

УДК 547.484.8; 547.914.4

СИНТЕЗ КОНЬЮГАТОВ 9-ОКСО-2Е-ДЕЦЕНОВОЙ КИСЛОТЫ С БЕТУЛИНОМ

© В. А. Выдрина*, Г. Р. Мингалеева

Уфимский институт химии УФИЦ РАН
Россия, Республика Башкортостан, 450054 г. Уфа, пр. Октября, 71.

Тел./факс: +7 (347) 235 60 66.

*Email: insect@anrb.ru

9-Оксо-2Е-деценная кислота является многофункциональным феромоном медоносных пчел *Apis mellifera* L. Она проявляет широкий спектр фармакологической активности: антибактериальные, антидотные, противовоспалительные, ускорителя заживления лоскутных ран и термических ожогов, иммуномодулятора (на теплокровных животных) и противоварроатозное, антибактериальное и противогрибковое действие (на медоносных пчелах). Тритерпеноид бетулин обладает широким спектром фармакологической активности: антисептической, противорахитной, ранозаживляющей, гипохолестеринемической, противовоспалительной, желчегонной, гепатопротекторной, анти-ВИЧ и противоопухолевой. Впервые получены конъюгаты (гибридные молекулы) 9-оксо-2Е-деценной кислоты – многофункционального феромона медоносной пчелы *Apis mellifera* L. – с фармакологически активным тритерпеноидом бетулином. Взаимодействие хлорангирида 9-оксо-2Е-деценной кислоты с бетулином в пиридине протекало только по первичной гидроксильной группе, для ацилирования вторичной гидроксильной-функции необходимо добавление каталитического количества 4-диметиламинопиридина.

Ключевые слова: 9-оксо-2Е-деценная кислота, бетулин, конъюгаты, моно- и диэфиры бетулина, конденсация.

Введение

Конъюгаты – химически синтезированные гибридные молекулы, в которых присутствуют две или более фрагмента биологически активных молекул – широко используются в медицине и экспериментальной биологии. Поскольку тритерпеноид бетулин (1) обладает широким спектром фармакологической активности: антисептической, противорахитной, ранозаживляющей, гипохолестеринемической, противовоспалительной, желчегонной, гепатопротекторной, включая анти-ВИЧ и противоопухолевое действие, в последние годы в терапию ряда социально значимых заболеваний вводятся препараты на его основе [1–3].

Также известно, что 9-оксо-2Е-деценная кислота (2), являющаяся многофункциональным феромоном медоносных пчел *Apis mellifera* L., проявляет широкий спектр фармакологической активности: антибактериальные, антидотные, противовоспалительные, ускорителя заживления лоскутных ран и термических ожогов, иммуномодулятора (на теплокровных животных) и противоварроатозное, антибактериальное и противогрибковое действие (на медоносных пчелах) [4].

