

УДК 547.913.6;547.791.1

DOI: 10.15372/KhUR2023521

EDN: SRYFRY

Синтез и оценка цитотоксичности фуранолабданоидов, содержащих 3-аминопропаноильный заместитель в фурановом цикле

Ю. В. ХАРИТОНОВ¹, Д. А. ПЕТРОВА¹, Э. Э. ШУЛЬЦ¹, М. А. ПОКРОВСКИЙ², А. Г. ПОКРОВСКИЙ²¹Новосибирский институт органической химии им. Н. Н. Ворожцова СО РАН, Новосибирск (Россия)²Новосибирский государственный университет, Новосибирск (Россия)

E-mail: khariton@nioch.nsc.ru

Аннотация

15-Ацетил- и 16-ацетилфуранолабданоиды получены ацетилированием метилового эфира ламбертиановой кислоты уксусным ангидридом в присутствии $Mg(ClO_4)_2$ и использованы как ключевые соединения для синтеза 15- или 16-(3-аминопропаноил)метилламбертианатов. Предложенный подход включал силилирование 15-ацетил- или 16-ацетилметилламбертианата и реакцию Манниха образующегося силилового эфира енола с *N,N*-дизамещенными метилениминиевыми солями. Синтезированные соединения обладали цитотоксичностью на линиях опухолевых клеток CCRF CEM, MCF7 и PC-3 (МТТ-тест). Соединения, содержащие 3-морфолинопропаноильный или 3-пирролидинопропаноильный заместитель в положении С-16 метилламбертианата, селективно ингибировали рост клеток Т-клеточного лейкоза человека (GI_{50} составило 5.8–6.1 мкМ) и проявляли на порядок большую цитотоксичность, чем исходное соединение – ламбертиановая кислота.

Ключевые слова: дитерпеноиды, ламбертиановая кислота, реакция Манниха, цитотоксичность

ВВЕДЕНИЕ

Дитерпеноиды лабданового ряда продуцируются различными видами растений, гидробионтов, лишайников и микроорганизмов. Это обуславливает их большое структурное разнообразие и как следствие широкий ряд биологической активности. Среди них наиболее репрезентативно антибактериальное, противовирусное, противовоспалительное и противоопухолевое действие [1, 2]. Сочетание данных качеств с функциональностью и доступностью некоторых природных лабданоидов стимулирует значительный интерес к проведению направленных модификаций их структуры с целью усиления или изменения биологической активности. К числу таких соединений относится

ламбертиановая кислота **1** (рис. 1), высокое содержание (20 % от общей суммы смоляных кислот) которой определено в живице сосны сибирской *Pinus sibirica* R. Mayr [3]. Для нее описаны антиаллергенные свойства, антидепрессивная активность с седативным эффектом, антиплазмодная, гипополидемическая и противоопухолевая активность [4]. Выполненные ранее синтетические трансформации **1** позволили получить соединения с выраженными анальгетическими, нейротропными, антиоксидантными, гепатопротекторными, гемостимулирующими, цитотоксическими и противоопухолевыми действиями [5–8]. При этом значительная часть из них получена путем введения фармакофорного фрагмента в фурановый цикл. Среди них можно отметить аминокетамидопроизводные **2**, прояв-

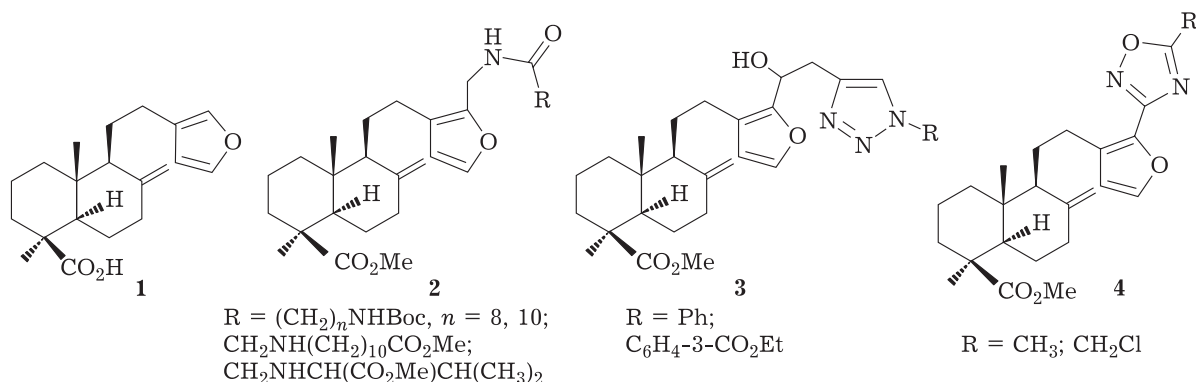


Рис. 1. Ламбертиановая кислота **1** и ее азотсодержащие производные по фурановому циклу **2–4**, обладающие цитотоксическим действием в отношении опухолевых клеток человека.

ляющие на порядок более высокую цитотоксичность к опухолевым клеткам линий CCRF CEM, MT-4 и U-937, чем исходное соединение (см. рис. 1) [9]. Производные метилового эфира ламбертиановой кислоты с 1,2,3-триазольным **3** или 1,2,4-оксадиазольным **4** заместителем подавляют в низких концентрациях (концентрация, при которой наблюдается 50 % ингибирование роста клеток, – GI_{50} – наиболее активного соединения составила 0.08 мкМ) жизнеспособность опухолевых клеток человека линий CCRF CEM, MT-4, U-937, MCF7, MDA-MB-231 и MEL-8 [10, 11].

В настоящей работе синтезированы производные метилового эфира ламбертиановой кислоты, содержащие 3-аминопропаноильный заместитель в фурановом цикле, и получены данные по их цитотоксическому действию в отношении опухолевых клеток человека. Введенный заместитель присутствует в молекулах природного и синтетического происхождения с противоопухолевой активностью [12].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и методы

Спектры ЯМР 1H и ^{13}C растворов соединений **6**, **7**, **9a–c**, **10a,b**, **11** и **12** в $CDCl_3$ зарегистрированы на спектрометрах Bruker AV-300 (рабочие частоты 300.13 МГц (1H) и 75.47 МГц (^{13}C)), Bruker AV-400 (400.13 МГц (1H) и 100.78 МГц (^{13}C)) или Bruker AV-500 (500.13 МГц (1H) и 125.77 МГц (^{13}C)). Химические сдвиги (δ , м. д.) приведены с использованием в качестве внутреннего стандарта сигналов хлороформа ($\delta_H = 7.24$ м. д., $\delta_C = 76.90$ м. д.). При описании спектров ЯМР 1H

и ^{13}C применена система нумерации атомов, приведенная в структуре **5**. Масс-спектры высокого разрешения зарегистрированы на хромато-масс-спектрометре DFS (Thermo Fisher Scientific, США, температура испарителя 200 °С, ионизация электронным ударом, 70 эВ). Величины удельного вращения $[\alpha]_D$ измерены на поляриметре PolAAR 3005 (Великобритания). ИК-спектры (ν , cm^{-1}) получены на ИК-Фурье спектрометре Bruker Vector-22 (Германия) для образцов в чистом виде или в таблетках с KBr. УФ-спектры поглощения (λ_{max} , нм ($lg \epsilon$)) зарегистрированы на спектрометре HP 8453 UV-Vis (США) в растворе EtOH. Элементный анализ для **9a,c** выполнен на CHN-анализаторе Carlo Erba model 1106 (Италия). Спектрально-аналитические исследования проведены в Химическом сервисном центре коллективного пользования СО РАН (Новосибирск).

