28-гидроксилупанового α,β -алкеннитрила **380** показана возможность прямого окисления С(30) положения изопропилиденового фрагмента алкеннитрилов с образованием целевых альдегидов **393**, **394** с выходом 42-45% (схема 42). Структуры А-пентациклических 30-альдегидов **393**, **394** подтверждены данными ЯМР ^1H спектров, в которых регистрируются триплет протонов С(33) метила при 1.12 м.д. (J 7.7 Гц) и дублет квартета С(32) метиленовых протонов с центром 2.27 м.д. (J 1.3, 7.7 Гц), характерные для этильной группы (соединения **393**) и синглет протона С(3) метильного заместителя при 1.78 м.д. (соединения **394**). В спектрах ЯМР ^{13}C данных соединений обнаружены характерные для фрагмента алкеннитрила сигналы углеродных атомов С(1) – 119.81-120.42 м.д., С(2) –

118.37-119.81, С(3) – 166.74-172.55 м.д. и сигналы С(30) углерода альдегидной группы при 194.22-194.89 м.д.

Этилзамещенный α,β -алкеннитрил **379** олеананового типа в условиях окислительной системы $K_2Cr_2O_7/H_2SO_4/CH_3COOH$ с выходом 30% подвергается С(28) окислению до соответствующего 28-оксопроизводного **395**. В ИК спектре соединения **395** сохраняются полосы валентных колебаний алкенового фрагмента (1590 см^{-1}) и цианогруппы (2202 см^{-1}), а также фиксируется появление характеристических полос поглощения карбонильной группы (1762 см^{-1}). В спектре ЯМР 1H 28-оксопроизводного **395** сохраняется триплет С(32) метила при 1.08 м.д. ($J\ 7.6\text{ Гц}$) и квартет С(31) метиленовых протонов с центром 2.23 м.д. ($J\ 7.6\text{ Гц}$), характерные для этильной группы, при этом исчезают дублетные сигналы протонов С(28) атома, а сигнал протона С(19) смещается в слабопольную область (3.87 м.д.). В спектре ЯМР ^{13}C – наблюдается сдвиг сигнала С(28) углеродного атома в более слабопольную область (179.07 м.д.).



Реагенты и условия реакции:

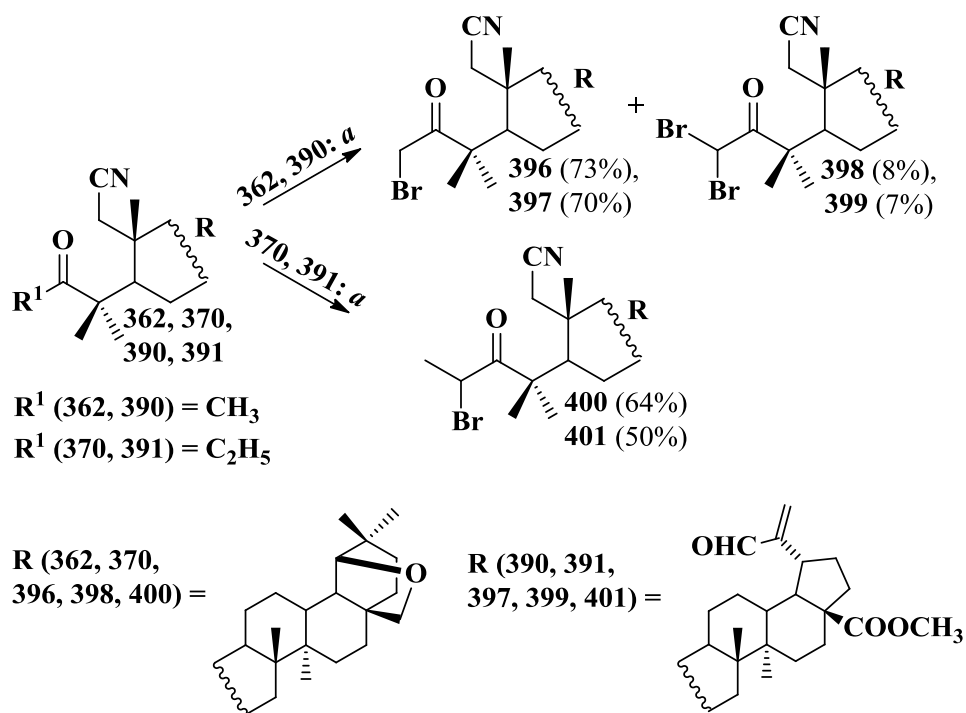
(a) $H_2SeO_3/1,4$ -диоксан; (б) $K_2Cr_2O_7/H_2SO_4/CH_3COOH$.

Схема 42

Описанный в данном разделе материал опубликован в работах [159-163, 165].

2.3 Синтез и циклизация бромзамещенных 3-алкил-3-кетонов

Подобраны условия синтеза на основе метилкетонов **361**, **362** соответствующих α -монобромпроизводных **396**, **397** (схема 43). Для исключения участия в реакции бромирования изопропилиденового фрагмента лупанового метилкетона в качестве исходного соединения в реакции использовали метилкетон **390** с альдегидной группой в положении С(30). Максимальный выход (70-73%) целевых монобромметилкетонов **396**, **397** достигнут при проведении реакции в условиях комнатной температуры и постепенном добавлении эквимолярного количества бромирующего агента – пербромаида пиридинийбромаида ($C_5H_6Br_3N$). При этом в качестве минорных продуктов в реакционной смеси образуются также дибромпроизводные **398**, **399**, выход которых может быть увеличен до 20-27% в условиях однократного добавления $C_5H_6Br_3N$ и последующего нагревания реакционной смеси в течение 6 ч. В случае 3-этил-3-кетонов **370**, **391**, как и следовало ожидать, реакция бромирования протекает селективно с образованием соответствующих α -монобромпроизводных **400**, **401**.



Реагенты и условия реакций:
 (a) $C_5H_6Br_3N/CH_3COOH$.

Схема 43

В ИК спектре бромпроизводных **396-401** сохраняются характеристические полосы валентных колебаний карбонильной группы в области $1691-1720\text{ см}^{-1}$ и цианогруппы при $2237-2239\text{ см}^{-1}$, в спектре ЯМР ^1H – два дублета C(1) метиленовых протонов с центрами 2.29-2.65 и 2.49-2.76 м.д. (AB-система, J 18.0-18.2 Гц), в спектре ЯМР ^{13}C – сигналы атомов углерода циано- и кетогрупп при 117.92-118.52 и 200.62-208.48 м.д. соответственно. Наличие в структуре соединений **396-401** атома Br подтверждается регистрацией в спектрах ЯМР ^1H 3-метилзамещенных бромпроизводных **396-399**: сигналов метиленовых C(31)/C(32) протонов в виде двух дублетов в области 4.22-4.32 и 4.27-4.38 м.д. (монобромпроизводные **396, 397**), а также синглета – в области 6.52-6.54 м.д. (дибромпроизводные **398, 399**) (рисунок 8); в спектрах ЯМР ^1H 3-этилзамещенных продуктов **400, 401**: дублета C(32, олеанан)/C(33, лупан) метила при 1.68-1.77 м.д. (J 6.6 Гц) и квартета C(31, олеанан)/C(32, лупан) метинового протона в слабополюной области при 4.97-5.08 м.д. (J 6.6 Гц).

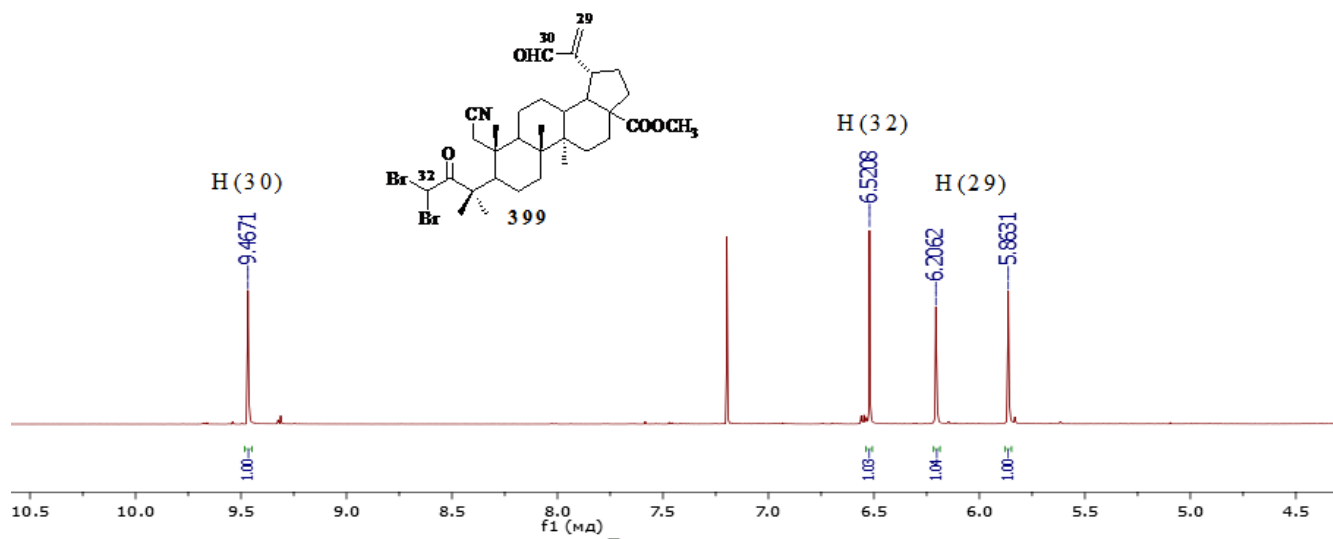
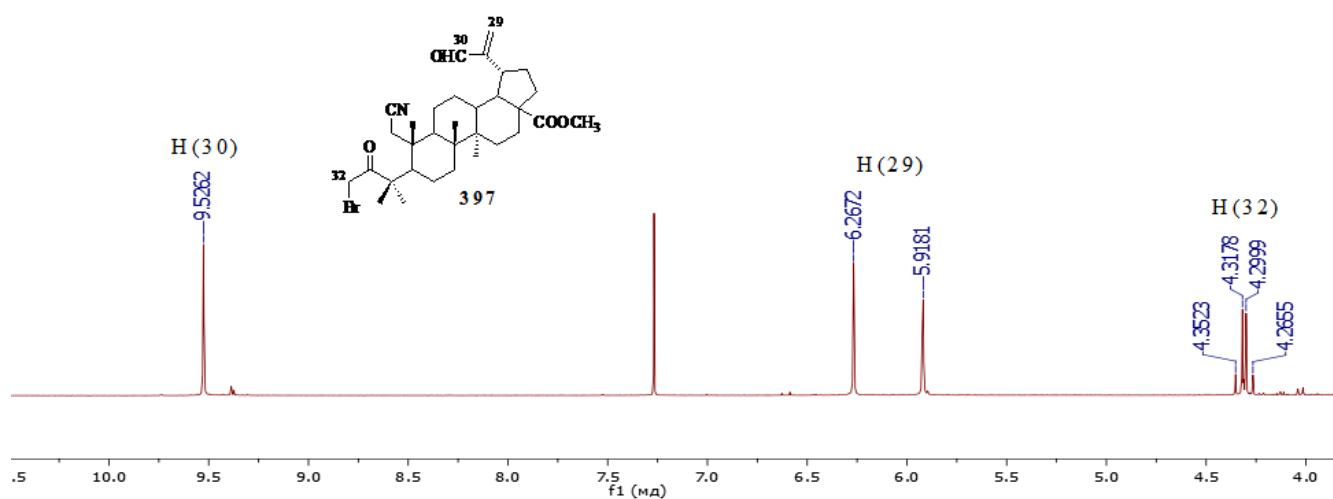
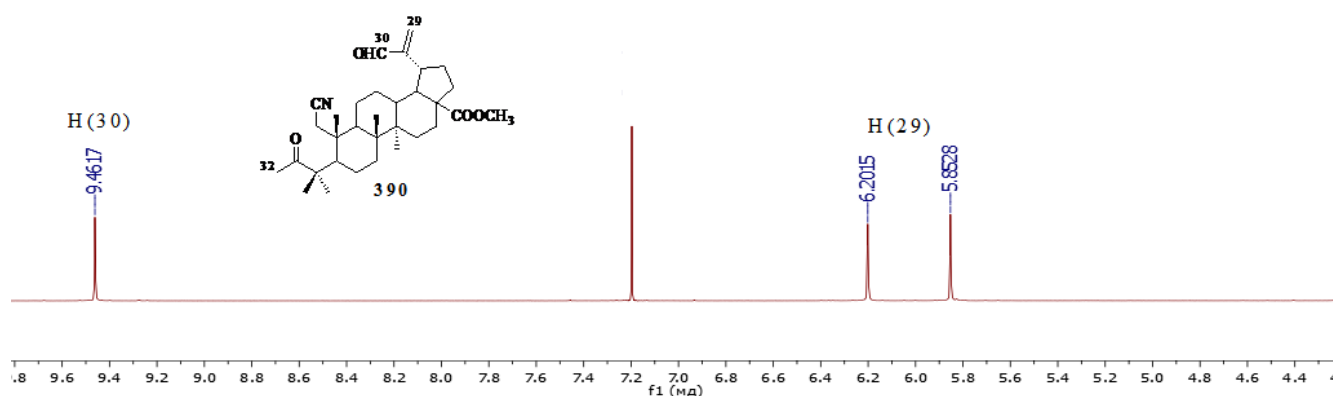


Рисунок 8 – Фрагменты спектров ЯМР ^1H 2,3-секолупановых тритерпеноидов: метилкетона **390**, монобромпроизводного **397** и дибромпроизводного **399**

На примере олеанановых алкилкетонов **396**, **400** изучена возможность внутримолекулярной циклизации

А-секокольца бромзамещенных тритерпеноидов (схема 44). В условиях системы *t*-BuOK/*t*-BuOH внутримолекулярная C(1)–C(31) нитрил-анионная циклизация олеананового 31-бром-3-этил-3-кетона **400** протекала

селективно с отщеплением циано-группы и формированием А-гексациклического 2-метилзамещенного алкенкетона **402**. Предложенная структура соединения **402** подтверждается методом РСА (рисунок 9) и наличием в ИК спектре полосы валентных колебаний карбонильной группы при 1716 см^{-1} , в спектре ЯМР ^1H – синглетного сигнала метильной группы при двойной связи при 1.70 м.д. и сигнала C(1) протона при 6.82 м.д., в спектре ЯМР ^{13}C – сигналов углеродных атомов двойной связи при 130.50 и 154.37 м.д., а также сигнала карбонильного углерода при 205.07 м.д. При этом в спектрах ИК и ЯМР ^{13}C продукта **402** не обнаружено характерных сигналов цианогруппы.

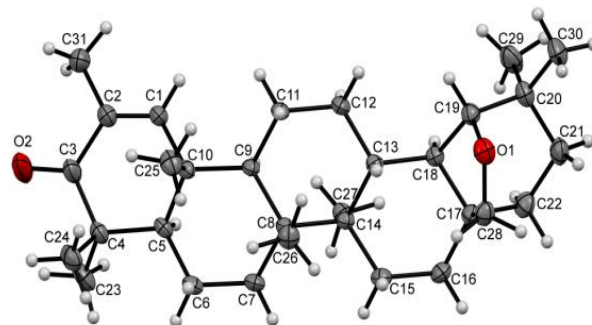
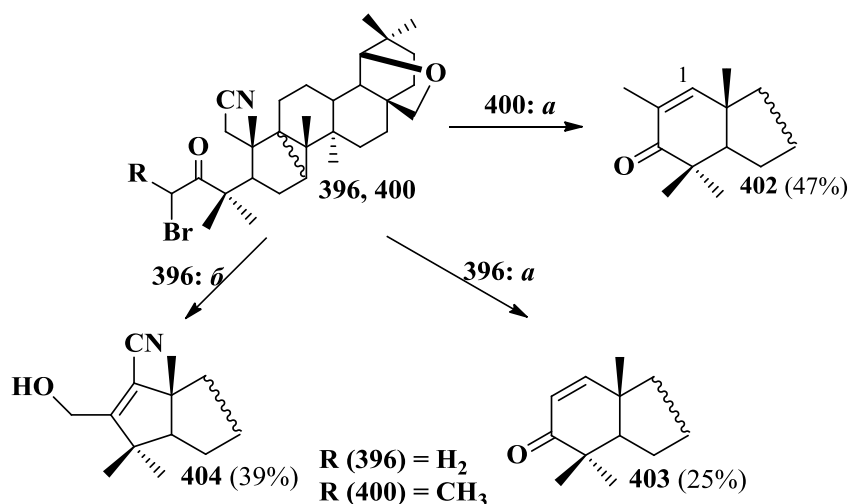


Рисунок 9 – Структура соединения **402** по данным РСА

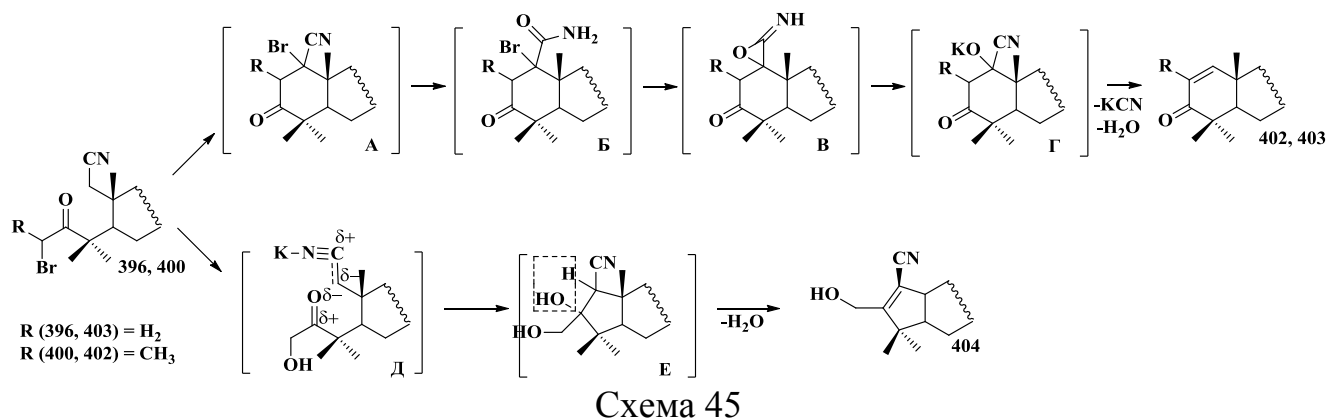


Реагенты и условия реакции:
(a) *t*-BuOK/*t*-BuOH; (б) KOH/C₂H₅OH.

Схема 44

В результате циклизации бромметилкетона **396** в условиях системы *t*-BuOK/*t*-BuOH из реакции выделены ненасыщенный кетон с шестичленным

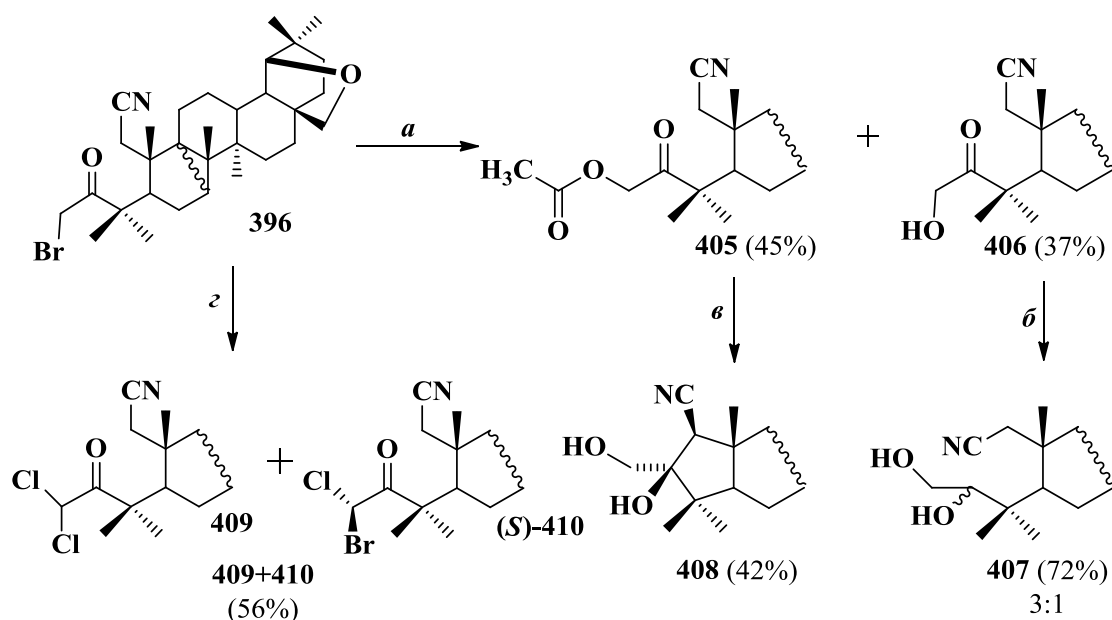
циклом **А 403**, впервые описанный в работе [167], и смесь трудноразделимых компонентов. В то время как при использовании системы КОН/этанол реакция протекала по оксонитрильному пути с образованием γ -гидрокси-алкеннитрила **404** с выходом 39% (схема 44). В пользу образования структуры соединения **404** свидетельствует наличие в ИК спектре полос поглощения нитрильной (2209 см^{-1}) и гидроксильной (3400 см^{-1}) групп, а также присутствие в спектрах ЯМР ^1H двух дублетных сигналов метиленовых С(31) протонов с центрами при 4.34 и 4.44 м.д. ($J\ 14.0\text{ Гц}$). В спектрах ЯМР ^{13}C γ -гидрокси-алкеннитрила **404** регистрируются сигналы атомов углерода фрагмента алкеннитрила при 122.35 м.д. (С(1), С(2)), 167.55 м.д. (С(3)) и связанного с гидроксильной группой С(31) углеродного атома при 58.64 м.д. В условиях основного катализа из лупановых бромзамещенных алкилкетонов **397**, **401** образуется трудноразделимая многокомпонентная смесь.



Возможный механизм реакций приведен в схеме 45. Аналогично галогеннитрилам, описанным в работе [168], в условиях катализа системой *t*-BuOK/*t*-BuOH процесс внутримолекулярной циклизации соединений **396**, **400** включает стадии циклизации (**A**), гидролиза цианогруппы с образованием бромамида **Б**, циклизации до имино-оксирана **В**, формирования фрагмента депротонированного цианогирина **Г**, отщепления молекул цианида и воды до соответствующих продуктов **402**, **403**. В случае основного катализа КОН реакция протекает по классическому оксонитрильному пути через интермедиаты **Д**, **Е** и формирование А-пентациклического продукта **404**.

Длительным кипячением (12 ч) α -монобромметилкетона **396** с уксусной кислотой (схема 46) получен β -кетозэфир **405** (45%), а также продукт его

гидролиза – α -кетоспирт **406** (37%). Использование микроволнового синтеза позволило сократить время реакции до 1 ч, тем самым исключить образование α -кетоспирта **406** и увеличить выход целевого продукта **405** до 75%. В ИК спектрах β -кетозфира **405** и α -кетоспирта **406** регистрируются полосы валентных колебаний кетонной (1703-1747 см^{-1}) и нитрильной (2233-2238 см^{-1}) групп, карбоксильного фрагмента (1718 см^{-1}) в случае соединения **405** или гидроксильной группы (3472 см^{-1}) для соединения **406**. В спектре ЯМР ^1H β -кетозфира **405** наблюдаются синглетный сигнал сложноэфирного фрагмента при 2.19 м.д. и двух дублетных сигналов С(31) метиленовых протонов с центрами 4.96 и 5.08 м.д. (КССВ 16.0 Гц). В спектрах ЯМР ^{13}C продукта **405** присутствуют характерные сигналы атомов углерода нитрильной (117.95 м.д.), сложноэфирной (169.80 м.д.) и карбонильной (207.31 м.д.) групп. В спектре ЯМР ^1H α -кетоспирта **406** обнаруживаются триплет протона гидроксильной группы с центром 3.22 м.д. (J 4.2 Гц) и два дублета дублетов С(31) протонов углерода, связанного с гидроксигруппой, с центрами 4.39 и 4.56 м.д. (J 18.7, 4.2 Гц), в спектре ЯМР ^{13}C – сигналы углеродных атомов С(2) нитрильной группы при 117.68 м.д. и С(3) кетонного фрагмента при 215.24 м.д.



Реагенты и условия реакций:

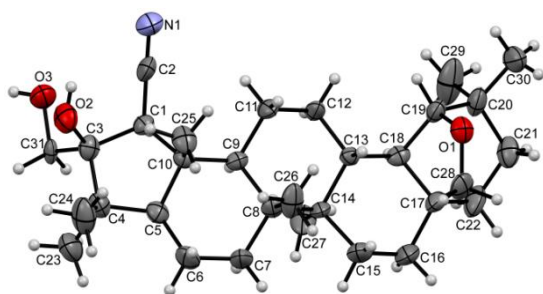
(a) $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{Et}_3\text{N}/\text{K}_2\text{CO}_3/(\text{CH}_3)_2\text{CO}$; (б) $\text{NaBH}_4/\text{MeOH}$; (в) $\text{KOH}/\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$;

(г) $i\text{-C}_5\text{H}_{11}\text{ONO}/\text{HCl}/\text{CCl}_4$.

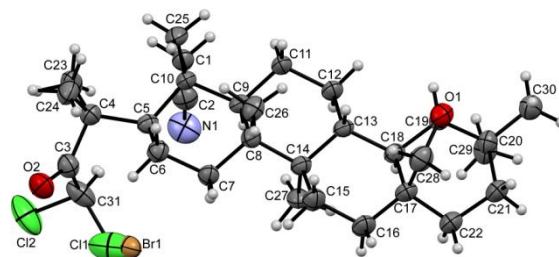
Схема 46

Восстановление α -кетоспирта **406** NaBH_4 в метаноле приводит к образованию неразделимой смеси 3,31-дигидрокси-3-эпимеров **407** с общим выходом 72% (соотношение 3:1, по данным ЯМР ^1H). Структура дигидроксинитрилов **407** подтверждается наличием в ИК спектре характеристических полос валентных колебаний нитрильной (2238 см^{-1}) и гидроксильных (3406 см^{-1}) групп, в спектре ЯМР ^1H – уширенного синглетного сигнала гидроксильной группы (2.15 м.д.) и двух мультиплетных сигналов протонов C(3) и C(31) атомов (3.55-3.63 и 3.70-3.76 м.д.), в спектре ЯМР ^{13}C – сигналы углеродных атомов C(31) и C(2) при 77.09 и 118.69 м.д. соответственно.

Внутримолекулярная оксонитрильная циклизация 2,3-секо-18 α H-олеананового α -кетозфира **405** с образованием А-пентациклического (1*R*,3*R*)-дигидроксинитрила **408** протекает в условиях системы $\text{KOH}/\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$. В ИК спектре соединения **408** регистрируются полосы поглощения циано- (2238 см^{-1}) и гидроксильных (3449 см^{-1}) групп, в спектре ЯМР ^1H – синглет C(1) протона при 2.26 м.д. и два дублета C(31) метиленовых протонов с центрами 3.55 и 3.64 м.д. (J 10.5 Гц), в спектре ЯМР ^{13}C – сигналы углеродных атомов C(31) при 68.89 м.д., C(3) при 83.54 м.д. и C(2) при 120.17 м.д. Абсолютная структура соединения **408** определена на основании данных РСА (рисунок 10). В стандартных условиях оксимирования ($\text{NH}_2\text{OH}/\text{пиридин}$) олеанановый бромметилкетон **396** инертен. Тогда как обработка соединения **396** классической для нитрозирования системой $i\text{-C}_5\text{H}_{11}\text{ONO-HCl-CCl}_4$ приводит к образованию гетеро- и гомодигалогенированных продуктов. В результате реакции выделена неразделимая смесь 31,31-дихлор- **409** и 31-бром-31-хлор- **410** геминальных производных с общим выходом 56%. В спектре ЯМР ^1H смеси галагенидов в слабopольной области обнаружены синглетные сигналы метиновых C(31) протонов продуктов **409**, **410** с интегральной интенсивностью 3:2 (6.64 и 6.60 м.д. соответственно). Структуры дигалогенидов **409** и **410**, а также конфигурация нового хирального (31*S*) центра гетерогалогенида **410** определены с использованием метода РСА (рисунок 10).



408



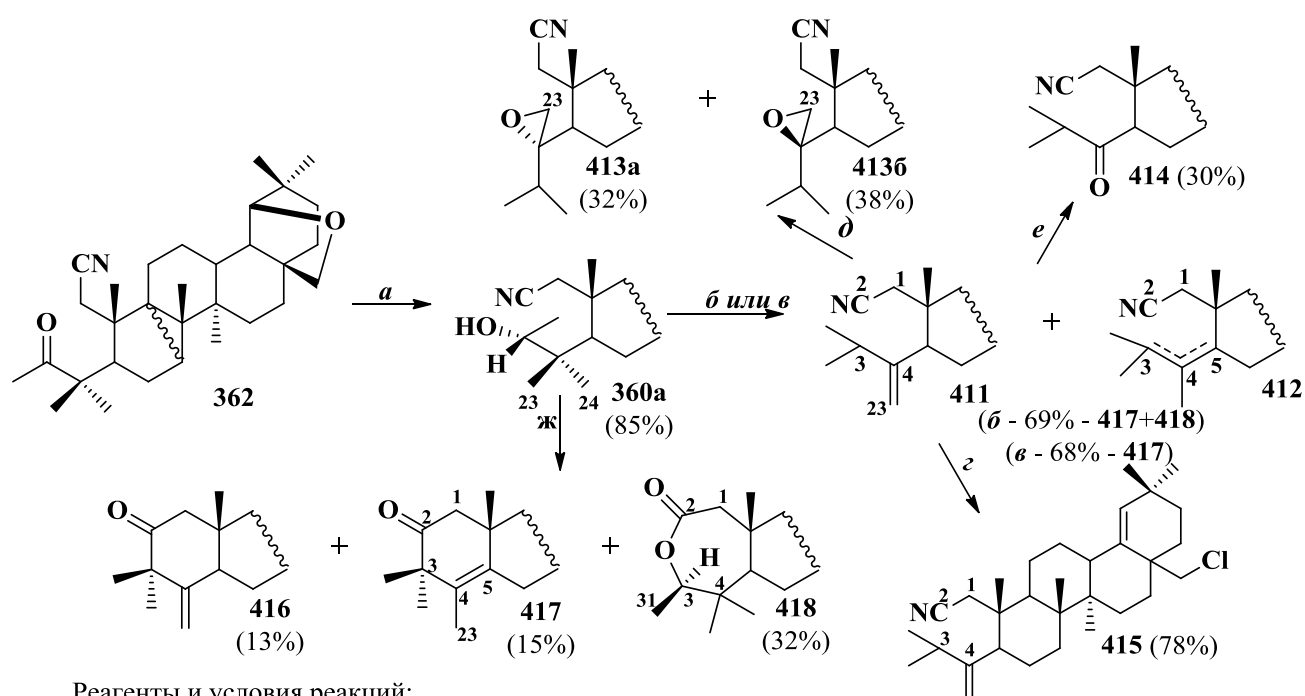
409, 410

Рисунок 10 – Структуры соединений **408**, **409** и **410** по данным РСА

Описанный в данном разделе материал опубликован в работах [161-163, 169].

2.4 Синтез и превращения (3*R*)-3-гидрокси-3-метил-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18 α H-олеанана

Установлено, что восстановление 2,3-секо-олеананового метилкетона **362** под действием NaBH_4 протекает стереоселективно с образованием (3*R*)-гидрокси-3-метилнитрила **360a** (схема 47). Под действием дегидратирующего агента SOCl_2 на спирт **360a** в результате 1,2-миграции C(24) метильной группы образуется смесь алкенов **411**, **412** (7:3, данные ХМС), тогда как при использовании POCl_3 регистрируется селективное образование алкена **411** с выходом 68%. В спектре ЯМР ^1H алкена **411** фиксируются синглетные сигналы экзометиленовых протонов 4.83 и 5.02 м.д. и дублетные сигналы диметильных групп при C(3) атоме 1.08 и 1.09 м.д. (J 6.7 Гц), в спектре ЯМР ^{13}C наблюдаются характерные сигналы sp^2 -гибридизованных атомов углерода 109.59 и 157.06 м.д. В спектрах ЯМР ^1H и ^{13}C смеси алкенов **411**, **412** фиксируются сигналы, которые можно отнести к структуре минорного изомера **412**: восемь синглетов метильных групп и характерные для двойной связи сигналы при 127.99, 129.05 м.д., свидетельствующие о наличии 3,4- или 4,5-двойной связи.



Реагенты и условия реакций:

(*a*) $\text{NaBH}_4/\text{CH}_3\text{OH}$; (*б*) $\text{SOCl}_2/\text{CH}_2\text{Cl}_2$; (*в*) $\text{POCl}_3/\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$; (*з*) POCl_3/DMF ;

(*д*) *m*-CPBA/KF/AIBN/толуол; (*е*) $\text{O}_3/\text{CH}_2\text{Cl}_2$; (*ж*) $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{CH}_3\text{COOH}$.

Схема 47

В результате длительного кипячения (3 сут) алкена **411** в толуоле в присутствии *m*-CPBA/KF/ДАК получена смесь эпоксидов **413a** и **413b**, которые выделены в виде индивидуальных диастереомеров с помощью метода колоночной хроматографии. В спектрах ЯМР ^1H соединений **413a** и **413b** регистрируются дублеты метильных групп изопротильного фрагмента при атоме C(3) (0.93 и 0.94 м.д., J 7.0 Гц – для соединения **413a**, 0.70 и 0.90 м.д., J 6.9 Гц – для соединения **413b**) и дублеты метиленовых H(23) протонов (2.47 и 2.48 м.д., J 8.0 Гц – для соединения **413a**, 2.50 и 2.51 м.д., J 13.8 Гц – для соединения **413b**). Кроме того, в спектрах ЯМР ^1H эпоксипроизводных **413a** и **413b** наблюдается сдвиг дублет-дублета H(5) протона (4*S*)-изомера **413a** в более слабое поле (1.99 м.д., J 12.5, 3.0 Гц) по сравнению с таковым (4*R*)-эпимера **413b** (1.88 м.д., J 12.6, 2.9 Гц), что обусловлено пространственной ориентацией оксиранового кольца в фрагментированном цикле А. Относительная конфигурация асимметрического атома C(4) эпоксидов определена на основании данных РСА для (4*S*)-эпимера **413a** (рисунок 11).

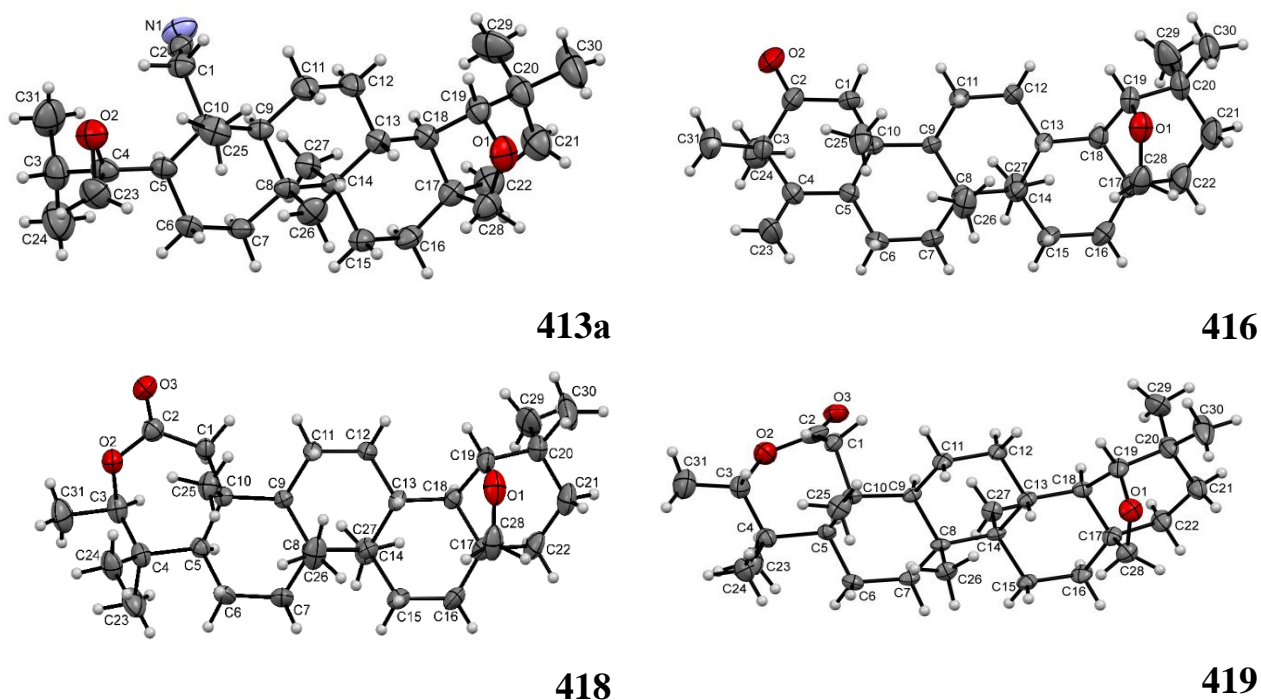


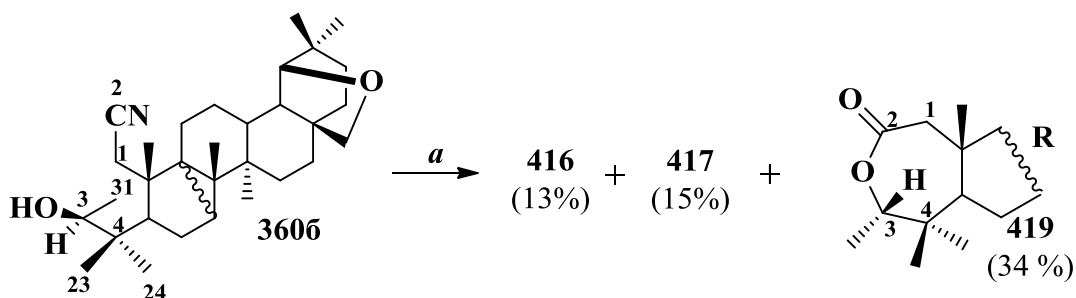
Рисунок 11 – Структуры соединений **413а**, **416**, **418** и **419** по данным РСА

Озонолизом алкена **411** с С(4) экзометиленовой связью синтезирован соответствующий изопропилкетон **414**. В спектре ЯМР ^1H соединения **414** наблюдаются сигналы С(4) изопротильной группы (мультиплет в области 2.79-2.87 м.д., дублет метильных групп с J 6.8 Гц при 1.11 м.д.), в спектре ЯМР ^{13}C – сигнал (216.17 м.д.) углерода карбонильной группы. При обработке изопропилкетона **414** системой *t*-BuOK/*t*-BuOH в условиях внутримолекулярной циклизации образуется трудноразделимая многокомпонентная смесь, тогда как эпоксиды **413а,б** в тех же условиях оставались инертны.