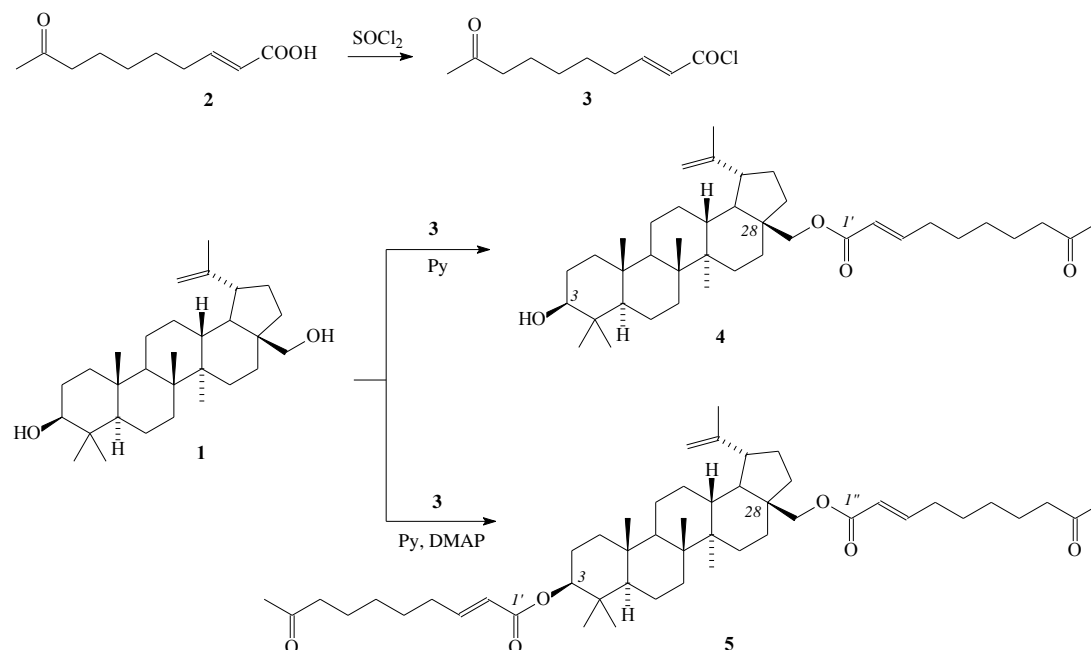
Мы предположили, что сочетание в одной молекуле фрагментов бетулина (1) и сопряженной кислоты (2) может усилить имеющиеся фармакологические свойства и/или способствовать возникно-

ванию иной биологической активности. Конъюгаты на основе 9-оксо-2Е-деценной кислоты (2) до настоящего времени были не известны. В литературе описано получение ряда фармакологически активных гибридных молекул бетулина (1) с производными хлорофилла *a* [5], α-токоферолом и его синтетическими аналогами [6] и 3-азидотимидином [7–8].

Результаты и их обсуждение

Нами впервые получены конъюгаты 9-оксо-2Е-деценной кислоты (2) с бетулином (1) как по первичной гидроксильной группе, так и по обеим. Для этого непредельная кислота (2) действием тионилхлорида была переведена в соответствующий хлорангидрид (3), согласно [9]. Взаимодействие его с бетулином (1) в пиридине протекало только по первичной гидроксильной группе, приводя к моноэфире (4) с выходом 21%. Ацилирование по обеим гидроксильным группам проходит при добавлении каталитических количеств DMAP и приводит к димзамещенному производному (5) с выходом 15%. Полученные сложные эфиры (4) и (5) были отделены хроматографически от непрореагировавших кетокислоты (2) и бетулина (1).

Таким образом, нами впервые осуществлен синтез конъюгатов 9-оксо-2Е-деценной кислоты (2) с бетулином (1) как по первичной гидроксильной группе, так и по обеим.



Экспериментальная часть

В работе использовали оборудование Центра коллективного пользования «Химия» УФХ УФИЦ РАН. ИК-спектры записывали на приборе IR Prestige-21 (Fourier Transform Spectrophotometer, Shimadzu) в тонком слое. Спектры ЯМР регистрировали на спектрометре «BRUKER AM-500» (рабочая частота 500.13 МГц для ¹H и 126.76 МГц для ¹³C) в растворе CDCl₃ с внутренним стандартом TMS. Масс-спектры сняты на приборе Shimadzu LCMS 2010 EV в условиях ХИАД при энергии электронов 20 эВ с регистрацией положительных и отрицательных ионов. Жидкая подвижная фаза вода и ацетонитрил (95/5) при скоростях потока носителя 0.02 мл/мин. Для колоночной хроматографии использовали SiO₂ (70–230) марки «Lancaster» (Англия). Контроль ТСХ осуществляли на SiO₂ марки Sorbfil (Россия). Данные элементного анализа отвечали вычисленным. Оптическое вращение измерено на поляриметре «Perkin-Elmer-241-МС». В работе использовали бетулин (оптическая чистота 100%) фармацевтической компании «БетулаФарм» (г. Пермь, Россия).