Контроль за протеканием реакций осуществлен методом тонкослойной хроматографии на пластинах Silufol UV-254, элюенты – хлороформ; хлороформ/метанол, 10 : 1 по объему). Проявление пятен проведено путем опрыскивания пластин 10 % водным раствором H_2SO_4 с последующим нагреванием до 100 °С или с помощью облучения ультрафиолетом. Продукты реакций выделены колоночной хроматографией на силикагеле Acros (0.035–0.240 мм), элюенты: $CHCl_3$; $CHCl_3/MeOH$, (100 : 1) $\rightarrow$ (10 : 1); петroleйный эфир/диэтиловый эфир, (10 : 1) $\rightarrow$ (1 : 1).

В работе использованы:

– свежеперегнанные растворители (петroleйный эфир (над Na), дихлорметан и ацетонитрил (над P_2O_5), диэтиловый эфир (над Na), Et_3N (над KOH));

– реагенты квалификации “ч.” (Ac_2O (Merck), $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ (Merck), AcCl (Fluka), Me_3SiCl (Lancaster Synthesis), NaI (Acros)).

Ламбертиановая кислота **1** выделена по методике, описанной в работе [13], $[\alpha]_D^{20}$ 55.2 (с 2.6; EtOH). Метилловый эфир **5** получен по методике, представленной в [14].

Общая методика синтеза бисаминов **8a–d**.

Раствор амина (1 ммоль) и параформа (0.05 г, 1.5 ммоль) в сухом бензоле кипятили в круглодонной колбе, снабженной насадкой Дина–Старка и обратным холодильником, до прекращения выделения воды. Реакционную смесь отфильтровывали от остатка параформа, растворитель упарили, остаток хроматографировали на колонке с силикагелем (элюент – петролейный эфир/серный эфир, 2 : 1 по объему). Бис(диэтиламино)метан **8d** очищали перегонкой в вакууме (собирали фракцию, кипящую при 50–53 °С, давление 15 мм рт. ст.). Полученные спектральные данные бисаминов **8a–d** идентичны литературным: ди(пирролидин-1-ил)метан **8a** [15], ди(морфолино)метан **8b** [16], ди(оксазолидин-3-ил)метан **8c** [17], бис(диэтиламино)метан **8d** [18].

Ацетилирование метилового эфира ламбертиановой кислоты 5. К перемешиваемому раствору 4.82 г (14.56 ммоль) метилового эфира ламбертиановой кислоты **5** в 5 мл уксусного ангидрида добавили 0.34 г (1.51 ммоль) перхлората магния ($\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$). Реакционную смесь перемешивали 48 ч, затем вылили на лед, продукт экстрагировали хлороформом (3 × 30 мл). Органические вытяжки объединили, промыли водой (3 × 30 мл) и сушили MgSO_4 . Растворитель упарили в вакууме, остаток хроматографировали на колонке с силикагелем (элюент – петролейный эфир/диэтиловый эфир, 4 : 1 по объему). Последовательно элюировали 1.89 г (35 %) (1*S*,4*aR*,5*S*,8*aR*)-метил-5-(2-(2-ацетилфуран-3-ил)этил)-1,4*a*-диметил-6-метилендекагидронафталин-1-карбоксилата **6** и 0.88 г (16 %) (1*S*,4*aR*,5*S*,8*aR*)-метил-5-(2-(5-ацетилфуран-3-ил)этил)-1,4*a*-диметил-6-метилендекагидронафталин-1-карбоксилата **7**.

Соединение 7. $[\alpha]_D^{25.5} = 37.74$ (с 2.30, CHCl_3). УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, нм (lg ε): 280 (3.64). ИК-спектр, ν , см^{-1} : 2949, 2875, 2850, 1763 ($\text{C}=\text{O}$, COCH_3), 1722 ($\text{C}=\text{O}$, CO_2CH_3), 1676 ($\text{C}=\text{C}$), 1464, 1448, 1383 ($\text{C}=\text{C}$, фуран), 1230 ($\text{C}-\text{O}$, CO_2CH_3), 1190, 1155, 1036 ($\text{C}-\text{O}$, CO_2CH_3), 982, 893 ($\text{C}=\text{CH}_2$). Спектр ЯМР ^1H (δ, м. д., J , Гц): 0.48 с (3H, C^{20}H_3), 0.97 м (1H, H^1), 1.00 д.т (1H, H^3 , $J = 13.2$, 3.8), 1.15 с (3H, C^{19}H_3), 1.26 д.д (1H, H^5 , $J = 12.4$, 3.2), 1.48 м (1H, H^2), 1.56–1.62 м (2H, $\text{H}^{9,11}$), 1.69–1.83 м

(4H, $\text{H}^{11,1,2,6}$), 1.87 м (1H, H^7), 1.97 м (1H, H^6), 2.14 д.м (1H, H^3 , $J_{\text{гем}} = 13.2$), 2.25 м (1H, H^{12}), 2.40 м (1H, H^7), 2.42 с (3H, CH_3), 2.56 м (1H, H^{12}), 3.59 с (3H, OCH_3), 4.52 с, 4.87 с (2H, $\text{H}^{17,17}$), 7.02 с (1H, H^{14}), 7.31 с (1H, H^{16}). Спектр ЯМР ^{13}C (δ, м. д.): 12.29 к (C^{20}), 19.60 т (C^2), 23.00 т (C^{12}), 23.88 т (C^{11}), 25.53 к (CH_3), 25.91 т (C^6), 28.44 к (C^{19}), 37.79 т (C^3), 38.35 т (C^7), 38.75 т (C^1), 39.86 с (C^{10}), 43.90 с (C^4), 50.80 к (OCH_3), 54.81 д (C^9), 55.82 д (C^5), 106.18 т (C^{17}), 118.00 д (C^{14}), 127.98 с (C^{13}), 142.77 д (C^{16}), 147.28 с (C^8), 152.45 с (C^{15}), 177.22 с (C^{18}), 186.42 с (CO). Найдено: m/z 372.2291 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_4$. Вычислено: $M = 372.2295$.