Окисление тритерпенового производного с экзометиленовой связью **411** системой POCl_3/DMF привело к раскрытию 19 β ,28-эпоксидного цикла и образованию 28-хлорпроизводного **415**. По данным спектрального анализа выделенного в результате синтеза продукта, 19 β ,28-эпоксидный цикл раскрывается с образованием 28-хлорпроизводного **415**, аналогичного описанному в работе [170]. Содержание в структуре атома галогена подтверждено положительной пробой Бельштейна. А-секоцикл в ходе реакции остался неизменным, что подтверждается наличием в спектрах ЯМР ^1H и ^{13}C соединения **415** синглетов экзометиленовых 23H протонов при 4.82 м.д. и 5.00 м.д., дублетов метильных групп изопротильного фрагмента при 1.05 м.д. и 1.06 м.д. (J 6.7 Гц) и

сигналов sp^2 -гибридизованных атомов углерода C(4) и C(23) при 109.67 м.д. и 156.99 м.д. О раскрытии 19 β ,28-эпоксидного цикла свидетельствует отсутствие характерных сигналов атомов C(19) и C(28) 19 β ,28-эпоксидного цикла, но при этом регистрируются два дублета метиленовых 28H протонов при атоме углерода, связанного с атомом C1 (3.48 м.д. и 3.74 м.д., J 11.5 Гц), уширенный синглет олефинового протона при C(19) с центром при 5.10 м.д. и сигналы атомов углерода двойной связи C(18) и C(19) при 133.84 и 137.69 м.д.

Кислотнокатализируемая внутримолекулярная циклизация олеананового гидроксинитрила **360a** при нагревании в условиях системы H_2SO_4/CH_3COOH приводит к образованию смеси шестичленных алкенкетонов **416**, **417** и семичленного (3*R*)-изомерного лактона **418**. Оппозитный лактон **419** получен в результате аналогичной реакции из (3*S*)-гидрокси-3-метилнитрила **360b** (схема 48), при этом, как и в случае (3*R*)-изомера **360a**, из реакционной смеси с помощью метода колоночной хроматографии также выделены шестичленные алкенкетоны **416** и **417**.



Реагенты и условия реакции: (a) H_2SO_4/CH_3COOH ,

Схема 48

В спектре ЯМР 1H и ^{13}C алкенкетона **416** наблюдаются синглеты экзометиленовых 23H протонов при 4.68 и 4.89 м.д. и дублеты протонов при атоме C(1) при 2.18 и 2.43 м.д. (J 14.5 Гц), а также сигналы углеродных атомов C(4), C(23) экзометиленовой связи при 106.87 и 154.95 м.д., а также сигнал C(2) карбонильного атома углерода при 214.21 м.д. В спектре ЯМР 1H алкенкетона **417** фиксируются два дублета 1H протонов при 2.32 и 2.39 м.д. (J 12.2 Гц) и восемь синглетов метильных групп, в том числе протонов C(23) метильной группы при двойной связи при 1.60 м.д.. В спектре ЯМР ^{13}C соединения **417** обнаруживаются

характерные сигналы тетразамещенной C(4)=C(5) двойной связи при 129.06 и 137.21 м.д. и сигнал карбонильного C(2) углерода при 215.51 м.д.

В спектрах ЯМР ^1H изомеров **418** и **419** регистрируются характерные дублеты протонов C(31) метильной группы при 1.25 м.д. (J 6.4 Гц, соединение **418**) или 1.24 м.д. (J 6.3 Гц, соединение **419**), квартет метинового 3H протона при 4.30 м.д. (J 6.4 Гц, соединение **418**) или 4.37 м.д. (J 6.2 Гц, соединение **419**) и дублеты метиленовых 1H протонов при 2.40 и 2.76 м.д. (J 13.7 Гц, соединение **418**) или 2.38 и 2.78 м.д. (J 14.3 Гц, соединение **419**). В спектрах ЯМР ^{13}C соединений **418** и **419** регистрируются сигналы карбонильного C(2) атома углерода при 174.46 м.д. (соединение **418**) или 174.11 м.д. (соединение **419**), а также сигнал C(3) атома углерода при 82.40 м.д. (соединение **418**) или 79.83 м.д. (соединение **419**). Абсолютная структура и конфигурация C(3) асимметрического атома изомерных лактонов **418** и **419**, как и структура алкенкетона **416**, подтверждены данными РСА (рисунок 11).

В схеме 49 представлен возможный механизм внутримолекулярной циклизации соединений **360a**, **360б**. Согласно предложенному механизму 3-метилзамещенные гидроксинитрилы **360a**, **360б**, содержащие в структуре А-секокольца реакционноспособные гидрокси- и цианогруппы, гидролизуются в кислой среде до соответствующих гидроксикислот Б, дегидратация которых приводит к соответствующим ϵ -лактонам **418**, **419**. Под действием концентрированной H_2SO_4 параллельно протекают процессы C(2)/C(3)-цикликации интермедиатов Б и отщепления молекулы H_2O по механизму E1-элиминирования до соединений Г, Д и Е, которые далее в результате аниотропной 1,2-миграции C(24) метильной группы и отщепления H(5) или H(23) протона превращаются в ненасыщенные тритерпеновые кетоны **416** или **417**.

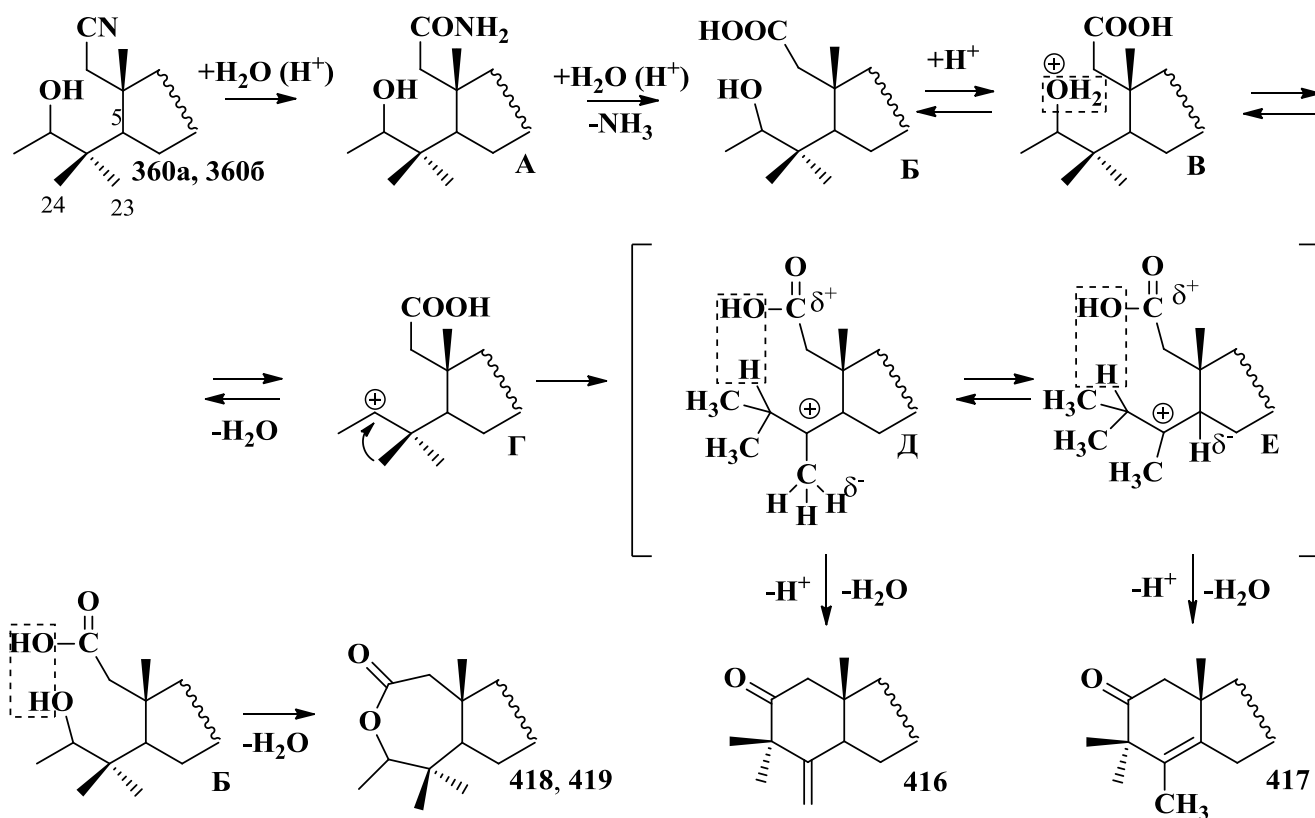


Схема 49

Описанный в данном разделе материал опубликован в работе [171].

Таким образом, впервые осуществлен синтез 1-циано-2,3-секотритерпеновых 3-метил- и 3-этил-3-кетонов на основе 2-гидроксиминопроизводных 3-оксобетулина, метилового эфира бетулоновой кислоты и аллобетулона. Показано, что синтез 3-алкил-3-кетонов возможен двумя путями: (1) алкилированием по Гриньяру 2,3-секоальдегидонитрилов с последующим окислением реактивом Джонса или (2) восстановительным алкилированием реактивом Гриньяра гидроксиминокетонов с последующей фрагментацией по Бекману полученных 3β-гидрокси-3α-алкилпроизводных.

Установлено, что в условиях основного катализа внутримолекулярная циклизация 1-циано-2,3-секотритерпеновых 3-алкил-3-кетонов протекает по оксонитрильному пути с сужением цикла и формированием фрагмента α,β-алкеннитрила в пятичленном цикле А тритерпеноидов. Щелочной гидролиз нитрильной группы алкеннитрилов приводит к образованию ненасыщенных А-пентациклических кислот.

Модификация изопропилиденового фрагмента 1-циано-2,3-секолупановых 3-алкил-3-кетоннов возможна двумя методами: (1) озонолитическим расщеплением двойной C(20)–C(29) связи с образованием метилкетонного фрагмента или (2) окислительным введением альдегидной группы в C(30) положение тритерпеноида. Стоит отметить, что в случае алкеннитрилов модификация возможна только по C(30) положению, так как в процессе озонлиза окислительной трансформации подвергается также фрагмент алкеннитра [146].

Введение атома брома в А-кольцо 2,3-секотритерпеноидов реализовано с использованием в качестве бромирующего агента пербромадида пиридинийбромадида. В случае 3-метил-3-кетоннов реакцию следует проводить при комнатной температуре и постепенном добавлении реагента для избежания образования дибромпроизводных. Впервые показано, что при использовании нитрозирующей смеси (*i*-C₅H₁₁ONO-HCl-CCl₄) олеанановый бромметилкетон преобразуется в гетеро- (Cl, Br) и гомодигалогенированные (2Cl) продукты. В условиях основного катализа 3-бромметилпроизводное 2,3-секо-18 α H-олеананового метилкетона и его 3-ацилоксиметилзамещенный аналог подвергаются региоселективной оксонитрильной C(1)–C(3) циклизации, с образованием тритерпеноидов с фрагментом γ -гидрокси-алкеннитрила или дигидроксинитрила в пятичленном А цикле тритерпеноида. Стоит также отметить, что бромпроизводное олеананового 3-этил-3-кетона в основных условиях претерпевает нитрил-анионную C(1)–C(31) циклизацию с отщеплением циано-группы и образованием фрагмента 2-метилзамещенного алкенкетона в шестичленном цикле А.

Впервые показано, что кислотнокатализируемая циклизация продукта восстановления метилкетона – соответствующего ϵ -гидроксинитрила протекает с расширением цикла А тритерпеноида и образованием продуктов лактонизации, гидролиза и дегидратации. Дегидратация (3*R*)-гидрокси-3-метил-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18 α H-олеанана под действием POCl₃/C₅H₅N протекает с формированием карбокатиона и последующей 1,2-миграцией C(24) метильной группы, что приводит к преимущественному образованию C(4) изопентенового

фрагмента в структуре 2,3-секотритерпеноида. Озонирование и эпоксидирование двойной связи тритерпеноида в С(4) изопентеновом фрагменте приводит к образованию 2,3-секопроизводных с фрагментами изопропилкетона и 4,23-эпоксида соответственно.

ГЛАВА 3. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АЛКИЛИРОВАННЫХ 2,3-СЕКОТРИТЕРПЕНОИДОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ

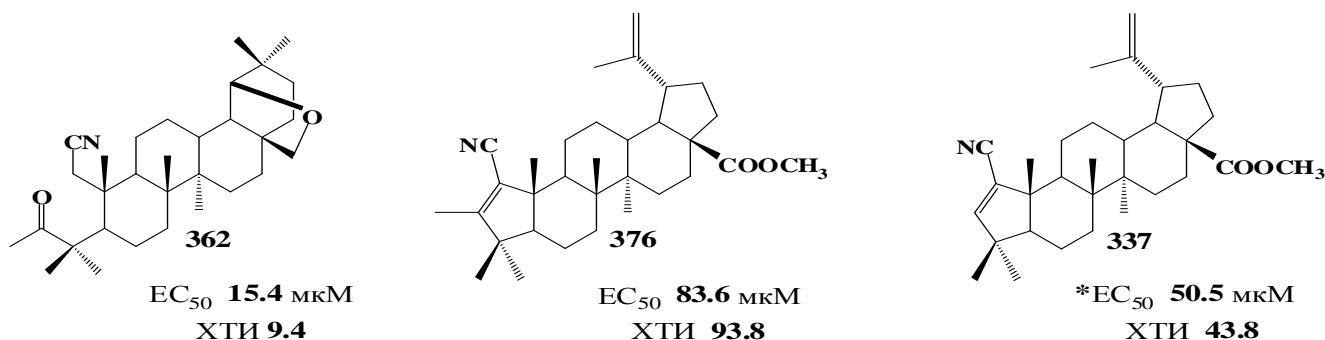
В литературе приведены многочисленные примеры проявления тритерпеноидами разнообразной биологической активности [152, 172, 173]. В частности, лупановые и олеанановые нативные тритерпеноиды, а также их полусинтетические производные, функционализированные или трансформированные по различным фрагментам тритерпенового остова, проявляют выраженные противоопухолевые и противовирусные свойства [8, 11, 150, 174]. В связи с этим в рамках настоящего исследования была проведена оценка вирусингибирующих, вирулицидных и цитотоксических свойств синтезированных алкилированных 2,3-секотритерпеноидов и продуктов их превращения.

Противовирусные свойства синтезированных тритерпеноидов исследованы в Республиканском научно-практическом центре эпидемиологии и микробиологии Минздрава Республики Беларусь (г. Минск). Цитотоксическая активность продуктов синтеза в отношении культур клеточных линий HEp-2, HCT 116, MS, RD TE 32, A549, MCF-7 и HEK 293, а также механизмы действия наиболее активного соединения в отношении данных клеток изучены в Институте технической химии УрО РАН («ИТХ УрО РАН», г. Пермь). Цитотоксические свойства в отношении клеток HBL-100, K562 и KB-3-1 и их лекарственно-устойчивых вариантов HBL-100/Dox, K562/i-S9 и KB-8-5, а также механизм действия наиболее активного соединения в отношении клеток с МЛУ исследованы в «Национальном медицинском исследовательском центре онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва).

3.1 Исследование противовирусных свойств продуктов синтеза

При исследовании противовирусной активности тритерпеноидов изучалась способность соединений ингибировать процесс репродукции вирусных частиц и их способность препятствовать проникновению вирусов внутрь клетки. Таким образом был проведен скрининг вирусингибирующих и вирулицидных

(инактивирующих) свойств синтезированных соединений **337**, **360б**, **362**, **364а,б**, **372**, **375**, **376**, **381-384**, **406**, **411** в отношении ВИЧ-1 (вирус иммунодефицита человека I типа) и ВГП-1 (вирус герпеса простого I типа). По данным скрининга *in vitro* ингибирующей активности в отношении ВИЧ-1 (рисунок 14), выявлено два соединения с выраженными антиретровирусными свойствами. В качестве наиболее эффективного анти-ВИЧ агента отобран $18\alpha H$ -олеанановый метилкетон **362** с EC_{50} 15.4 мкМ. Вирусингибирующие свойства β -замещенного лупанового α,β -алкеннитрила с пятичленным циклом А **376** были \sim в 2 раза ниже соответствующих параметров описанного ранее незамещенного α,β -алкеннитрила **381** [174]. В то же время, показатель химиотерапевтического индекса (ХТИ) алкеннитрила **376** превосходил аналогичный показатель соединения **381** в 2 раза.

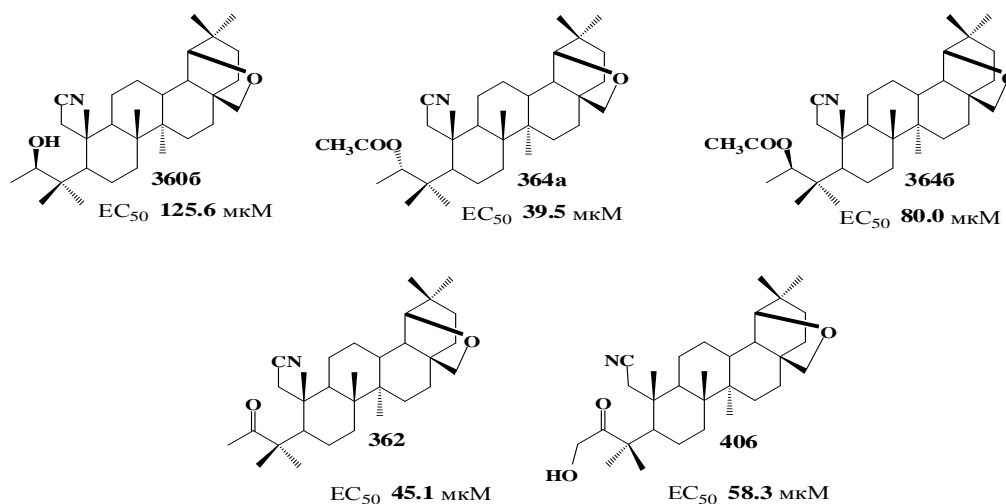
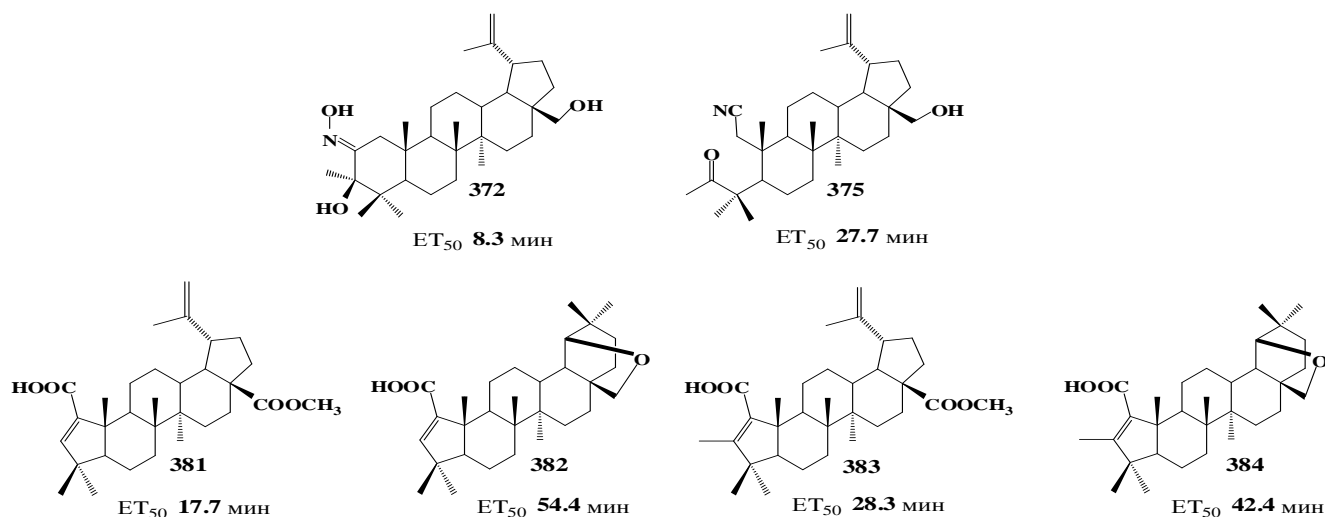
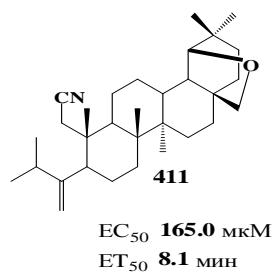


* Данные приведены из работы [173]

EC_{50} - концентрация вещества, ингибирующая вирусное цитопатогенное действие на 50% (среднеэффективная концентрация)

Рисунок 14 – Вирусингибирующая активность тритерпеноидов в отношении ВИЧ-1

Исследования вирусингибирующих свойств в отношении ВГП-1 выявили умеренную (EC_{50} 39.5-125.6 мкМ) активность олеанановых (3*S*)-гидроксинитрила **360б**, метилкетона **362**, ацетоксипроизводных **364а,б** и кетоспирта **407** (рисунок 15). Наиболее высокий уровень анти-ВГП-1 свойств обнаружен у метилкетона **362** (EC_{50} 45.1 мкМ) и (3*R*)-ацетоксипроизводного **364а** (EC_{50} 39.5 мкМ). При этом следует отметить, что метилкетон **362** сочетал вирусингибирующие свойства в отношении ВИЧ-1 и ВГП-1 (EC_{50} 15.4 и 45.1 мкМ соответственно).

Тритерпеноиды с вирусингибирующей активностьюТритерпеноиды с вирулицидной активностьюТритерпеноид с вирусингибирующей и вирулицидной активностью

* EC_{50} - концентрация вещества, ингибирующая вирусное цитопатогенное действие на 50% (среднеэффективная вирусингибирующая концентрация)

* ET_{50} - время достижения 50 % вирулицидного действия (среднеэффективная вирулицидная концентрация)

Рисунок 15 – Противовирусные свойства тритерпеноидов в отношении ВГП-1

По данным скрининга вирулицидных свойств продуктов синтеза (рисунок 15), отобраны β -гидроксиминокетон **372**, 28-гидрокси-3-метил-3-кетон **375** и ненасыщенные А-пентациклические кислоты **381-384** с высокой и умеренной (ET_{50} 8.3-54.4 мин) активностью. В качестве наиболее перспективного вирулицидного агента, эффективного в отношении ВГП-1, зарегистрирован 28-гидрокси- β -гидроксиминокетон **372**, уровень ET_{50} которого составил 8.3 мин. Среди скринированных в отношении ВГП-1 продуктов синтеза лишь олеанановое 2,3-секопроизводное с С(4) экзометиленовой связью **411** сочетало слабовыраженную вирусингибирующую (EC_{50} 165.0 мкМ) и высокую вирулицидную (ET_{50} 8.1 мин) активности.

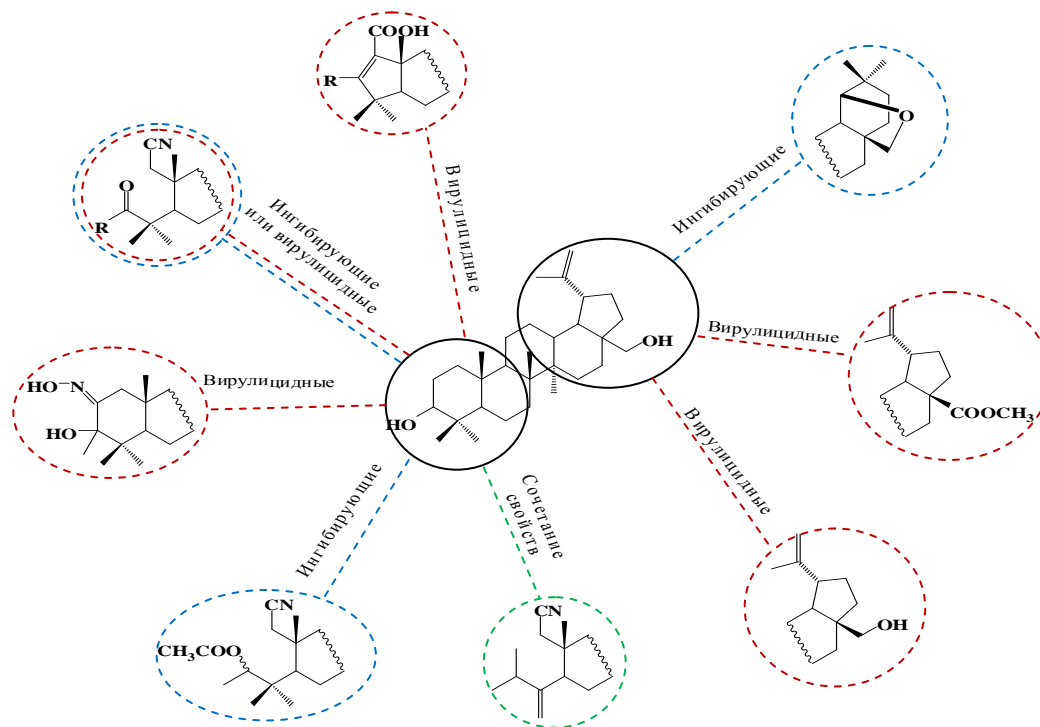


Рисунок 16 – SAR на примере противовирусных свойств тритерпеноидов.

Трансформация тритерпеноидов, обеспечивающая проявление: вирулицидной (○); вирусингибирующей (○); сочетание (○) вирулицидной и вирусингибирующей активности

Анализ зависимости противовирусных свойств от структуры синтезированных тритерпеноидов (the structure–activity relationship, SAR) показал (рисунок 16), что наиболее значимое влияние на уровень активности оказывает

трансформация С(1)/С(3), С(3), С(4), С(31) положений кольца А и С(28) атома молекулы бетулина. Следует также отметить, что вирусингибирующие свойства характерны, в большей степени, для олеанановых тритерпеноидов, тогда как вирулицидные свойства чаще всего выявляются у лупановых производных. В частности, выявлено: ацетилирование олеанановых 2,3-секогидроксинитрилов **360a,б** приводит к значительному увеличению анти-ВГП свойств, что особенно заметно проявлялось в случае (*R*)-изомеров. Так, олеанановый (3*R*)-гидроксинитрил **360a** не обладал ингибирующими свойствами в отношении ВГП-1 ($EC_{50} >200$), тогда как соответствующее (3*R*)-ацетоксипроизводное **364a** проявило анти-ВГП-1 активность на уровне EC_{50} 39.5 мкМ. Фрагментация по Бекману 28-гидрокси-3 β -гидроксиминокетона лупанового типа **372** с образованием 2,3-секометилкетона **375** приводила к снижению уровня вирулицидных свойств тритерпеноидов, а введение метильной группы в С(3) положение пятичленного кольца А ненасыщенных кислот способствовало повышению уровня вирулицидности в случае лупановых производных (ET_{50} **383** – 28.3, **381** – 17.7 мин).

3.2 Цитотоксические свойства продуктов синтеза

Проведен скрининг цитотоксических свойств продуктов синтеза в отношении 6 линий опухолевых клеток различного происхождения (таблица 4, рисунок 17): НЕР-2 (карцинома гортани), НСТ116 (колоректальная карцинома), MS (меланома), RD TE32 (рабдомиосаркома), MCF-7 (аденокарцинома молочной железы), A549 (немелкоклеточная карцинома легкого).

Таблица 4 – Цитотоксическая активность синтезированных соединений

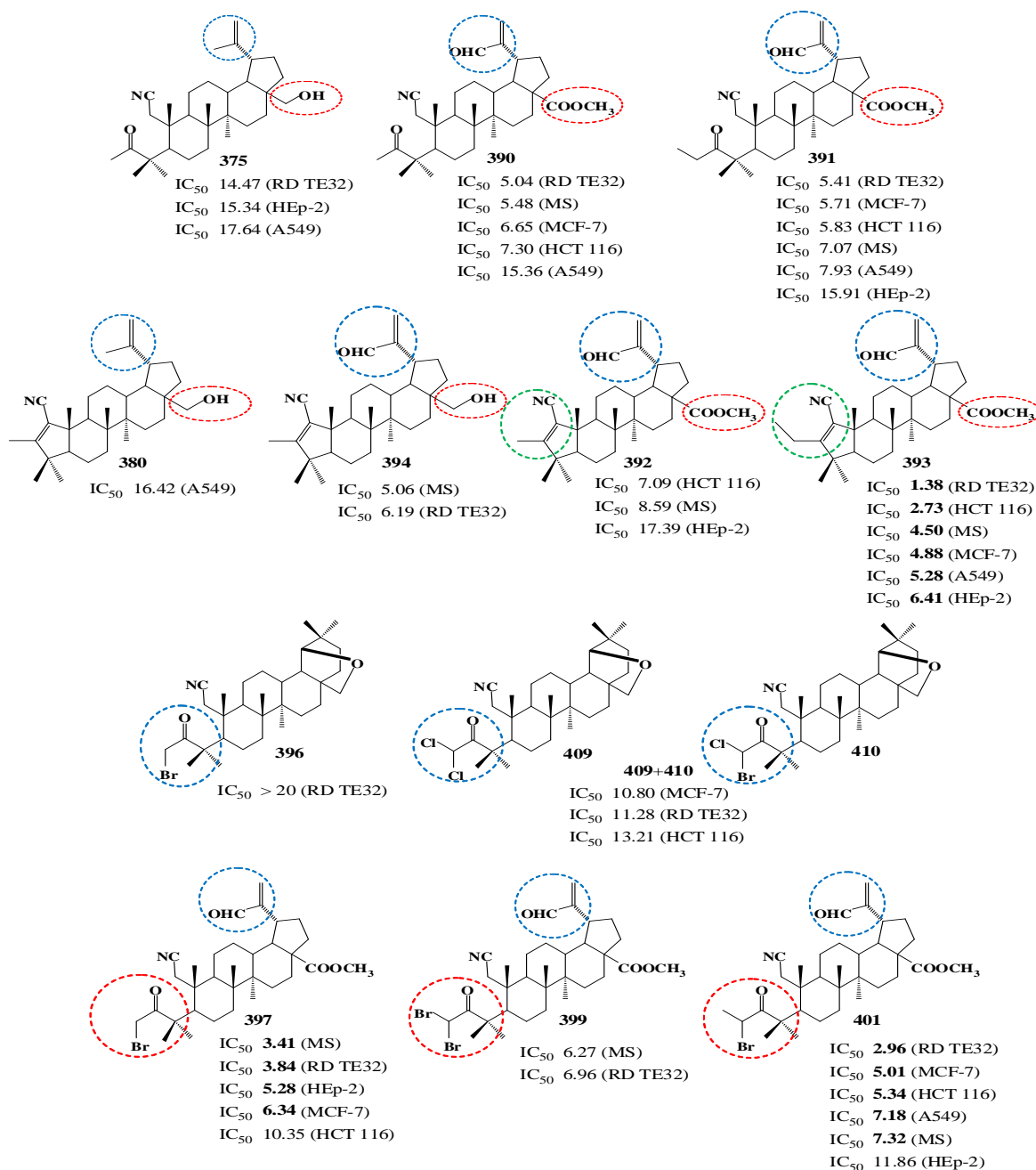
№ соед.	IC ₅₀ , мкМ					
	НЕР-2	НСТ 116	MS	RD TE32	A549	MCF-7
359a	43.83±7.94	31.71±1.07	15.07±1.08	20.21±1.46	19.07±2.97	н.о.
359б	н.о.	н.о.	85.24±0.05	>100	>100	н.о.
360a	>100	>100	83.33±8.79	96.54±7.29	>100	н.о.
360б	н.о.	н.о.	74.89±0.18	>100	>100	н.о.

CPT	3.04±0.01	1.88±0.09	1.84±0.13	1.24±0.37	5.93±1.18	0.04±0.01
DOX	1.78±0.31	1.96±0.19	1.29±0.16	1.27±0.03	2.04±0.22	0.14±0.03

IC_{50} – концентрация вещества, при которой погибают 50% опухолевых клеток (концентрация полумаксимального ингибирования).

CPT – камптотецин.

DOX – доксорубицин.



* IC_{50} , μM

Рисунок 17 – Тритерпеноиды с умеренной и высокой противоопухолевой активностью ($IC_{50} < 30 \mu M$)

Анализ полученных результатов исследований позволил выявить основные закономерности во влиянии трансформации структурных блоков нативной тритерпеновой молекулы на уровень противоопухолевых свойств продуктов синтеза. Как видно из рисунка 17, высокий уровень цитотоксической активности – наиболее характерный признак лупановых производных. Однако, введение атома хлора в А кольцо олеанановых бромзамещенных 2,3-секометилкетонов позволило получить цитотоксичные гомо- и гетеродигалогениды **409**, **410** с IC_{50} 10.80-13.21 мкМ. Кроме того, значительное влияние на уровень цитотоксичности олеанановых оксинитрилов **360а,б** и их ацетоксипроизводных **364а,б**, также как и в случае их лупановых аналогов **359а,б**, **363а,б**, оказывала конфигурация асимметрического центра. Так, показатель IC_{50} (3*R*)-производных был в 2-6 раз выше соответствующих показателей (3*S*)-изомеров.

Лупановые и 18 α *H*-олеанановые β -замещенные α,β -алкеннитрилы **376-380**, а также продукты их щелочного гидролиза – кислоты **381-384** – не проявили выдающихся цитотоксических свойств. Введение в лупановый остов С(30) альдегидной группы позволило повысить цитотоксические свойства (IC_{50} 1.38 мкМ) до уровня известных препаратов контроля – камптотецина и доксорубицина.

В ряду 3-алкил-3-кетонов повышению уровня цитотоксичности способствовало введение 28-гидроксильной группы, еще более значимое влияние на показатель IC_{50} оказывало введение 30-альдегидной группы и атома брома в положение С(31). Так, 28-гидрокси-3-метил-3-кетон **375** обладал выраженной (IC_{50} 14.47-17.64 мкМ) цитотоксической активностью в отношении клеток RD TE32, HEp-2, A549. В то же время введение С(30) альдегидной группы в лупановый остов позволило увеличить уровень активности до IC_{50} 5.04-15.91 мкМ в случае 3-метил- **390** и 3-этил-3-кетонов **391**, последующее введение атома брома в структуры которых с образованием соответствующих бромпроизводных **397** и **401** привело к повышению уровня IC_{50} до 2.96-25.44 мкМ в отношении всех исследуемых раковых клеточных культур.