28-О-(9-оксодец-2Е-еноил)-20(29)-лупен-3-ол (4). К перемешиваемому раствору 1.41 г (7.0 ммоль) хлорангидрида (3), полученного из 1.29 г (7.0 ммоль) 9-оксо-2Е-деценовой кислоты (2) [9] [ИК спектр (ν, см⁻¹): 1753 (COO), 1719 (C=O), 1626 (C=C), 486 (C-Cl)], в 30 мл сухого CH₂Cl₂ прибавляли по каплям раствор 1.00 г (2.3 ммоль) бетулина (1) и 0.4 мл (4.6 ммоль) абс. Py в 20 мл сухого CH₂Cl₂ (0 °С, Ar). Реакционную смесь выдерживали при комнатной температуре 6 ч (контроль ТСХ), затем разбавляли 30 мл CH₂Cl₂, последовательно промывали 5% HCl, холодными насыщенными растворами NaHCO₃ и NaCl, сушили MgSO₄, упаривали. Остаток (2.10 г) хроматографировали (SiO₂, ПЭ-

МТБЭ, 5:1). Получили 0.30 г (21%) монозамещенного бетулина (4), R_f 0.5 (ПЭ-МТБЭ, 1:2). [α]_D²⁰ +54.0° (с 1.5; CHCl₃). ИК спектр (ν, см⁻¹): 3520 (OH), 1718 (COO), 1701 (C=O), 1653 (C=C). Спектр ЯМР ¹H (δ, м.д., J, Гц): 0.64–0.68 (м, 1H, H-5), 0.74 и 0.80 (с, 6H, CH₃), 0.82–0.91 (м, 2H, H-18, H_A-1), 0.95, 0.96 и 1.02 (с, 9H, CH₃), 1.04–1.66 (м, 24H, H_B-1, H-2, H-6, H-7, H-9, H-11÷13, H-15, H-16, H-5', H-6', H-7', OH), 1.67 (с, 3H, C-29), 1.68–2.00 (м, 3H, H-19, H-21), 2.12 (с, 3H, C-10'), 2.16–2.48 (м, 6H, H-20, H-4', H-8'), 3.16 (дд, 1H, J 11.6, 5.6 Гц, H-3), 3.89 (д, 1H, J 11.0 Гц, H-28), 4.29 (д, 1H, J 11.0 Гц, H-28), 4.57 и 4.67 (уш.с, 2H, H-30), 5.81 (д, 1H, J 15.6 Гц, H-2'), 6.87–6.98 (м, 1 H, H-3'). Спектр ЯМР ¹³C (δ, м.д.): 14.78, 15.37, 16.03, 16.09 (CH₃), 18.28 (CH₂, C-6), 19.14 (CH₃, C-29), 20.79 (CH₂, C-11), 23.47 (CH₂, C-7'), 25.19 (CH₂, C-20), 27.09 (CH₂, C-12), 27.39 (CH₂, C-2), 27.80 (CH₂, C-5'), 27.99 (CH₃, C-23), 28.65 (CH₂, C-6'), 29.62 и 29.84 (CH₂, C-16, C-21), 29.90 (CH₃, C-10'), 31.99 (CH₂, C-4'), 33.67 (CH₂, C-15), 34.19 (CH₂, C-7), 37.14 (C, C-10), 37.58 (CH, C-13), 38.71 (CH₂, C-1), 38.86 (C, C-4), 40.87 (C, C-8), 42.70 (C, C-14), 43.53 (CH₂, C-8'), 46.50 (C, C-17), 47.71 (CH, C-19), 48.82 (CH, C-9), 50.37 (CH, C-18), 55.30 (C, C-5), 62.49 (CH₂, C-28), 78.95 (CH, C-3), 109.83 (CH, C-30), 121.43 (CH, C-2'), 149.06 (CH, C-3'), 150.20 (C, C-22), 167.18 (-CO₂, C-1'), 209.00 (C=O, C-9). Масс-спектр (APCI, 20 эВ), m/z C₄₀H₆₄O₄ (608.48): Scan (C+): 626.93 [M+H+H₂O]⁺, 425.38 [M-C₁₀H₁₆O₃+H]⁺.