Соединение 6. $[\alpha]_D^{25.5} = 35.33$ (с 3.17, CHCl_3). УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, нм (lg ε): 274 (3.85). ИК-спектр, ν , см^{-1} : 2947, 2875, 2850, 1766 ($\text{C}=\text{O}$, COCH_3), 1724 ($\text{C}=\text{O}$, CO_2CH_3), 1672 ($\text{C}=\text{C}$), 1582, 1469, 1448, 1410, 1383 ($\text{C}=\text{C}$, фуран), 1358, 1230 ($\text{C}-\text{O}$, CO_2CH_3), 1201, 1192, 1155, 1093, 1034 ($\text{C}-\text{O}$, CO_2CH_3), 887 ($\text{C}=\text{CH}_2$). Спектр ЯМР ^1H (δ, м. д., J , Гц): 0.43 с (3H, C^{20}H_3), 0.97 м (2H, $\text{H}^{1,3}$), 1.11 с (3H, C^{19}H_3), 1.23 д.д (1H, H^5 , $J = 12.4$, 2.2), 1.43 м (1H, H^2), 1.52–1.63 м (2H, $\text{H}^{9,11}$), 1.68–1.77 м (4H, $\text{H}^{11,1,2,6}$), 1.83 м (1H, H^7), 1.91 м (1H, H^6), 2.09 д.м (1H, H^3 , $J_{\text{гем}} = 13.4$), 2.36 м (1H, H^7), 2.39 с (3H, CH_3), 2.59 м (1H, H^{12}), 2.86 м (1H, H^{12}), 3.54 с (3H, OCH_3), 4.63 с, 4.85 с (2H, $\text{H}^{17,17}$), 6.35 с (1H, H^{14}), 7.34 с (1H, H^{15}). Спектр ЯМР ^{13}C (δ, м. д.): 12.46 к (C^{20}), 19.83 т (C^2), 23.84 т (C^{12}), 24.87 т (C^{11}), 26.15 т (C^6), 26.91 к (CH_3), 28.69 к (C^{19}), 38.31 т (C^3), 38.62 т (C^7), 38.94 т (C^1), 40.19 с (C^{10}), 44.19 с (C^4), 50.97 к (OCH_3), 55.68 д (C^9), 56.20 д (C^5), 106.53 т (C^{17}), 114.42 д (C^{14}), 135.19 с (C^{13}), 144.11 д (C^{15}), 146.40 с (C^{16}), 147.57 с (C^8), 177.59 с (C^{18}), 188.55 с (CO). Найдено: m/z 372.2293 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_4$. Вычислено: $M = 372.2295$.

(1*S*,4*aR*,5*S*,8*aR*)-Метил-1,4*a*-диметил-6-метилен-5-(2-(2-(3-(пирролидин-1-ил)пропаноил)фуран-3-ил)этил)декагидронафталин-1-карбоксилат (9a). К раствору 0.26 г (0.70 ммоль) метил 16-ацетилламбертианата **6** и 0.13 г (0.84 ммоль) бис(пирролидин)метана **8a** в 10 мл дихлорметана при 0 °С добавили 0.10 мл (1.40 ммоль) ацетилхлорида. Подняли температуру реакционной смеси до комнатной и перемешивали дополнительно 24 ч. Реакционную массу разбавили водой (50 мл), добавили 10 % раствор Na_2CO_3 до слабощелочной реакции (~5 мл) и экстрагировали хлороформом (3 × 50 мл). Объединенные экстракты промыли водой (3 × 50 мл) и сушили MgSO_4 . Растворитель удалили в вакууме, остаток хроматографировали на силикагеле (элюент – хлороформ/метанол, 10 : 1). Выделили 0.04 г (14 %)

соединения **9a** в виде маслообразного вещества. $[\alpha]_D^{28} = 28.7$ (с 0.79, CHCl_3). Спектр ЯМР ^1H CDCl_3 (δ , м. д., J , Гц): 0.41 с (3H, C^{20}H_3), 0.95 д.т (2H, $\text{H}^{1,3}$, $J = 13.5$, 3.8), 1.09 с (3H, C^{19}H_3), 1.21 д.д (1H, H^5 , $J = 12.4$, 2.7), 1.41 д.м (1H, H^2 , $J = 14.0$), 1.52–1.57 м (2H, $\text{H}^{9,11}$), 1.65–1.86 м (5H, $\text{H}^{11,1,2,6,7}$), 1.81 с (4H, 2CH_2), 1.90 м (1H, H^6), 2.06 д.м (1H, H^3 , $J_{\text{гем}} = 13.5$), 2.33 д.м (1H, H^7 , $J = 11.8$), 2.58 м (1H, H^{12}), 2.70 с (4H, $2\text{CH}_2\text{N}$), 2.84 м (1H, H^{12}), 2.97 т (2H, CH_2 , $J = 7.3$), 3.15 т (2H, CH_2 , $J = 7.3$), 3.52 с (3H, OCH_3), 4.59 с (1H, H^{17}), 4.83 с (1H, H^{17}), 6.34 с (1H, H^{14}), 7.34 с (1H, H^{15}). Спектр ЯМР ^{13}C (δ , м. д.): 12.41 к (C^{20}), 19.76 т (C^2), 23.28 т (2CH_2), 23.68 т (C^{12}), 24.70 т (C^{11}), 26.07 т (C^6), 28.65 к (C^{19}), 37.39 т (CH_2), 38.02 т (C^3), 38.54 т (C^7), 38.87 т (C^1), 40.11 с (C^{10}), 44.11 с (C^4), 49.98 т (CH_2), 50.99 к (OCH_3), 53.88 т ($2\text{CH}_2\text{N}$), 55.51 д (C^9), 56.07 д (C^5), 106.47 т (C^{17}), 114.44 д (C^{14}), 135.89 с (C^{13}), 144.42 д (C^{15}), 147.50 с ($\text{C}^{8,16}$), 177.59 с (C^{18}), 188.55 с (CO). Найдено, %: С 74.01; Н 9.17; N 3.44. $\text{C}_{28}\text{H}_{41}\text{NO}_4$. Вычислено, %: С 73.81; Н 9.07; N 3.07.