Из полученных данных видно, что активные соединения содержат в структуре модифицированный С(30) альдегидной группой изопропилиденный фрагмент, который может выступать в качестве типичного акцептора Михаэля при неспецифических взаимодействиях с аминокислотами белков и, вероятнее всего, оказывает решающее влияние на проявление данными соединениями неселективного цитотоксического эффекта в отношении как нормальных, так и опухолевых клеток [176]. В связи с этим цитотоксичность наиболее активных соединений – лупанового 3-этилзамещенного α,β -алкеннитрила **393**, бромпроизводных 3-метил- **397** и 3-этил- **401** кетонов – оценивали в отношении нормальных клеток почки эмбриона человека НЕК 293. Установлено, что 3-этилзамещенный α,β -алкеннитрил **393** и 3-этилкетон **401** проявили высокую токсичность в отношении нормальных клеток НЕК (IC_{50} 12.59 и 4.98 мкМ соответственно). В то время как токсичность 3-метил-3-кетона **397** оказалась значительно ниже и составила IC_{50} 92.3 мкМ. Полученные результаты свидетельствуют, что размер углеродной цепи алкильного заместителя при атоме С(3) оказывает решающее влияние на специфичность проявления тритерпеноидом цитотоксичности в отношении опухолевых клеток: увеличение углеродной цепи алкильного заместителя при С(3) приводит к значительному снижению избирательного действия тритерпеноидов в отношении опухолевых и нормальных клеток.

Таким образом, среди трансформаций лупановых тритерпеноидов, приводящих к значительному увеличению уровня противоопухолевых свойств, следует отметить фрагментацию с введением (1) карбонильной группы в С(3) положение, (2) галогенсодержащей функции, а также (3) трансформацию, протекающую с сужением А-кольца тритерпеноидов (рисунок 18). Кроме того, введение 30-альдегидной, 28-метиловой или 28-гидроксильной групп позволяет дополнительно повысить уровень цитотоксических свойств продуктов синтеза.

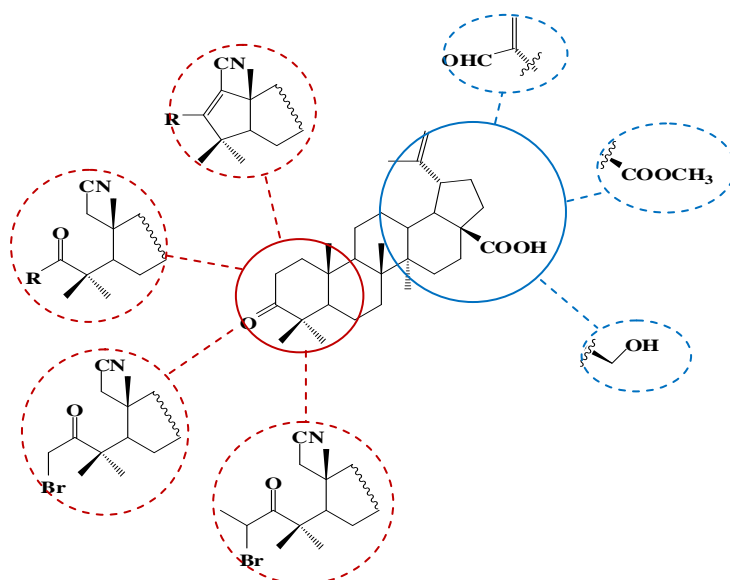


Рисунок 18 – SAR на примере цитотоксических свойств тритерпеноидов

Среди синтезированных тритерпеноидов в качестве наиболее перспективного соединения отобран метиловый эфир 3-бромметил-3-оксо-1-циано-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-30-аль-28-овой кислоты **397** с высоким антипролиферативным действием в отношении большинства исследуемых культур раковых клеток и низкой токсичностью в отношении нормальных клеток НЕК 293 (IC_{50} 92.3 мкМ). Полученные данные свидетельствуют о высокой степени селективности соединения **397**. Наиболее чувствительны к цитотоксическому действию бромметилкетона **397** линии клеток НСТ 116, Нер-2, RD и MS с IC_{50} 10.4, 5.3, 3.8, 3.4 мкМ и индексом селективности 8.9, 17.4, 24.3, 27.2 соответственно. Исследование острой токсичности тритерпеноида **397** на инбредных белых мышах показало, что данное соединение практически не токсично и относится к 5 классу токсичности (LD_{50} более 2000 мг/кг).

Для исследования механизма цитотоксического действия бромметилкетона **399** была выбрана наиболее стабильная при культивировании клеточная линия НСТ 116. Методом проточной цитометрии установлено, что культивирование клеток НСТ 116 с тритерпеноидом **397** в течение 18 ч приводит к увеличению количества клеток в стадии раннего (25.6%) и позднего (10.1%) апоптоза, при этом доля клеток с некротическими изменениями значительно не менялась. Таким образом, бромметилкетон **397** индуцировал апоптотическую (программируемую) гибель раковых клеток.

Процесс апоптоза может развиваться по внешнему (рецептор-зависимому) или внутреннему (митохондриальному) сигнальному пути. По данным иммуноферментного анализа каспаз, бромметилкетон **397** способствовал повышению концентрации иницирующей каспазы 8 и эффекторных каспаз 3/7 в клетках НСТ 116, что, как следствие, приводило к увеличению содержания продукта их деятельности – цитокератина 18. При этом в присутствии соединения **397** не активировалась каспаза 9 и не визуализировались изменения в мембранах митохондрий. Отметим, что при исследовании механизма действия соединения **397** на клеточную линию MCF-7 методом вестерн-блот после 18 ч инкубации каспаза 9 также не визуализировалась. В то же время соединение **397** дозозависимо активировало каспазу 8 в клетках обеих линий. Полученные данные свидетельствуют, что бромметилкетон **397** индуцирует ранний апоптоз по внешнему сигнальному пути, что приводит к конденсации хроматина без потери проницаемости митохондриальной мембраны в опухолевых клетках.

Цитотоксические свойства бромпроизводного **397** дополнительно исследованы в отношении линий опухолевых клеток HBL-100 (рак молочной железы), K562 (хронический миелолейкоз), KB-3-1 (рак ротовой полости) и их лекарственно-устойчивых вариантов HBL-100/Dox, K562/i-S9 и KB-8-5 (таблица 5). Согласно полученным данным, бромметилкетон **397** эффективно индуцировал гибель клеток с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), а в случае линии HBL-100/Dox цитотоксичность соединения **397** более чем в 30 раз превышала аналогичные показатели доксорубицина.

Таблица 5 – Данные по цитотоксической активности соединения **397**

Клеточные линии	397 (IC ₅₀ , мкМ)	Доксорубицин
HBL-100	0.8	0.5
HBL-100/Dox	1.7	55
K562	4.2	0.2
K562/i-S9	3.0	1.2
KB-3-1	12	1.0

Учитывая экспериментальные данные о высокой токсичности бромметилкетона **397** в отношении опухолевых клеток с МЛУ, проведено исследование взаимодействия данного соединения с транспортным белком Р-гликопротеином (Р-gp), который способен транспортировать из клетки широкий спектр лекарственных препаратов и отвечает за развитие одного из механизмов развития МЛУ. Выделяют два основных механизма ингибирования Р-gp: (1) воздействие на уровень экспрессии белка или (2) непосредственное взаимодействие молекулы ингибитора с Р-gp. Исследование механизма действия бромметилкетона **397** на Р-gp показало, что в первые часы обработки клеток HBL-100/Dox соединение **397** воздействует непосредственно на Р-gp, тогда как после 48 ч наблюдается ингибирование экспрессии Р-gp за счет подавления соединением **397** Р-gp кодирующего гена *MDR1*.

Учитывая экспериментальные данные о высокой токсичности бромкетона **397** в отношении раковых клеток с МЛУ, проведено исследование докингов взаимодействия данного соединения с Р-gp. В настоящее время в базах данных отсутствует кристаллическая структура Р-gp человека, поэтому в расчетах использовали модель человеческого Р-gp, полученную с помощью гомологичного моделирования. Методом молекулярного докинга с использованием программного обеспечения GOLD 5.5 (CCDC Software) установлено, что соединение **397** может взаимодействовать с Р-gp подобно классическому ингибитору верапамилу со значением оценочной функции Chemscore 29.87.

Проведена оценка способности бромметилкетона **397** влиять на цитотоксическую активность доксорубина *in vitro* в отношении раковых клеток молочной железы с Р-gp-опосредованной МЛУ. Для исследования синергического эффекта родительские клетки HBL-100 и устойчивые к доксорубину клетки HBL-100/Dox инкубировали с различными концентрациями Dox в присутствии соединения **397**. Установлено, что при добавлении субтоксической (1 мкМ) концентрации соединения **397** к

доксорубицину цитотоксичность последнего практически не изменялась в отношении родительских опухолевых клеток (таблица 6). В то время как в случае Dox-резистентных клеток HBL-100/Dox добавление бромметилкетона **397** усиливало цитотоксический эффект Dox в 11 раз, что свидетельствует об ингибирующем эффекте соединения **397** на P-gp.

Таблица 6 – Сочетанное действие доксорубицина с бромпроизводным **397** в отношении линий молочной железы HBL-100 и ее Dox-устойчивого варианта

HBL-100/Dox (IC₅₀, мкМ)

Линия	Dox*	Dox + 397 (1 мкМ)	Усиление, раз
HBL-100	0.54 ± 0.05	0.56 ± 0.04	0.96
HBL-100/Dox	46.00 ± 0.58	4.15 ± 0.08	11.08

*Dox – доксорубицин.

Таким образом, проведенное исследование зависимости биологических свойств синтезированных соединений от их структуры показало, что ключевую роль в проявлении тритерпеноидами активности оказывает фрагмент метилкетона в С(3) положении 2,3-фрагментированного кольца А или фрагмент алкенилида в пятичленном цикле А. При этом реализация противовирусных свойств обеспечивается в большей степени в случае 18 α H-олеанановых структур. В то время как лупановый тип структуры с альдегидной группой в С(30) положении тритерпеноида способствует проявлению цитотоксических свойств.

Анализ данных противовирусных свойств продуктов синтеза показал, что 18 α H-олеанановые производные с достаточно большей частотой проявляют вирусингибирующие свойства в отношении ВИЧ-1 и ВГП-1, тогда как лупановые производные более перспективны в качестве вирулицидных агентов. В качестве практически значимого предшественника для дальнейшей разработки новых противовирусных агентов отобран 3-метил-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18 α H-олеан-3-он **362**, сочетающий ингибирующую активность в отношении ВИЧ-1 (EC₅₀ 15.4 мкМ, ХТИ 9.4) и вируса герпеса простого I типа (EC₅₀ 45.1 мкМ, ХТИ 10.4). В результате скрининга противоопухолевых свойств продуктов

синтеза отобраны три высокотоксичных лупановых тритерпеноида с С(30)-альдегидной группой: метиловый эфир 1-циано-3-этил-2-норлуп-1(3),20(29)-диен-30-аль-28-овой кислоты **393**, метиловый эфир 3-(бромметил)-3-оксо-1-циано-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-30-аль-28-овой кислоты **397** и метиловый эфир 3-[1-бромэтил]-3-оксо-1-циано-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-30-аль-28-овой кислоты **401**. Среди которых метиловый эфир 3-бромметил-3-оксо-1-циано-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-30-аль-28-овой кислоты **397** выделен как высокоселективный противоопухолевый агент, 5 класса опасности ($LD_{50} > 2000$ мг/кг), активный в отношении опухолевых клеток с множественной лекарственной устойчивостью. При исследовании механизма цитотоксичности соединения **397** установлен проапоптотический характер действия тритерпеноида с индукцией каспаз 8, 3/7 и типичной апоптотической конденсацией хроматина без потери проницаемости митохондриальной мембраны.

ГЛАВА 4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

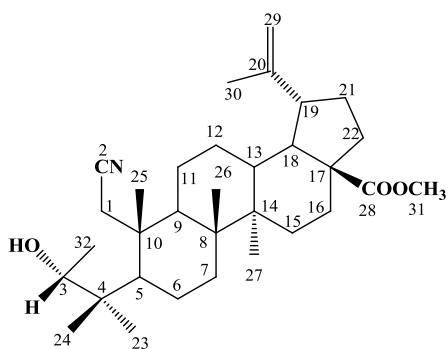
Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C соединений **359а,б**, **361**, **362**, **363а,б**, **364а,б**, **376**, **377** записаны на спектрометре «Varian Mercury+300» (300 МГц и 75.5 МГц соответственно) в растворе CDCl_3 , внутренний стандарт – гексаметилдисилоксан. Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C остальных соединений записаны на ЯМР-спектрометре Bruker AVANCE II (400 МГц и 100 МГц соответственно) в растворе CDCl_3 ; внутренний стандарт – гексаметилдисилоксан. ИК-спектры (ν , cm^{-1}) регистрировали на ИК-Фурье-спектрометре IFS 66/S Bruker (Германия) в тонкой пленке, полученной испарением раствора вещества в CHCl_3 на поверхности стекла NaCl . Пороговое значение температуры в точке плавления при скорости нагрева $1^\circ\text{C}/\text{мин}$ определяли на приборе OptiMelt MPA100 (США). Хромато-масс-спектры (ХМС) анализировали с помощью прибора «Agilent Technologies 6890N», колонка капиллярная DB-35ms 4000×0.25 мм, толщина пленки неподвижной фазы 0.25 мкм, температура испарителя 240°C с программированием температуры в пределах 20-40 град/мин, газ-носитель гелий. Определение элементного состава (*C*, *H*, *N*) исследуемых образцов выполняли с помощью элементного анализатора Vario El cube (Elementar, Германия), данные элементного анализа соответствовали расчетным значениям. Величины удельного оптического вращения измеряли для растворов в CHCl_3 на поляриметре 341 модели Perkin-Elmer (США) при длине волны 589 нм. Рентгеноструктурные исследования соединений выполнены по стандартной процедуре на дифрактометре “Xcalibur 3”, оборудованным CCD детектором ($\lambda_{\text{MoK}\alpha} = 0.71073 \text{ \AA}$, графитовый монохроматор, ω -сканирование, размер шагов сканирования – 1°). Для анализа соединений использованы бесцветные обломки кристаллов неправильной формы. Поправка на поглощение не вводилась ввиду её малости. Структура расшифрована прямым методом и уточнена методом наименьших квадратов в анизотропном полноматричном приближении для неводородных атомов с использованием программного пакета SHELXTL [175]. Атомы водорода СН-связей добавлены в геометрически рассчитанные положения и включены в уточнение в изотропном приближении с зависимыми тепловыми параметрами в модели «наездника». Контроль реакций и

чистоту полученных соединений осуществляли методом ТСХ на пластинах «Sorbfil» (Россия). Обнаружение веществ проводили обработкой H_2SO_4 (5%) с последующим прогреванием пластины при 95-100°C в течение 2-3 мин. Для колоночной хроматографии использовали силикагель марки «Merck» (60-200 μm), элюент для каждого соединения подбирали индивидуально.

Методика получения соединений 359а,б, 360а,б, 365–368, 372

К 3 мл (4.4 ммоль) свежеприготовленного раствора CH_3MgI (для соединений 359а,б, 360а,б, 365, 366, 372) или $\text{C}_2\text{H}_5\text{MgBr}$ (для соединений 367, 368) [177] в абсолютном диэтиловом эфире прибавляли небольшими порциями 2.2 ммоль соединения 320 (или 321, 326, 327, 371). Затем прикапывали 9 мл диэтилового эфира (абс.), 3 мл ТГФ (абс.) и нагревали полученную реакционную смесь при перемешивании в течение 1 ч с обратным холодильником так, чтобы смесь умеренно кипела. После окончания реакции (контроль методом ТСХ) реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, и добавляли последовательно по каплям 15 мл ледяной воды и 10 мл смеси $\text{HCl}:\text{H}_2\text{O}$ (1:1). Полученный раствор перемешивали до полного растворения осадка в течение 1 ч. Продукты реакции экстрагировали этилацетатом (3 x 20 мл), органический слой отделяли, промывали насыщенным раствором NaHSO_3 , затем 5%-ным раствором NaHCO_3 и небольшим количеством воды, сушили над безводным MgSO_4 . Растворитель упаривали, остаток очищали с помощью метода колоночной хроматографии (элюент: петролейный эфир–этилацетат 10:1).

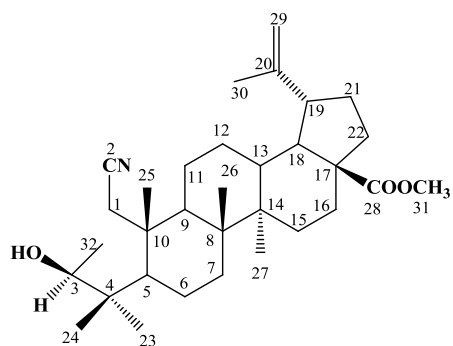
Метилловый эфир (3R)-3-гидрокси-3-метил-1-циано-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-28-овой кислоты (359а)



Выход: 25%, R_f 0.4 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 75.5 °С (петролейный эфир–этилацетат 10:1), $[\alpha]_D^{25} +16.0$ (с 0.5; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1725 (COOCH_3), 2239 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 3512 (ОН). Спектр ЯМР ^1H (300 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.83, 0.94, 1.09 (9H, 3с, CH_3 x 3), 1.00 (6H, с, CH_3 x 2),

1.10 (3H, д, $J = 6.9$, CH₃), 1.67 (3H, с, Н-30), 2.60 и 2.74 (2H, 2д, $J = 18.0$, Н-1), 2.99 (1H, тд, $J = 12.0$, 5.1, Н-19), 3.65 (3H, с, COOCH₃), 3.85 (1H, к, $J = 6.9$, Н-3), 4.60 и 4.72 (2H, 2с, Н-29). Спектр ЯМР ¹³C (75.5 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 14.57, 15.99, 17.55, 17.82, 19.19, 21.11, 21.22, 22.07, 22.93, 25.69, 29.47, 29.57, 30.42, 31.88, 33.45, 36.81, 38.33, 40.73, 42.35, 42.59, 42.79, 45.56, 46.83, 47.14, 49.13, 51.26, 56.51, 73.02 (С-3), 109.77 (С-29), 118.92 (С-2), 150.28 (С-20), 176.62 (С-28).

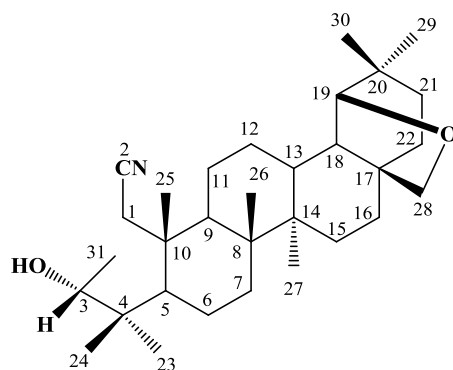
Метилвый эфир (3S)-3-гидрокси-3-метил-1-циано-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-28-овой кислоты (3596)



Выход: 63%, R_f 0.3 (петролейный эфир-этилацетат 7:3), т. пл. 205.3 °С (петролейный эфир-этилацетат 10:1), $[\alpha]_D^{25} +22.2$ (с 0.5; CHCl₃). ИК спектр (ν , см⁻¹): 1723 (COOCH₃), 2240 (C≡N), 3538 (ОН). Спектр ЯМР ¹H (300 МГц, CDCl₃, δ, м.д., $J/\text{Гц}$): 0.94, 0.97, 0.99, 1.00, 1.05 (15H, 5с, CH₃ x 5),

1.24 (3H, д, $J = 6.3$, CH₃), 1.67 (3H, с, Н-30), 2.60 и 2.76 (2H, 2д, $J = 18.0$, Н-1), 2.99 (1H, тд, $J = 10.2$, 5.1, Н-19), 3.65 (3H, с, COOCH₃), 3.82 (1H, к, $J = 6.3$, Н-3), 4.60 и 4.72 (2H, 2с, Н-29). Спектр ЯМР ¹³C (75.5 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 14.57, 15.95, 18.34, 18.71, 19.20, 20.87, 21.00, 21.15, 21.98, 22.03, 25.67, 29.60, 29.65, 30.42, 31.88, 33.40, 36.80, 38.32, 40.62, 42.59, 42.75, 45.40, 46.83, 47.30, 49.13, 51.26, 56.51, 72.83 (С-3), 109.80 (С-29), 119.20 (С-2), 150.26 (С-20), 176.62 (С-28).

(3R)-3-Гидрокси-3-метил-1-циано-19β,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18αH-олеанан (360a)



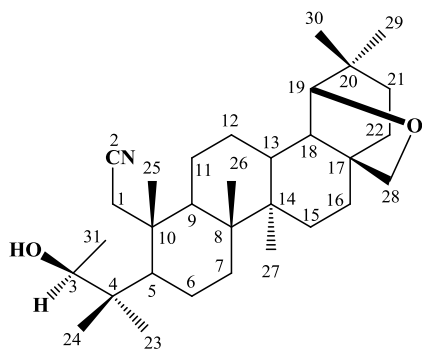
Выход: 16%, R_f 0.3 (петролейный эфир-этилацетат 7:3), т. пл. 156.5 °С (петролейный эфир-этилацетат 10:1), $[\alpha]_D^{25} +23.8$ (с 0.5; CHCl₃). ИК спектр (ν , см⁻¹): 2241 (C≡N), 3425 (ОН). Масс-спектр m/z (I , %): 469.5 (100%).

Данные спектров ЯМР ¹H и ¹³C приведены

в таблице 2.

Основные параметры структурных экспериментов: кристалл размером 0.19 x 0.13 x 0.06 мм, сингония моноклинная, пространственная группа $P2_1$, параметры элементарной ячейки: $a = 13.3359(19) \text{ \AA}$, $b = 7.6697(9) \text{ \AA}$, $c = 14.0732(11) \text{ \AA}$, $\beta = 97.414(8)^\circ$, $V = 1327.4(3) \text{ \AA}^3$, $Z = 2$, $d_{\text{выч.}} = 1.093 \text{ г/см}^3$, $\mu = 0.066 \text{ мм}^{-1}$, область сканирования (θ): от $2.92^\circ \leq$ до $\leq 26.38^\circ$, полнота сканирования 97.5%, измерено отражений 7380, из них независимых 4446 ($R_{\text{int}} = 0.0536$), в том числе отражений с $I > 2\sigma(I)$ 1891, $S = 0.998$, R_1 (по $I > 2\sigma(I)$) = 0.0489, wR_2 (по $I > 2\sigma(I)$) = 0.0520, R_1 (по всем отражениям) = 0.1381, wR_2 (по всем отражениям) = 0.0569, $\Delta\rho_e = 0.122$ и $-0.137 \text{ e} \cdot \text{ \AA}^{-3}$.

(3S)-3-Гидрокси-3-метил-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18 α H-олеанан (3606)

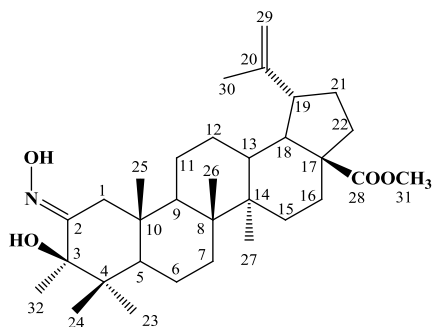


Выход: 32%, R_f 0.2 (петролейный эфир-этилацетат 7:3), т. пл. 235.9°C (петролейный эфир-этилацетат 10:1), $[\alpha]_D^{25} +26.4$ (c 0.5; CHCl_3). ИК спектр (ν , см^{-1}): 2241($\text{C}\equiv\text{N}$), 3425 (ОН).

Данные спектров ЯМР ^1H и ^{13}C приведены в таблице 2.

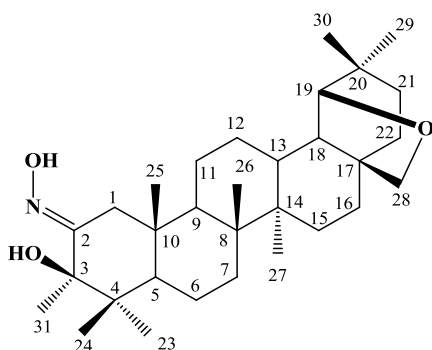
Основные параметры структурных экспериментов: ромбическая сингония, пространственная группа $P2_12_12_1$, $\text{C}_{31}\text{H}_{51}\text{NO}_2$, M 469.72, a 10.934(3), b 12.785(4), c 20.020(9) \AA , V 2798.8(16) \AA^3 , Z 4, $d_{\text{выч.}} = 1.115 \text{ г/см}^3$; μ 0.068 мм^{-1} . Окончательные параметры уточнения: R_1 0.0729 [для 3132 отражений с $I > 2\sigma(I)$], wR_2 0.2189 (для всех 5831 независимых отражений, R_{int} 0.0378), S 1.038.

Метилловый эфир (3R)-3β-гидрокси-2-гидроксимино-3-метил-луп-20(29)-ен-28-овой кислоты (365)



Выход: 88%, R_f 0.6 (хлороформ-метанол 20:1), т. пл. 204.6°C (петролейный эфир-этилацетат 5:1); $[\alpha]_D^{25} +21.9$ (с 1,4; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1644 (C=N), 1719 (COOCH_3), уш. 3344 (ОН). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.69 (6H, с, CH_3 x 2), 0.85, 0.89, 0.94, 1.28 (12H, 4с, CH_3 x 4), 1.62 (3H, с, H-30), 2.15 и 3.29 (2H, 2д, $J = 13.0$, H-1), 2.93 (1H, тд, $J = 10.9$, 4.5, H-19), 3.61 (3H, с, COOCH_3), 4.55 и 4.67 (2H, 2с, H-29), 5.24 (1H, уш. с., ОН). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 14.30, 15.21, 16.28, 18.03, 18.37, 18.88, 20.75, 22.91, 23.51, 24.90, 29.23, 30.13, 31.67, 33.76, 35.53, 36.44, 37.75, 40.64, 40.76, 41.99, 43.80, 46.44, 49.04, 49.93, 50.73, 52.90, 56.07, 109.13 (C-29), 149.90 (C-20), 162.37 (C-2), 176.14 (C-28). ЯМР ^{13}C (100 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 14.58, 15.32, 16.57, 18.41, 18.65, 18.97, 20.67, 23.60, 23.86, 24.90, 29.24, 30.10, 31.47, 33.67, 35.06, 36.13, 37.69, 40.39, 40.52, 42.06, 43.47, 46.59, 48.79, 49.12, 51.14, 52.32, 55.92, 75.62 (C-3), 109.66 (C-29), 150.04 (C-20), 159.52 (C-2), 175.65 (C-28).

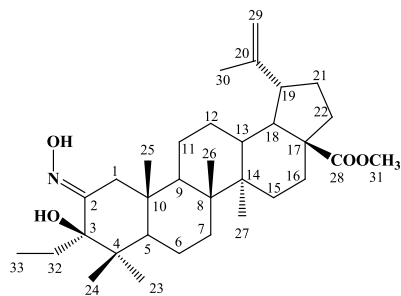
(3R)-3β-Гидрокси-2-гидроксимино-3-метил-19β,28-эпокси-18αH-олеанан (366)



Выход: 86%, R_f 0.6 (хлороформ-метанол 20:1), т. пл. 193.7°C (петролейный эфир-этилацетат 5:1); $[\alpha]_D^{25} +43.4$ (с 1,4; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1654 (C=N), 3460 (ОН). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.71, 0.73, 0.75, 0.88, 0.89, 1.31 (18H, бс, CH_3 x 6), 0.91 (6H, 2с, CH_3 x 2), 1.62 и 3.34 (2H, 2д, $J = 12.9$, H-1), 3.39 и 3.72 (2H, 2д, $J = 7.8$, H-28), 3.48 (1H, с, H-19), 4.72 (1H, уш. с., ОН). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13.06, 14.97, 16.67, 18.09, 18.33, 20.86, 22.10, 22.96, 23.53, 24.02, 25.76, 25.99, 28.27, 29.16, 32.25, 33.32, 33.66, 35.77, 36.26, 40.32, 40.58, 40.87, 41.01, 43.88, 46.35, 50.45, 53.02, 70.75 (C-28), 87.43 (C-19), 162.63 (C-2). ЯМР ^{13}C (100 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 13.41, 15.09,

16.87, 18.36, 18.71, 20.82, 23.70, 23.89, 24.19, 25.79, 26.06, 28.75 (2C), 32.48, 33.20, 33.74, 35.33, 35.89, 36.06, 40.08, 40.34, 40.45, 40.92, 43.47, 46.17, 49.61, 52.45, 70.28 (C-28), 75.66 (C-3), 86.73 (C-19), 159.56 (C-2).

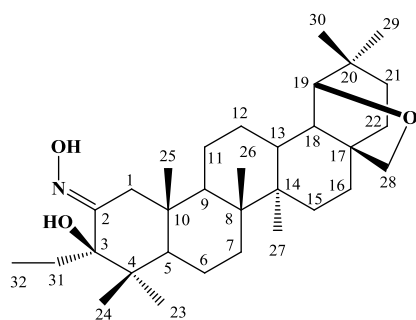
Метилловый эфир (3R)-3β-гидрокси-2-гидроксимино-3-этил-луп-20(29)-ен-28-овой кислоты (367)



Выход: 42%, R_f 0.6 (хлороформ–метанол 20:1), т. пл. 101.4 °С (петролейный эфир–этилацетат 10:1), $[\alpha]_D^{23} +22.2$ (c 0.9; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1642 (C=N), 1726 (COOCH_3), 3330 и 3423 (OH). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.,

$J/\text{Гц}$): 0.66 (3H, т, $J = 7.5$, H-33), 0.69, 0.71, 0.85, 0.88, 0.94 (15H, 5с, $\text{CH}_3 \times 5$), 1.62 (3H, с, H-30), 1.83 и 3.30 (2H, 2д, $J = 12.0$, H-1), 2.93 (1H, тд, $J = 10.9$, 4.4, H-19), 3.61 (3H, с, COOCH_3), 4.54 и 4.67 (2H, 2с, H-29). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7.36, 14.84, 15.75, 16.85, 18.89, 18.96, 19.38, 21.26, 23.96, 25.40, 26.68, 29.68, 29.73, 30.62, 32.18, 34.32, 36.95, 38.26, 41.16, 41.36, 42.52, 44.87, 46.96, 49.54, 50.48, 51.25, 53.14, 56.56, 77.20 (C-3), 109.66 (C-29), 150.42 (C-20), 161.68 (C-2), 176.63 (C-28).

(3R)-3β-Гидрокси-2-гидроксимино-3-этил-19β,28-эпокси-18αH-олеанан (368)



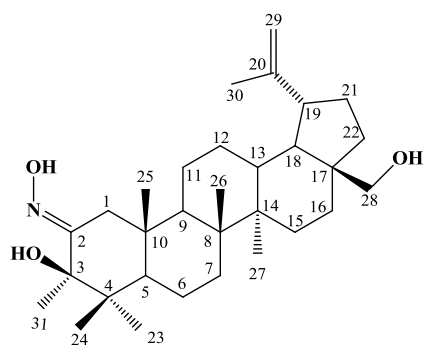
Выход: 53%, R_f 0.5 (хлороформ–метанол 20:1), т. пл. 209.9 °С (петролейный эфир–этилацетат 10:1), $[\alpha]_D^{23} +55.5$ (c 0.4; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1654 (C=N), 3314 (OH). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.67 (3H, т, $J = 7.2$, H-32), 0.69,

0.73, 0.74, 0.87, 0.90 (15H, 5с, $\text{CH}_3 \times 5$), 0.88 (6H, с, $\text{CH}_3 \times 2$), 1.78 (2H, кв., $J = 7.2$, H-31), 1.61 и 3.35 (2H, 2д, $J = 13.3$, H-1), 3.41 и 3.74 (2H, 2д, $J = 7.8$, H-28), 3.49 (1H, с, H-19). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 6.91, 13.10, 14.98, 16.80, 18.33, 18.51, 20.88, 23.48, 24.04, 25.74, 25.77, 25.99, 26.07, 28.26, 32.21, 33.37,

33.62, 35.74, 35.92, 36.21, 40.29, 40.56, 40.72, 41.04, 44.22, 46.29, 50.40, 52.73, 70.77 (C-28), 78.72 (C-3), 87.43 (C-19), 159.95 (C-2).

Для анализа методом РСА соединения **368** использован бесцветный кристалл размером 0.41×0.24×0.14 мм. Кристалл ромбической сингонии, пространственная группа $P2_12_12_1$, a 7.856(2), b 17.351(6), c 21.491(5) Å, V 2929.3(15) Å³, M 499.75, $d_{\text{выч.}}$ 1.133 г/см³, μ 0.071 мм⁻¹, C₃₂H₅₃NO₃, Z 4. Окончательные параметры уточнения: R_1 0.0642, wR_2 0.1517 [для 3235 отражений с $I > 2\sigma(I)$], R_1 0.1239 wR_2 0.2033 (для всех 6323 независимых отражений), S 1.010.

(3R)-3β-Гидрокси-2-гидроксимино-3-метил-луп-20(29)-ен-28-ол (372)



Выход: 63%; R_f 0.4 (петролейный эфир-этилацетат 5:1), т. пл. 206.9 °С (петролейный эфир-этилацетат 7:3), $[\alpha]_D^{25} +33.1$ (c 0.5; CHCl₃). ИК-спектр (ν , см⁻¹): 1641 (C=N), 3452 (ОН). Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ , м.д., J /Гц): 0.80, 0.81, 1.01, 1.06, 1.07, 1.39 (18H, бс, CH₃ х 6), 1.72 (3H, с, Н-30), 1.92 и 3.40 (2H, 2д, J = 12.9, Н-1), 2.42 (1H, тд, J = 10.9, 5.8, Н-19), 3.39 и 3.82 (2H, 2д, J = 11.0, Н-28), 4.62 и 4.72 (2H, 2с, Н-29). Спектр ЯМР ¹³C (100 МГц, CDCl₃, δ , м.д.): 14.36, 15.27, 16.27, 18.04, 18.39, 18.58, 20.76, 22.00, 22.96, 23.46, 24.72, 26.72, 28.81, 29.40, 33.50, 33.74, 35.77, 36.92, 40.96 (2С), 42.38, 44.00, 47.32 (2С), 48.43, 49.93, 52.90, 60.17, 109.17 (C-29), 149.75 (C-2, C-20).

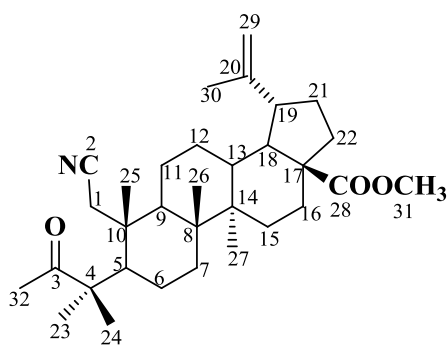
Методика получения алкилкетонов **361**, **362**, **369**, **370**, **374**

Метод А (для соединений **361**, **362**). Смесь соединений **359а,б** или **360а,б** (0.25 ммоль) растворяли в ацетоне (20 мл) и добавляли реактив Джонса (0.5 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 6 ч при комнатной температуре. Затем ацетон отгоняли, остаток разбавляли водой и экстрагировали этилацетатом (3 х 20 мл). Органический слой сушили над безводным MgSO₄. Растворитель упаривали, остаток очищали с помощью колоночной хроматографии.

Метод Б. 1.2 Ммоль соединений **365** (**366**, **367**, **368** или **373**) растворяли при перемешивании в 50 мл абс. CH₂Cl₂, добавляли 3.6 ммоль SOCl₂. Реакционную

смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. После окончания реакции (по данным ТСХ) растворитель упаривали, остаток промывали CH_2Cl_2 для избавления от следов SOCl_2 . Процедуру повторяли дважды. Продукт реакции очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: петролейный эфир–этилацетат 10:1).

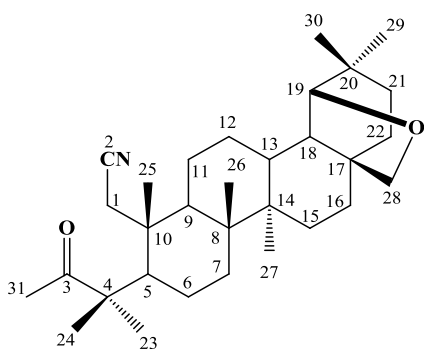
Метилловый эфир 3-метил-3-оксо-1-циано-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-28-овой кислоты (361)



Выход: 65% (метод А), 83% (метод Б), R_f 0.6 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 229.8 °С (петролейный эфир–этилацетат 5:1), $[\alpha]_D^{25} +29.1$ (c 0.5; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1705 (C=O), 1723 (COOCH_3), 2236 ($\text{C}\equiv\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (300 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.92, 0.94, 1.02, 1.14, 1.21

(15H, 5с, CH_3 x 5), 1.68 (3H, с, H-30), 2.28 (3H, с, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 2.42 и 2.55 (2H, 2д, $J = 18.2$, H-1), 2.97 (1H, тд, $J = 12.0, 5.7$, H-19), 3.65 (3H, с, COOCH_3), 4.60 и 4.73 (2H, 2с, H-29). Спектр ЯМР ^{13}C (75.5 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 14.64, 15.63, 18.84, 19.17, 21.32, 21.68, 23.65, 23.92, 25.38, 25.74, 29.43, 29.59, 30.39, 31.83, 33.25, 36.77, 38.15, 40.47, 42.45, 42.73, 45.13, 46.85, 48.63, 49.12, 51.28, 53.03, 56.45, 109.85 (C-29), 118.68 (C-2), 150.21 (C-20), 176.54 (C-28), 214.41 (C-3).