28-О,3-О-ди(9-оксодец-2Е-еноил)-20(29)-лупен (5). К перемешиваемому раствору 1.41 г (7.0 ммоль) хлорангидрида (3), полученного из 1.29 г (7.0 ммоль) 9-оксо-2Е-деценовой кислоты (2) [9], в 30 мл сухого CH₂Cl₂ прибавляли по каплям раствор 1.00 г (2.3 ммоль) бетулина (1) и 0.4 мл (4.6 ммоль) абс. Py в 20 мл сухого CH₂Cl₂ (0 °С, Ar), затем до-

бавляли 0.06 г (0.5 ммоль) DMAP. Реакционную смесь выдерживали при комнатной температуре 6 ч (контроль ТСХ), затем разбавляли 30 мл CH_2Cl_2 , последовательно промывали 5% HCl , холодными насыщенными растворами NaHCO_3 и NaCl , сушили MgSO_4 , упаривали, остаток хроматографировали (SiO_2 , ПЭ-МТБЭ, 5:1). Получили 0.30 г (15%) дизамещенного бетулина (**5**), R_f 0.6 (ПЭ-МТБЭ, 1:2). $[\alpha]_D^{+32.0^\circ}$ (с 2.0; CHCl_3). ИК спектр (ν , cm^{-1}): 1718 (COO), 1701 (C=O), 1653 (C=C). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., J , Гц): 0.87 и 0.87 (с, 6H, CH_3), 0.74–0.79 (м, 1H, H-5), 0.82–0.91 (м, 1H, H-18), 0.92, 0.96 и 1.02 (с, 9H, CH_3), 1.04–1.66 (м, 30H, H-1, H-2, H-6, H-7, H-9, H-11–13, H-15, H-16, H-5', H-5'', H-6', H-6'', H-7', H-7''), 1.67 (с, 3H, C-29), 1.68–2.00 (м, 3H, H-19, H-21), 2.12 (с, 6H, C-10', C-10''), 2.14–2.50 (м, 10H, H-20, H-4', H-4'', H-8', H-8''), 4.40–4.60 (м, 3H, H-3, H-30), 3.89 (д, 1H, J 11.0 Гц, H-28), 4.29 (д, 1H, J 11.0 Гц, H-28), 5.71–6.11 (м, 2H, H-2', H-2''), 6.80–6.98 (м, 2H, H-3', H-3''). Спектр ЯМР ^{13}C (δ , м.д.): 15.37, 16.03, 16.09 (CH_3), 17.31 (CH_2 , C-6), 19.13 (CH_3 , C-29), 20.79 (CH_2 , C-11), 23.47 (CH_2 , C-7', C-7''), 25.19 (CH_2 , C-20), 25.69 (CH_3 , C-24), 27.09 (CH_2 , C-12), 28.05 (CH_2 , C-2), 27.80 (CH_2 , C-5', C-5''), 25.69 (CH_3 , C-23), 28.65 (CH_2 , C-6', C-6''), 29.62 и 29.84 (CH_2 , C-16, C-21), 29.90 (CH_3 , C-10', C-10''), 31.89 (CH_2 , C-4'), 31.99 (CH_2 , C-4''), 33.67 (CH_2 , C-15), 33.79 (CH_2 , C-7), 38.07 (C, C-10), 37.58 (CH, C-13), 41.50 (CH_2 , C-1), 38.66 (C, C-4), 41.38 (C, C-8), 42.70 (C, C-14), 43.53 (CH_2 , C-8', C-8''), 46.50 (C, C-17), 47.71 (CH, C-19), 49.27 (CH, C-9), 50.37 (CH, C-18), 52.70 (C, C-5), 62.49 (CH_2 , C-28), 80.98 (CH, C-3), 109.83 (CH, C-30), 121.15 (CH, C-2'), 121.43 (CH, C-2''), 147.70 (CH, C-3'), 149.06 (CH, C-3''), 150.20 (C, C-22), 166.85 ($-\text{CO}_2-$, C-1'), 167.18 ($-\text{CO}_2-$, C-1''), 209.00 (C=O, C-9', C-9''). Масс-спектр (APCI, 20 эВ), m/z $\text{C}_{50}\text{H}_{78}\text{O}_6$ (775.16): Scan (C+): 592.31 [$\text{M}-\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_3+\text{H}$] $^+$, 407.03 [$\text{M}-2\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_3+\text{H}$] $^+$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Толстиков Г. А., Флехтер О. Б., Шульц Э. Э., Балтина Л. А., Толстиков А. Г. Бетулин и его производные. Химия и биологическая активность // Химия в интересах устойчивого развития. 2005. №1. С. 1–30.