(1S,4aR,5S,8aR)-Метил-1,4a-диметил-6-метилен-5-(2-(2-(1-(триметилсилокси)винил)фуран-3-ил)этил)декагидронафталин-1-карбоксилат (10a). К перемешиваемой суспензии 0.27 г (0.70 ммоль) метил-16-ацетилламбертианата **6**, 0.27 г (2.0 ммоль) безводного иодида натрия и 5 мл (36.0 ммоль) триэтиламина в 10 мл ацетонитрила при 0 °С в токе аргона добавляли по каплям 3.80 мл (30 ммоль) триметилхлорсилана. Подняли температуру реакционной смеси до комнатной и перемешивали 15 ч. Растворитель упаривали в вакууме водоструйного насоса в токе аргона, к остатку добавляли 50 мл безводного диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровали (эту процедуру повторили дважды). В остатке получили силиловый эфир **10a** в виде маслообразного вещества, которое использовали в последующих превращениях без дополнительной очистки (спектр ЯМР ^1H содержал сигналы только продукта). Не устойчиво на воздухе. Спектр ЯМР ^1H CDCl_3 (δ , м. д., J , Гц): 0.23 с (9H, SiMe_3), 0.47 с (3H, C^{20}H_3), 1.00 м (2H, $\text{H}^{1,3}$), 1.15 с (3H, C^{19}H_3), 1.24 м (1H, H^5), 1.50 м (1H, H^2), 1.57 м (2H, $\text{H}^{9,11}$), 1.77 м (5H, $\text{H}^{1,2,6,7,11}$), 1.87 м (1H, H^6), 1.94 м (1H, H^3), 2.13 д.м (2H, $\text{H}^{7,12}$, $J = 12.9$), 2.66 м (1H, H^{12}), 3.59 с (3H, OCH_3), 4.29 с (1H, $\text{C}=\text{CH}_2$), 4.57 с (1H, $\text{C}=\text{CH}_2$), 4.69 с (1H, H^{17}), 4.86 с (1H, H^{17}), 6.23 с (1H, H^{14}), 7.24 с (1H, H^{15}).

(1S,4aR,5S,8aR)-Метил-1,4a,8a-триметил-6-метилен-5-(2-(2-(1-(триметилсилокси)винил)фуран-3-ил)этил)декагидронафталин-1-карбоксилат (10b). Взаимодействием 0.27 г (0.70 ммоль) метил-15-ацетилламбертианата **7** с 3.80 мл

(30 ммоль) триметилхлорсиланом в присутствии 0.27 г (2.0 ммоль) безводного иодида натрия и 5 мл (36.0 ммоль) триэтиламина в условиях синтеза соединения **10a** получили соединение **10b** в виде маслообразного вещества, которое использовали в последующих превращениях без дополнительной очистки (спектр ЯМР ^1H содержал сигналы только **10b**). Не устойчиво на воздухе. Спектр ЯМР ^1H CDCl_3 (δ , м. д., J , Гц): 0.24 с (9H, SiMe_3), 0.49 с (3H, C^{20}H_3), 0.99 м (2H, $\text{H}^{1,3}$), 1.15 с (3H, C^{19}H_3), 1.29 м (1H, H^5), 1.50 м (1H, H^2), 1.59 м (2H, $\text{H}^{9,11}$), 1.78 м (5H, $\text{H}^{1,2,6,7,11}$), 1.88 м (1H, H^6), 1.95 м (1H, H^3), 2.11 д.м (2H, $\text{H}^{7,12}$, $J = 12.9$), 2.46 м (1H, H^{12}), 3.59 с (3H, OCH_3), 4.31 с (1H, $\text{C}=\text{CH}_2$), 4.54 с (1H, H^{17}), 4.82 с (1H, H^{17}), 4.86 с (1H, $\text{C}=\text{CH}_2$), 6.24 с (1H, H^{14}), 7.07 с (1H, H^{16}).

(1S,4aR,5S,8aR)-Метил-1,4a-диметил-6-метилен-5-(2-(2-(3-морфолинопропаноил)фуран-3-ил)этил)декагидронафталин-1-карбоксилат (9b). *Вариант а:* к раствору силилового эфира **10a**, полученного из 0.27 г (0.70 ммоль) метил-16-ацетилламбертианата **6**, и 0.22 г (1.17 ммоль) ди(морфолино)метана **8b** в 10 мл дихлорметана при 0 °С добавили 0.08 мл (1.17 ммоль) ацетилхлорида. Подняли температуру реакционной смеси до комнатной и перемешивали 24 ч. Реакционную массу разбавили водой (50 мл), добавили 10 % раствор Na_2CO_3 до слабощелочной реакции (~5 мл) и экстрагировали хлороформом (3 × 50 мл). Объединенные экстракты промыли водой (3 × 50 мл) и сушили MgSO_4 . Растворитель удалили в вакууме, остаток хроматографировали на силикагеле (элюент – хлороформ/метанол, 10 : 1). Получили 0.22 г (64 %) соединения **9b** в виде маслообразного вещества. *Вариант б:* взаимодействием 0.26 г (0.70 ммоль) метил-16-ацетилламбертианата **6** с 0.16 г (0.84 ммоль) ди(морфолино)метаном **8b** и 0.10 мл (1.40 ммоль) ацетилхлоридом в условиях синтеза соединения **9a** получили 0.05 г (14 %) соединения **9b** в виде маслообразного вещества. $[\alpha]_D^{28} = 31.0$ (с 1.15, CHCl_3). УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, нм (lg ϵ): 275 (3.85). ИК-спектр, ν , см^{-1} : 2952, 2850, 2811, 1722 ($\text{C}=\text{O}$, CO_2CH_3), 1649 ($\text{C}=\text{O}$), 1579, 1479, 1444, 1359, 1299, 1270, 1250 ($\text{C}-\text{O}$), 1209, 1153, 1116 ($\text{C}-\text{N}$), 1068 ($\text{C}-\text{O}$), 993, 885 ($\text{C}=\text{CH}_2$), 871. Спектр ЯМР ^1H CDCl_3 (δ , м. д., J , Гц): 0.37 с (3H, C^{20}H_3), 0.91 м (2H, $\text{H}^{1,3}$), 1.05 с (3H, C^{19}H_3), 1.17 д.д (1H, H^5 , $J = 12.4$, 2.7), 1.37 д.м (1H, H^2 , $J = 14.5$), 1.45–1.54 м (2H, $\text{H}^{9,11}$), 1.62–1.71 м (4H, $\text{H}^{11,1,2,6}$), 1.77 м (1H, H^7), 1.86 м (1H, H^6), 2.03 д.м (1H, H^3 , $J_{\text{гем}} = 12.9$), 2.29 д.м (1H, H^7 , $J = 12.4$), 2.39 м (4H, $2\text{CH}_2\text{N}$), 2.54 м (1H, H^{12}), 2.68 т (2H, CH_2 , $J = 7.3$), 2.81 м (1H, H^{12}), 2.93 т (2H, CH_2 , $J = 7.3$), 3.48 с (3H,