3-Метил-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18 α H-олеан-3-он (362)



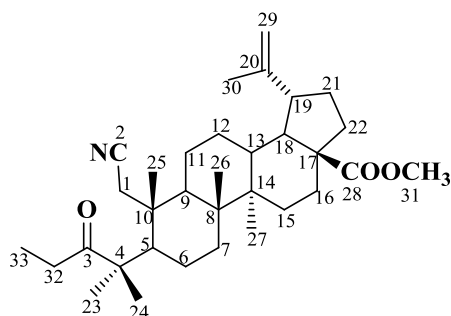
Выход: 42% (метод А), 79% (метод Б), R_f 0.4 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 163.4 °С (петролейный эфир–этилацетат 5:1), $[\alpha]_D^{25} +26.7$ (c 0.5; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1695 (C=O), 2238 ($\text{C}\equiv\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (300 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.79, 0.92, 0.97, 1.15, 1.22 (15H, 5с, CH_3 x 5),

0.96 (6H, с, CH_3 x 2), 2.29 (3H, с, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 2.44 и 2.59 (2H, 2д, $J = 18.0$, H-1), 3.44 и 3.75 (2H, 2д, $J = 7.7$, H-28), 3.52 (H, с, H-19). Спектр ЯМР ^{13}C (75.5 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13.50, 15.51, 19.13, 21.26, 21.78, 23.59, 24.04, 24.49, 25.76, 26.09, 26.28,

26.41, 28.74, 29.58, 32.63, 32.81, 34.27, 36.24, 36.59, 40.40, 41.09, 41.43, 42.52, 45.63, 46.56, 48.78, 53.03, 71.22 (C-28), 87.82 (C-19), 118.66 (C-2), 214.39 (C-3). Масс-спектр m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 517.3 $[M]^+$ (100).

Основные параметры структурных экспериментов: кристалл размером 0.19 x 0.14 x 0.06 мм, сингония моноклинная, пространственная группа $P2_1$, параметры элементарной ячейки: $a = 13.6333(14)$ Å, $b = 7.5666(4)$ Å, $c = 29.012(3)$ Å, $\beta = 99.986(8)^\circ$, $V = 2947.4(4)$ Å³, $Z = 4$, $d_{\text{выч.}} = 1.153$ г/см³, $\mu = 0.072$ мм⁻¹, область сканирования (θ): от $2.78^\circ \leq$ до $\leq 26.38^\circ$, полнота сканирования 99.7%, измерено отражений 21732, из них независимых 9195 ($R_{\text{int}} = 0.0536$), в том числе отражений с $I > 2\sigma(I)$ 3168, $S = 0.987$, R_1 (по $I > 2\sigma(I)$) = 0.0486, wR_2 (по $I > 2\sigma(I)$) = 0.0790, R_1 (по всем отражениям) = 0.1526, wR_2 (по всем отражениям) = 0.0854, $\Delta\rho_e = 0.228$ и -0.172 е·Å⁻³.

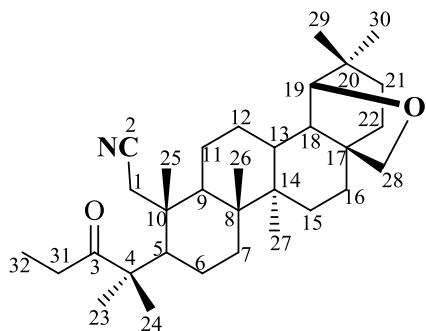
Метилловый эфир 3-оксо-1-циано-3-этил-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-28-овой кислоты (369)



Выход: 54% (метод Б), R_f 0.7 (хлороформ-метанол 20:1), т. пл. 135.1 °С (петролейный эфир-этилацетат 15:1), $[\alpha]_D^{25} +28.3$ (c 0.4; $CHCl_3$). ИК спектр (ν , см⁻¹): 1704 (C=O), 1724 (COOCH₃), 2239 (C≡N). Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ , м.д.,

$J/\text{Гц}$): 0.86, 0.89, 0.97, 1.10, 1.17 (15H, 5с, CH₃ x 5), 1.02 (3H, т, $J = 7.2$, H-33), 1.62 (3H, с, H-30), 2.31 и 2.48 (2H, 2д, $J = 18.5$, H-1), 2.49 и 2.68 (2H, 2дкв, $J = 17.7, 7.2$, H-32), 2.93 (1H, тд, $J = 10.6, 4.6$, H-19), 3.59 (3H, с, COOCH₃), 4.55 и 4.67 (2H, 2с, H-29). Спектр ЯМР ¹³C (100 МГц, CDCl₃, δ , м.д.): 8.71, 14.64, 15.66, 18.80, 19.21, 21.59, 21.76, 23.86, 24.13, 25.47, 29.50, 29.64, 30.33, 30.48, 31.89, 33.28, 36.80, 38.25, 40.52, 42.42, 42.80, 45.23, 46.91, 48.79, 49.23, 51.21, 52.89, 56.52, 109.82 (C-29), 118.54 (C-2), 150.23 (C-20), 176.54 (C-28), 216.78 (C-3). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 509.4 $[M]^+$ (100).

1-Циано-3-этил-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18 α H-олеан-3-он (370)

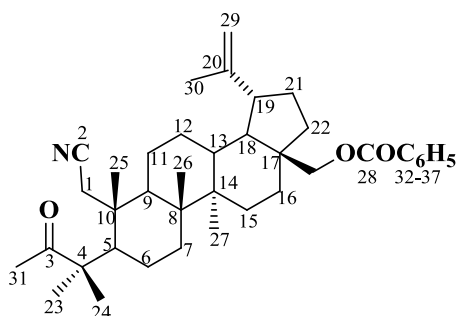


Выход: 67% (метод Б), R_f 0.7 (хлороформ–метанол 20:1), т. пл. 161.4 °С (гексан–дихлорметан 20:1), $[\alpha]_D^{23} +66.4$ (c 0.5; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1704 (C=O), 2237 (C \equiv N). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.74, 0.87, 0.92, 1.11, 1.17 (15H,

5с, $\text{CH}_3 \times 5$), 0.91 (6H, с, 2 CH_3), 1.03 (3H, т, $J = 7.2$, H-32), 2.34 и 2.50 (2H, 2д, $J = 18.0$, H-1), 2.50 и 2.69 (2H, 2дкв., $J = 17.7, 7.2$, H-31), 3.39 и 3.69 (2H, 2д, $J = 7.8$, H-28), 3.46 (H, с, H-19). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8.20, 12.98, 15.04, 18.57, 21.01, 21.34, 23.52, 23.54, 24.01, 25.64, 25.82, 25.95, 28.26, 29.14, 29.87, 32.21, 32.33, 33.84, 35.76, 36.16, 39.93, 40.65, 40.97, 41.98, 45.22, 46.13, 48.47, 52.36, 70.75 (C-28), 87.36 (C-19), 118.01 (C-2), 216.27 (C-3). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 481.4 $[\text{M}]^+$ (100).

Для анализа соединения **370** методом РСА использован бесцветный кристалл размером 0.53×0.30×0.25 мм. Кристалл ромбической сингонии, пространственная группа $P2_12_12_1$, a 15.2289(18), b 18.806(3), c 19.5744(17) Å, V 5606.1(11) Å 3 , M 481.73, $d_{\text{выч.}}$ 1.142 г/см 3 , μ 0.069 мм $^{-1}$, $\text{C}_{32}\text{H}_{51}\text{NO}_2$, Z 8. Окончательные параметры уточнения: R_1 0.0538, wR_2 0.1105 [для 9588 отражений с $I > 2\sigma(I)$], R_1 0.0863 wR_2 0.1307 (для всех 13477 независимых отражений), S 1.019.

28-Бензоилокси-3-метил-3-оксо-1-циано-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен (374)



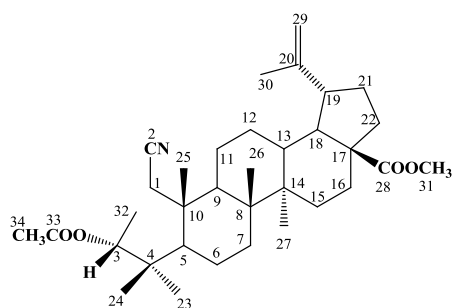
Выход: 65% (метод Б), R_f 0.4 (петролейный эфир–этилацетат 5:1), т. пл. 125.9 °С (петролейный эфир–этилацетат 10:1), $[\alpha]_D^{25} +26.4$ (c 0.5; CHCl_3). ИК-спектр (ν , cm^{-1}): 1715 (C=O, COOPh), 2238 (C \equiv N). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.90, 1.01, 1.02, 1.09, 1.16 (15H, 5с, $\text{CH}_3 \times 5$), 1.64 (3H, с, H-30), 2.21 (3H, с, C(O) CH_3), 2.37 и 2.47 (2H, 2д, $J = 18.0$, H-1), 2.42–2.49 (1H, м, H-19), 4.03 и 4.45 (2H, 2д, $J = 11.1$, H-28), 4.56 и 4.65 (2H, 2с, H-29),

7.37 (2H, уш.т., $J = 7.6$, аром.-H), 7.48 (1H, уш.т., $J = 7.4$, аром.-H), 7.97 (2H, уш.д., $J = 8.4$, аром.-H). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 14.29, 15.27, 18.33, 18.57, 20.87, 21.17, 23.23, 23.56, 24.73, 25.23, 26.68, 28.95, 29.11, 29.28, 32.72, 34.14, 37.32, 40.31, 41.98, 42.73, 44.60, 46.24, 47.28, 48.20, 48.26, 52.56, 62.68, 109.63 (C-29), 118.10 (C-2), 127.87 (2C), 129.03 (2C), 129.98, 132.37, 149.33 (C-20), 166.40, 213.67 (C-3).

Методика получения соединений 363а,б и 364а,б

0.53 Ммоль соединений **359а** (**359б**, **360а** или **360б**) нагревали (не доводя до кипения) в 6 мл уксусного ангидрида в течение 7 ч. После окончания реакции (по данным ТСХ) реакционную смесь разбавляли водой, экстрагировали этилацетатом (3 x 20 мл). Органический слой отделяли, промывали насыщенным раствором NaHCO_3 , сушили над безводным MgSO_4 , упаривали. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (элюент: петролейный эфир–этилацетат 10:1).

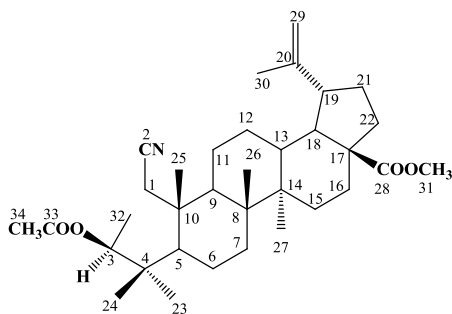
Метилловый эфир (3R)-3-ацетокси-3-метил-1-циано-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-28-овой кислоты (363а)



Выход: 83%, R_f 0.7 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 208.7 °С (петролейный эфир–этилацетат 10:1), $[\alpha]_D^{25} +25.0$ (c 0.5; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1727 (CH_3COO , COOCH_3), 2239 ($\text{C}\equiv\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (300 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.84, 0.93, 1.19 (9H, 3с, CH_3 x 3), 0.97 (6H, с,

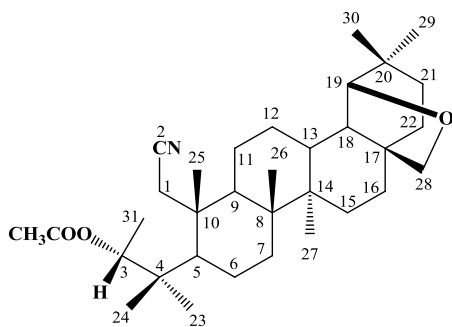
CH_3 x 2), 1.09 (3H, д, $J = 6.3$, CH_3), 1.67 (3H, с, H-30), 2.13 (3H, с, CH_3COO), 2.73 и 2.75 (2H, 2д, $J = 18.0$, H-1), 2.99 (1H, тд, $J = 10.7$, 4.8, H-19), 3.65 (3H, с, COOCH_3), 4.60 и 4.72 (2H, 2с, H-29), 5.10 (1H, к, $J = 6.3$, H-3). Спектр ЯМР ^{13}C (75.5 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 14.10, 14.47, 16.04, 16.62, 17.83, 19.18, 21.13, 21.47, 22.03, 22.06, 25.73, 29.36, 29.55, 30.44, 31.88, 33.38, 36.81, 38.36, 40.69, 41.81, 42.36, 42.77, 45.26, 46.28, 46.85, 49.14, 51.26, 56.53, 74.33 (C-3), 109.75 (C-29), 118.73 (C-2), 150.35 (C-20), 171.45, 176.64 (C-28).

Метилловый эфир (3S)-3-ацетокси-3-метил-1-циано-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-28-овой кислоты (363б)



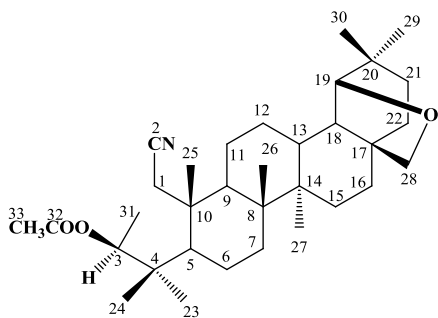
Выход: 85%, R_f 0.6 (петролейный эфир-этилацетат 10:1), т. пл. 191.6 °С (петролейный эфир-этилацетат 10:1), $[\alpha]_D^{25} +28.4$ (c 0.5; CHCl_3). ИК спектр (ν , см^{-1}): 1724 (CH_3COO , COOCH_3), 2244 ($\text{C}\equiv\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (300 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.87 (6H, с, $\text{CH}_3 \times 2$), 0.93, 0.98, 1.00 (9H, 3с, $\text{CH}_3 \times 3$), 1.25 (3H, д, $J = 6.0$, CH_3), 1.67 (3H, с, H-30), 2.03 (3H, с, CH_3COO), 2.60 и 2.71 (2H, 2д, $J = 17.7$, H-1), 2.99 (1H, тд, $J = 10.5$, H-19), 3.65 (3H, с, COOCH_3), 4.60 и 4.72 (2H, 2с, H-29), 5.06 (1H, к, $J = 6.0$, H-3). Спектр ЯМР ^{13}C (75.5 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 11.41, 14.10, 14.55, 15.59, 16.01, 18.36, 18.74, 19.22, 21.29, 21.88, 22.02, 22.07, 29.61, 29.68, 30.44, 31.57, 31.88, 33.37, 36.81, 38.32, 40.67, 42.01, 42.78, 45.39, 46.83, 49.15, 51.28, 56.53, 75.38 (C-3), 109.80 (C-29), 118.97 (C-2), 150.31 (C-20), 170.84, 176.62 (C-28).

(3R)-3-Ацетокси-3-метил-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18 α H-олеанан (364а)



Выход: 83%, R_f 0.6 (петролейный эфир-этилацетат 7:3), т. пл. 197.3 °С (петролейный эфир-этилацетат 10:1), $[\alpha]_D^{25} +20.4$ (c 0.5; CHCl_3). ИК спектр (ν , см^{-1}): 1729 (CH_3COO), 2234 ($\text{C}\equiv\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (300 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.78, 0.85, 0.98, 1.00, 1.20 (15H, 5с, $\text{CH}_3 \times 5$), 0.92 (6H, с, $\text{CH}_3 \times 2$), 1.10 (3H, д, $J = 6.6$, CH_3), 2.13 (3H, с, CH_3COO), 2.61 и 2.77 (2H, 2д, $J = 18.0$, H-1), 3.44 и 3.75 (2H, 2д, $J = 7.8$, H-28), 3.52 (1H, с, H-19), 5.10 (H, к, $J = 6.6$, H-3). Спектр ЯМР ^{13}C (75.5 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13.20, 14.10, 15.10, 18.08, 21.03, 21.47, 21.92, 22.03, 22.06, 24.48, 26.10, 26.33, 26.50, 28.75, 29.50, 32.63, 32.85, 34.33, 36.21, 36.57, 40.53, 41.05, 41.43, 41.78, 42.37, 45.71, 46.36, 46.50, 71.25 (C-28), 74.37 (C-3), 87.77 (C-19), 118.66 (C-2), 171.39.

(3S)-3-Ацетокси-3-метил-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18 α H-олеанан (3646)

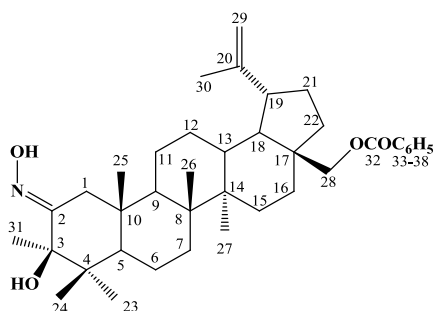


Выход: 81%, R_f 0.5 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 184.2 °С (петролейный эфир–этилацетат 10:1), $[\alpha]_D^{25} +20.1$ (с 0.5; CHCl_3). ИК спектр (ν , см^{-1}): 1731 (CH_3COO), 2240 ($\text{C}\equiv\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (300 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.79, 0.89, 0.93, 0.95, 0.99, 1.02, 1.17 (21H, 7с, CH_3 x 7), 1.26

(3H, д, $J = 6.3$, CH_3), 2.04 (3H, с, CH_3COO), 2.64 и 2.75 (2H, 2д, $J = 18.0$, H-1), 3.45 и 3.76 (2H, 2д, $J = 7.8$, H-28), 3.53 (1H, с, H-19), 5.07 (1H, к, $J = 6.3$, H-3). Спектр ЯМР ^{13}C (75.5 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13.33, 15.56, 15.87, 18.59, 21.15, 21.24, 21.26, 21.85, 22.03, 24.49, 26.10, 26.37, 26.46, 28.74, 29.61, 32.64, 32.85, 34.33, 36.21, 36.57, 40.51, 41.07, 41.43, 41.97, 42.77, 45.84, 46.51, 46.89, 71.23 (C-28), 75.36 (C-3), 87.78 (C-19), 118.88 (C-2), 170.77 (C-32).

Методика синтеза (3R)-28-бензоилокси-3 β -гидрокси-3-метил-2-гидроксимино-луп-20(29)-ена (373)

К раствору соединения **372** (2 ммоль) в пиридине (15 мл) последовательно добавляли ДМАП (2 ммоль) и бензоилхлорид (4 ммоль). Реакционную смесь выдерживали в течение 24 ч при комнатной температуре. После окончания реакции смесь заливали 20%-ным раствором HCl (20 мл) и экстрагировали этилацетатом (3 x 20 мл). Органический слой промывали раствором NaHCO_3 и небольшим количеством воды, отделяли, сушили над безводным MgSO_4 , упаривали в вакууме водоструйного насоса. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (элюент: петролейный эфир–этилацетат 7:1).

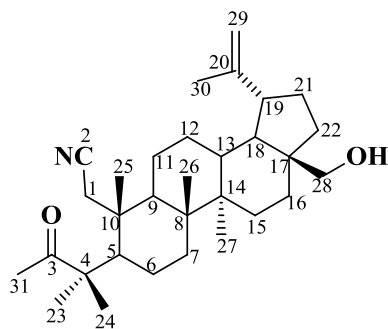


Выход: 55%, R_f 0.4 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 155.1 °С (петролейный эфир–этилацетат 10:1), $[\alpha]_D^{25} +2.5$ (с 0.5; CHCl_3). ИК спектр (ν , см^{-1}): 1641 ($\text{C}=\text{N}$), 1717 (OCOPh), 3502 (OH). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.,

$J/\text{Гц}$): 0.87, 0.88, 0.90, 0.91, 1.09, 1.11 (18H, 6с, $\text{CH}_3 \times 6$), 1.75 (3H, с, Н-30), 1.98 и 3.44 (2H, 2д, $J = 12.9$, Н-1), 2.55-2.60 (1H, м, Н-19), 4.14 и 4.56 (2H, 2д, $J = 11.0$, Н-28), 4.66 и 4.77 (2H, 2с, Н-29), 7.56-7.65 (3H, м, аром.-Н), 8.07 (2H, уш.д., $J = 7.1$, аром.-Н). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13.53, 14.42, 15.40, 16.27, 18.44, 18.67, 20.67, 22.11, 23.10, 23.44, 24.68, 24.78, 26.74, 28.54, 29.21, 29.48, 31.05, 33.59, 37.18, 40.96, 42.44, 44.61, 46.26, 47.32, 48.39, 49.83, 52.95, 62.70, 109.43 (C-29), 127.87 (2C), 129.05 (2C), 129.99, 132.39, 149.58 (C-2, C-20), 166.44.

Методика синтеза 3-метил-3-оксо-1-циано-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-28-ола (375)

Соединение **374** (1.3 ммоль) растворяли в 30 мл раствора 3% КОН в $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$. Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 1 ч. После прохождения реакции (по данным ТСХ) растворитель отгоняли, к остатку добавляли 30 мл воды, продукт экстрагировали этилацетатом (3 x 20 мл). Органический слой отделяли, промывали водой, сушили над безводным MgSO_4 , упаривали. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (элюент: петролейный эфир–этилацетат 10:1).



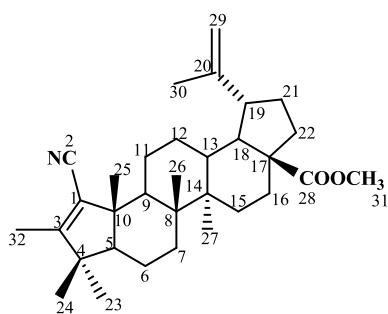
Выход: 80%, R_f 0.4 (петролейный эфир–этилацетат 7:1), т. пл. 181.1 °С (петролейный эфир–этилацетат 10:1), $[\alpha]_D^{25} +4.3$ (с 0.5; CHCl_3). ИК спектр (ν , см^{-1}): 1699 (C=O), 2240 (C≡N), 3483 (OH). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.96, 1.03, 1.06, 1.15, 1.22 (15H, 5с, $\text{CH}_3 \times 5$), 1.69 (3H, с,

Н-30), 2.28 (3H, с, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 2.43 и 2.53 (2H, 2д, $J = 18.0$, Н-1), 2.39 (1H, тд, $J = 10.8$, 6.0, Н-19), 3.35 и 3.77 (2H, 2д, $J = 10.7$, Н-28), 4.59 и 4.68 (2H, 2с, Н-29). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 14.23, 15.20, 18.31, 18.47, 20.88, 21.21, 23.20, 23.57, 24.70, 25.25, 26.58, 28.49, 28.94, 29.21, 32.75, 33.40, 36.95, 40.32, 41.98, 42.68, 44.61, 47.28 (2C), 48.07, 48.27, 52.57, 60.04, 109.40 (C-29), 118.09 (C-2), 149.68 (C-20), 213.79 (C-3).

Методика получения α,β -алкилзамещенных алкен-нитрилов 376-380

К раствору 0.4 ммоль соединения **361** (**362**, **369**, **370** или **374**) в 15 мл *t*-BuOH добавляли 1.2 ммоль *t*-BuOK. Реакционную смесь кипятили в течение 3 ч. Полноту прохождения реакции контролировали методом ТСХ. Реакционную смесь разбавляли 5%-ной HCl, экстрагировали этилацетатом (3 x 20 мл). Органический слой промывали раствором NaHCO₃, сушили над безводным MgSO₄, упаривали. Продукт очищали методом колоночной хроматографии.

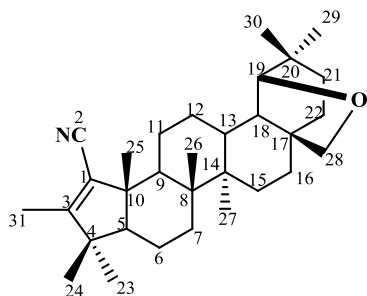
Метилловый эфир 3-метил-1-циано-2-норлуп-1(3),20(29)-диен-28-овой кислоты (**376**)



Выход: 42%, R_f 0.6 (петролейный эфир-этилацетат 7:3), т. пл. 215.1 °С (петролейный эфир-этилацетат 10:1), $[\alpha]_D^{25} +62.2$ (*c* 0.5; CHCl₃). ИК спектр (ν , см⁻¹): 1726 (C=C), 2206 (C≡N). Спектр ЯМР ¹H (300 МГц, CDCl₃, δ , м.д., *J*/Гц): 0.91, 0.94, 0.97, 1.00, 1.08 (15H, 5с, CH₃ x 5), 1.66 (3H, с, H-30),

1.85 (3H, с, CH₃-C=C), 3.00 (1H, тд, *J* = 11.3, 4.5, H-19), 3.67 (3H, с, COOCH₃), 4.60 и 4.71 (2H, 2с, H-29). Спектр ЯМР ¹³C (75.5 МГц, CDCl₃, δ , м.д.): 12.73, 14.73, 17.39 (2C), 18.73, 19.23, 19.55, 22.24, 24.96, 27.01, 29.67, 30.53, 32.31, 34.98, 37.00, 38.07, 42.29, 42.83, 46.79, 47.02, 47.14, 49.49, 50.94, 51.24, 56.35, 62.18, 109.93 (C-29), 118.46 (C-2), 120.36 (C-1), 150.05 (C-20), 167.17 (C-3), 176.58 (C-28).

3-Метил-1-циано-19 β ,28-эпокси-2-нор-18 α H-олеан-1(3)-ен (**377**)

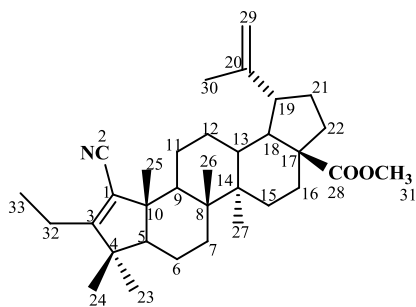


Выход: 65%, R_f 0.8 (петролейный эфир-этилацетат 7:3), т. пл. 215.3 °С (петролейный эфир-этилацетат 10:1), $[\alpha]_D^{25} +36.8$ (*c* 0.5; CHCl₃). ИК спектр (ν , см⁻¹): 1604 (C=C), 2207 (C≡N). Спектр ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃, δ , м.д., *J*/Гц): 0.73, 0.88, 0.95, 0.96, 1.06 (15H, 5с, CH₃ x 5),

0.86 (6H, с, CH₃ x 2), 1.81 (3H, с, CH₃-C=C), 3.38 и 3.70 (2H, 2д, *J* = 7.8, H-28), 3.46 (H, с, H-19). Спектр ЯМР ¹³C (75.5 МГц, CDCl₃, δ , м.д.): 12.76, 13.41, 17.02, 17.33, 19.09, 19.55, 22.34, 24.47, 25.84, 26.27, 26.45, 26.95, 28.75, 32.67, 33.84, 34.54,

36.21, 36.76, 41.17, 41.38, 42.24, 46.80, 46.82, 47.56, 50.92, 62.35, 71.19 (C-28), 87.91 (C-19), 118.35 (C-2), 120.56 (C-1), 167.16 (C-3). Масс-спектр m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 449.37 $[M]^+$ (100).

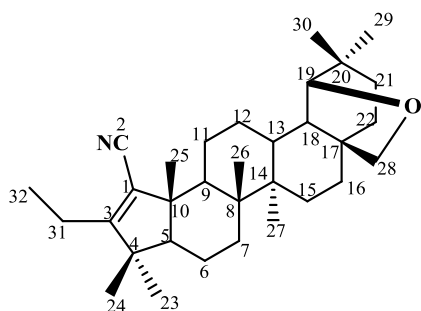
Метилловый эфир 1-циано-3-этил-2-норлуп-1(3),20(29)-диен-28-овой кислоты (378)



Выход: 45%, R_f 0.7 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 93.5 °С (петролейный эфир–этилацетат 20:1), $[\alpha]_D^{23} +27.0$ (c 0.3; CHCl_3). ИК спектр (ν , см^{-1}): 1593 (C=C), 1727 (COOCH_3), 2205 ($\text{C}\equiv\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.88, 0.89, 0.93, 0.99, 1.04 (15H, 5с, CH_3 x 5),

1.07 (3H, т, $J = 7.6$, H-33), 1.61 (3H, с, H-30), 2.22 (2H, дкв, $J = 1.6, 7.6$, H-32), 2.91 (1H, тд, $J = 10.9, 4.8$, H-19), 3.61 (3H, с, COOCH_3), 4.55 и 4.66 (2H, 2с, H-29). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13.73, 14.81, 17.35, 17.38, 18.85, 19.27, 20.48, 20.96, 22.24, 25.05, 27.21, 29.74, 30.61, 32.37, 35.01, 37.03, 38.17, 42.41, 42.90, 47.07, 47.23, 47.32, 49.58, 50.76, 51.21, 56.42, 62.55, 109.93 (C-29), 118.40 (C-2), 120.55 (C-1), 150.06 (C-20), 172.45 (C-3), 176.61 (C-28). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 491.4 $[M]^+$ (100).

1-Циано-3-этил-19 β ,28-эпокси-2-нор-18 α H-олеан-1(3)-ен (379)



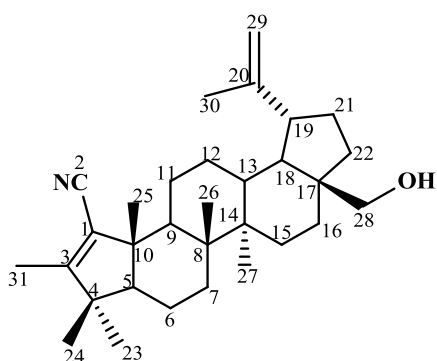
Выход: 59%, R_f 0.6 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 216.7 °С (хлороформ), $[\alpha]_D^{23} +59.8$ (c 0.5; CHCl_3). ИК спектр (ν , см^{-1}): 1593 (C=C), 2205 ($\text{C}\equiv\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.82, 0.96, 0.98, 0.99, 1.04, 1.09,

1.16 (21H, 7с, CH_3 x 7), 1.17 (3H, т, $J = 7.6$, H-32), 2.32 (2H, кв., $J = 7.6$, H-31), 3.47 и 3.79 (2H, 2д, $J = 7.8$, H-28), 3.55 (H, с, H-19). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 12.96, 13.19, 16.52, 16.81, 18.70, 19.98, 20.49, 21.82, 23.97, 25.38, 25.82, 26.01, 26.64, 28.26, 32.24, 33.43, 34.06, 35.74, 36.32, 40.73, 40.92, 41.85, 46.37,

46.82, 47.13, 50.23, 62.22, 70.73 (C-28), 87.44 (C-19), 117.75 (C-2), 120.26 (C-1), 171.84 (C-3). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 463.4 $[M]^+$ (100).

Для анализа соединения **379** использован бесцветный кристалл размером $0.58 \times 0.27 \times 0.21$ мм. Кристалл ромбической сингонии, пространственная группа $P2_12_12_1$, a 10.661(2), b 12.406(2), c 20.730(4) Å, V 2741.9(9) Å³, M 463.72, $d_{\text{выч}}$ 1.123 г/см³, μ 0.066 мм⁻¹, $C_{32}H_{49}NO$, Z 4. Окончательные параметры уточнения: R_1 0.0622, wR_2 0.1211 [для 4131 отражения с $I > 2\sigma(I)$], R_1 0.1044 wR_2 0.1449 (для всех 6375 независимых отражений), S 1.020.

3-Метил-1-циано-2-норлуп-1(3),20(29)-диен-28-ол (380)



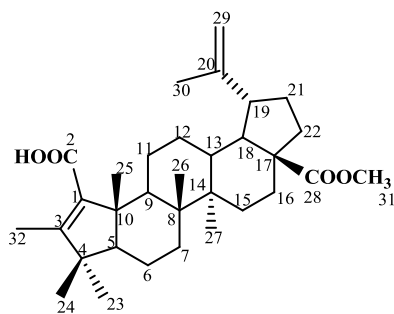
Выход: 81%, R_f 0.3 (петролейный эфир–этилацетат 5:1), т. пл. 120.4 °С; $[\alpha]_D^{25} +27.06$ (c 0.5; $CHCl_3$). ИК спектр (ν , см⁻¹): 1593 (C=C), 2207 (C≡N), 3314, 3448 (OH). Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, $CDCl_3$, δ , м.д., $J/Гц$): 0.86, 0.93, 0.95, 1.00, 1.03 (15H, 5с, $CH_3 \times 5$), 1.61 (3H, с, H-30), 1.79 (3H,

с, $CH_3-C=C$), 2.31 (1H, тд, $J = 11.0, 5.7$, H-19), 3.28 и 3.71 (2H, 2д, $J = 10.8$, H-28), 4.52 и 4.61 (2H, 2с, H-29). Спектр ЯМР ¹³C (100 МГц, $CDCl_3$, δ , м.д.): 12.18, 14.37, 16.91, 16.94, 18.22, 19.07, 21.77, 24.30, 26.52, 26.76, 28.85, 29.16, 29.24, 33.52, 34.53, 36.63, 42.11, 42.69, 46.33, 46.63, 47.23, 47.31, 48.33, 50.43, 60.10, 61.72, 109.50 (C-29), 119.91 (C-1, C-2), 149.49 (C-20), 166.67 (C-3).

Общая методика получения А-пентациклических ненасыщенных кислот 381-384

Соединение **337** (**338**, **376** или **377**) (1.3 ммоль) добавляли в раствор КОН в C_2H_5OH (15%, 50 мл), и кипятили с обратным холодильником в течение 5 сут. Затем спирт отгоняли, остаток нейтрализовали 5% раствором HCl и экстрагировали этилацетатом (3 x 20 мл). Органический слой промывали водой до нейтральных смывных вод, сушили над безводным $MgSO_4$, упаривали. Продукт очищали методом колоночной хроматографии, постепенно повышая полярность элюента (петролейный эфир–этилацетат 5:1, 7:3, 1:1).

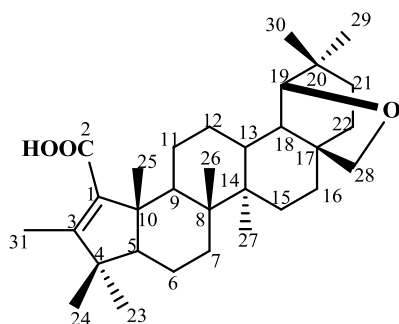
28-Метокси-28-оксо-3-метил-2-норлуп-1(3),20(29)-диен-2-овая кислота (381)



Выход: 24%, R_f 0.5 (хлороформ-метанол 20:1), т. пл. 189.3 °С (гексан-этилацетат 1:1), $[\alpha]_D^{23} +25.0$ (c 0.3; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1727 (COOH , COOCH_3), 3175, 3327 (OH). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.88, 0.94, 0.97,

0.98, 1.22 (15H, 5с, $\text{CH}_3 \times 5$), 1.66 (3H, с, H-30), 1.67 (3H, с, CH_3), 2.99 (1H, тд, $J = 11.0$, 4.8, H-19), 3.67 (3H, с, COOCH_3), 4.59 и 4.72 (2H, 2с, H-29). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 10.32, 14.35, 16.83, 16.97, 18.85, 18.92, 19.10, 22.66, 24.79, 26.78, 29.33, 30.20, 31.88, 34.72, 36.54, 37.67, 41.96, 42.37, 45.33, 46.55, 47.38, 49.15, 50.68, 51.83, 55.99, 62.03, 109.21 (C-29), 143.16 (C-1), 146.32 (C-3), 149.79 (C-20), 173.85 (C-2), 176.12 (C-28).

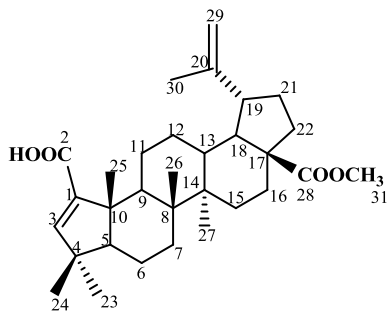
3-Метил-19 β ,28-эпокси-2-нор-18 α H-олеан-1(3)-ен-2-овая кислота (382)



Выход: 13%, R_f 0.5 (хлороформ-метанол 20:1), т. пл. 176.3 °С (гексан-этилацетат 1:1), $[\alpha]_D^{23} +44.5$ (c 0.5; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1665 (COOH), 3171, 3373 (OH). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.80, 0.91, 0.94, 0.95, 1.01, 1.02, 1.26 (21H, 7с,

$\text{CH}_3 \times 7$), 1.68 (3H, с, CH_3), 3.45 и 3.78 (2H, 2д, $J = 7.6$, H-28), 3.52 (1H, с, H-19). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 10.43, 12.99, 16.59, 16.77, 18.95, 19.46, 22.73, 24.00, 25.66, 25.82, 26.01, 26.74, 28.30, 32.21, 33.34, 34.23, 35.73, 36.30, 40.67, 40.91, 41.85, 45.38, 46.37, 47.68, 51.79, 62.14, 70.73, 87.43 (C-19), 143.23 (C-1), 146.36 (C-3), 173.50 (C-2).