2. Salvador J.A.R., Leal A.S., Alho D.P.S., Gonçalves B.M.F., Valdeira A.S., Mendes V.I.S., Jing Y. Chapter 2 – Highlights of Pentacyclic Triterpenoids in the Cancer Settings / in Studies in Natural Products Chemistry. 2014. V. 41. P. 33–73. URL: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63294-4.00002-4>
3. Jonnalagadda S.C., Summan P., Morgan D.C., Seay J.N. Chapter 2 – Recent Developments on the Synthesis and Applications of Betulin and Betulinic Acid Derivatives as Therapeutic Agents / in Studies in Natural Products Chemistry. 2017. V. 53. P. 45–84. URL: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63930-1.00002-8>
4. Ишмуратова Н. М., Ишмуратов Г. Ю., Яковлева М. П., Тамбовцев К. А., Исмагилова А. Ф., Толстиков Г. А. Маточное вещество медоносных пчел: свойства, синтез, применение в пчеловодстве и шмелеводстве / Москва: Наука, 2015. 179 с.
5. Мальшакова М. В., Белых Д. В., Алексеев И. Н., Витязева О. В., Кучин А. В. Конъюгаты производных хлорофилла *a* с бетулином // Макрогетероциклы. 2013. Т. 6. №1. С. 62–66.
6. Спивак А. Ю., Халитова Р. Р., Бельский Ю. П., Иванова А. Н., Шакурова Э. Р., Бельская Н. В., Одинокоев В. Н., Данилец М. Г., Лигачева А. А. Синтез конъюгатов лупановых тритерпеноидов с антиоксидантами хроманового ряда и изучение *in vitro* их влияния на продуцирование оксида азота и активность аргиназы в активированных макрофагах // Известия Академии наук. Сер. хим.. 2010. №12. С. 2164–2174.
7. Bori I.D., Hung H.-Y., Qian K., Chen C.-H., Morris-Natschke S.L., Lee K.-H. Anti-AIDS agents. 88. Anti-HIV conjugates of betulin and betulinic acid with AZT prepared via click chemistry // Tetrahedron Lett. 2012. V. 53. No. 15. P. 1987–1989.
8. Xiong J., Kashiwada Y., Chen C.-H., Qian K., Morris-Natschke S.L., Lee K.-H., Takaishi Y. Conjugates of betulin derivatives with AZT as potent anti-HIV agents // Bioorg. Med. Chem. 2010. V. 18. N 17. P. 6451–6469.
9. Ишмуратов Г. Ю., Яковлева М. П., Мингалеева Г. Р., Муслухов Р. Р., Вырыпаев Е. М., Галкин Е. Г., Толстиков А. Г. Синтез макрогетероциклических соединений, содержащих эфирные и гидразидные фрагменты, из тетрагидропирана // Макрогетероциклы. 2011. Т. 4. №1. С. 50–57.

Поступила в редакцию 02.10.2018 г.