ОСН₃), 3.58 м (4Н, 2СН₂О), 4.56 с (1Н, Н¹⁷), 4.79 с (1Н, Н¹⁷), 6.31 д (1Н, Н¹⁴, $J = 1.6$), 7.30 д (1Н, Н¹⁵, $J = 1.6$). Спектр ЯМР ¹³С (δ, м. д.): 12.30 к (С²⁰), 19.64 т (С²), 23.60 т (С¹²), 24.62 т (С¹¹), 25.96 т (С⁶), 28.52 к (С¹⁹), 36.01 т (СН₂), 37.91 т (С³), 38.43 т (С⁷), 38.74 т (С¹), 41.45 с (С¹⁰), 43.97 с (С⁴), 46.37 т (СН₂), 50.85 к (ОСН₃), 53.24 т (2СН₂Н), 55.43 д (С⁹), 55.95 д (С⁵), 66.56 т (2СН₂О), 106.38 т (С¹⁷), 114.33 д (С¹⁴), 135.38 с (С¹³), 144.00 д (С¹⁵), 147.35 с (С⁸), 147.64 с (С¹⁶), 177.38 с (С¹⁸), 189.32 с (СО). Найдено: m/z 471.2974 [M]⁺. C₂₈H₄₁O₅N₁. Вычислено: M = 471.2979.

(1S,4aR,5S,8aR)-Метил-1,4а-диметил-6-метилен-5-(2-(2-(3-((2-гидроксиэтил)амино)пропаноил)фуран-3-ил)этил)декагидро-нафталин-1-карбоксилат (9с). Взаимодействием силилового эфира **10а**, полученного из 0.27 г (0.70 ммоль) метил-16-ацетилламбертианата **6**, с 0.19 г (1.17 ммоль) ди(оксазолидин-3-ил)метана **8с** и 0.08 мл (1.17 ммоль) ацетилхлорида в условиях синтеза соединения **9б** из силилового эфира получили 0.14 г (43 %) соединения **9с** в виде маслообразного вещества. $[\alpha]_D^{25} = 27.6$ (с 0.55, СНСl₃). УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, нм (lg ε): 280 (3.84). ИК-спектр, ν , см⁻¹: 3427 (О-Н), 2931, 2874, 2848, 1724 (С=О, СО₂СН₃), 1660 (С=О), 1647, 1578 (N-Н), 1468, 1448, 1412, 1383, 1265, 1248 (С-О), 1228, 1211, 1203, 1153 (С-Н), 1130, 1092, 1078, 1034, 885 (С=СН₂). Спектр ЯМР ¹Н CDCl₃ (δ, м. д., J , Гц): 0.45 с (3Н, С²⁰Н₃), 0.99 м (2Н, Н^{1,3}), 1.14 с (3Н, С¹⁹Н₃), 1.25 д (1Н, Н⁵, $J = 12.4$), 1.46 д.м (1Н, Н², $J = 12.5$), 1.53–1.64 м (2Н, Н^{9,11}), 1.69–1.80 м (4Н, Н^{11,1,2,6}), 1.85 м (1Н, Н⁷), 1.95 м (1Н, Н⁶), 2.11 м (1Н, Н³), 2.38 м (1Н, Н⁷), 2.64 м (1Н, Н¹²), 2.80–3.09 м (7Н, Н¹², 3СН₂), 3.57 с (3Н, ОСН₃), 3.65 м (2Н, ОСН₂), 4.63 с (1Н, Н¹⁷), 4.85 с (1Н, Н¹⁷), 6.37 д (1Н, Н¹⁴, $J = 1.6$), 7.35 д (1Н, Н¹⁵, $J = 1.6$). Спектр ЯМР ¹³С (δ, м. д.): 12.51 к (С²⁰), 19.87 т (С²), 23.80 т (С¹²), 24.84 т (С¹¹), 26.19 т (С⁶), 28.75 к (С¹⁹), 36.62 т (СН₂), 38.13 т (С³), 38.66 т (С⁷), 39.00 т (С¹), 40.23 с (С¹⁰), 43.57 т (СН₂), 44.24 с (С⁴), 48.11 т (СН₂), 51.09 к (ОСН₃), 55.70 д (С⁹), 56.20 д (С⁵), 60.20 т (ОСН₂), 106.59 т (С¹⁷), 114.50 д (С¹⁴), 135.76 с (С¹³), 144.21 д (С¹⁵), 147.64 с (С⁸), 147.90 с (С¹⁶), 177.72 с (С¹⁸), 189.95 с (СО). Найдено, %: С 70.03; Н 8.74; N 3.20. C₂₆H₃₉NO₅. Вычислено, %: С 70.08; Н 8.82; N 3.14.

(1S,4aR,5S,8aR)-Метил-5-(2-(5-(3-морфолинопропаноил)фуран-3-ил)этил)-1,4а-диметил-6-метилендекагидронафталин-1-карбоксилат (11). Взаимодействием силилового эфира **10b**, полученного из 0.27 г (0.70 ммоль) метил-15-ацетилламбертианата **7**, с 0.22 г (1.17 ммоль)