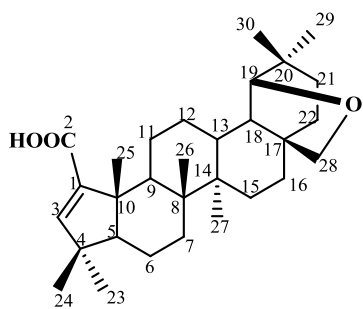
28-Метокси-28-оксо-2-норлуп-1(3),20(29)-диен-2-овая кислота (383)



Выход 38%, R_f 0.5 (хлороформ-метанол 20:1), т. пл. 112.4°C (петролейный эфир-этилацетат в соотношении 5:1, 7:3, 1:1), $[\alpha]_D^{23}$ -3.5 (c 0.4; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1725 (COOH, COOCH₃), 3182, 3332 (OH). Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl_3 , δ ,

м.д., $J/\text{Гц}$): 0.96, 0.98, 1.00, 1.07, 1.30 (15H, 5с, CH₃ x 5), 1.69 (3H, с, H-30), 2.99 (1H, тд, $J = 10.7$, 4.7, H-19), 3.69 (3H, с, COOCH₃), 4.61 и 4.74 (2H, 2с, H-29), 5.86 (1H, с, H-3). Спектр ЯМР ¹³C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 14.35, 16.46, 16.98, 18.85, 19.45, 20.21, 22.77, 24.76, 28.24, 29.35, 30.20, 31.89, 34.73, 36.55, 37.61, 41.89, 42.37, 43.11, 46.55, 47.41, 49.21, 50.68, 53.09, 55.96, 62.32, 109.20 (C-29), 143.47 (C-1), 149.67 (C-3), 149.83 (C-20), 172.22 (C-2), 176.10 (C-28).

19 β ,28-Эпокси-2-нор-18 α H-олеан-1(3)-ен-2-овая кислота (384)



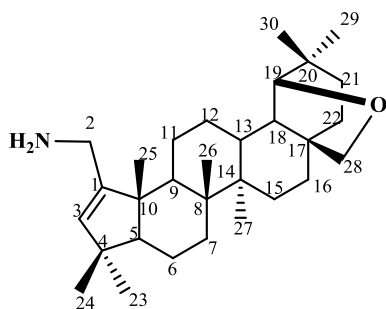
Выход: 35%, R_f 0.5 (хлороформ-метанол 20:1), т. пл. 190.1 °C (гексан-этилацетат 1:1), $[\alpha]_D^{23}$ +27.0 (c 0.3; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1663 (COOH), 3179, 3333 (OH). Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.80, 0.94, 0.96,

0.97, 1.04, 1.08, 1.32 (21H, 7с, CH₃ x 7), 3.45 и 3.78 (2H, 2д, $J = 7.2$, H-28), 3.53 (1H, с, H-19), 5.88 (1H, с, H-3). Спектр ЯМР ¹³C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13.00, 16.39, 16.60, 19.80, 20.22, 22.81, 24.00, 25.60, 25.83, 26.02, 28.18, 28.29, 32.22, 33.26, 34.23, 35.74, 36.31, 40.66, 40.90, 41.78, 43.20, 46.40, 47.71, 53.06, 62.42, 70.73, 87.42 (C-19), 143.77 (C-1), 149.61 (C-3), 172.20 (C-2).

Методика получения 1-аминометилен-19 β ,28-эпокси-2-нор-18 α H-олеан-1(3)-ен (385)

К раствору соединения **380** (0.4 ммоль) в абсолютном ТГФ (20 мл) добавляли DIBAL-H (0.4 ммоль) при перемешивании и охлаждении (-78°C). Перемешивание продолжали в течение 3 ч. Затем реакционную смесь постепенно нагревали до комнатной температуры, растворитель упаривали. Полученный

сухой остаток очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: петролейный эфир–этилацетат 10:1).



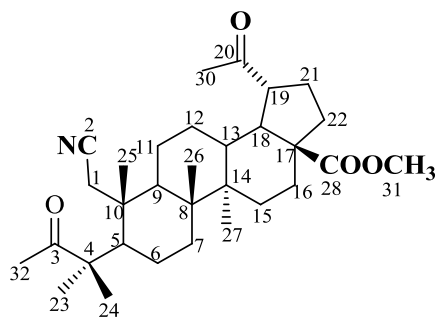
Выход: 41%, R_f 0.5 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 174.8 °С (петролейный эфир–этилацетат 10:1), $[\alpha]_D^{23} +55.7$ (c 0.3; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1731, 3404 (NH_2). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.73, 0.86, 0.87, 0.88,

0.95, 0.96, 1.02 (21H, 7с, $\text{CH}_3 \times 7$), 3.38 и 3.71 (2H, 2д, $J = 7.8$, H-28), 3.46 (1H, с, H-19), 4.12 и 4.19 (2H, 2дд, $J = 14.2, 1.6$, $\text{CH}_2\text{-NH}_2$), 5.34 (1H, т, $J = 1.6$, H-3). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 12.93, 16.59, 16.68, 19.27, 20.63, 23.66, 24.01, 25.68, 25.86, 26.09, 28.30, 28.87, 32.24, 33.59, 34.40, 35.74, 36.32, 40.68, 40.93, 41.65, 41.96, 46.38, 46.49, 50.81, 61.25, 63.11, 70.76, 87.41 (C-19), 134.67 (C-1), 154.87 (C-3).

Методика синтеза 3,20-диоксопроизводных 386, 387

Поток сухой смеси озон/воздух при атмосферном давлении и охлаждении (-60 °С) пропускали через раствор соединения 361 (или 369) (1 ммоль) в CH_2Cl_2 (50 мл). Через 2 ч реакционную смесь нагревали до комнатной температуры, проверяли полноту прохождения реакции методом ТСХ. Затем упаривали растворитель, полученный остаток очищали методом колоночной хроматографии (элюент: петролейный эфир–этилацетат 5:1 (386), петролейный эфир–этилацетат 7:1 (387)).

3,20-Диоксо-3-метил-1-циано-2,3-секо-2,29-динорлуп-28-оат (386)

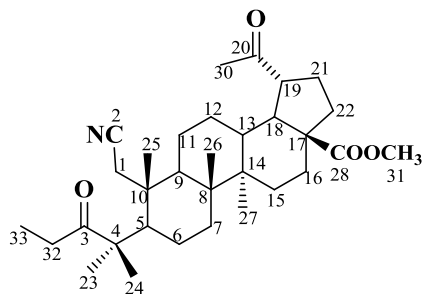


Выход: 73%, R_f 0.3 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 155.6 °С (петролейный эфир/этилацетат 5:1), $[\alpha]_D^{23} -3.2$ (c 10.0; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1707 (C=O), 1723 (COOCH_3), 2238 ($\text{C}\equiv\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.,

$J/\text{Гц}$): 0.85, 0.89, 1.01, 1.08, 1.16 (15H, 5с, $\text{CH}_3 \times 5$), 2.10 и 2.21 (6H, 2с, H-30 и H-31), 2.37 и 2.46 (2H, 2д, $J = 18.0$, H-1), 3.18 (1H, тд, $J = 10.9, 4.4$, H-19), 3.60 (3H, с,

COOCH₃). Спектр ЯМР ¹³C (100 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 14.17, 15.07, 18.30, 20.91, 21.23, 23.30, 23.33, 25.17, 26.58, 27.69, 28.98, 29.21 (2C), 30.74, 32.72, 35.98, 36.88, 39.98, 42.02, 42.13, 44.63, 48.16, 48.66, 50.76, 50.86, 52.60, 55.93, 117.91 (C-2), 175.88 (C-28), 211.13, 213.64. Масс-спектр, *m/z* (*I*_{отн}, %): 497.4 [M]⁺ (100).

3,20-Диоксо-1-циано-3-этил-2,3-секо-2,29-динорлуп-28-оат (387)



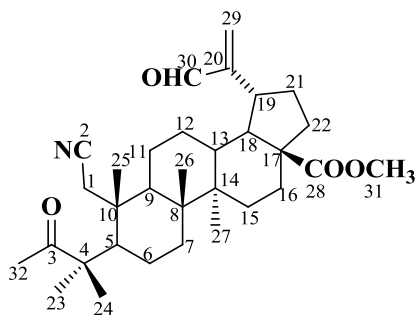
Выход: 42%, *R_f* 0.4 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 152.1 °С (петролейный эфир–этилацетат 7:1), [α]_D²³ -8.6 (*c* 0.1; CHCl₃). ИК спектр (*v*, см⁻¹): 1707 (2C=O), 1723 (COOCH₃), 2238 (C≡N).

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д., *J*/Гц): 0.84, 0.88, 1.00, 1.10, 1.16 (15H, 5с, CH₃ x 5), 1.02 (3H, т, *J* = 7.2, H-33), 2.10 (3H, с, H-30), 2.32 и 2.45 (2H, 2д, *J* = 18.0, H-1), 2.49 и 2.68 (2H, 2дкв, *J* = 17.7, 7.2, H-32), 3.18 (1H, тд, *J* = 10.9, 4.3, H-19), 3.60 (3H, с, COOCH₃). Спектр ЯМР ¹³C (100 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 8.74, 14.68, 15.60, 18.80, 21.60, 21.76, 23.82, 24.17, 27.12, 28.21, 29.52, 29.71, 29.76, 30.34, 31.25, 33.19, 36.50, 37.40, 40.46, 42.45, 42.63, 45.15, 48.76, 49.17, 51.26, 51.40, 52.94, 56.45, 118.36 (C-2), 176.43 (C-28), 211.74 (C-20), 216.83 (C-3). Масс-спектр, *m/z* (*I*_{отн}, %): 511.4 [M]⁺ (100).

Методика синтеза 30-альдегидопроизводных 390, 391, 393, 394

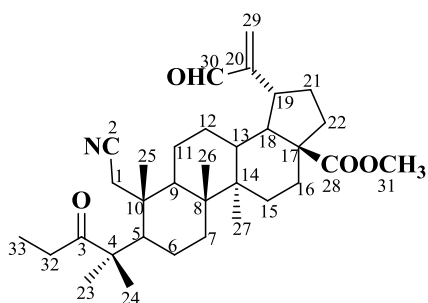
В раствор 0.4 ммоль соединения **361** (**369**, **378** или **380**) в 1,4-диоксане добавляли 1.2 ммоль H₂SeO₃, реакционную смесь кипятили в течение 15 мин. Полноту прохождения реакции контролировали методом ТСХ. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, отфильтровывали выпавший Se, диоксан отгоняли. Остаток разбавляли водой и экстрагировали этилацетатом (3 x 20 мл). Органический слой промывали 5% раствором NaHCO₃ и водой, сушили над безводным MgSO₄, упаривали. Полученный остаток очищали с помощью колоночной хроматографии.

Метилловый эфир 3-метил-3-оксо-1-циано-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-30-аль-28-овой кислоты (390)



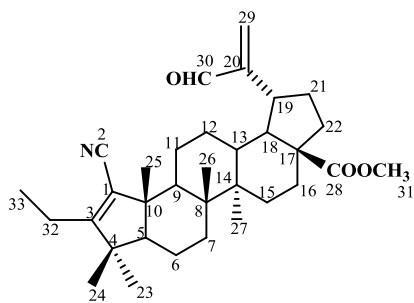
Выход: 78%, R_f 0.3 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 166.3 °С (петролейный эфир–этилацетат 7:1), $[\alpha]_D^{23} +24.5$ (c 0.4; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1711 ($\text{C}=\text{O}$, COOCH_3), 2242 ($\text{C}\equiv\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.85, 0.87, 0.94, 1.08, 1.15 (15H, 5с, CH_3 x 5), 2.21 (3H, с, H-31), 2.35 и 2.44 (2H, 2д, $J = 18.0$, H-1), 3.27 (1H, тд, $J = 11.2, 4.9$, H-19), 3.61 (3H, с, COOCH_3), 5.85 и 6.20 (2H, 2с, H-29), 9.46 (1H, с, H-30). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 14.08, 15.12, 18.32, 20.84, 21.21, 22.10, 23.19, 23.59, 25.21, 26.62, 28.54, 28.91, 29.10, 31.04, 31.24, 32.85, 36.21, 37.64, 40.02, 41.98, 42.27, 44.60, 48.30, 50.81, 52.54, 56.16, 118.08 (C-2), 133.17 (C-29), 155.84 (C-20), 175.82 (C-28), 194.23 (C-30), 213.72 (C-3). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 509.4 $[\text{M}]^+$ (100).

Метилловый эфир 3-оксо-1-циано-3-этил-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-30-аль-28-овой кислоты (391)



Выход: 30%, R_f 0.4 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 159.2 °С (петролейный эфир–этилацетат 10:1), $[\alpha]_D^{23} +20.8$ (c 0.3; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1694 ($\text{C}=\text{O}$), 1723 (COOCH_3), 2239 ($\text{C}\equiv\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.84, 0.86, 0.93, 1.09, 1.15 (15H, 5с, CH_3 x 5), 1.02 (3H, т, $J = 7.2$, H-33), 2.29 и 2.43 (2H, 2д, $J = 18.1$, H-1), 2.48 и 2.67 (2H, 2дкв, $J = 17.5, 7.2$, H-32), 3.26 (1H, тд, $J = 11.0, 4.9$, H-19), 3.60 (3H, с, COOCH_3), 5.85 и 6.20 (2H, 2с, H-29), 9.46 (3H, с, H-30). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8.69, 14.56, 15.62, 18.78, 21.51, 21.71, 22.63, 24.04 (2C), 27.12, 29.43, 29.58, 29.65 (2C), 30.36, 31.72, 33.28, 36.70, 38.11, 40.46, 42.38, 42.74, 45.08, 48.87, 51.32, 52.82, 56.64, 118.49 (C-2), 133.71 (C-29), 156.29 (C-20), 176.32 (C-28), 194.75 (C-30), 216.79 (C-3). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 523.4 $[\text{M}]^+$ (100).

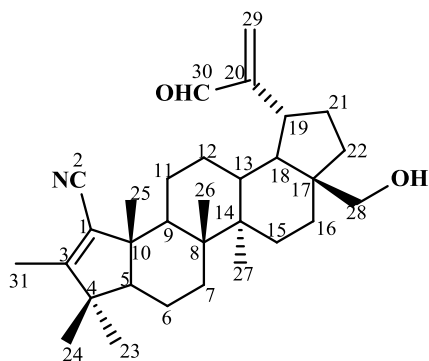
Метилловый эфир 1-циано-3-этил-2-норлуп-1(3),20(29)-диен-30-аль-28-овой кислоты (393)



Выход: 42%, R_f 0.6 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 68.9 °С (петролейный эфир–этилацетат 20:1), $[\alpha]_D^{23} +14.5$ (c 1.1; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1693 (C=O), 1725 (COOCH_3), 2205 (C≡N). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$):

0.93, 1.04, 1.08 (9H, 3с, $\text{CH}_3 \times 3$), 0.94 (6H, с, $\text{CH}_3 \times 2$), 1.12 (3H, т, $J = 7.7$, H-33), 2.27 (2H, дкв, $J = 1.3, 7.7$, H-32), 3.28 (1H, тд, $J = 11.1, 4.9$, H-19), 3.68 (3H, с, COOCH_3), 5.89 и 6.26 (2H, 2с, H-29), 9.51 (3H, с, H-30). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13.72, 14.73, 17.32 (2C), 18.80, 20.48, 20.96, 22.17, 26.76, 27.19, 29.66, 31.77, 32.14, 34.99, 36.84, 38.09, 42.32, 42.82, 46.98, 47.32, 50.24, 50.68, 51.29 (2C), 56.51, 62.53, 118.37 (C-2), 120.42 (C-1), 134.28 (C-29), 155.89 (C-20), 172.55 (C-3), 176.47 (C-28), 194.89 (C-30). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 505.4 $[\text{M}]^+$ (100).

28-Гидрокси-3-метил-1-циано-2-норлуп-1(3),20(29)-диен-30-аль (394)



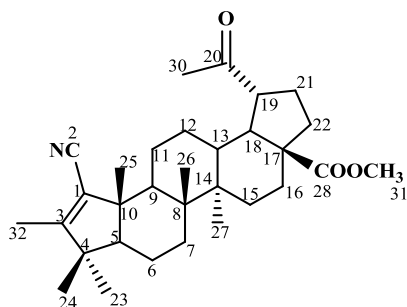
Выход: 45%, R_f 0.3 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 117.3 °С (петролейный эфир–этилацетат 5:1), $[\alpha]_D^{25} +0.81$ (c 0.5; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1722 (C=O), 2205 (C≡N), 3291 (OH). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$):

0.85, 0.95, 0.98, 1.02, 1.04 (15H, 5с, $\text{CH}_3 \times 5$), 1.78 (3H, с, CH_3), 2.68 (1H, тд, $J = 11.5, 6.0$, H-19), 3.32 и 3.71 (2H, 2д, $J = 11.0$, H-28), 5.85 и 6.19 (2H, 2с, H-29), 9.44 (1H, с, H-30). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13.53, 14.26, 16.87, 18.16, 19.06, 21.72, 26.52, 26.65, 28.54, 28.77, 29.16, 30.71, 31.05, 33.37, 34.53, 36.33, 37.67, 42.04, 42.56, 46.33, 46.39, 47.43, 50.34, 59.81, 61.72, 117.84 (C-29), 119.81 (C-1, C-2), 166.74 (C-3, C-20), 194.22 (C-30).

Методика синтеза А-пентациклических α,β -алкеннитрилов с оксигенированным фрагментом изопропилидена 388, 389, 392

Соединение **386** (**387** или **390**) в количестве 0.4 ммоль растворяли в *t*-BuOH (15 мл) и добавляли *t*-BuOK (1.2 ммоль). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 3 ч. Контроль за ходом реакции осуществляли методом ТСХ. Реакционную смесь разбавляли 5%-ной HCl, экстрагировали этилацетатом (3 x 10 мл). Органический слой промывали раствором NaHCO₃, сушили над безводным MgSO₄, упаривали. Остаток очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле.

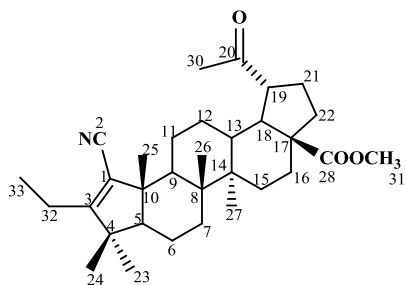
Метилловый эфир 3-метил-20-оксо-1-циано-2,29-динорлуп-1(3)-ен-28-овой кислоты (388)



Выход: 48%, R_f 0.5 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 97.3 °C (петролейный эфир–этилацетат 15:1), $[\alpha]_D^{23}$ -14.9 (*c* 10.0; CHCl₃). ИК спектр (ν , см⁻¹): 1712 (C=O), 1725 (COOCH₃), 2206 (C≡N). Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ , м.д.,

$J/\text{Гц}$): 0.85, 0.87, 0.94, 0.95, 1.03 (15H, 5с, CH₃ x 5), 1.79 (3H, с, H-32), 2.11 (3H, с, H-30), 3.17 (1H, тд, $J = 11.0, 4.5$, H-19), 3.62 (3H, с, COOCH₃). Спектр ЯМР ¹³C (100 МГц, CDCl₃, δ , м.д.): 12.18, 14.35, 16.87 (2C), 18.21, 19.07, 21.79, 26.17, 26.47, 27.89, 29.29, 29.67, 31.12, 34.49, 36.19, 36.78, 41.79, 42.20, 46.31, 46.66, 49.04, 50.41, 50.68, 50.82, 55.83, 61.69, 117.74 (C-2), 119.88 (C-1), 166.51 (C-3), 175.92 (C-28), 211.36 (C-20). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 479.4 [M]⁺ (100).

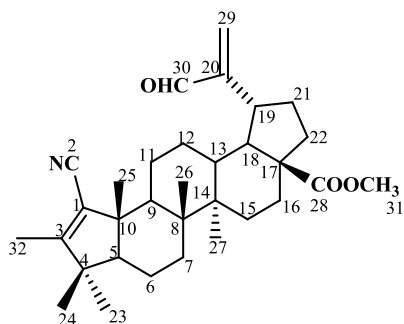
Метилловый эфир 20-оксо-1-циано-3-этил-2,29-динорлуп-1(3)-ен-28-овой кислоты (389)



Выход: 44%, R_f 0.5 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 138.2 °C (петролейный эфир–этилацетат 15:1), $[\alpha]_D^{23}$ -6.2 (*c* 0.2; CHCl₃). ИК спектр (ν , см⁻¹): 1713 (C=O), 1726 (COOCH₃), 2205 (C≡N). Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.87,

0.88, 0.95, 0.98, 1.03 (15H, 5с, CH₃ x 5), 1.06 (3H, т, $J = 7.2$, H-33), 2.09 (3H, с, H-30), 2.21 (2H, кв, $J = 7.2$, H-32), 3.16 (1H, тд, $J = 11.0, 4.5$, H-19), 3.61 (3H, с, COOCH₃). Спектр ЯМР ¹³C (100 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 13.73, 14.90, 17.36, 18.87, 20.51, 20.99, 26.68, 27.18, 28.42, 29.68, 29.81, 30.22, 31.23, 34.93, 36.72, 37.30, 38.18, 42.33, 42.72, 47.15, 47.33, 49.57, 50.72, 51.18, 51.37, 56.35, 62.48, 118.28 (C-2), 120.45 (C-1), 172.40 (C-3), 176.47 (C-28), 211.96 (C-20).

Метилловый эфир 1-циано-3-метил-2-норлуп-1(3),20(29)-диен-30-аль-28-овой кислоты (392)

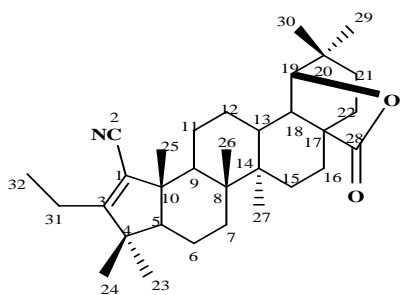


Выход: 53%, R_f 0.7 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 180.0 °С (петролейный эфир–этилацетат 15:1), $[\alpha]_D^{23} +8.4$ (с 0.9; CHCl₃). ИК спектр (ν , см⁻¹): 1692 (C=O), 1725 (COOCH₃), 2206 (C≡N). Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д., J/Γ): 0.85, 0.95,

1.02 (9H, 3с, CH₃ x 3), 0.88 (6H, с, CH₃ x 2), 1.79 (3H, с, H-32), 3.23 (1H, тд, $J = 11.1, 4.9$, H-19), 3.62 (3H, с, COOCH₃), 5.83 и 6.20 (2H, 2с, H-29), 9.46 (1H, с, H-30). Спектр ЯМР ¹³C (100 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 12.18, 14.19, 16.85 (2C), 18.17, 19.05, 21.74 (2C), 26.26, 26.51, 29.16, 31.64 (2C), 34.55, 36.34, 37.59, 41.80, 42.32, 46.31, 46.51 (2C), 50.40, 50.77, 56.02, 61.75, 117.85 (C-2), 119.88 (C-1), 133.75 (C-29), 155.38 (C-20), 166.66 (C-3), 175.93 (C-28), 194.34 (C-30). Масс-спектр, m/z ($I_{отн}$, %): 491.4 [M]⁺ (100).

Методика синтеза 1-циано-3-этил-19β,28-эпокси-28-оксо-2-нор-18αH-олеан-1(3)-ена (395)

Соединение **379** (0.2 ммоль) растворяли в уксусной кислоте (20 мл), добавляли K₂Cr₂O₇ (0.4 ммоль), H₂SO₄ (0.2 мл) и кипятили с обратным холодильником в течение 8 ч. Полноту прохождения реакции контролировали методом ТСХ. Затем реакционную смесь разбавляли водой и экстрагировали этилацетатом (3 x 20 мл). Органический слой промывали раствором NaHCO₃, сушили над безводным MgSO₄, упаривали. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (элюент: петролейный эфир–этилацетат 20:1).



Выход: 30%, R_f 0.5 (петролейный эфир–этилацетат 5:1), т. пл. 144.5 °С (петролейный эфир–этилацетат 20:1), $[\alpha]_D^{23} +50.8$ (c 0.2; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1590 (C=C), 1762 (C=O), 2202 (C≡N).

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.86, 0.89, 0.97, 1.00, 1.07 (15H, 5с, CH_3 x 5), 0.90 (6H, 2с, CH_3 x 2), 1.08 (3H, т, $J = 7.6$, H-32), 2.23 (2H, кв, $J = 7.6$, H-31), 3.87 (1H, с, H-19). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13.08, 13.17, 16.29, 16.73, 18.76, 19.94, 20.51, 21.70, 23.39, 25.08, 25.50, 26.62, 27.40, 28.22, 29.16, 31.54, 31.86, 33.03, 33.89, 35.28, 39.99, 41.79, 45.50, 46.25, 46.84, 47.30, 50.13, 62.29, 85.48 (C-19), 120.12 (C-2), 172.07 (C-3), 179.07 (C-28). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 477.4 $[\text{M}]^+$ (100).

Методика получения 3-метилзамещенных бром-производных 396-399

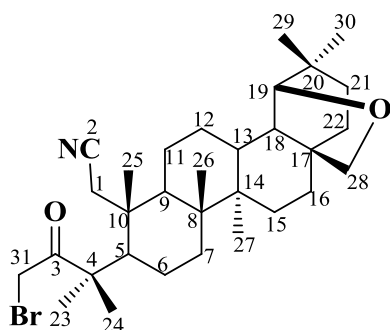
Метод А. К раствору соединения **362** или **390** (0.8 ммоль) в уксусной кислоте (50 мл) добавляли порцию $\text{C}_5\text{H}_6\text{Br}_3\text{N}$ (0.4 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 7 ч, затем добавляли вторую порцию $\text{C}_5\text{H}_6\text{Br}_3\text{N}$ (0.4 ммоль). Полученную реакционную массу перемешивали при комнатной температуре 6 ч. Полноту прохождения реакции контролировали методом ТСХ. Реакционную смесь растворяли водой и экстрагировали этилацетатом (3 x 20 мл). Органический слой промывали раствором 5% NaHCO_3 , затем водой, сушили безводным MgSO_4 , упаривали. Остаток очищали методом колоночной хроматографии.

Выход: 73 и 8% для соединений **396** и **398** соответственно. Выход: 70 и 7% для соединений **397** и **399** соответственно.

Метод Б. Реакцию проводили аналогично методу А. Исключение: $\text{C}_5\text{H}_6\text{Br}_3\text{N}$ (0.8 ммоль) добавляли одновременно, затем реакционную смесь нагревали приблизительно до 100°C.

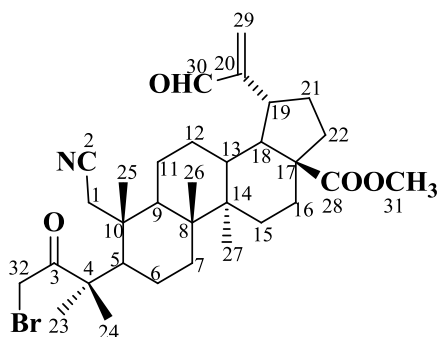
Выход: 53 и 27% для соединений **396** и **398** соответственно. Выход: 51 и 20% для соединений **397** и **399** соответственно.

3-Бромметилен-3-оксо-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18 α H-олеанан (396)



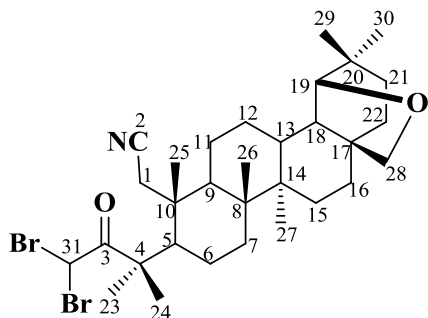
R_f 0.3 (петролейный эфир–этилацетат 5:1), т. пл. 208.9 °С (петролейный эфир–этилацетат 7:1), $[\alpha]_D^{25} +62.8$ (c 0.4; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1720 (C=O), 2237 (C \equiv N). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.83, 0.96, 1.01, 1.29, 1.35 (15H, 5с, CH_3 x 5), 1.00 (6H, с, CH_3 x 2), 2.42 и 2.65 (2H, 2д, $J = 18.2$, H-1), 3.48 и 3.78 (2H, 2д, $J = 7.8$, H-28), 3.55 (1H, с, H-19), 4.32 и 4.38 (2H, 2д, $J = 13.8$, H-31). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 12.96, 15.11, 18.39, 21.18, 21.39, 23.48, 23.60, 24.02, 25.63, 25.82, 25.94, 28.26, 29.28, 31.86, 32.20 (2C), 33.85, 35.77, 36.15, 39.94, 40.68, 40.98, 42.08, 45.22, 46.12, 48.66, 52.86, 70.74 (C-28), 87.36 (C-19), 117.96 (C-2), 206.10 (C-3).

Метилвый эфир 3-бромметилен-3-оксо-1-циано-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-30-аль-28-овой кислоты (397)



R_f 0.3 (петролейный эфир–этилацетат 5:1), т.пл. 155.8 °С (петролейный эфир–этилацетат 7:1), $[\alpha]_D^{23} +63.0$ (c 0.4; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1692 (C=O), 1722 (COOCH $_3$), 2237 (C \equiv N). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.85, 0.88, 0.94, 1.19, 1.25 (15H, 5с, CH_3 x 5), 2.29 и 2.49 (2H, 2д, $J = 18.2$, H-1), 3.27 (1H, тд, $J = 11.2$, 4.8, H-19), 3.61 (3H, с, COOCH $_3$), 4.22 и 4.27 (2H, 2д, $J = 13.8$, H-32), 5.86 и 6.20 (2H, 2с, H-29), 9.46 (1H, с, H-30). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 14.04, 15.19, 18.10, 21.20, 21.27, 23.49, 23.62, 26.62, 29.07 (2C), 31.22, 31.78 (2C), 32.68, 36.20, 36.75, 37.62, 39.99, 42.00, 42.28, 44.60, 48.56, 50.83 (2C), 52.84, 56.14, 117.92 (C-2), 133.06 (C-29), 155.81 (C-20), 175.79 (C-28), 194.20 (C-30), 206.08 (C-3).

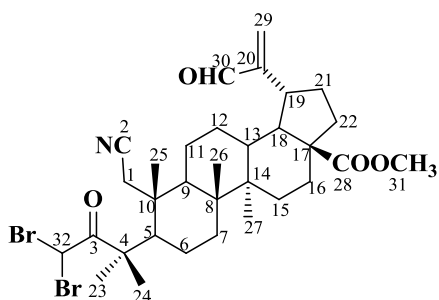
3-Дибромметил-3-оксо-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18 α H-олеанан (398)



R_f 0.2 (петролейный эфир–этилацетат 5:1), т. пл. 233.6 °С (петролейный эфир–этилацетат 7:1), $[\alpha]_D^{25} +38.5$ (c 0.5; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1720 ($\text{C}=\text{O}$), 2237 ($\text{C}\equiv\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.74, 0.87, 0.90, 0.92, 0.97, 1.19,

1.45 (21H, 7с, CH_3 x 7), 2.54 и 2.71 (2H, 2д, $J = 18.0$, H-1), 3.39 и 3.68 (2H, 2д, $J = 7.8$, H-28), 3.46 (1H, с, H-19), 6.54 (1H, с, H-31). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 12.72, 15.34, 18.75, 20.74, 21.41, 22.10 (2C), 24.02, 24.90, 25.60, 25.86, 28.27, 29.71, 31.74, 32.19, 33.86, 35.76, 36.13, 36.78, 39.90, 40.64, 40.98, 42.41, 45.39, 46.04, 46.09, 54.01, 70.75 (C-28), 87.33 (C-19), 118.20 (C-2), 200.66 (C-3).

Метилловый эфир 3-дибромметил-3-оксо-1-циано-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-30-аль-28-овой кислоты (399)



R_f 0.2 (петролейный эфир–этилацетат 5:1), mp: 98.5 °С (петролейный эфир–этилацетат 7:1), $[\alpha]_D^{25} +36.4$ (c 0.6; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1693 ($\text{C}=\text{O}$), 1721 (COOCH_3), 2239 ($\text{C}\equiv\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.86, 0.92, 0.93, 1.17,

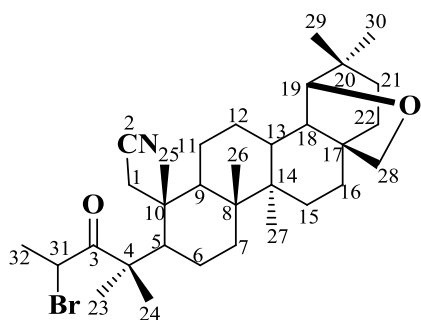
1.43 (15H, 5с, CH_3 x 5), 2.50 и 2.63 (2H, 2д, $J = 18.0$, H-1), 3.28 (1H, тд, $J = 11.2$, 4.8, H-19), 3.61 (3H, с, COOCH_3), 5.86 и 6.21 (2H, 2с, H-29), 6.52 (1H, с, H-32), 9.47 (1H, с, H-30). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13.86, 15.41, 18.45, 20.79, 21.30, 22.09 (2C), 24.87, 26.71, 28.99 (2C), 29.50, 31.19, 32.20, 36.19, 36.76, 37.64, 39.96, 42.24, 42.34, 44.77, 45.93, 50.84 (2C), 53.99, 56.13, 118.18 (C-2), 133.06 (C-29), 155.90 (C-20), 175.78 (C-28), 194.18 (C-30), 200.62 (C-3).

Методика синтеза 3-этилзамещенных бромпроизводных 400, 401

0.4 Ммоль соединения **370** (или **391**) растворяли в 30 мл уксусной кислоты, добавляли 0.4 ммоль $\text{C}_5\text{H}_6\text{Br}_3\text{N}$. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч. Полноту прохождения реакции контролировали

методом ТСХ. Реакционную смесь разбавляли водой и экстрагировали этилацетатом (3 x 20 мл). Органический слой промывали 5% раствором NaHCO_3 и водой, сушили над безводным MgSO_4 . Растворитель упаривали, сухой остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (элюент: петролейный эфир–этилацетат 7:1 (для соединения **400**) или 10:1 (для соединения **401**)).

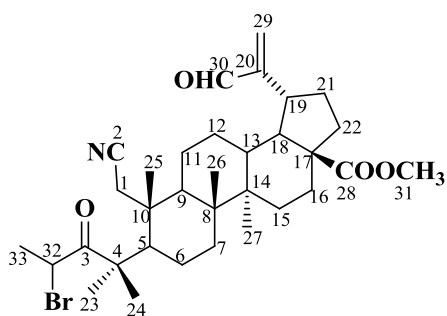
3-(1-Бромэтил)-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18 α H-олеан-3-он (400)



Выход: 64%, R_f 0.3 (петролейный эфир–этилацетат 5:1), т. пл. 165.0 °С (петролейный эфир–этилацетат 7:1), $[\alpha]_D^{23} +76.0$ (c 0.3; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1714 ($\text{C}=\text{O}$), 2237 ($\text{C}\equiv\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.82, 0.95,

0.98, 0.99, 1.05, 1.26, 1.53 (21H, 7с, CH_3 x 7), 1.77 (3H, д, $J = 6.6$, H-32), 2.65 и 2.76 (2H, 2д, $J = 18.0$, H-1), 3.47 и 3.77 (2H, 2д, $J = 7.8$, H-28), 3.55 (1H, с, H-19), 5.08 (2H, кв., $J = 6.6$, H-31). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 12.87, 15.25, 18.78, 20.70, 21.40, 21.74, 21.88, 24.03, 25.34, 25.59, 25.87, 25.91, 28.27, 29.66, 32.03, 32.16, 33.85, 35.77, 36.11, 39.83, 39.93, 40.59, 40.97, 42.18, 45.37, 45.50, 46.06, 53.83, 70.74 (C-28), 87.34 (C-19), 118.10 (C-2), 208.07 (C-3).