SYNTHESIS OF CONJUGATES OF 9-OXO-2E-DECENOIC ACID WITH BETULIN

© V. A. Vydrina*, G. R. Mingaleeva

*Ufa Institute of Chemistry, Ufa Scientific Center of RAS
71 Oktyabrya Avenue, 450054 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.*

Phone: +7 (347) 235 60 66.

**Email: insect@anrb.ru*

9-Oxo-2E-decenoic acid is a multifunctional pheromone of honeybees *Apis mellifera* L. It exhibits a wide range of pharmacological activity: antibacterial, antidote, antiinflammatory, accelerating healing of patchwork wounds and thermal burns, immunomodulatory (in warm-blooded animals), antivaratogenic, antibacterial, and antifungal (in honeybees). Triterpenoid betulin has a wide spectrum of pharmacological activity: antiseptic, anticancer, wound healing, hypocholesterolemic, antiinflammatory, choleric, hepatoprotective, anti-HIV, and antitumor. The authors of the article are the first scholars who obtained conjugates (hybrid molecules) of 9-oxo-2E-decenoic acid with pharmacologically active triterpenoid betulin. The reaction of 9-oxo-2E-decenoic acid chloride with betulin in pyridine proceeded only through the primary hydroxyl group, the addition of a catalytic amount of 4-dimethylaminopyridine is required for acylation of the secondary hydroxy-function.

Keywords: 9-oxo-2E-decenoic acid, betulin, conjugates, mono- and diesters of betulin, condensation.

Published in Russian. Do not hesitate to contact us at bulletin_bsu@mail.ru if you need translation of the article.

REFERENCES

1. Tolstikov G. A., Flekhter O. B., Shul'ts E. E., Baltina L. A., Tolstikov A. G. *Khimiya v interesakh ustoichivogo razvitiya*. 2005. No. 1. Pp. 1–30.
2. Salvador J.A.R., Leal A.S., Alho D.P.S., Gonçalves B.M.F., Valdeira A.S., Mendes V.I.S., Jing Y. doi.org/10.1016/B978-0-444-63294-4.00002-4
3. Jonnalagadda S.C., Summan P., Morgan D.C., Seay J.N. doi.org/10.1016/B978-0-444-63930-1.00002-8
4. Ishmuratova N. M., Ishmuratov G. Yu., Yakovleva M. P., Tambovtsev K. A., Ismagilova A. F., Tolstikov G. A. *Matochnoe veshchestvo medonosnykh pchel: svoystva, sintez, primeneniye v pchelovodstve i shmelevodstve* [Honeybee queen substance: properties, synthesis, application in beekeeping and bumblebee breeding] / Moscow: Nauka, 2015.
5. Mal'shakova M. V., Belykh D. V., Alekseev I. N., Vityazeva O. V., Kuchin A. V. *Makroeterotsikly*. 2013. Vol. 6. No. 1. Pp. 62–66.
6. Spivak A. Yu., Khalitova R. R., Bel'skii Yu. P., Ivanova A. N., Shakurova E. R., Bel'skaya N. V., Odinkov V. N., Danilets M. G., Ligacheva A. A. *Izvestiya Akademii nauk. Ser. khim.*. 2010. No. 12. Pp. 2164–2174.
7. Bori I.D., Hung H.-Y., Qian K., Chen C.-H. *Tetrahedron Lett.* 2012. Vol. 53. No. 15. Pp. 1987–1989.
8. Xiong J., Kashiwada Y., Chen C.-H., Qian K. *Bioorg. Med. Chem.* 2010. Vol. 18. N 17. Pp. 6451–6469.
9. Ishmuratov G. Yu., Yakovleva M. P., Mingaleeva G. R., Muslukhov R. R., Vyrypaev E. M., Galkin E. G., Tolstikov A. G. *Makroeterotsikly*. 2011. Vol. 4. No. 1. Pp. 50–57.

Received 02.10.2018.