ди(морфолино)метана **8b** и 0.08 мл (1.17 ммоль) ацетилхлорида в условиях синтеза соединения **9б** из силилового эфира **10а** получили 0.18 г (53 %) соединения **11** в виде маслообразного вещества. $[\alpha]_D^{27} = 31.8$ (с 1.85, СНСl₃). УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, нм (lg ε): 284 (3.66). ИК-спектр, ν , см⁻¹: 2958, 2831, 2852, 1722 (С=О, СО₂СН₃), 1649 (С=О), 1502, 1427, 1271, 1250 (С-О), 1153, 1117 (С-Н), 1068 (С-О), 995. Спектр ЯМР ¹Н CDCl₃ (δ, м. д., J , Гц): 0.34 с (3Н, С²⁰Н₃), 0.83 м (1Н, Н¹), 0.86 м (1Н, Н³), 1.10 с (3Н, С¹⁹Н₃), 1.12 д (1Н, Н⁵, $J = 11.8$), 1.33 д.м (1Н, Н², $J = 14.0$), 1.44 м (2Н, Н^{9,11}), 1.58–1.67 м (4Н, Н^{11,1,2,6}), 1.71 м (1Н, Н⁷), 1.82 м (1Н, Н⁶), 2.11 д.м (1Н, Н³, $J_{\text{гем}} = 12.9$), 2.11 м (1Н, Н¹²), 2.25 д.м (1Н, Н⁷, $J = 11.8$), 2.39 м (4Н, 2СН₂Н), 2.41 м (1Н, Н¹²), 2.62 т (2Н, СН₂, $J = 7.3$), 2.83 т (2Н, СН₂, $J = 7.3$), 3.44 с (3Н, ОСН₃), 3.50 м (4Н, 2СН₂О), 4.38 с (1Н, Н¹⁷), 4.73 с (1Н, Н¹⁷), 6.91 с (1Н, Н¹⁴), 7.20 с (1Н, Н¹⁶). Спектр ЯМР ¹³С (δ, м. д.): 12.23 к (С²⁰), 19.53 т (С²), 22.94 т (С¹²), 23.80 т (С¹¹), 25.84 т (С⁶), 28.39 к (С¹⁹), 35.27 т (СН₂), 37.74 т (С³), 38.28 т (С⁷), 38.72 т (С¹), 39.80 с (С¹⁰), 43.85 с (С⁴), 46.26 т (СН₂), 50.75 к (ОСН₃), 53.15 т (2СН₂Н), 54.76 д (С⁹), 55.76 д (С⁵), 66.48 т (2СН₂О), 106.10 т (С¹⁷), 117.77 д (С¹⁴), 127.94 с (С¹³), 142.69 д (С¹⁶), 147.25 с (С⁸), 152.22 с (С¹⁵), 177.15 с (С¹⁸), 187.64 с (СО). Найдено: m/z 471.2973 [M]⁺. C₂₈H₄₁O₅N₁. Вычислено: M = 471.2979.

Культуры клеток. Линии опухолевых клеток человека Т-клеточного лейкоза (CCRF CEM), гистиоцитарной лимфомы U-937, меланомы MEL-8, рака молочной железы MDA-MB-231, глиобластомы T98G, аденокарциномы молочной железы MCF7 и аденокарциномы простаты PC-3 были приобретены из коллекции АТСС (США). Клетки культивировали в среде RPMI-1640, содержащей 10 % сыворотки крови эмбрионов крупного рогатого скота, 2 ммоль/л L-глутамина, 80 мкг/мл гентамицина и 30 мг/мл линкомицина, при температуре 37 °С в СО₂-инкубаторе. Исследуемые вещества и препарат сравнения доксорубицин (Sandoz, Австрия), растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) и добавляли к клеточной культуре в необходимых концентрациях. Клетки, инкубируемые без препаратов, использовали в качестве контроля.

МТТ-тест. Для определения GI₅₀ (доза, на 50 % ингибирующая рост клеток) использовали стандартный МТТ-тест [19].

По результатам трех независимых экспериментов (4–5 повторностей в каждом) рассчитывали среднее значение GI₅₀ и стандартное отклонение (Mean ± SD). Статистическую обработку данных выполняли с помощью программы

GraphPad Prism 6, учитывая в расчетах весь диапазон концентраций.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ацетилирование метилового эфира ламбертиановой кислоты **5** проводили в условиях, аналогичных для метилового эфира фломизоиковой кислоты, в уксусном ангидриде в присутствии каталитического количества $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ (схема 1) [20]. Как и в случае метилфломизоиката реакция протекала с преимущественным образованием продукта ацетилирования по атому углерода С-16. 16-Ацетил- **6** и 15-ацетилзамещенные лабданоиды **7** выделяли колоночной хроматографией на силикагеле с выходами 35 и 16 % соответственно.

Эффективным методом введения аминотильной группы в структуру органического соединения является реакция Манниха [21]. Классические условия реакции включают использование кислот, способствующих образованию енола из карбонильного соединения и иминиевой соли из продукта взаимодействия альдегида с амином, и высоких температур. В связи со склонностью экзо-метиленовой двойной связи в терпеновом остоле ламбертиановой кислоты претерпевать изомеризацию в присутствии кис-

лот, а также возможностью протекания элиминирования 2-аминометильных производных, реакцию проводили с использованием *N,N*-дизамещенных метилениминиевых солей [21, 22]. Взаимодействие метил-16-ацетиллабдатриеноата **6** с метилениминиевой солью, генерируемой *in situ* из ди(пирролидин-1-ил)метана **8a** действием ацетилхлорида, в дихлорметане протекало при комнатной температуре с образованием 16-(3-пирролидин-1-илпропан-1-онил)лабдатриеноата **9a**, выделенного колоночной хроматографией на силикагеле с выходом 14 % (схема 2). При проведении реакции **6** с ди(морфолино)метаном **8b** в присутствии ацетилхлорида основание Манниха **9b** образуется с таким же низким выходом.

Ввиду полученных низких выходов β-аминометильных производных 16-ацетилфуранолабданоида, для проведения целевого превращения в качестве С-нуклеофила использовали триметилсилиловый эфир енола **10a** (схема 3). Последний получали силилированием кетона **6** триметилхлорсиланом в ацетонитриле в присутствии безводного иодида натрия и триэтиламина в атмосфере аргона. Соединение **10a** устойчиво в атмосфере аргона, на воздухе оно гидролизует до исходного кетона **6**. Показано, что силиловый эфир **10a** реагирует с метилениминиевой солью, генерируемой *in situ* из ди(морфолино)метана **8b** и ацетилхлорида в дихлорметане, с образовани-

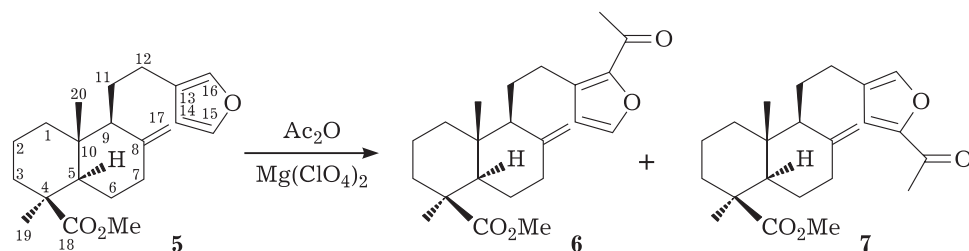


Схема 1. Ацетилирование метиллаббертианата **5**.