Метилловый эфир 3-(1-бромэтил)-3-оксо-1-циано-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-30-аль-28-овой кислоты (401)



Выход: 50%, R_f 0.3 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 176.4 °С (петролейный эфир–этилацетат 10:1), $[\alpha]_D^{23} +45.7$ (c 0.2; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1691 ($\text{C}=\text{O}$), 1718 (COOCH_3), 2238 ($\text{C}\equiv\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.,

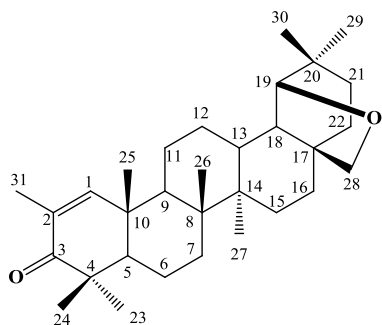
$J/\text{Гц}$): 0.85, 0.91, 0.92, 1.17, 1.43 (15H, 5с, CH_3 x 5), 1.68 (3H, д, $J = 6.6$, H-33), 2.52 и 2.60 (2H, 2д, $J = 18.0$, H-1), 3.27 (1H, тд, $J = 11.1$, 4.9, H-19), 3.60 (3H, с, COOCH_3), 4.97 (2H, кв., $J = 6.6$, H-32), 5.86 и 6.21 (2H, 2с, H-29), 9.47 (3H, с, H-30). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 14.48, 15.81, 18.96, 21.35, 21.81, 22.19,

22.40, 25.87, 27.22, 29.56, 29.68, 29.98, 31.70, 32.22, 33.04, 36.70, 38.16, 40.29, 40.52, 42.62, 42.73, 45.28, 46.06, 50.74, 51.37, 54.30, 56.64, 118.52 (C-2), 133.66 (C-29), 156.36 (C-20), 176.31 (C-28), 194.74 (C-30), 208.48 (C-3).

Методика синтеза А-циклических тритерпеноидов **402**, **403**

К раствору *t*-BuOK (0.6 ммоль) в *t*-BuOH (25 мл) добавляли соединение **396** (или **400**) (0.2 ммоль). Реакционную смесь кипятили в течение 2 ч, затем разбавляли 5% HCl и экстрагировали этилацетатом (3 x 20 мл). Органический слой промывали раствором NaHCO₃, сушили (MgSO₄), упаривали. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (элюент: петролейный эфир–этилацетат 30:1).

2-Метил-3-оксо-19 β ,28-эпокси-18 α H-олеан-1-ен (**402**)

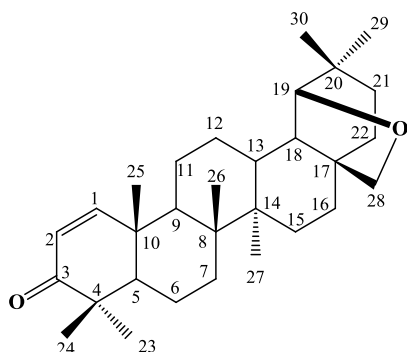


Выход: 47%, R_f 0.6 (петролейный эфир–этилацетат 5:1), т. пл. 223.6 °C (CHCl₃), $[\alpha]_D^{23} +109.0$ (*c* 0.4; CHCl₃). ИК спектр (ν , см⁻¹): 1716 (C=O). Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ , м.д., J/Гц): 0.75, 0.87, 0.88, 0.97, 0.98, 1.03, 1.04 (21H, 7с, CH₃ x 7), 1.70 (3H, с, H-32), 3.40 и 3.72 (2H, 2д, *J* = 7.8, H-28),

3.49 (1H, с, H-19), 6.82 (1H, с, H-1). Спектр ЯМР ¹³C (100 МГц, CDCl₃, δ , м.д.): 12.81, 15.68, 16.39, 18.65, 19.27, 20.85, 21.02, 24.02, 25.77, 25.86, 25.89, 27.87, 28.29, 32.23, 32.93, 33.93, 35.77, 36.26, 38.37, 40.51, 40.96, 40.98, 43.98, 44.90, 46.28, 53.13, 70.76 (C-28), 87.37 (C-19), 130.50, 154.37, 205.07 (C-3). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 452.4 [M]⁺ (100).

Для анализа соединения **402** использован бесцветный кристалл размером 0.57×0.42×0.34 мм. Кристалл ромбической сингонии, пространственная группа $P2_12_12_1$, a 6.4546(9), b 13.7438(18), c 29.518(6) Å, V 2618.5(7) Å³, M 452.69, $d_{\text{выч}}$ 1.148 г/см³, μ 0.069 мм⁻¹, C₃₁H₄₈O₂, Z 4. Окончательные параметры уточнения: R_1 0.0624, wR_2 0.1540 [для 4551 отражения с $I > 2\sigma(I)$], R_1 0.0777 wR_2 0.1725 (для всех 5711 независимых отражений), S 0.946.

3-Оксо-19 β ,28-эпокси-18 α H-олеан-1(2)-ен (или 1,2-дегидроаллобетулон) (403)

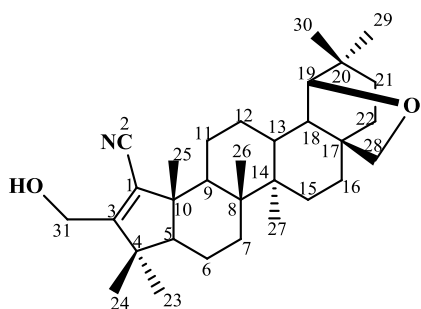


Выход: 25%, R_f 0.6 (петролейный эфир-этилацетат 7:3), т. пл. 251.5 °С (петролейный эфир-этилацетат 15:1), $[\alpha]_D^{25} +85.8$ (c 0.5; CHCl_3). Данные т. пл. и $[\alpha]_D^{25}$ коррелировали с описанными в работе [166], ИК и ЯМР спектральные данные охарактеризовали в соответствии с описанными в работе [178].

Методика синтеза 3-гидроксиметил-1-циано-19 β ,28-эпокси-2-нор-18 α H-олеан-1(3)-ена (404)

Метод А. К раствору NaOH (1.0 моль) в CH_3OH или $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (30 мл) добавляли соединение **396** (0.4 моль). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 2 ч. Полноту прохождения реакции контролировали методом ТСХ, затем реакционную массу разбавляли 5% HCl и экстрагировали этилацетатом (3×20 мл). Органический слой промывали насыщенным раствором NaHCO_3 , водой, сушили (MgSO_4), упаривали. Содержание продукта **404** в реакционной смеси составляла 36% по данным ГХ/МС.

Метод Б. Реакцию проводили аналогично методу А, в качестве основной системы использовали раствор KOH (1.0 моль) в $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (30 мл). Содержание продукта **404** в реакционной смеси составила 45% по данным ГХ/МС. Соединение **404** очищали методом колоночной хроматографии (элюент: петролейный эфир–этилацетат 10:1).



Выход: 39% (метод Б), R_f 0.2 (петролейный эфир–этилацетат 5:1), т. пл. 172.6 °С (петролейный эфир–этилацетат 10:1), $[\alpha]_D^{25} +33.5$ (c 0.3; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 2209 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 3400 (ОН). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J/Гц): 0.79, 0.92,

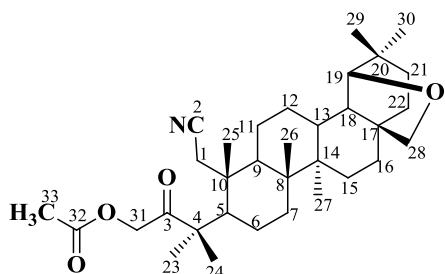
0.94, 1.02, 1.05, 1.13, 1.18 (21H, 7с, $\text{CH}_3 \times 7$), 3.44 и 3.76 (2H, 2д, $J = 7.8$, H-28), 3.52 (1H, с, H-19), 4.34 и 4.44 (2H, 2д, $J = 14.0$, H-31). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц,

CDCl_3 , δ , м.д.): 13.40, 17.02, 19.05, 20.69, 22.18, 24.46, 25.80, 26.24, 26.41, 26.92, 28.74, 29.65, 32.64, 33.81, 34.39, 36.20, 36.72, 41.19, 41.36, 42.37, 46.50, 46.76, 47.27, 51.38, 58.64 (C-31), 62.83, 71.17 (C-28), 87.93 (C-19), 122.35 (C-1, C-2), 167.55 (C-3). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 465.4 $[\text{M}]^+$ (100).

Методика синтеза соединений 405, 406

Соединение **396** (5.4 ммоль) растворяли в абсолютном ацетоне (10 мл), затем добавляли уксусную кислоту (5.4 ммоль) и последовательно вносили Et_3N (девятикратный избыток) и K_2CO_3 (четырёхкратный избыток). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 12 ч. После прохождения реакции (по данным ТСХ) отфильтровывали K_2CO_3 , фильтрат промывали раствором 10% HCl и водой до нейтрального значения pH, затем экстрагировали этилацетатом (3×50 мл). Органический слой сушили над безводным MgSO_4 , растворитель упаривали, остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюент: петролейный эфир–этилацетат 7:1).

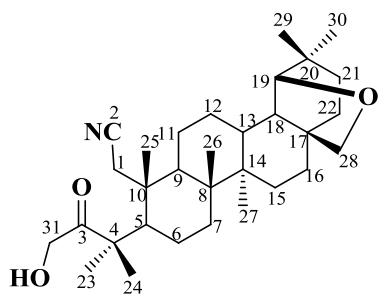
3-(Ацетилокси)метил-3-оксо-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18 α H-олеанан (405)



Выход: 45%, R_f 0.3 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 183.4 °С (петролейный эфир–этилацетат 7:1), $[\alpha]_D^{20} +43.0$ (c 0.5; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1718 ($-\text{COO}$), 1747 ($\text{C}=\text{O}$), 2233 ($\text{C}\equiv\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ ,

м.д., $J/\text{Гц}$): 0.82, 0.95, 1.01, 1.25, 1.35 (15H, 5с, $\text{CH}_3 \times 5$), 1.00 (6H, с, $\text{CH}_3 \times 2$), 2.19 (3H, с, $-\text{COOCH}_3$), 2.48 и 2.65 (2H, 2д, $J = 20.0$, H-1), 3.47 и 3.78 (2H, 2д, $J = 8.0$, H-28), 3.54 (1H, с, H-19), 4.96 и 5.08 (2H, 2д, $J = 16.0$, H-31). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 12.94, 15.11, 18.58, 19.94, 21.19, 21.37, 22.48, 23.77, 24.01, 25.63, 25.83, 25.93, 28.26, 29.40, 32.21 (2C), 33.86, 35.77, 36.15, 39.93, 40.67, 40.97, 42.00, 45.23, 46.13, 48.48, 51.35, 64.31, 70.75, 87.41, 117.95 (C-2), 169.80, 207.31 (C-3). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 525.5 $[\text{M}]^+$ (100).

3-Гидроксиметил-3-оксо-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18 α H-олеанан (406)



Выход: 37%, R_f 0.4 (петролейный эфир–этилацетат 1:1), т. пл. 189.7 °С (петролейный эфир–этилацетат 5:1), $[\alpha]_D^{20} +53.8$ (c 1.0; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1703 (C=O), 2238 (C \equiv N), 3472 (OH). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.80, 0.94, 1.25, 1.28 (12H, 4с, CH_3 x 4), 0.98 (9H, с, CH_3 x 3), 2.28 и 2.59 (2H, 2д, $J = 18.1$, H-1), 3.22 (1H, т, $J = 4.2$, -OH), 3.45 и 3.76 (2H, 2д, $J = 7.8$, H-28), 3.53 (1H, с, H-19), 4.39 и 4.56 (2H, 2дд, $J = 18.7, 4.2$, $\text{CH}_2\text{-OH}$). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 12.97, 15.08, 18.39, 21.19, 21.37, 23.07, 23.38, 24.00, 25.63, 25.80, 25.95, 28.25, 29.36, 32.20, 32.24, 33.84, 35.76, 36.15, 39.91, 40.68, 40.97, 41.87, 45.15, 46.12, 49.24, 50.42, 63.96, 70.74, 87.37, 117.68 (C-2), 215.24 (C-3).

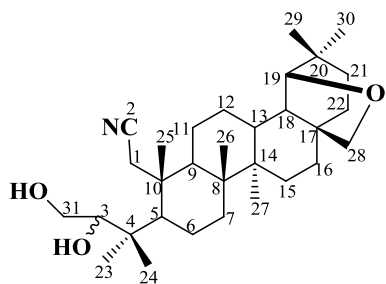
Микроволновой метод синтеза β -кетозэфира 405

К раствору соединения **396** (5.4 ммоль) в абсолютном ацетоне (10 мл) последовательно добавляли уксусную кислоту (5.4 ммоль), Et_3N (девятискратный избыток) и K_2CO_3 (четырёхкратный избыток). Реакционную смесь кипятили в течение 1 ч в микроволновом реакторе при температуре 80 °С, давлении 30 PSI и мощности 50 Вт. Полноту прохождения реакции контролировали с помощью ТСХ, по окончании реакции K_2CO_3 отфильтровывали. Реакционную смесь промывали раствором 10% HCl и водой до нейтрального значения pH, экстрагировали этилацетатом (3 \times 50 мл). Органический слой сушили над безводным MgSO_4 , растворитель упаривали, остаток очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле. Выход соединения **405** составил 75%.

Методика синтеза 3-гидрокси-3-гидроксиметил-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18 α H-олеанана (407)

Соединение **406** (0.4 ммоль) растворяли в MeOH , затем при перемешивании небольшими порциями добавляли NaBH_4 (4.2 ммоль). Реакционную смесь продолжали перемешивать при комнатной температуре в течение 30 мин, затем нагревали до 50 °С в течение 15 мин. Полноту прохождения реакции проверяли с

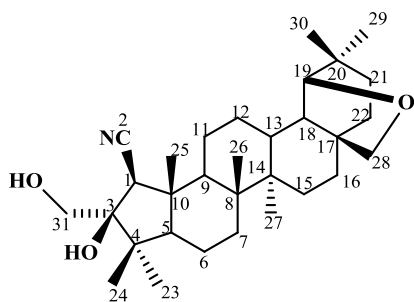
помощью ТСХ, затем отгоняли MeOH, реакционную смесь разбавляли раствором 5% HCl и экстрагировали этилацетатом (3 × 50 мл). Органический слой промывали насыщенным раствором NaHCO₃, сушили (MgSO₄), упаривали. Сухой остаток очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: петролейный эфир–этилацетат 5:1).



Выход: 72%, R_f 0.3 (петролейный эфир–этилацетат 1:1), т. пл. 224.8 °С (петролейный эфир–этилацетат 5:1), $[\alpha]_D^{20} +62.1$ (c 0.7; CHCl₃). ИК спектр (ν , см⁻¹): 2238 (C≡N), 3406 (OH). Спектр ЯМР ¹H для основного эписмера (400 МГц, CDCl₃, δ , м.д., J /Гц): 0.73, 0.85, 0.87, 0.90, 0.94, 0.97, 1.08 (21H, 7с, CH₃ × 7), 2.15 (1H, уш.с, -OH), 2.66 и 2.84 (2H, 2д, $J = 18.0$, H-1), 3.47 и 3.79 (2H, 2д, $J = 7.8$, H-28), 3.56 (1H, с, H-19), 3.55–3.63 (1H, м, -CH₂-OH), 3.70–3.76 (2H, м, CH₂-OH, CH-OH). Спектр ЯМР ¹³C для основного эписмера (100 МГц, CDCl₃, δ , м.д.): 12.88, 15.39, 17.58, 21.63, 22.14, 24.02, 25.68, 25.94, 26.03, 28.27, 29.05, 32.22, 32.50, 33.93, 35.76 (2C), 36.16, 40.17, 40.68, 40.99, 41.38, 41.98, 42.34, 45.70, 46.11, 47.62, 62.31, 70.78, 77.09 (C-31), 87.36, 118.69 (C-2).

Методика синтеза (1R,3R)-3β-гидрокси-3-гидроксиметил-1β-циано-19β,28-эпокси-2,3-секо-1,3-цикло-2-нор-18αH-олеанана (408)

К раствору 3% KOH в этаноле добавляли соединение **405** (0.4 ммоль) и кипятили с обратным холодильником в течение 2 ч. Полноту реакции контролировали с помощью ТСХ, затем этанол упаривали, остаток разбавляли 5% раствором HCl и экстрагировали этилацетатом (3 × 50 мл). Органический слой промывали водой до нейтрального значения pH и сушили над безводным MgSO₄. Растворитель упаривали, соединение **408** очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: петролейный эфир–этилацетат 5:1).

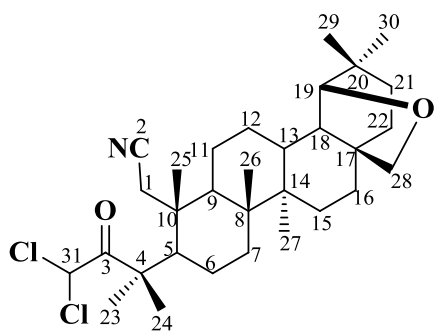


Выход: 42%, R_f 0.6 (петролейный эфир–этилацетат 1:1), т. пл. 197.6 °С (петролейный эфир–этилацетат 5:1), $[\alpha]_D^{25} +35.1$ (c 0.7; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 2238 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 3449 (ОН). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.74, 0.85, 0.87, 0.92, 1.18 (15H, 5с, CH_3 x 5), 0.93 (6H, с, CH_3 x 2), 2.26 (1H, с, H-1), 3.38 и 3.70 (2H, 2д, $J = 7.7$, H-28), 3.46 (1H, с, H-19), 3.55 и 3.64 (2H, 2д, $J = 10.5$, $\text{CH}_2\text{-OH}$). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13.51, 14.73, 15.90, 18.32, 20.58, 23.26, 24.50, 25.72, 25.89, 26.21, 26.55, 28.74, 32.71, 33.51, 33.95, 36.25, 36.77, 40.94, 41.43, 41.85, 45.01, 46.51, 46.85, 51.81, 53.80, 62.19, 68.89 (C-31), 71.17, 83.54 (C-3), 87.96, 120.17 (C-2).

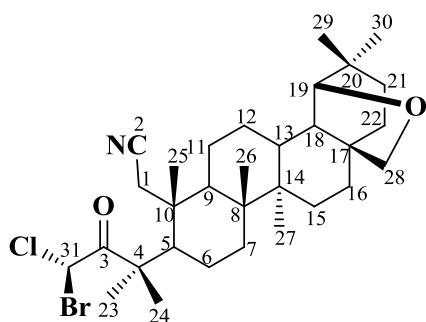
Данные PCA для соединения **408**. $\text{C}_{31}\text{H}_{49}\text{NO}_3$, $M = 483.71$, кристалл орторомбической сингонии, $a = 11.021(3)$ Å, $b = 15.598(6)$ Å, $c = 15.977(7)$ Å, $V = 2746.5(18)$ Å³, $T = 295(2)$, пространственная группа $P2_12_12_1$, $Z = 4$, $\mu(\text{Mo K}\alpha) = 0.073$ мм⁻¹. Окончательные параметры уточнения: $R_1 = 0.1073$, $wR_2 = 0.2399$ [для 2600 отражения с $I > 2\sigma(I)$]; $R_1 = 0.2105$, $wR_2 = 0.3004$ (для всех 5592 независимых отражений, $R_{\text{int}} = 0.0642$), $S = 1.021$.

Методика синтеза соединений **409**, **410**

Соединение **396** (5.4 ммоль) растворяли в CCl_4 (15 мл) и добавляли $i\text{-C}_5\text{H}_{11}\text{ONO}$ (27.4 ммоль). Реакционную смесь нагревали до кипения и затем по каплям добавляли HCl (27.4 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Полноту прохождения реакции контролировали методом ТСХ. Растворитель упаривали, остаток разбавляли водой и экстрагировали этилацетатом (3×50 мл). Органический слой сушили над безводным MgSO_4 , растворитель упаривали. Остаток очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: петролейный эфир–этилацетат 7:1).



3-(Дихлорметил)-3-оксо-1-циано-19β,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18αH-олеанан (409)



(31S)-31-Бром-3-метил-3-оксо-31-хлор-1-циано-19β,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18αH-олеанан (410)

Выход: 56%, R_f 0.3 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 157.9 °С (петролейный эфир–этилацетат 7:1), $[\alpha]_D^{20} +52.0$ (c 0.5; CHCl_3). ИК спектр (ν , см^{-1}): 1729 (C=O), 2237 (C≡N). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.80, 0.93, 0.96, 0.98, 1.03, 1.25, 1.47 (21H, 7с, CH_3 x 7), 2.58 и 2.75 (2H, 2д, $J = 20.0$, H-1), 3.45 и 3.75 (2H, 2д, $J = 8.0$, H-28), 3.52 (1H, с, H-19), 6.60 (0.4 H, с, H-31, соединение **410**) и 6.64 (0.6H, с, H-31, соединение **409**).

Данные РСА соединений **409**, **410**. $\text{C}_{31}\text{H}_{47}\text{Br}_{0.38}\text{Cl}_{1.62}\text{NO}_2$, $M = 553.60$, кристалл орторомбической сингонии, $a = 8.130(2)$ Å, $b = 13.827(4)$ Å, $c = 26.304(8)$ Å, $V = 2957.1(14)$ Å³, $T = 295(2)$, пространственная группа $P2_12_12_1$, $Z = 4$, $\mu(\text{Mo K}\alpha) = 0.729$ мм⁻¹. Окончательные параметры уточнения: $R_1 = 0.0663$, $wR_2 = 0.1666$ [для 3387 отражения с $I > 2\sigma(I)$]; $R_1 = 0.1240$, $wR_2 = 0.2148$ (для всех 6322 независимых отражений, $R_{\text{int}} = 0.0421$), $S = 1.028$.

Методика селективного синтеза (3R)-3-гидрокси-3-метил-1-циано-19β,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18αH-олеанана (360a)

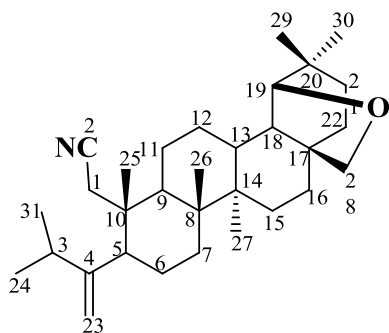
0.2 Ммоль соединения **362** растворяли в MeOH, затем при перемешивании небольшими порциями добавляли NaBH_4 (2.5 ммоль). Реакционную смесь продолжали перемешивать при комнатной температуре в течение 30 мин, затем нагревали до 50 °С в течение 15 мин. Полноту прохождения реакции проверяли с помощью ТСХ, затем отгоняли MeOH, реакционную смесь разбавляли раствором

5% HCl и экстрагировали этилацетатом (3 × 50 мл). Органический слой промывали насыщенным раствором NaHCO₃, сушили (MgSO₄), упаривали. Сухой остаток очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: петролейный эфир–этилацетат 10:1). Выход соединения **360a** составил 85%.

Методика синтеза алкенов **411**, **412**

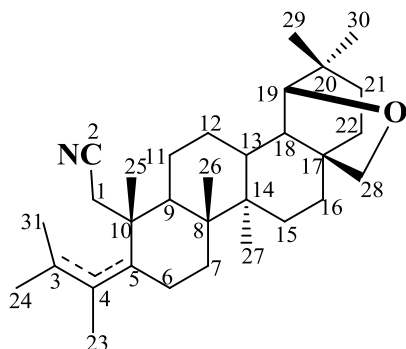
7.2 Ммоль соединения **360a** растворяли при перемешивании в 100 мл абс. CH₂Cl₂, затем добавляли 12.4 ммоль SOCl₂. Реакционную смесь продолжали перемешивать при комнатной температуре в течение 30 мин. Полноту прохождения реакции проверяли методом ТСХ. После окончания реакции растворитель упаривали в вакууме водоструйного насоса, остаток промывали CH₂Cl₂ для избавления от следов SOCl₂. Процедуру повторяли дважды. Полученный сухой остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (элюент: петролейный эфир–этилацетат 30:1).

3,3-Диметил-1-циано-19β,28-эпокси-2,3-секо-2,24-динор-18αH-олеан-4(23)-ен (411)



Выход 48%, $R_f = 0.6$ (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 195.7°C (петролейный эфир–этилацетат 10:1). ИК спектр (ν , см⁻¹): 2242 (C≡N). Спектр ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃, δ , м.д., J/Гц): 0.83, 0.90, 0.96, 1.04, 1.05 (15H, 5с, CH₃ × 5), 1.08 и 1.09 (6H, 2д, $J = 6.7$, (CH₃)₂CH), 2.10 и 2.35 (2H, 2д, $J = 17.1$, H-1), 2.17 (1H, дд, $J = 12.7$, $J = 2.8$, H-5), 12.22-2.30 (1H, м, H-3), 3.48 и 3.80 (2H, 2д, $J = 7.8$, H-28), 3.56 (1H, с, H-19), 4.83 и 5.02 (2H, 2с, H-23). Спектр ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃, δ , м.д.): 13.09, 14.90, 17.35, 21.73, 22.95, 24.01, 25.27, 25.71 (2C), 25.98, 28.28, 28.54, 28.75, 31.86, 32.24, 33.72, 35.78, 36.23, 39.96, 40.05, 40.75, 40.99, 43.25, 46.27 (2C), 51.23, 70.77, 87.46 (C-19), 109.59, 117.86 (C-2), 157.06.

3,3-Диметил-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2,24-динор-18 α H-олеан-3(4)/4(5)-ен (412)



$R_f = 0.6$ (петролейный эфир–этилацетат 7:3).

Некоторые сигналы соединения **412** (спектр ЯМР смеси продуктов 413 и 414). Спектр ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13.66, 15.31, 16.53, 19.44, 21.39, 21.53, 34.35, 34.92, 118.84, 127.99, 129.05.

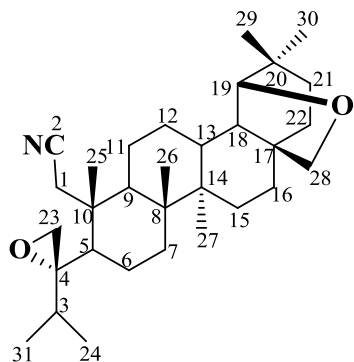
Методика селективного синтеза соединения 411

0.36 Ммоль соединения **360a** растворяли в 120 мл абс. пиридине и добавляли при перемешивании десятикратный мольный избыток (1.18 ммоль) POCl_3 . Полученную реакционную смесь нагревали в течение 3 ч при перемешивании на водяной бане (90-95 °С). После завершения реакции (контроль ТСХ) реакционную смесь медленно выливали в ледяную воду и экстрагировали этилацетатом (3×50 мл). Органический слой промывали 5% раствором HCl и далее сушили над безводным MgSO_4 . Растворитель упаривали, остаток очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: петролейный эфир–этилацетат 15:1). Выход соединения **411** составил 68%.

Методика синтеза эпоксидов 413а, 413б

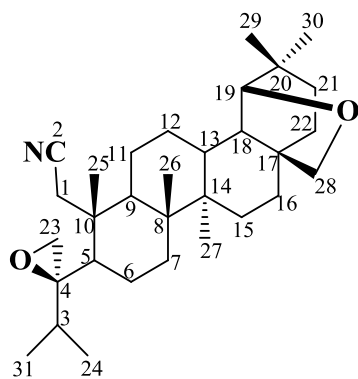
2.7 Ммоль соединения **411** растворяли в 20 мл толуола, добавляли 3.5 ммоль KF , 4.0 ммоль *m*-хлорнадбензойной кислоты и каталитическое количество ДАК. Кипятили в течение 3 дней. Полноту прохождения реакции контролировали методом ТСХ. После прохождения реакции отгоняли толуол, остаток разбавляли насыщенным раствором NaOH , экстрагировали этилацетатом (3 × 50 мл), органический слой промывали водой до нейтрального значения рН промывных вод и сушили над безводным MgSO_4 . Растворитель упаривали, остаток очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: петролейный эфир–этилацетат 30:1, 20:1).

3,3-Диметил-1-циано-(4*S*,23),(19 β ,28)-диэпокси-2,3-секо-2,24-динор-18 α H-олеанан (413а)



Выход: 32%, R_f 0.5 (петролейный эфир–этилацетат 5:1), т. пл. 202.8 °С (хлороформ–гексан), $[\alpha]_D^{20} +49.9$ (c 0.6; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 2239 ($\text{C}\equiv\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.74, 0.78, 0.87, 0.91, 0.95 (15H, 5с, $\text{CH}_3 \times 5$), 0.93 и 0.94 (6H, 2д, $J = 7.0$, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 1.99 (1H, дд, $J = 12.5$, $J = 3.0$, H-5), 2.31 и 2.86 (2H, 2д, $J = 17.5$, H-1), 2.47 и 2.48 (2H, 2д, $J = 8.0$, H-23), 3.39 и 3.69 (2H, 2д, $J = 7.8$, H-28), 3.46 (1H, с, H-19). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13.17, 14.89, 15.52, 17.55, 17.93, 20.90, 24.01, 24.33, 25.54, 25.67, 26.03, 27.80, 28.26, 29.15, 31.70, 32.22, 33.78, 35.77, 36.21, 39.58, 39.83, 40.75, 40.96, 43.45, 44.42, 46.25, 49.40, 65.12, 70.74 (C-28), 87.45 (C-19), 118.52 (C-2). Масс-спектр m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 467.4 $[\text{M}]^+$ (100).

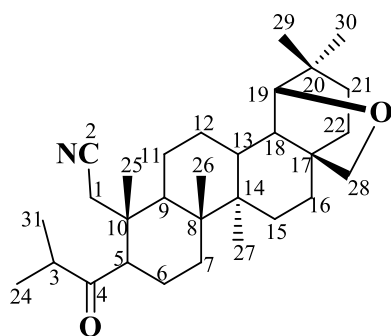
3,3-Диметил-1-циано-(4*R*,23),(19 β ,28)-диэпокси-2,3-секо-2,24-динор-18 α H-олеанан (413б)



Выход: 38%, R_f 0.4 (петролейный эфир–этилацетат 5:1), т. пл. 166.3 °С (петролейный эфир–этилацетат 20:1), $[\alpha]_D^{20} +65.2$ (c 0.5; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 2238 ($\text{C}\equiv\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.73, 0.87, 0.91, 0.94, 0.96 (15H, 5с, $\text{CH}_3 \times 5$), 0.70 и 0.90 (6H, 2д, $J = 6.9$, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 1.88 (1H, дд, $J = 12.6$, $J = 2.9$, H-5), 2.10-2.20 (1H, м, H-4), 2.37 и 2.74 (2H, 2д, $J = 17.0$, H-1), 2.50 и 2.51 (2H, 2д, $J = 13.8$, H-23), 3.38 и 3.70 (2H, 2д, $J = 7.8$, H-28), 3.46 (1H, с, H-19). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13.06, 14.77, 16.89, 18.11, 20.98, 21.33, 21.73, 24.01, 25.64, 25.67, 26.01, 28.12, 28.27, 29.31, 31.65, 32.22, 33.84, 35.78, 36.20, 39.79, 40.43, 40.66, 40.97, 43.82, 46.23, 48.86, 50.75, 63.43, 70.75 (C-28), 87.44 (C-19), 118.04 (C-2). Масс-спектр m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 467.4 $[\text{M}]^+$ (100).

Методика синтеза 3,3-диметил-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2,23,24-тринор-18 α H-олеан-4-он (414)

Поток сухой смеси озон/воздух при атмосферном давлении и охлаждении (-60 °C) пропускали через раствор соединения **411** (1 ммоль) в CH₂Cl₂ (50 мл). Через 2 ч реакцию смесь нагревали до комнатной температуры и упаривали растворитель. Остаток растворяли в уксусной кислоте, добавляли Zn (пыль) и нагревали 15 мин. Затем реакцию смесь разбавляли водой, экстрагировали этилацетатом (3 x 20 мл). Органический слой промывали 5% раствором NaHCO₃ и небольшим количеством воды, сушили над безводным MgSO₄. Растворитель упаривали, остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (элюент: петролейный эфир–этилацетат 15:1).

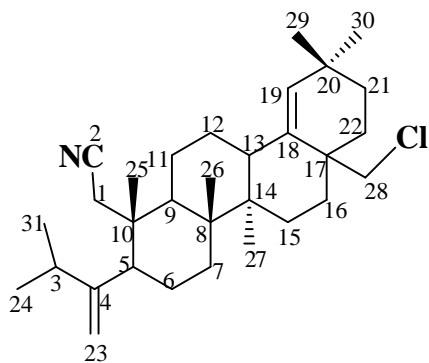


Выход 30%, R_f 0.6 (петролейный эфир–этилацетат 7:3), т. пл. 214.5 °C (петролейный эфир–этилацетат 10:1). ИК спектр (ν , см⁻¹): 1711 (C=O), 2244 (C≡N). Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ , м.д., J /Гц): 0.83, 0.96, 1.03, 1.05, 1.07 (15H, 5с, CH₃ x 5), 1.11 (6H, д, J = 6.8, (CH₃)₂CH), 2.03 (1H, дд, J = 12.4, J = 3.2, H-5), 2.18 и 2.53 (2H, 2д, J = 17.5, H-1), 2.79-2.87 (1H, м, H-3), 3.48 и 3.79 (2H, 2д, J = 7.8, H-28), 3.55 (1H, с, H-19). Спектр ЯМР ¹³C (100 МГц, CDCl₃, δ , м.д.): 13.08, 14.75, 17.41, 17.67, 18.04, 20.79, 21.77, 24.00, 25.53, 25.65, 25.98, 28.26, 28.77, 31.50, 32.21, 33.70, 35.78, 36.20, 38.61, 40.01, 40.74, 40.81, 40.95, 42.77, 46.25, 55.38, 70.72, 87.42 (C-19), 117.34 (C-2), 216.17 (C-4).

Методика синтеза 3,3-диметил-1-циано-2,3-секо-2,24-динор-17-хлорметил-олеан-4(23),18(19)-диен (415)

К 8 ммоль ДМФА при перемешивании и охлаждении (10-20 °C) добавляли по каплям 4 ммоль POCl₃ и продолжали перемешивание 5 мин. В полученную реакцию смесь вносили 4 ммоль соединения **411**, смесь нагревали до 50-60 °C и перемешивали при этой температуре 1 ч, затем еще 1 ч при 70 °C и 4 дня при 80 °C. После прохождения реакции (контроль ТСХ) остывшую реакцию массу постепенно вливали в смесь льда с водой и экстрагировали этилацетатом (3 x 50

мл). Органический слой промывали раствором NaHCO_3 и небольшим количеством воды, сушили над безводным MgSO_4 . Растворитель упаривали, остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (элюент: петролейный эфир–этилацетат 20:1).



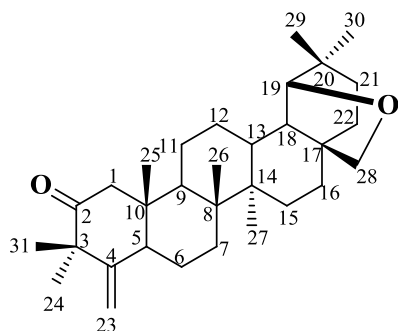
Выход: 78%, R_f 0.6 (петролейный эфир–этилацетат 5:1), т. пл. 199.3 °С (петролейный эфир–этилацетат 20:1), $[\alpha]_D^{25} +8.0$ (c 0.5; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 2240 ($\text{C}\equiv\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.88, 0.90, 0.96, 0.97, 1.11 (15H, 5с, CH_3 x 5), 1.05 и 1.06 (6H, 2д, $J = 6.7$, $(\text{CH}_2)_2\text{CH}$),

2.10 и 2.35 (2H, 2д, $J = 17.2$, H-1), 3.48 и 3.74 (2H, 2д, $J = 11.5$, H-28), 4.82 и 5.00 (2H, с, H-23), 5.10 (1H, с, H-19). Спектр ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 14.33, 15.35, 17.55, 21.76, 22.96, 25.22, 25.52, 26.59, 28.54, 28.79, 28.82, 30.15, 30.24, 30.44, 31.95, 32.07, 32.41, 34.41, 38.30, 38.45, 39.90, 40.14, 43.03, 43.28, 48.80, 51.23, 109.67 (C-23), 117.82 (C-2), 133.84, 137.69, 156.99 (C-4).

Методика синтеза соединений 416-419

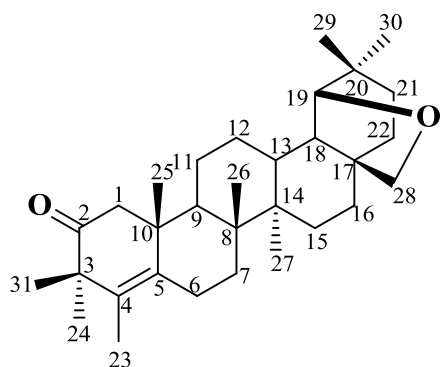
0.4 Ммоль соединения **360a** (или **360b**) растворяли в 30 мл CH_3COOH лед. и добавляли смесь 0.1 мл H_2SO_4 конц. и 10 мл CH_3COOH лед. Реакционную смесь нагревали в течение 30 мин. После прохождения реакции (контроль ТСХ) реакционную смесь разбавляли 1%-ным водным раствором KOH , экстрагировали этилацетатом (3 × 50 мл). Органический слой промывали раствором NaHCO_3 , затем водой до нейтрального значения рН промывных вод, сушили над безводным MgSO_4 . Растворитель упаривали, остаток очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: петролейный эфир–этилацетат 20:1).