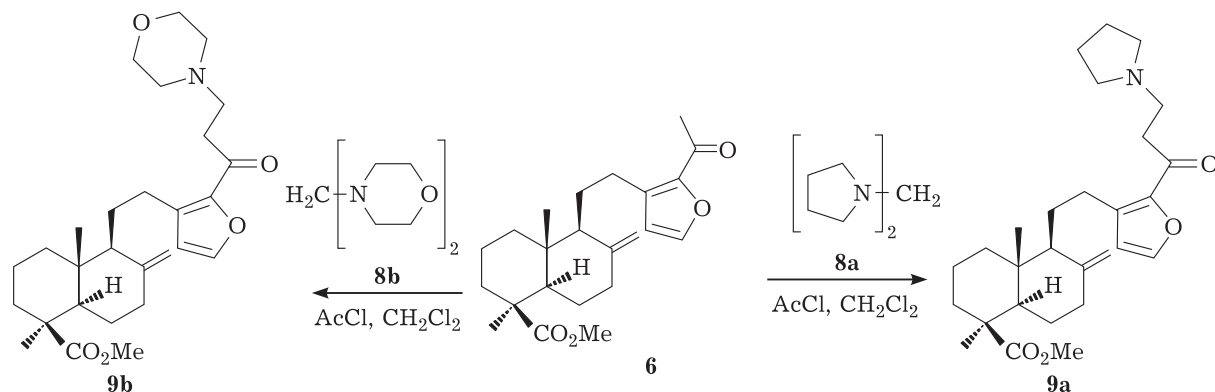


Схема 2. Взаимодействие метил-16-ацетиллабдатриеноата **6** с ди(пирролидин-1-ил)метаном **8a** и ди(морфолино)метаном **8b** в присутствии ацетилхлорида.

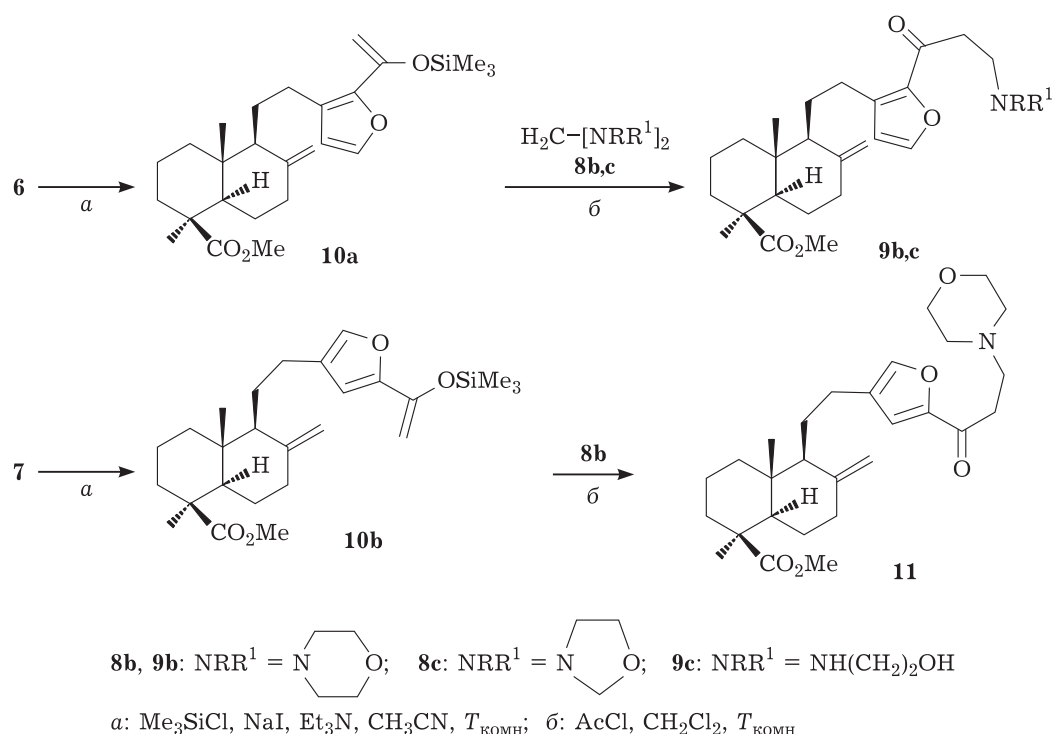


Схема 3. Получение триметилсилиловых эфиров енолов **10a,b** и реакция Манниха с их участием.

ем продукта аминотилирования **9b**, выделенного с выходом 64 % в расчете на исходное соединение **6**. В реакции **10a** с ди(оксазолидин-3-ил)метаном **8c** в последних условиях получали β-аминоэтанол **9c** с выходом 43 %.

Аналогичной последовательностью реакций, включающей силилирование 15-ацетилламбертианата **7** и взаимодействие силилового эфира енола **10b** с ди(морфолино)метаном **8b** в присутствии ацетилхлорида, получали основание Манниха **11** с выходом 53 %.

Строение синтезированных соединений подтверждено данными ИК-, УФ-, ЯМР-спектроскопии и хромато-масс-спектрометрии.

Спектры ЯМР ^1H продуктов ацилирования **6** и **7** имеют характерные различия, позволяющие однозначно определить структуры соединений. Спектр ЯМР ^1H метил-16-ацетилламбертианата **6** содержит синглетные сигналы при δ 2.39 (ацетильная группа) и 6.35 м. д. (H-14). В спектре ЯМР ^1H метил-15-ацетилламбертианата **7** указанным протонам соответствуют синглеты при δ 2.42 и 7.02 м. д. соответственно. В протонных спектрах продуктов аминотилирования **9a-c** и **11** отсутствует синглет ацетильной группы и наблюдается два триплета в области δ 2.68–3.15 м. д.

Исследование цитотоксического действия производных ламбертиановой кислоты проведено на клеточных линиях Т-клеточного лейкоза (CCRF

СЕМ), гистиоцитарной лимфомы U-937, меланомы MEL-8, рака молочной железы MDA-MB-231, глиобластомы T98G, аденокарциномы молочной железы MCF7 и аденокарциномы простаты PC-3 (МТТ-тест). В качестве сравнения использовали противоопухолевый препарат доксорубин, проявляющий цитотоксичность в отношении широкого ряда опухолевых клеток [23]. Результаты исследования приведены в табл. 1.