3,3-Диметил-19 β ,28-эпокси-24-нор-18 α H-олеан-4(23)-ен-2-он (416)

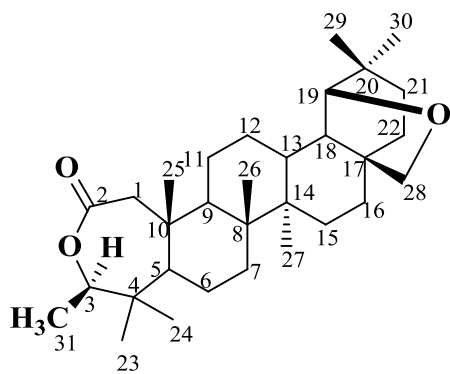


Выход: 13%, R_f 0.6 (петролейный эфир—этилацетат 5:1), т. пл. 196.8 °С (петролейный эфир—этилацетат 20:1), $[\alpha]_D^{20} +26.6$ (c 0.5; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1710 (C=O). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.48, 0.74, 0.87, 0.91, 0.92, 1.19, 1.23 (21H, 7с, CH_3 x 7), 2.18 и 2.43 (2H, 2д, $J = 14.5$, H-1.), 3.39 и 3.72 (2H, 2д, $J = 7.8$, H-28), 3.47 (1H, с, H-19), 4.68 и 4.89 (2H, 2с, H-23). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13.37, 15.08, 15.61, 21.53, 21.77, 21.80, 24.54, 26.26, 26.37 (2C), 28.79, 28.96, 31.98, 32.75, 34.24, 36.29, 36.78, 39.65, 40.47, 40.86, 41.50, 46.80, 47.50, 47.85, 52.25, 53.32, 71.27 (C-28), 87.91 (C-19), 106.87, 154.95, 214.21 (C-2).

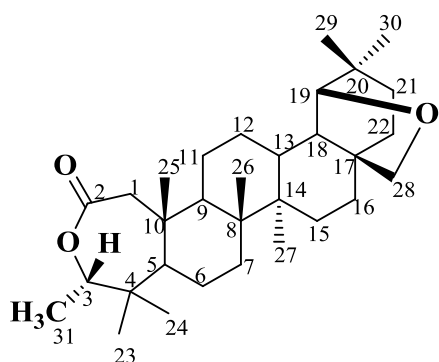
3,3-Диметил-4-метил-19 β ,28-эпокси-24-нор-18 α H-олеан-4(5)-ен-2-он (417)



Выход: 15%, R_f 0.5 (петролейный эфир—этилацетат 5:1), т. пл. 163.2 °С (петролейный эфир—этилацетат 20:1), $[\alpha]_D^{25} +58.8$ (c 0.5; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1710 (C=O). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.74, 0.81, 0.84, 0.87, 1.03, 1.06, 1.14 (21H, 7с, CH_3 x 7), 1.60 (3H, с, H-23), 2.32 и 2.39 (2H, 2д, $J = 12.2$, H-1), 3.39 и 3.72 (2H, 2д, $J = 7.8$, H-28), 3.48 (1H, с, H-19). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13.25, 13.84, 14.69, 21.59, 21.81, 22.46, 22.62, 24.51, 26.21, 26.48, 26.60, 28.76 (2C), 31.99, 32.71, 34.42, 36.25, 36.72, 40.29, 40.83, 41.49, 42.97, 46.69, 48.29, 48.92, 51.64, 71.27 (C-28), 87.83 (C-19), 129.06, 137.21, 215.51 (C-2).

(3R)-3-Метил-19 β ,28-эпокси-18 α H-олеан-2,3-олид (418)

Выход: 32%, R_f 0.3 (петролейный эфир—этилацетат 7:3), т. пл. 87.0 °С (петролейный эфир—этилацетат 20:1), $[\alpha]_D^{20} +40.8$ (с 0.5, CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1728 (C=O). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.73, 0.79, 0.81, 0.84, 0.87, 0.94, 0.98 (21H, 7с, $\text{CH}_3 \times 7$), 1.25 (3H, д, H-31, $J = 6.4$), 2.40 и 2.76 (2H, 2д, $J = 13.7$, H-1), 3.38 и 3.69 (2H, 2д, $J = 7.8$, H-28), 3.46 (1H, с, H-19), 4.30 (1H, к, $J = 6.4$, H-3). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13.12, 14.70, 16.68, 20.03, 20.27, 21.01, 21.53, 22.01, 24.49, 26.13, 26.27, 26.47, 28.74, 32.70, 34.09, 34.13, 36.22, 36.70, 40.80, 41.08, 41.33, 41.44, 41.46, 47.94, 48.24, 48.55, 62.07, 71.22 (C-28), 82.40 (C-3), 87.75 (C-19), 174.46 (C-2).

(3S)-3-Метил-19 β ,28-эпокси-18 α H-олеан-2,3-олид (419)

Выход: 34%, R_f 0.4 (петролейный эфир—этилацетат 7:3), т. пл. 235.3 °С (петролейный эфир—этилацетат 20:1), $[\alpha]_D^{20} +53.0$ (с 0.5, CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1731 (C=O). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.74, 0.82, 0.85, 0.87, 0.90, 0.94, 1.05 (21H, 7с, $\text{CH}_3 \times 7$), 1.24 (3H, д, $J = 6.3$, H-31), 2.38 и 2.78 (2H, 2д, $J = 14.3$, H-1), 3.38 и 3.70 (2H, 2д, $J = 7.8$, H-28), 3.47 (1H, с, H-19), 4.37 (1H, к, $J = 6.2$, H-3). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13.22, 15.08, 16.52, 20.17, 20.30, 20.90, 21.97, 22.52, 24.47, 26.23, 26.43, 26.50, 28.77, 32.71, 33.47, 34.64, 36.23, 36.66, 40.05, 40.64, 41.07, 41.47, 41.59, 46.57, 48.16, 48.21, 52.72, 71.30 (C-28), 79.83 (C-3), 87.80 (C-19), 174.11 (C-2).

Методика исследования противовирусной активности в отношении вируса герпеса простого I типа

При проведении исследований использовали линию клеток рабдомиосаркомы человека (RD) и вирус герпеса простого I типа (ВГП-1, штамм 1 С). Монослойную культуру клеток RD, выращенную в лунках пластиковой 96-

луночной панели, отмывали от ростовой среды, инфицировали 0.01-0.001 ТЦИД₅₀/клетка ВГП-1 путем нанесения на клетки разведений вирусосодержащей суспензии в объеме 0.1 мл на 1 ч при 37 °С. Затем жидкость удаляли и клетки покрывали средой поддержки (среда DMEM), содержащей различные концентрации исследуемых веществ. Водонерастворимые вещества предварительно растворяли в 10% этаноле. При последующем разведении использовали DMEM. Содержание этанола в конечных концентрациях веществ для исследования не превышало 1%. На каждую концентрацию изучаемого вещества использовали по 2-4 лунки с культурой клеток, инфицированной одним разведением вируса. Для изучения противовирусных свойств каждого вещества использовали 3-4 разведения вируса. После 48 ч инкубации при 37 °С регистрировали морфологические изменения монослоя клеток (цитопатическое действие (ЦПД) вируса, увеличение x 80). На основе наличия/отсутствия ЦПД вируса в лунках с разными концентрациями вещества вычисляли титр вируса. Первичным критерием противовирусного действия считали наличие различий в сравнении с контролем вируса. На основе значений титра вируса вычисляли среднеэффективную концентрацию вещества (EC₅₀). Рассчитывали также отношение максимально переносимой концентрации (МПК) соединения к EC₅₀. МПК определяли как максимальную концентрацию вещества, не оказывающую влияния на морфологию неокрашенной культуры клеток за период инкубации (48 ч).

Методика исследования противовирусной активности в отношении ВИЧ-1

Испытания проводили на перевиваемой суспензионной Т-лимфо-бластоидной линии клеток человека МТ-4 (плотность 4-5x10⁵ клеток/мл) на питательной среде RPMI-1640 Sigma-Aldrich (США). В качестве инфекционного агента использовали высокорепликативный изолят ВИЧ-1_{zmb} с титром 6,0 lg ТЦИД₅₀/мл. Определение наличия анти-ВИЧ активности проводили в формазановом тесте (МТТ-вариант). Исходный раствор препарата (5.0 мг/мл) готовили ex tempore путем растворения в 10% этаноле. Базовый раствор

титровали в лунках 96-луночной панели с 5-кратным шагом, после чего в лунки последовательно вносили клетки и вирус (терапевтическая схема). Конечный объем реакционной смеси составлял 200 мкл/лунку. Контролями служили необработанные веществом ВИЧ-инфицированные клетки (контроль вируса) и необработанные неинфицированные клетки (контроль клеток). Панели инкубировали при 37 °С в атмосфере, содержащей 5% CO₂. Учет результатов осуществляли через 72 ч. В качестве позитивного контроля на анти-ВИЧ активность в каждой серии экспериментов использовали коммерческий препарат азидотимидин, который титровали параллельно с исследуемым образцом.

Методика базируется на определении интенсивности образования формазанового продукта при внесении в клеточную культуру реагента МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид). После 3-х часовой экспозиции при 37 °С надсадок удаляли, а образовавшийся формазановый продукт растворяли в диметилсульфоксиде, затем проводили измерение интенсивности развившегося окрашивания на спектрофотометре Plate Reader DAS A3 (Италия) при длине волны 550/630 нм. Результаты теста учитывали путем определения индекса защиты клеток, который в положительных случаях должен быть не ниже 50%. Вычисляли EC₅₀ препарата и отношение МПК/EC₅₀, характеризующее широту спектра его нетоксических эффективных концентраций. Каждый эксперимент повторяли трижды.

Методика исследования вирулицидных свойств

О вирулицидных свойствах судили по остаточной инфекционности вируса после контакта вирусосодержащей жидкости с растворами (суспензиями) веществ. Суспензию исследуемого вещества (800 мкг/мл) объединяли с неразведенной суспензией вируса и выдерживали при комнатной температуре в течение заданного времени. После завершения экспозиции готовили последовательные десятикратные разведения смеси на поддерживающей среде и инфицировали ими выращенную монослойную культуру клеток (во флаконах или в лунках планшет). После инкубации регистрировали морфологические изменения монослоя клеток и вычисляли титр вируса. Критерием наличия вирулицидного действия считали

различие в титре вируса в сравнении с группой без экспозиции (точка «0»). Вычисляли время достижения 50% вирулицидного действия (ET_{50}). Каждый эксперимент повторяли трижды.

Методика проведения цитотоксического скрининга

Исследование цитотоксической активности продуктов синтеза проводили на линиях клеток злокачественных опухолей человека: HEP-2 (карцинома гортани человека), HCT 116 (колоректальная карцинома человека), MS (меланома человека), RD TE 32 (рабдомиосаркома человека), A549 (немелкоклеточная карцинома легких человека), MCF-7 (аденокарцинома молочной железы человека). Линии клеток получены из Федерального государственного бюджетного учреждения «Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва). Клетки культивировали в питательной среде DMEM (RD TE32, MCF-7, A549, HEP-2) или RPMI-1640 (HCT116, MS) с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки, 2 мМ L-глутамин и 0.1 мг/мл гентамицина, в условиях содержания в атмосфере 5% CO_2 при 37°C в инкубаторе Isotemp Barnstead (США). Клеточную суспензию (1×10^6 клеток/мл) вносили в 96-луночный планшет SPL (Китай) (100 мкл/луночка) и инкубировали в указанных выше условиях для образования монослоя. Через 24 ч исследуемые соединения растворяли в ДМСО и вносили в лунки планшета в концентрации от 1.56 до 100 мкМ. Данные сравнивали с отрицательным контролем (0.1% раствор ДМСО), в качестве положительного контроля использовали камптотецин и доксорубицин, которые обладают цитотоксическим эффектом в отношении ряда линий опухолевых клеток [180]. Через 72 ч после внесения соединений оценивали выживаемость клеток с помощью МТТ-теста [181] на спектрофотометре FLUOstar OPTIMA BMG Labtech (Германия). Для каждого соединения рассчитывали концентрацию, вызывающую гибель 50% клеток (IC_{50}), на основе дозозависимых кривых с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 6.0. Каждый эксперимент повторяли трижды.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. На примере 2,3-секотритерпеновых метилкетонов продемонстрирована возможность альтернативных подходов к синтезу 2,3-секотритерпеноидов с фрагментом алкилкетона, включающих в качестве ключевой стадии восстановительное алкилирование в условиях реакции Гриньяра 2,3-секотритерпеновых альдегидонитрилов или тритерпеновых α -кетоксимов.

2. Установлено, что в условиях основного катализа внутримолекулярная оксонитрильная циклизация 2,3-секотритерпеновых метилкетонов протекает с сужением кольца А тритерпеноидов и формированием C(1)–C(3) двойной связи, что приводит к образованию А-пентациклических 3-метилзамещенных α,β -алкеннитрилов. Циклизация в кислотных условиях продуктов восстановления метилкетона – эпимерных ϵ -гидроксинитрилов приводит к образованию гексациклических β -енонов и γ -лактонам.

3. Показано, что в условиях дегидратации (3*R*)-3-гидрокси-3-метил-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18 α H-олеанана под действием POCl₃/C₅H₅N протекает формирование карбокатиона с последующей 1,2-миграцией C(24) метильной группы и преимущественным образованием C(4) изопентенового фрагмента в структуре 2,3-секотритерпеноида, озонированием и эпоксицированием двойной связи которого получены 2,3-секопроизводные с фрагментами изопропилкетона или 4,23-эпоксида соответственно.

4. Осуществлен синтез 3-бромметил- и 3-ацилоксиметилзамещенных производных 2,3-секо-18 α H-олеананового метилкетона, региоселективная оксонитрильная C(1)–C(3) циклизация которых с формированием фрагмента γ -гидрокси-алкеннитрила или дигидроксинитрила в пятичленном А цикле тритерпеноида реализована в условиях основного катализа (KOH/C₂H₅OH).

5. Разработаны методы синтеза и селективной внутримолекулярной нитрил-анионной циклизации 2,3-секо-18 α H-олеанановых этилкетона и его α -бромзамещенного производного. Экспериментально показано, что C(1)–C(3) циклизация этилкетона протекает по оксонитрильному пути с образованием фрагмента 3-этилзамещенного α,β -алкеннитрила в пятичленном цикле А, тогда

как его бромпроизводное подвергается нитрил-анионной C(1)–C(31) циклизации с отщеплением циано-группы и образованием фрагмента 2-метилзамещенного алкенкетона в шестичленном цикле А.

6. В результате скрининга противовирусных свойств продуктов синтеза выявлен 3-метил-1-циано-19 β ,28-эпокси-2,3-секо-2-нор-18 α H-олеан-3-он с ингибирующим эффектом в отношении ВГП-1 и ВИЧ-1 (EC₅₀ 45.1 и 15.4 мкМ соответственно). По данным скрининга цитотоксической активности, отобран метиловый эфир 3-бромметил-3-оксо-1-циано-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-30-аль-28-овой кислоты, цитотоксичный (IC₅₀ 0.8–25.4 мкМ) в отношении опухолевых клеток и их клонов с множественной лекарственной устойчивостью, проапоптотический механизм действия которого реализуется активацией каспаз 8, 3/7.

Перспективы дальнейшей разработки темы диссертационного исследования. Предложенные в диссертационной работе подходы к синтезу и внутримолекулярной циклизации 3-алкилзамещенных 1-циано-2,3-секотритерпеноидов могут быть успешно применены на других объектах с целью расширения библиотеки биологически активных тритерпеноидов. При этом установленные закономерности в проявлении противоопухолевой и противовирусной активности полученных соединений позволяют прогнозировать свойства целевых тритерпеноидов. Впервые описанный бромметилкетон лупанового типа перспективен в качестве противоопухолевого агента и требует дополнительных биологических исследований.

ПЕРЕЧЕНЬ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

- ВИЧ-1 – вирус иммунодефицита человека I типа
- ВПГ-1 – вирус герпеса простого I типа
- ХТИ – химиотерапевтический индекс
- EC₅₀ – концентрация вещества, ингибирующая вирусное цитопатогенное действие на 50% (среднеэффективная концентрация)
- IC₅₀ – концентрация вещества, при которой погибают 50% опухолевых клеток
- МЛУ – множественная лекарственная устойчивость
- ЛД₅₀ – средняя доза вещества, вызывающая гибель половины членов испытываемой группы
- МТТ-тест – колориметрический тест для оценки метаболической активности клеток
- ТФА – 12-*O*-тетрадеcanoилфорбол-13-ацетат
- PDC – пиридиний дихромат
- ТГФ (THF) – тетрагидрофуран
- ДМС (DMS) – диметилсульфид
- ДМФА (DMF) – N,N-диметилформамид
- DMAP – 4-диметиламинопиридин
- PCC – хлорхромат пиридиния
- PPTs – тозилат пиридиния
- TBDPSCI – трет-бутилдифенилхлорсилан
- EDC – 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид
- DCM – дихлорметан
- PDC – дихромат пиридиния
- TBAF – фторид тетрабутиламмония
- DDQ – 2,3-дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохинон
- ¹H-ЯМР – спектроскопия ядерного магнитного резонанса на ядрах ¹H
- ¹³C-ЯМР – спектроскопия ядерного магнитного резонанса на ядрах ¹³C
- HMBC – гетероядерная спиновая корреляция с дальними атомами
- HSQC – прямая гетероядерная спиновая корреляция

NOESY – гомоядерная пространственная корреляция

COSY – гомоядерная спиновая корреляция

ИК – инфракрасная спектроскопия

KCCB – константа спин-спинового взаимодействия

РСА – рентгеноструктурный анализ

DIBAL-H – диизобутилалюминий-гидрид

ДАК – азобисизобутиронитрил

I₉₅ — доверительный интервал

ET₅₀ – время достижения 50 % вирулицидного действия

Cрт – камптотецин

DOX – доксорубицин

ТСХ – тонкослойная хроматография

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dzubak, P. Pharmacological activities of natural triterpenoids and their therapeutic implications / P. Dzubak, M. Hajduch, D. Vydra, A. Hustova, M. Kvasnica, D. Biedermann, L. Markova, M. Urban, J. Sarek // *Nat. Prod. Rep.* – 2006. – V. 23. – N. 3. – P. 394-411.
2. Ríos, J.L. Effects of triterpenes on the immune system / J.L. Ríos // *J. Ethnopharmacol.* – 2010. – V. 128. – P. 1-14.
3. Newman, D.J. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010 / D.J. Newman, G.M. Cragg // *J. Nat. Prod.* – 2012. – V. 75. – N. 3. – P. 311-335.
4. Lee, K.H. Discovery and development of natural product-derived chemotherapeutic agents based on a medicinal chemistry approach / K.H. Lee // *J. Nat. Prod.* – 2010. – V. 73. – P. 500–516.
5. Ríos, J.L. Lanostanoids from Fungi: A Group of potential anticancer compounds / J.L. Ríos, I. Andujar, M.C. Recio, R.M. Giner // *J. Nat. Prod.* – 2012. – V. 75. – P. 2016–2044.
6. Zhang, X. Betulinic acid and the pharmacological effects of tumor suppression (Review) / X. Zhang, J. Hu, Y. Chen // *Mol. Med. rep.* – 2016. – V. 14. – P. 4489-4495.
7. Dewanjee, S. Natural products as alternative choices for P-glycoprotein (P-gp) inhibition / S. Dewanjee, T.K. Dua, N. Bhattacharjee, A. Das, M. Gangopadhyay, R. Khanra, S. Joardar, M. Riaz, V. De Feo, M. Zia-Ul-Haq // *Molecules.* – 2017. – V. 22. – P. 871-964.
8. Tolstikova, T.G. Biological activity and pharmacological prospects of lupane terpenoids: I. Natural lupane derivatives / T.G. Tolstikova, I.V. Sorokina, G.A. Tolstikov, A.G. Tolstikov, O.B. Flekhter // *Russ. J. Bioorg. Chem.* – 2006. – V. 32. – N. 1. – P. 37-49.
9. Tolstikova, T.G. Biological activity and pharmacological prospects of lupane terpenoids: II. Semisynthetic lupane derivatives / T.G. Tolstikova, I.V. Sorokina, G.A. Tolstikov, A.G. Tolstikov, O.B. Flekhter // *Russ. J. Bioorg. Chem.* – 2006. – V. 32. – N. 3. – P. 261-276.

10. Itokawa, H. Plant-derived natural product research aimed at new drug discovery / H. Itokawa, S.L. Morris-Natschke, T. Akiyama, K.H. Lee // *J. Nat. Med.* – 2008. – V. 62. – N. 3. – P. 263-280.
11. Periasamy, G. Betulinic acid and its derivatives as anti-cancer agent: A review // G. Periasamy, G. Teketelew, M. Gebrelibanos, B. Sintayehu, M. Gebrehiwot, A. Karim, G. Geremedhin // *Arch. Appl. Sci. Res.* – 2014. – V. 6. – N. 3. – P. 47-58.
12. Cassels, B.K. Anti-HIV activity of natural triterpenoids and hemisynthetic derivatives 2004–2009 / B.K. Cassels, M. Asencio // *Phytochem. Rev.* – 2011. – V. 10. – N. 4. – P. 545-564.
13. Li, W.H. A new anti-HIV lupane acid from *Gleditsia sinensis* Lam / W.H. Li, X.M. Zhang, R.R. Tian, Y.T. Zheng, W.M. Zhao, M.H. Qiu // *J. Asian. Nat. Prod. Res.* – 2007. – V. 9. – N. 6. – P. 551-555.
14. Giles Jr., P.M. Revised section F: Natural products and related compounds / P.M. Giles Jr. // *Pure Appl. Chem.* – 1999. – V. 71. – N. 4. – P. 587-643.
15. Семенов, А.А. Основы химии природных соединений / А.А. Семенов, В.Г. Карцев // Международный благотворительный фонд «Научное Партнерство». МБФНП. Москва. – 2009. – Т. 1. – 624с.
16. Zeng, Q. 2,3-Seco-and 3,4-seco-tirucallane triterpenoid derivatives from the stems of *Aphanamixis grandifolia* Blume / Q. Zeng, B. Guan, J.J. Qin, C.H. Wang, X.R. Cheng, J. Ren, S.K. Yan, H.Z. Jin, W.D. Zhang // *Phytochemistry.* – 2012. – V. 80. – P. 148-155.
17. Raja Rao, K.V. An A-ring contracted triterpenoid from *Hyptis suaveolens* / K.V. Raja Rao, L.J.M. Rao, N.S. Prakasa Rao // *Phytochemistry.* – 1990. – V. 29. – N. 4. – P. 1326-1329.
18. Taniguchi, S. Production of bioactive triterpenes by *Eriobotrya japonica* calli / S. Taniguchi, Y. Imayoshi, E. Kobayashi, Y. Takamatsu, H. Ito, T. Hatano, H. Sakagami, H. Tokuda, H. Nishino, D. Sugita, S. Shimura, T. Yoshida // *Phytochemistry.* 2002. – V. 59. N. 3. – P. 315-323.
19. Thao, N.P. Rat intestinal sucrase inhibition of constituents from the roots of *Rosa rugosa* Thunb / N.P. Thao, B.T.T. Luyen, B.H. Tai, S.Y. Yang, S.H. Jo, N.X. Cuong,

- N.H. Nam, Y.I. Kwon, C.V. Minh, Y.H. Kim // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2014. – V. 24. – N. 4. P. 1192-1196.
20. Machida, K. Studies on the constituents of viburnum species. XVIII.: Viburnols: six new triterpenoids from viburnum dilatatum THUNB / K. Machida, M. Kikuchi // *Chem. Pharm. Bull.* – 1997. – V. 45. – N. 12. – P. 1928-1931.
21. Machida, K. Viburnols: Six novel triterpenoids from *Viburnum dilatatum* / K. Machida, M. Kikuchi // *Tetrahedron Lett.* – 1997. – V. 38. – N. 4. – P. 571-574.
22. Lontsi, D. Musancropic acids A and B: A-ring contracted triterpenes from *Musanga cecropioides* / D. Lontsi, B.L. Sondengam, M.T. Martin, B. Bodo // *Phytochemistry.* – 1991. – V. 30. – N. 7. – P. 2361-2364.
23. He, X.F. Ring A modified novel triterpenoids from *Dysoxylum hainanense* / X.F. He, X.N. Wang, S. Yin, L. Dong, J.M. Yue // *Eur. J. Org. Chem.* – 2009. – V. 28. – P. 4818-4824.
24. Ji, C.J. Zizimauritic acids A–C, three novel nortriterpenes from *Ziziphus mauritiana* / C.J. Ji, G.Z. Zeng, J. Han, W.J. He, Y.M. Zhang, N.H. Tan // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2012. – V. 22. – N. 20. – P. 6377-6380.
25. Kang, K.B. Catechin-Bound Ceanothane-Type Triterpenoid Derivatives from the Roots of *Zizyphus jujuba* / K.B. Kang, H.W. Kim, J.W. Kim, W.K. Oh, J. Kim, S.H. Sung // *J. Nat. Prod.* – 2017. – V. 80. – P. 1048-1054.
26. Domínguez-Carmona, D.B. Metabolites from roots of *Colubrina greggii* var. *yucatanensis* and evaluation of their antiprotozoan, cytotoxic and antiproliferative activities / D.B. Domínguez-Carmona, F. Escalante-Erosa, K. García-Sosa, G. Ruiz-Pinell, D. Gutierrez-Yapu, M.J. Chan-Bacab, R.E. Moo-Puc, N.C. Veitch, A. Giménez-Turba, L.M. Peña-Rodríguez // *J. Braz. Chem. Soc.* – 2011. – V. 22. – N. 7. – P. 1279-1285.
27. Fujiwara, Y. Triterpenoids isolated from *Zizyphus jujuba* inhibit foam cell formation in macrophages / Y. Fujiwara, A. Hayashida, K. Tsurushima, R. Nagai, M. Yoshitomi, N. Daiguji, N. Sakashita, M. Takeya, S. Tsukamoto, T. Ikeda // *J. Agric. Food. Chem.* – 2011. – V. 59. – P. 4544-4552.

28. Julian, P.L. Constituents of *Ceanothus americanus*: ceanothic acid / P.L. Julian, J. Pikel, R. Dawson // J. Am. Chem. Soc. – 1938. – V. 60. – P. 77-79.
29. Erazo, S. Colubrinic acid isolated from a pharmacological active extract of *Trevoa trinervis* Miers. / S. Erazo, N. Backhouse, C. Delporte, R. Negrete, O. Muñoz, J.L. Lopez-Perez, A.S. Feliciano // Bol. Soc. Chil. Quím. – 1998. – V. 43. – N. 3. – P. 297-302.
30. Lee, S.M. Cytotoxic triterpenoids from the fruits of *Zizyphus jujuba* / S.M. Lee, B.S. Min, C.G. Lee, K.S. Kim, Y.H. Kho // Planta Med. – 2003. – V. 69. – N. 11. – P. 1051-1054.
31. Suksamrarn, S. Ceanothane- and lupane-type triterpenes with antiplasmodial and antimycobacterial activities from *Zizyphus cambodiana* / S. Suksamrarn, P. Panseeta, S. Kunchanawatta, T. Distaporn, S. Ruktasing, A. Suksamrarn // Chem. Pharm. Bull.– 2006. – V. 54. – N. 4. – P. 535-537.
32. Ganapaty, S. Dammarane and ceanothane triterpenes from *Zizyphus glabrata* / S. Ganapaty, P.S. Thomas, K.V. Ramana, G. Karagianis, P.G. Waterman // Z. Naturforsch. – 2006. – 61b. – P. 87-92.
33. Liu, S.J. *Zizyphus jujuba* Mill., a plant used as medicinal food: a review of its phytochemistry, pharmacology, quality control and future research / S.J. Liu, Y.P. Lv, Z.S. Tang, Y. Zhang, H.B. Xu, D.B. Zhang, C.L. Cui, H.B. Liu, H.H. Sun, Z.X. Song, S.M. Wei // Phytochem. Rev. – 2021. – V. 20. – N. 3. – P. 507-541.
34. Aladedunye, F.A. Anti-inflammatory and antioxidant activities and constituents of *Platostoma africanum* P. Beauv. / F.A. Aladedunye, D.A. Okorie, O.M. Ighodaro. Nat. Prod. Res. – 2008. – V. 22. – N. 12. – P. 1067-1073.
35. Lee, S.S. Two triterpenes from *Paliurus ramosissimus* / S.S. Lee, C.J. Lin, K.C. Liu // J. Nat. Prod. – 1992. – V. 55. – N. 5. – P. 602-606.
36. Roitman, J.N. Triterpenoid and phenolic constituents of *Colubrina granulosa* / J.N. Roitman, L. Jurd // Phytochemistry. – 1978. – M. 17. – N. 3. – P. 491-494.
37. Jou, S.J. Flavonol glycosides and cytotoxic triterpenoids from *Alphitonia philippinensis* / S.J. Jou, C.H. Chen, J.H. Guh, C.N. Lee, S.S. Lee // J. Chin. Chem. Soc. – 2004. – V. 51. – N. 4. – P. 827-834.

38. Kang, K.B. Cytotoxic ceanothane- and lupane-type triterpenoids from the roots of *Ziziphus jujuba* / K.B. Kang, J.W. Kim, W.K. Oh, J. Kim, S.H. Sung. // *J. Nat. Prod.* – 2016. – V. 79. – N. 9. – P. 2364–2375.
39. Muhammad, D. Triterpenoid saponins and other glycosides from the stems and bark of *Jaffrea xerocarpa* and their biological activity / D. Muhammad, N. Lalun, H. Bobichon, E. Le M. Debar, S.C. Gangloff, M. Nour, L. Voutquenne-Nazabadioko // *Phytochemistry.* – 2017. – V. 141. – P. 121-130.
40. Sangsopha, W. Chemical constituents and biological activities from branches of *Colubrina asiatica* / W. Sangsopha, K. Kanokmedhakul, R. Lekphrom, S. Kanokmedhakul // *Nat. Prod. Res.* – 2018. – V. 32. – N. 10. – P. 1176-1179.
41. Su, Y. *In vitro* cytotoxic activity of 1-decarboxy-3-oxo-ceanothic acid in a human ovarian adenocarcinoma cell line / Y. Su, C.L. Chang, S.S. Lee, W.C. Chen, C.F. Huang // *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* – 1998. – V. 100. – N. 3. – P. 313-326.
42. Arai, M.A. Hedgehog/GLI-mediated transcriptional inhibitors from *Zizyphus cambodiana* / M.A. Arai, C. Tateno, T. Hosoya, T. Koyano, T. Kowithayakorn, M. Ishibashi // *Bioorg. Med. Chem.* – 2008. – V. 16. – P. 9420-9424.
43. Shin, M. Triterpenoids from *Ziziphus jujuba* induce apoptotic cell death in human cancer cells through mitochondrial reactive oxygen species production / M. Shin, B.M. Lee, O. Kim, H.N.K. Tran, S. Lee, H. Cheol, B.S. Min, J.H. Lee // *Food Funct.* – 2018. – V. 9. – N. 7. – P. 3895-3905.
44. Sangsopha, W. Two new bioactive triterpenoids from the roots of *Colubrina asiatica* / W. Sangsopha, R. Lekphrom, F.T. Schevenels, K. Kanokmedhakul, S. Kanokmedhakul // *Nat. Prod. Res.* – 2020. – V. 34. – N. 4. – P. 482-488.
45. Kang, K.B. Ceanothane- and lupane-type triterpene esters from the roots of *Hovenia dulcis* and their antiproliferative activity on HSC-T6 cells / K.B. Kang, J.B. Jun, J.W. Kim, H.W. Kim, S.H. Sung // *Phytochemistry.* – 2017. – V. 142. – P. 60-67.
46. Lee, S.S. Triterpenes from *Paliurus hemsleyanus* / S.S. Lee, S.N. Shy, K.C.S. Liu // *Phytochemistry.* – 1997. – V. 46. – N. 3. – P. 549-554.

47. Lee, S.M. Anti-complementary activity of triterpenoides from fruits of *Zizyphus jujuba* / S.M. Lee, J.G. Park, Y.H. Lee, C.G. Lee, B.S. Min, J.H. Kim, H.K. Lee // Biol. Pharm. Bull. – 2004. – V. 27. – N. 11. – P. 1883-1886.
48. Zhang, X.Y. Chemical constituents of *Allophylus longipes* / X.Y. Zhang, X.H. Cai, X.D. Luo // Chin. J. Nat. Med. – 2012. – V. 10. – N. 1. – P. 36-39.
49. Liu, Y.P. Triterpene and sterol derivatives from the roots of *Breynia fruticosa* / Y.P. Liu, X.H. Cai, T. Feng, Y. Li, X.N. Li, X.D. Luo // J. Nat. Prod. – 2011. – V. 74. – N. 5. – P. 1161-1168.
50. Muhammad, D. Triterpenoids from the leaves of *Alphitonia xerocarpus* Baill and their biological activity / D. Muhammad, N. Lalun, H. Bobichon, E. Le M. Debar, S.C. Gangloff, M. Nour, L. Voutquenne-Nazabadioko // Phytochemistry. – 2016. – V. 129. – P. 45-57.
51. Li, X.C. Antimicrobial compounds from *Ceanothus americanus* against oral pathogens / X.C. Li, L. Cai, C.D. Wu // Phytochemistry. – 1997. – V. 46. – N. 1. – P. 97-102.
52. Leal, I.C.R. Ceanothane and lupane type triterpenes from *Zizyphus joazeiro* – an anti-staphylococcal evaluation / I.C.R. Leal, K.R.N. dos Santos, I.I. Júnior, O.A.C. Antunes, A. Porzel, L. Wessjohann, R.M. Kuster // Planta Med. – 2010. – V. 76. – P. 47-52.
53. Giacomelli, S.R. Triterpenoids from *Gouania ulmifolia* / S.R. Giacomelli, G. Maldaner, C. Stücker, C. Marasciulo, J. Shmidt, L. Wessjohann, I.I. Dalcol, A.F. Morel // Planta Med. – 2007. – V. 73. – P. 499-501.
54. Quiroz, S. Ceanothane and oleanane-type triterpenes from *Talguenea quinquenervia* have insecticidal activity against *Cydia pomonella*, *Tenebrio molitor* and *Drosophila melanogaster* / S. Quiroz, C.L. Cespedes, J.B. Alderete, J. Alarcon // Ind. Crops. Prod. – 2015. – V. 74. – P. 759-766.
55. Yu, L. Bioactive components in the fruits of *Zizyphus jujuba* Mill. against the inflammatory irritant action of *Euphorbia plants* / L. Yu, B.P. Jiang, D. Luo, X.C. Shen, S. Guo, J.A. Duan, Y.P. Tang // Phytomedicine. – 2012. – V. 19. – N. 3-4. – P. 239-244.

56. Yeo, H. A-ring contracted triterpenoid from *Rosa multiflora* / H. Yeo, S.Y. Park, J. Kim // *Phytochemistry*. – 1998. – V. 48. – N. 8. – P. 1399-1401.
57. Tan, Q.W. Three new ring-A modified ursane triterpenes from *Davidia involucrata* / Q.W. Tan, M.A. Ouyang, B. Gao // *Molecules*. – 2014. – V. 19. – N. 4. – P. 4897-4906.
58. Zhang, L.J. Triterpene acids from *Euscaphis japonica* and assessment of their cytotoxic and anti-NO activities / L.J. Zhang, J.J. Cheng, C.C. Liao, H.L. Cheng, H.T. Huang, L.M.Y. Kuo, Y.H. Kuo // *Planta Med.* – 2012. – V. 78. – N. 14. – P. 1584-1590.
59. Kumar, D. α -Glucosidase inhibitory terpenoids from *Potentilla fulgens* and their quantitative estimation by validated HPLC method / D. Kumar, R. Ghosh, B.C. Pal // *J. Funct. Foods*. – 2013. – V. 5. – N. 3. – P. 1135-1141.
60. Wang, F. New terpenoids from *Isodon sculponeata* / F. Wang, X.M. Li, J.K. Liu // *Chem. Pharm. Bull.* – 2009. – P. 57. – N. 5. – P. 525-527.
61. Ngezahayo, J. *Plastotoma rotundifolium* aerial tissue extract has antibacterial activities / J. Ngezahayo, L. Pottier, S.O. Ribeiro, C. Delporte, V. Fontaine, L. Hari, C. Stévigny, P. Duez // *Ind. Crops. Prod.* – 2016. – V. 86. – P. 301-310.
62. Machida, K. Studies on the constituents of *Viburnum* species. XVII. New dammarane-type triterpenoids from *Viburnum dilatatum* THUNB / K. Machida, M. Kikuchi // *Chem. Pharm. Bull.* – 1997. – V. 45. – N. 10. – P. 1589-1592.
63. Machida, K. Viburnols: Novel triterpenoids with a rearranged dammarane skeleton from *Viburnum dilatatum* / K. Machida, M. Kikuchi // *Tetrahedron Lett.* – 1996. – V. 37. – N. 24. – P. 4157-4160.
64. Pointinger, S. Silvaglins and related 2,3-secodammarane derivatives – unusual types of triterpenes from *Aglaia silvestris* / S. Pointinger, S. Promdang, S. Vajrodaya, C.M. Pannell, O. Hofer, K. Mereiter, H. Greger // *Phytochemistry*. – 2008. – V. 69. – N. 15. – P. 2696-2703.
65. He, X.F. Two novel triterpenoids from *Dysoxylum hainanense* / X.F. He, X.N. Wang, L.S. Gan, S. Yin, L. Dong, J.M. Yue // *Org. Lett.* – 2008. – V. 10. – N. 19. – P. 4327-4330.

66. Liu, H.K. Lanostane-triterpenoids from the fungus *Phellinus gilvus* / H.K. Liu, T.H. Tsai, T.T. Chang, C.J. Chou, L.C. Lin // *Phytochemistry*. – 2009. – V. 70. – V. 4. – P. 558-563.
67. Lee, S.S. Microbial transformation of ceanothic acid and derivatives by *Mycobacterium* sp.(NRRL B-3805) / S.S. Lee, B.J. You, K.C. Wang // *J. Chin. Chem. Soc.* – 1993. – V. 40. – N. 2. – P. 213-216.
68. Lee, S.S. Preparation and cytotoxic effect of ceanothic acid derivatives / S.S. Lee, W.C. Chen, C.F. Huang, Y. Su // *J. Nat. Prod.* – 1998. – V. 61. – N. 11. – P. 1343-1347.
69. Nakagawa-Goto, K. Cancer preventive agents 9. Betulinic acid derivatives as potent cancer chemopreventive agents / K. Nakagawa-Goto, K. Yamada, M. Taniguchi, H. Tokuda, K.-H. Lee // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2009. – V. 19. – N. 13. – P. 3378-3381.
70. Lee, S.S. Three triterpene esters from *Zizyphus jujuba* / S.S. Lee, B.F. Lin, K.C. Liu // *Phytochemistry*. – 1996. – V. 43. – N. 4. – P. 847-851.
71. Raju, R. Anti-inflammatory chemical profiling of the australian rainforest tree *Alphitonia petriei* (Rhamnaceae) / R. Raju, D. Gunawardena, M.A. Ahktar, M. Low, P. Reddell, G. Münch // *Molecules*. – 2016. – V. 21. – N. 11. – P. 1521-1528.
72. Chouna, J.R. Ceanothane-type triterpenoids from *Cyphostemma adenocaulis* / J.R. Chouna, F. Nardella, B.N. Lenta, C. Vonthron-Se'ne'cheau, P. Nkeng-Efouet-Alango, N. Sewald. // *Arch. Pharm. Res.* – 2016. – P. 1-6.
73. Yoshikawa, K. A lupane-triterpene and a 3(2→1)abeolupane glucoside from *Hovenia trichocarpa* / K. Yoshikawa, Y. Kondo, E. Kimura, S. Arihara // *Phytochemistry*. – 1998. – V. 49. – N. 7. – P. 2057-2060.
74. Lee, S.S. Two new triterpene glucosides from *Paliurus ramosissimus* / S.S. Lee, W.C. Su, K.C. Liu // *J. Nat. Prod.* – 1991. – V. 54. – N. 2. – P. 615-618.
75. Kang, K.B. Targeted isolation of neuroprotective dicoumaroyl neolignans and lignans from *Sageretia theezans* using *in Silico* molecular network annotation propagation-based dereplication / K.B. Kang, E.J. Park, R.R. da Silva, H.W. Kim, P.C. Dorrestein, S.H. Sung // *J. Nat. Prod.* – 2018. – V. 81. – P. 1819-1828.

76. Muñoz-Nuñez, E. Assessments of ceanothanes triterpenes as cholinesterase inhibitors: an investigation of potential agents with novel inspiration for drug treatment of neurodegenerative diseases / E. Muñoz-Nuñez, S. Quiroz-Carreño, E. Pastene-Navarrete, D.S. Seigler, C. Céspedes-Acuña, I. M. Valenzuela, M.O. Muñoz, A. Salas-Burgos, J. Alarcón-Enos // *Metabolites*. – 2022. – V. 12. – N. 7. – P. 668-686.
77. Rambabu, P. Isolation and characterization of triterpenes from *Zizyphus glabrata* / P. Rambabu, K. Venkata Ramana, S. Ganapaty // *Int. J. Chem. Sci.* – 2011. – V. 9. – N. 3. – P. 1014-1024.
78. Sekar, K. Structure of dimethyl ceanothate / K. Sekar, S. Parthasarathy, A. B. Kundu, B. R. Barik // *Acta Cryst.* – 1992. – V. C48. – P. 2251-2253.
79. Guo, S. Characterization of triterpenic acids in fruits of *Zizyphus* species by HPLC-ELSD-MS / S. Guo, J.A. Duan, Y.P. Tang, N.Y. Yang, D.W. Qian, S.L. Su, E.X. Shang // *J. Agric. Food Chem.* – 2010. – V. 58. – N. 10. – P. 6285-6289.
80. Masullo, M. Quali-quantitative determination of triterpenic acids of *Zizyphus jujuba* fruits and evaluation of their capability to interfere in macrophages activation inhibiting NO release and iNOS expression / M. Masullo, P. Montoro, G. Autore, S. Marzocco, C. Pizza, S. Piacente // *Food Res. Int.* – 2015. – V. 77. – P. 109-117.
81. Guo, S. Two new terpenoids from fruits of *Zizyphus jujuba* / S. Guo, Y.P. Tang, J.A. Duan, S.L. Su, A.W. Ding // *Chin. Chem. Lett.* – 2009. – V. 20. – N. 2. – P. 197-200.
82. Guo, S. Triterpenoids from the fruits of *Zizyphus jujuba* var. *Spinosa* / S. Guo, J.A. Duan, Y. Tang, Y. Qian, J. Zhao, D. Qian // *Biochem. Syst. Ecol.* – 2011. – V. 39. – P. 880-882.
83. Li, L.M. Chemical constituents from the seeds of *Zizyphus jujuba* var. *spinosa* (Bunge) Hu / L.M. Li, X. Liao, S.L. Peng, L.S. Ding // *J. Integr. Plant. Biol.* – 2005. – V. 47. – N. 4. – P. 494-498.
84. Lee, S.S. Chemical constituents from the roots of *Zizyphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu.(II) / S.S. Lee, B.F. Lin, K.C.S. Chen // *Chin. Pharm. J.* – 1995. – V. 47. – N. 6. – P. 511-519.
85. Che, Y. Chemical constituents of *Zizyphus jujuba* Mill var. *spinosa* roots / Y. Che, S.T. Li, Y.Q. Zhang // *Linchan Huaxue Yu Gongye*. – 2012. – V. 32. – N. 4. – P. 83-86.

86. Wu, Y. Chemical constituents from the fruit of *Zizyphus jujuba* Mill. var. *spinosa* / Y. Wu, M. Chen, M.B. Du, C.H. Yue, Y.Y. Li, M. Zhu, C. Liu, D.Y. Wang, J.G. Liu, Y.L. Hu. // *Biochem. Syst. Ecol.* – 2014. – V. 57. – P. 6-10.
87. Lee, N.K. Studies on the Chemical Constituents from the Seeds of *Zizyphus jujuba* var. *Inermis* / N.K. Lee, H.J. Shin, W.S. Kim, G. In, C.K. Han // *Nat. Prod. Sci.* – 2017. – V. 23. – N. 4. – P. 258-264.
88. Rambabu, P. Dammarane and ceanothane triterpenes from *Zizyphus xylopyra* / P. Rambabu, K. Venkata Ramana, S. Ganapaty // *Int. J. Chem. Sci.* – 2010. – V. 8. – N. 2. – P. 1231-1239.
89. Jagadeesh, S.G. A new triterpenoid from *Zizyphus xylopyrus* / S.G. Jagadeesh, G.L. Krupadanam, G.L. David, G. Srimannarayana // *Indian J. Chem., Sect B.* – 2000. – V. 39B. – P. 396-398.
90. Lim, C. Identification and semi-synthesis of 3-*O*-protocatechuoylceanothic acid, a novel and natural GPR120 agonist / C. Lim, J.G. Park, K.B. Kang, Y.G. Suh // *Molecules.* – 2019. – V. 24. – N. 19. – P. 3487-3495.
91. Silva Jr., L.F. Construction of cyclopentyl units by ring contraction reactions / L.F. Silva Jr. // *Tetrahedron.* – 2002. – V. 45. – N. 58. – P. 9137-9161.
92. Achari, B. Studies on Indian medicinal plants—XXXIX: reinvestigation of the lactones and bromo derivative of betulinic acid / B. Achari, S.C. Pakrashi // *Tetrahedron.* – 1976. – V. 32. – N. 6. – P. 741-744.
93. Li, T.S. / Simple synthesis of allobetulin, 28-oxyallobetulin and related biomarkers from betulin and betulinic acid catalysed by solid acids // T.S. Li, J.X. Wang, X.J. Zheng // *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I.* – 1998. – N. 23. – P. 3957-3965.
94. Lavoie, S. Synthesis of betulin derivatives with solid supported reagents / S. Lavoie, A. Pichette, F.X. Garneau, M. Girard, D. Gaudet // *Synth. Commun.* – 2001. – V. 31. – N. 10. – P. 1565-1571.
95. Salvador, J.A.R. Bismuth triflate-catalyzed Wagner-Meerwein rearrangement in terpenes. Application to the synthesis of the 18a-oleanane core and A-neo-18a-oleanene compounds from lupanes / J.A.R. Salvador, R.M.A. Pinto, R.C. Santos, C. Le Roux, A.M. Beja, J.A. Paixão // *Org. Biomol. Chem.* – 2009. – V. 7. – P. 508-517.

96. Pakulski, Z. Rearrangements of the betulin core. Synthesis of terpenoids possessing the bicyclo[3.3.1]nonane fragment by rearrangement of lupane-type epoxides / Z. Pakulski, P. Cmoch, A. Korda, R. Luboradzki, K. Gwardiak, R. Karczewski // *J. Org. Chem.* – 2020. – V. 86. – N. 1. – P. 1084-1095.
97. Schulze, H. Zur kenntnis des betulins / H. Schulze, K. Pieroh // *Chem. Ber.* – 1922. – V. 55. – N. 8. – P. 2332-2346.
98. Dischendorfer, O. Untersuchungen auf dem Gebiete der Phytochemie / O. Dischendorfer, H. Juvan // *Monatsh. Chem.* – 1930. – V. 52. – P. 272-281.
99. Pettit, G.R. Steroids and related natural products. VI. The structure of α -apoallobetulin / G.R. Pettit, B.W. Green, W.J. Bowyer // *J. Org. Chem.* – 1961. – V. 26. – N. 8. – P. 2879-2883.
100. Jarolim, V. Über die zusammensetzung der braunkohle II. Über weitere inhaltsstoffe des montanwachses / V. Jarolim, K. Hejno, M. Streibl, M. Horak, F. Sorm // *Collect. Czech. Chem. Commun.* – 1961. – V. 26. – P. 459-465.
101. Jarolim, V. Über die Zusammensetzung der Braunkohle VIII. Struktur einiger aus Montanwachs isolierter triterpenischer Verbindungen / V. Jarolim, K. Hejno, F. Sorm // *Collect. Czech. Chem. Commun.* – 1963. – V. 28. – N. 9. – P. 2443-2454.
102. Voser, W. Zur Kenntnis der Triterpene. 172. Mitteilung. Versuche zur Überführung von tetracyclischen Triterpenen in steroidähnliche Verbindungen I. Über die Entfernung der geminalen Methyl-Gruppen im Ring A des Lanostan-Gerüsts / W. Voser, D.E. White, H. Heusser, O. Jeger, L. Ruzicka // *Helv. Chim. Acta.* – 1952. – V. 35. – N. 3. – P. 830-837.
103. Barton, D.H.R. Triterpenoids. Part XVII. The transformation of lanostadienol (lanosterol) into 14-methylcholestan-3 β -ol / D.H.R. Barton, D.A.J. Ives, B.R. Thomas // *J. Chem. Soc.* – 1954. – P. 903-907.
104. Crabbe, P. Préparation de la 8, 14-diméthyl 18-nor-testostérone / P. Crabbe, G. Ourisson, T. Takahashi // *Tetrahedron.* – 1958. – V. 3. – N. 3. – P. 279-302.
105. Pettit, G.R. Conversion of tetracyclic triterpenes to steroids / G.R. Pettit, J.R. Dias // *Can. J. Chem.* – 1969. – V. 47. – N. 6. – P. 1091-1092.

106. Shoppee, C.W. Steroids. Part XXXV. Removal of the 4-methyl groups in 4,4,14 α -trimethyl-steroids: conversion of lanosterol into 14 α -methylcholest-4-en-3-one / C.W. Shoppee, N.W. Hughes, R.E. Lack, J.T. Pinhey // *J. Chem. Soc. C: Organic.* – 1970. – N. 10. – P. 1443-1447.
107. Pettit, G.R. Steroids and related natural products. 66. Structural modification of the triterpene A ring / G.R. Pettit, J.R. Dias // *J. Org. Chem.* – 1972. – V. 37. – N. 7. – P. 973-976.
108. Honda, T. Design and synthesis of 23, 24-dinoroleanolic acid derivatives, novel triterpenoid-steroid hybrid molecules / T. Honda, G.W. Gribble // *J. Org. Chem.* – 1998. – V. 63. – N. 14. – P. 4846-4849.
109. Medvedeva, N.I. Synthesis of 19 β ,28-epoxy-23,24-dinor-A-neo-18 α -olean-4-en-3-one from betulin / N.I. Medvedeva, O.B. Flekhter, O.S. Kukovinets, F.Z. Galin, G.A. Tolstikov, I. Baglin, C. Caved // *Russ. Chem. Bull.* – 2007. – V. 56. – N. 4. – P. 835-837.
110. Medvedeva, N.I. Synthetic transformations of higher terpenoids: XI. Synthesis of A-nor-5 β H-19 β ,28-epoxy-18 α -olean-3-one derivatives / N.I. Medvedeva, O.B. Flekhter, E.V. Tretyakova, F.Z. Galin, L.A. Baltina, L.V. Spirikhin, G.A. Tolstikov // *Russ. J. Org. Chem.* – 2004. – V. 40. – N. 8. – P. 1092-1097.
111. Kazakova, O.B. Synthesis of triterpenoid-based 1,2,4-trioxolanes and 1,2,4-dioxazolidines by ozonolysis of allobetulin derivatives / O.B. Kazakova, D.V. Kazakov, E.Yu. Yamansarov, N.I. Medvedeva, G.A. Tolstikov, K.Yu. Suponitsky, D.E. Arkhipov // *Tetrahedron Lett.* – 2011. – V. 52. – N. 9. – P. 976-979.
112. Kazakova, O.B. Synthesis and cytotoxicity of allobetulin derivatives / O.B. Kazakova, I.E. Smirnova, E.F. Khusnutdinova, O.S. Zhukova, L.V. Fetisova, G.N. Apryshko, N.I. Medvedeva, E.Yu. Yamansarov, I.P. Baikova, T.T. Nguyen, H.D.T. Thu // *Russ. J. Bioorg. Chem.* – 2014. – V. 40. – N. 5. – P. 558-567.
113. Kazakova, O.B. Allylic oxidation of 19 β ,28-epoxy-a-neo-5 β -methyl-25-nor-18 α -olean-9-ene / O.B. Kazakova, E.F. Khusnutdinova, A.N. Lobov, N.I. Medvedeva, L.V. Spirikhin // *Chem. Nat. Compd.* – 2011. – V. 47. – N. 4. – P. 579-582.

114. Kazakova, O.B. Synthesis and molecular structure of $1\alpha,10\alpha:9\beta,1\beta:19\beta,28$ -Triepoxy-A-neo-5 β -methyl-25-nor-18 α -oleane / O.B. Kazakova, E.F. Khusnutdinova, G.A. Tolstikov, K.Yu. Suponitskii // *Russ. J. Org. Chem.* – 2012. – V. 48. – N. 3. – P. 460-462.
115. Medvedeva, N.I. Synthesis of 4, 5-seco-derivatives of allobetulin / N.I. Medvedeva, O.B. Flekhter, L.A. Baltina, F.Z. Galin, G.A. Tolstikov // *Chem. Nat. Compd.* – 2004. – V. 40. – N. 3. – P. 247-249.
116. Kazakova, O.B. Unusual ozonolysis pattern for 28-oxo-2, 3-indoloallobetulin / O.B. Kazakova, E.F. Khusnutdinova, A.N. Lobov, T.I. Zvereva, Yu.V. Legostaeva, G.A. Tolstikov, V.N. Khrustalev // *Russ. Chem. Bull.* – 2011. – V. 60. – N. 8. – P. 1781-1783.
117. Khusnutdinova, E.F. Synthesis of A-ring quinolones, nine-membered oxolactams and spiroindoles by oxidative transformations of 2,3-indolotriterpenoids / E.F. Khusnutdinova, O.B. Kazakova, A.N. Lobov, O.S. Kukovinets, K.Y. Suponitsky, C.B. Meyers, M.N. Prichard // *Org. Biomol. Chem.* – 2019. – V. 17. – P. 585-597.
118. Khusnutdinova, E.F. Synthesis and cytotoxicity of 28-oxo-allobetulone derivatives / E.F. Khusnutdinova, I.E. Smirnova, O.B. Kazakova // *Chem. Nat. Compd.* – 2020. – V. 56. – N. 3 – P. 465-471.
119. Kvasnica, M. Preparation of new oxidized 18- α -oleanane derivatives / M. Kvasnica, I. Tišlerova, J. Šarek, J. Sejbal, I. Cisařova // *Collect. Czech. Chem. Commun.* – 2005. – V. 70. – N. 9. P. 1447-1464.
120. Kvasnica, M. Reaction of lupane and oleanane triterpenoids with Lawesson's reagent / M. Kvasnica, I. Rudovska, I. Cisarova, J. Sarek // *Tetrahedron.* – 2008. – V. 64. – N. 17. – P. 3736-3743.
121. Kvasnica, M. Preparation of new 18 α -oleanane alcohols: synthesis, characterization, and cytotoxic activity / M. Kvasnica, I. Rudovska, M. Hajduch, J. Sarek // *Monatsh. Chem.* – 2010. – V. 141. – N. 2. – P. 233-244.
122. García-Granados, A. Semi-synthesis of triterpene A-ring derivatives from oleanolic and maslinic acids. Part II. Theoretical and experimental ^{13}C chemical shifts /

- A. García-Granados, J. Dueñas, E. Melguizo, J.N. Moliz, A. Parra, F.L. Pérez, J.A. Dobado, J. Molina // *J. Chem. Res.* – 2000. – V. S. – P. 211-212.
123. García-Granados, A. Epoxides, cyclic sulfites, and sulfate from natural pentacyclic triterpenoids: theoretical calculations and chemical transformations / A. García-Granados, P.E. López, E. Melguizo, J.N. Moliz, A. Parra, Y. Simeó // *J. Org. Chem.* – 2003. – V. 68. – N. 12. – P. 4833-4844.
124. Mikhailova, L.R. Synthesis and high-resolution NMR spectra of A-nor-derivatives of 11-deoxyglycyrrhetic acid / L.R. Mikhailova, L.A. Baltina, R.M. Kondratenko, O. Kunert, L.V. Spirikhin, F.Z. Galin, G.A. Tolstikov // *Chem. Nat. Compd.* – 2006. – V. 42. – N. 5. – P. 553-557.
125. Rickborn, B. The lithium salt-catalyzed epoxide-carbonyl rearrangement / B. Rickborn, R.M. Gerkin // *J. Am. Chem. Soc.* – 1968. – 90. – N. 15. – P. 4193-4194.
126. Suga, H. A convenient synthesis of aldehydes by rearrangement of cyclic epoxides with lithium bromide on alumina / H. Suga, H. Miyake // *Synthesis.* – 1988. – V. 5. – N. 05. – P. 394-395.
127. House, H.O. The rearrangement of α,β -epoxy ketones. v. rearrangements resulting in ring contraction / H.O. House, R.L. Wasson // *J. Am. Chem. Soc.* – 1957. – V. 79. – N. 6. – P. 1488-1492.
128. Magnusson, G. New route to cyclopentene-1-carboxaldehydes by rearrangement of 2,3-epoxycyclohexanols / G. Magnusson, S. Thoren // *J. Org. Chem.* – 1973. – V. 38. – N. 7. – P. 1380-1384.
129. Bose, S.N. Preparation and molecular rearrangement of $2\alpha,3\alpha$ -epoxy lupane-1-one catalysed by boron trifluoride and by ultraviolet irradiation / S.N. Bose, S.K. Chanda // *Indian J. Chem.* – 2001. – V. 40B. – N. 6. – P. 510-514.
130. Pradhan, B.P. Oxidation of triterpenoids. Part IX. Oxidation of lupanone with selenium dioxide in tert-butanol / B.P. Pradhan, S. Chakraborty, G.C. Subba, P. Weyerstahl // *Indian J. Chem. Sect. B: Org. Chem. Incl. Med. Chem.* – 1991. – V. 30B. – N. 4. – P. 390-394.

131. Georgian, V. The transformation of D-homosteroids to steroids: A stereospecific benzylic acid rearrangement / V. Georgian, N. Kundu // *Tetrahedron*. – 1963. – V. 19. – N. 6. – P. 1037-1049.
132. Elgamal, M.H.A. Glycyrrhetic acid derivatives with modified ring A / M.H.A. Elgamal, B.A.H. El-Tawil, M.B.E. Fayez // *J. Pharm. Sci.* – 1973. – V. 62. – P. 1557-1558.
133. Kacharov, A.D. Stereoselectivity of A-ring contraction for 3-oxotriterpenoids / A.D. Kacharov, S.V. Yemets, V.N. Nemykin, L.M. Kacharova, A.A. Fokin, P.A. Krasutsky // *RSC Adv.* – 2013. – V. 3. – P. 19057-19063.
134. Wei, Y. Synthesis of dammarane-type triterpene derivatives and their ability to inhibit HIV and HCV proteases / Y. Wei, C.M. Ma, M. Hattori // *Bioorg. Med. Chem.* – 2009. – V. 17. – N. 8. – P. 3003-3010.
135. Tapondjou, L.A. Reactions of 2,3,19-trihydroxyurs-12-triterpenoids: Pinacol rearrangement of methyl 2 α ,3 β ,19 α -trihydroxyurs-12-en-28-oate / L.A. Tapondjou, F.N. Ngounou, D. Lontsi, B.L. Sondengam, J.D. Connolly // *Tetrahedron*. – 1998. – V. 54. – N. 10. – P. 2099-2106.
136. Shernyukov, A.V. Methods of the synthesis of A-seco derivatives of pentacyclic triterpenoids / A.V. Shernyukov, N.F. Salakhutdinov, G.A. Tolstikov // *Russ. Chem. Bull.* – 2013. – V. 62. – N. 4. – P. 878-895.
137. Zhang, P. Efficient synthesis and biological evaluation of epiceanothic acid and related compounds / P. Zhang, L. Xu, K. Qian, J. Liu, L. Zhang, K.H. Lee, H. Sun // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2011. – V. 21. – N. 1. – P. 338-341.
138. Hao, J. Efficient access to 2-isobetulinic acid, 2-isooleanolic acid, and 2-isoursolic acid / J. Hao, P. Zhang, X. Wen, H. Sun // *J. Org. Chem.* – 2008. – V. 73. – N. 18. – P. 7405-7408.
139. Li, T. Ring A-modified derivatives from the natural triterpene 3-O-acetyl-11-keto- β -boswellic acid and their cytotoxic activity / T. Li, P. Fan, Y. Ye, Q. Luo, H. Lou // *Anticancer Agents Med. Chem.* – 2017. – V. 17. – N. 8. – P. 1153-1167.

140. Csuk, R. Synthesis and antitumor activity of ring A modified 11-keto- β -boswellic acid derivatives / R. Csuk, A. Niesen-Barthel, R. Schafer, A. Barthel, A. Al-Harrasi // *Eur J Med Chem.* – 2015. – V. 92. – P. 700-711.
141. Konoike, T. Synthesis of [2- ^{13}C]-oleanolic acid and [2- ^{13}C]-myricerone / T. Konoike, K. Takahashi, Y. Kitaura, Y. Kanda // *Tetrahedron.* – 1999. – V. 55. – N. 52. – P. 14901-14914.
142. Khudobko, M.V. Synthesis of 2,11-dioxo-norolean A(1)-12, 18 (19)-dien-30-oic acid / M.V. Khudobko, L.R. Mikhailova, L.A. Baltina Jr., L.V. Spirikhin, L.A. Baltina // *Chem. Nat. Compd.* – 2011. – V. 47. – N. 1. – P. 76-78.
143. Shernyukov, A.V. Synthesis of nitrogen-containing derivatives of (18 α , 19 β)-19-hydroxy-2,3-secooleanane-2,3,28-trioic acid 28,19-lactone / A.V. Shernyukov, I.Ya. Mainagashev, D.V. Korchagina, A.M. Genaev, N.I. Komarova, N.F. Salakhutdinov, G.A. Tolstikov // *Helvetica Chim. Acta.* – 2013. – V. 96. – N. 9. – P. 1757-1781.
144. Shernyukov, A.V. Spirocyclization of 2, 3-seco-19 β , 28-epoxy-28-oxo-18 α -olean-2, 3-dicarboxylic anhydride with benzylamines / A.V. Shernyukov, I.Ya. Mainagashev, D.V. Korchagina, Yu.V. Gatilov, N.F. Salakhutdinov, G.A. Tolstikov // *Dokl. Chem.* – 2009. – V. 429. – N. 1. – P. 286-289.
145. Grishko, V.V. Functionalization, cyclization and antiviral activity of A-secotriterpenoids / V.V. Grishko, N.V. Galaiko, I.A. Tolmacheva, I.I. Kucherov, V.F. Eremin, E.I. Boreko, O.V. Savinova, P.A. Slepukhin // *Eur. J. Med. Chem.* – 2014. – V. 83. – P. 601-608.
146. Grishko, V.V. Ozonolysis of 18 α -oleanane triterpenoid with an alkenenitrile moiety in the five-membered ring A / V.V. Grishko, N.V. Galaiko, E.V. Igosheva, M.V. Dmitriev // *Tetrahedron.* – 2018. – V. 74. – P. 4489-4494.
147. Nazarov, A.V. Synthetic modification and cytotoxic evaluation of 2-cyano-3,4-secotriterpenic methylketones / A.V. Nazarov, I.A. Tolmacheva, A.E. Zhukova, V.V. Grishko // *Chem. Pap.* – 2019. – V. 73. – N. 7. – P. 1767-1775.

148. Tolmacheva, I.A. Synthesis and transformation of triterpenoids with a β -ketonitrile fragment in five-membered ring A. / I.A. Tolmacheva, E.V.Igosheva, O.S. Eltsov, V.V. Grishko // Chem. Nat. Compd. – 2020. – V. 56. – P. 1088-1093.
149. Klinot, J. Triterpenes. XIII. Performic acid oxidation of isopropenyl group in 3,4-secotriterpenes / J. Klinot, E. Úlehlová, A. Vystrčil // Collect. Czech. Chem. Commun. – 1967. – V. 32. – P. 2890-2897.
150. Dehaen, W. Allobetulin and its derivatives: synthesis and biological activity / W. Dehaen, A.A. Mashentseva, T.S. Seitembetov // Molecules. – 2011. – V. 16. – P. 2443-2466.
151. Grishko, V.V. Structural diversity, natural sources and pharmacological potential of naturally occurring A-seco-triterpenoids / V.V. Grishko, N.V. Galaiko // Studies in Natural Products Chemistry. – Elsevier. – 2016. – V. 51. – P. 51-149.
152. Borkova, L. Synthesis of betulinic acid derivatives with modified A-ring and their development as potential drug candidates / L. Borkova, J. Hodon, M. Urban // Asian. J. Org. Chem. – 2018. – V. 7. – N. 8. – P. 1542-1560.
153. Csuk, R. Synthesis of antitumor-active betulinic acid-derived hydroxypropargylamines by copper-catalyzed Mannich reactions / R. Csuk, C. Nitsche, R. Sczepek, S. Schwarz, B. Siewer // Arch. Pharm. – 2013. – V. 346. – P. 232-246.
154. Govdi, A.I. Synthesis of new betulinic acid-peptide conjugates and *in vivo* and *in silico* studies of the influence of peptide moieties on the triterpenoid core activity / A.I. Govdi, N.V. Sokolova, I.V. Sorokina, D.S. Baev, T.G. Tolstikova, V.I. Mamatyuk, D.S. Fadeev, S.F. Vasilevsky, V.G. Nenajdenko // Med. chem. comm. – 2015. – V. 6. – P. 230-238.
155. Genet, C. Structure-activity relationship study of betulinic acid, a novel and selective TGR5 agonist, and its synthetic derivatives: potential impact in diabetes / C. Genet, A. Strehle, C. Schmidt, G. Boudjelal, A. Lobstein, K. Schoonjans, M. Souchet, J. Auwerx, R. Saladin, A. Wagner // J. Med. Chem. – 2010. – V. 53. – P. 178-190.

156. Genet, C. Redefining the TGR5 triterpenoid binding pocket at the C-3 position / C. Genet, C. Schmidt, A. Strehle, K. Schoonjans, J. Auwerx, R. Saladin, A. Wagner // *Chem.Med.Chem.* – 2010. – V. 5. – P. 1983-1988.
157. Grishko, V.V. Preparation of novel ring-A fusedazole derivatives of betulin and evaluation of their cytotoxicity / V.V. Grishko, I.A. Tolmacheva, V.O. Nebogatikov, N.V. Galaiko, A.V. Nazarov, M.V. Dmitriev, I.B. Ivshina // *Eur. J. Med. Chem.* – 2017. – V. 125. – P. 629-639.
158. Fleming, F.F. Nitrile anion cyclizations / F.F. Fleming, B.C. Shook // *Tetrahedron.* – 2002. – V. 1. – N. 58. – P. 1-23.
159. Pereslavytseva, A.V. Synthesis of A-pentacyclic α,β -alkenenitriles / A.V. Pereslavytseva, I.A. Tolmacheva, P.A. Slepukhin, O.S. El'tsov, I.I. Kucherov, V.F. Eremin, V.V. Grishko // *Chem. Nat. Compd.* – 2014. – V. 49. – N. 6. – P. 1059-1066.
160. Konyshcheva, A.V. Synthesis of betulin derivatives with an α,β -alkenenitrile in a five-membered ring A / A.V. Konyshcheva, I.A. Tolmacheva, D.V. Eroshenko, V.V. Grishko // *Chem. Nat. Compd.* – 2017. – V. 53. – N. 3. – P. 497-500.
161. Konyshcheva, A.V. Synthesis of cytotoxically active derivatives based on alkylated 2,3-seco-triterpenoids / A.V. Konyshcheva, V.O. Nebogatikov, I.A. Tolmacheva, M.V. Dmitriev, V.V. Grishko // *Eur. J. Med. Chem.* – 2017. – V. 140. – P. 74-83.
162. Konyshcheva, A.V. Synthesis and intramolecular cyclization of a 2,3-seco-oleanane triterpenoid with an ethylketone fragment / A.V. Konyshcheva, A.E. Zhukova, M.V. Dmitriev, V.V. Grishko // *Chem. Nat. Compd.* – 2018. – V. 54. – N. 6. – P. 1094-1099.
163. Konyshcheva, A.V. Synthesis, cyclization, and cytotoxic activity of 2,3-secolupane triterpenoids with ethylketone fragment / A.V. Konyshcheva, D.V. Eroshenko, V.V. Grishko // *Nat. Prod. Commun.* – 2019. – V. 14. – N. 10. – P. 1-7.
164. Fleming, F.F. Cyclic alkenenitriles: chemoselective oxonitrile cyclizations / F.F. Fleming, L.A. Funk, R. Altundas, V. Sharief // *J. Org. Chem.* – 2002. – V. 67. – P. 9414-9416.
165. Konyshcheva, A.V. Regioselective transformation of the cyano group of triterpene α,β -alkenenitriles / A.V. Konyshcheva, I.A. Tolmacheva, O.V. Savinova, E.I. Boreko, V.V. Grishko // *Chem. Nat. Compd.* – 2017. – V. 53. – N. 4. – P. 687-690.

166. Green, G.F.H. 488. Compounds related to the steroid hormones. Part II. The action of hydrogen bromide on 2-bromo-3-oxo- Δ^1 -5 α -steroids / G.F.H. Green, A.G. Long // *J. Chem. Soc.* – 1961. – P. 2532-2543.
167. Kvasnica, M. Pentacyclic triterpenoids with nitrogen- and sulfur-containing heterocycles: synthesis and medicinal significance / M. Kvasnica, M. Urban, N.J. Dickinson, J. Sarek // *Nat. Prod. Rep.* – 2015. – V. 32. – N. 9. – P. 1303-1330.
168. Fleming, F.F. Cyclic nitriles: tactical advantages in synthesis / F.F. Fleming, Z. Zhang // *Tetrahedron.* – 2005. – V. 4. – N. 61. – P. 747-789.
169. Eroshenko, D.V. Synthesis, modification, and cytotoxic evaluation of 2,3-secotriterpenic β -ketoesters / D.V. Eroshenko, G.F. Krainova, A.V. Konysheva, M.V. Dmitriev, V.V. Grishko // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2018. – V. 28. – N. 23-24. – P. 3752-3760.
170. Kazakova, O.B. Synthesis of new olean- 18-(19)-ene derivatives from allobetulin. / O.B. Kazakova, E.F. Khusnutdinova, G.A. Tolstikov, K.Y. Suponitsky // *Russ. J. Bioorg. Chem.* – 2010. – V. 36. – P. 512-515.
171. Конышева, А.В. Превращения А-секо-18 α H-олеанановых гидроксинитрилов / А.В. Конышева, Г.Ф. Крайнова, Д.В. Ерошенко, М.В. Дмитриев, В.В. Гришко // *Изв. АН. Сер. хим.* – 2019 – №. 12. – С. 2252-2261.
172. Salvador, J.A.R. Oleanane-, ursane-, and quinone methide friedelane-type triterpenoid derivatives: Recent Advances in Cancer Treatment / J.A.R. Salvador, A.S. Leal, A.S. Valdeira, B.M.F. Gonçalves, D.P.S. Alho, S.A.C. Figueiredo, S.M. Silvestre, V.I.S. Mendes // *Eur. J. Med. Chem.* – 2017. – V. 142. – P. 95-130.
173. Kuo, R.Y. Plant-derived triterpenoids and analogues as antitumor and anti-HIV agents / R.Y. Kuo, K. Qian, S.L. Morris-Natschke, K.H. Lee // *Nat. Prod. Rep.* – 2009. – V. 26. – P. 1321-1344.
174. Гришко, В.В. Тритерпеноиды с фрагментом ен-нитрила в А-пентацикле / В.В. Гришко, И.А. Толмачева, Н.В. Галайко, Е.И. Бореко, В.Ф. Еремин, О.В. Савинова, И.И. Кучеров, Патент РФ № 2496785 от 27.10.2013.

175. Dolomanov, O.V. *OLEX2*: a complete structure solution, refinement and analysis program / O.V. Dolomanov, L.J. Bourhis, R.J. Gildea, J.A.K. Howard, H. Puschmann // *J. Appl. Cryst.* – 2009. – V. 42. – P. 339-341.
176. Pokorny, J. Triterpenic azines, a new class of compounds with selective cytotoxicity to leukemia cells CCRF-CEM / J. Pokorny, S. Krajcovicova, M. Hajdich, M. Holoubek, S. Gurska, P. Dzubak, T. Volna, I. Popa, M. Urban // *Future Med. Chem.* – 2018. – V. 10. – N. 5. – P. 483-491.
177. Теренин, В.И. Практикум по органической химии / В.И. Теренин, М.В. Ливанцов, Л.И. Ливанцова, Е.Д. Матвеева, П.В. Ивченко, И.Э. Нифантьев // Бином. Лаборатория знаний. Москва. – 2010. – 568 с.
178. Shakhmaev, R.N. Pd-Catalyzed synthesis of 2-alkynyl derivatives of 19 β ,28-epoxy-18 α -olean-1-en-3-one / R.N. Shakhmaev, A.Sh. Sunagatullina, E.A. Abdullina, V.V. Zorin // *Russ. J. Org. Chem.* – 2017. – V. 53. – N. 11. – P. 1705-1709.
179. Fung, K.P. A computer program in BASIC for estimation of ED₅₀ and LD₅₀ / K.P. Fung // *Comput. Biol. Med.* – 1989. – V. 19. – N. 2. – P. 131-135.
180. Venditto, V.J. Cancer therapies utilizing the camptothecins: a review of the *in vivo* literature / V.J. Venditto, E.E. Simanek // *Mol. Pharmaceutics.* – 2010. – V. 7. – N. 2. – P. 307-349.
181. Scudiero, D.A. Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines / D.A. Scudiero, R.H. Shoemaker, K.D. Paull, A. Monks, S. Tierney, T.H. Notzinger, M.T. Currens, D. Seniff, M.K. Boyd // *Cancer Res.* – 1988. – V. 48. – N. 17. – P. 4827-4833.