Из полученных данных следует, что новые соединения **9a-c** и **11** оказывают более высокую цитотоксичность в отношении клеток линий CCRF СЕМ, MCF7 и PC-3, чем исходное соединение **1**. Соединения **9a,b**, содержащие 3-морфолинопропаноильный или 3-пирролидинопропаноильный заместитель в положении С-2 фуранового цикла, обладают селективной цитотоксичностью в отношении клеточной линии CCRF СЕМ, ингибируют рост опухолевых клеток, в микромолярной концентрации проявляют на порядок большую цитотоксичность, чем исходное соединение – ламбертиановая кислота **1**.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, предложен способ синтеза N-замещенных метил-16- и метил-15-(3-аминопропан-1-онил)лабдатриеноатов, основанный на реакции Манниха триметилсилиловых эфиров

ТАБЛИЦА 1

Цитотоксичность ламбертиановой кислоты **1** и ее синтезированных производных

Соединение	Ингибирование роста (GI_{50} , μM)						
	CCRF CEM	U-937	MEL-8	MDA-MB-231	T98G	MCF7	PC-3
1	69.1 $\pm$ 1.0	43.2 $\pm$ 2.1	46.27 $\pm$ 7.12	Н.д.	Н.д.	92.1 $\pm$ 5.2	>100
9a	5.80 $\pm$ 0.83	56.26 $\pm$ 2.29	78.56 $\pm$ 4.33	89.17 $\pm$ 2.29	>100	38.02 $\pm$ 0.60	45.29 $\pm$ 1.64
9b	6.15 $\pm$ 0.31	56.04 $\pm$ 3.91	81.32 $\pm$ 8.22	92.31 $\pm$ 2.73	>100	30.20 $\pm$ 0.06	38.94 $\pm$ 0.63
9c	Н.д.	Н.д.	Н.д.	Н.д.	47.97 $\pm$ 1.62	33.88 $\pm$ 1.22	40.75 $\pm$ 0.66
11	Н.д.	Н.д.	Н.д.	Н.д.	>100	50.12 $\pm$ 2.91	80.36 $\pm$ 0.93
Доксорубин	3.40 $\pm$ 2.11	0.20 $\pm$ 0.06	5.12 $\pm$ 0.51	7.91 $\pm$ 0.54	2.29 $\pm$ 0.11	0.85 $\pm$ 0.24	1.53 $\pm$ 0.15

Примечание. 1. GI_{50} – концентрация, при которой наблюдается 50 % ингибирование роста клеток при инкубировании в среде RPMI-1640, содержащей 10 % сыворотки крови эмбрионов крупного рогатого скота, в течение 72 ч. 2. Н.д. – нет данных.

енолов 16-ацетил- и 15-ацетилпроизводных метилового эфира ламбертиановой кислоты. Показано, что введение аминопропаноильного заместителя в положение С-16 фуранового цикла позволяет получить соединения, обладающие селективной цитотоксичностью, сравнимой с действием доксорубина, в отношении Т-клеточного лейкоза (CCRF CEM).

Работа выполнена в рамках государственного задания НИОХ СО РАН (тема FWUE-2022-0003).

Авторы выражают благодарность Химическому сервисному центру коллективного пользования СО РАН (Новосибирск) за проведение спектральных и аналитических исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Shul'ts E. E., Mironov M. E., Kharitonov Yu. V. Furanoditerpenoids of the labdane series: Occurrence in plants, total synthesis, several transformations, and biological activity // Chem. Nat. Compd. 2014. Vol. 50, No. 1. P. 2–21.
- Bao H., Zhang Q., Ye Y., Lin L. Naturally occurring furanoditerpenoids: Distribution, chemistry and their pharmacological activities // Phytochem. Rev. 2017. Vol. 16. P. 235–270.
- Толстиков Г. А., Толстикова Т. Г., Шульц Э. Э., Толстиков С. Е., Хвостов М. В. Смоляные кислоты хвойных России. Химия, фармакология. Новосибирск: Акад. изд-во "Гео", 2011. 395 с.
- Shahinozzaman M., Islam M., Basak B., Sultana A., Emran R., Ashrafizadeh M., Islam A. T. M. R. A review on chemistry, source and therapeutic potential of lambertianic acid // Z. Naturforsch. C. J. Biosci. 2021. Vol. 76, No. 9–10. P. 347–356.
- Толстикова Т. Г., Сорокина И. В., Жукова Н. А., Морозова Е. А., Харитонов Ю. В., Миронов М. Е., Попов С. А., Шульц Э. Э. Доступные метаболиты растений Сибири как источники инновационных препаратов для медицины // Химия уст. разв. 2018. Т. 26, № 3. С. 329–344.
- Морозова Е. А., Толстикова Т. Г., Шульц Э. Э., Чернов С. В., Харитонов Ю. В., Миронов М. Е., Толстиков Г. А. Анальгетическая активность некоторых фуранодитерпеноидов лабданового ряда и их производных // Химия уст. разв. 2010. Т. 18, № 4. С. 489–494.
- Пат. RU 2353620 С1, 2007.
- Толстикова Т. Г., Воевода Т. В., Долгих М. П., Сорокина И. В. Нейротропная активность ламбертиановой кислоты и ее аминопроизводных // Эксперимент. и клин. фармакология. 2002. Т. 65, № 2. С. 9–11.
- Харитонов Ю. В., Шульц Э. Э., Шакиров М. М., Покровский М. А., Покровский А. Г., Толстиков Г. А. Синтетические трансформации высших терпеноидов. XXVI. 16-Ацетиламинометиллабданоиды и их цитотоксическая активность // Биоорг. химия. 2012. Т. 38, № 1. С. 127–136.
- Mironov M. E., Pokrovsky M. A., Kharitonov Yu. V., Shakhmurov M. M., Pokrovsky A. G., Shults E. E. Furanolabdanoid-based 1,2,4-oxadiazoles: Synthesis and cytotoxic activity // ChemistrySelect. 2016. Vol. 1, No. 3. P. 417–424.
- Харитонов Ю. В., Шульц Э. Э., Шакиров М. М., Покровский М. А., Покровский А. Г., Толстиков Г. А. Синтетические трансформации высших терпеноидов. Сообщение 31. Синтез 1,2,3-триазолилсодержащих фуранолабданоидов и изучение их цитотоксической активности // Изв. Акад. наук. Сер. хим. 2013. Т. 62, № 9. С. 2046–2055.
- Roman G. Mannich bases in medicinal chemistry and drug design // Eur. J. Med. Chem. 2015. Vol. 89. P. 743–816.
- Толстикова Т. Г., Сорокина И. В., Долгих М. П., Чернов С. В., Харитонов Ю. В., Шульц Э. Э., Толстиков Г. А. Нейротропная активность аддуктов ламбертиановой кислоты с N-замещенными малеинимидами // Хим.-фармацевт. журн. 2004. Т. 38, № 10. С. 13–15.
- Харитонов Ю. В., Антипова В. И., Маренина М. К., Мешкова Ю. В., Толстикова Т. Г., Шульц Э. Э. Синтетические трансформации высших терпеноидов. 44. Синтез и цитотоксические свойства новых производных ламбертиановой кислоты по карбоксильной группе // Химия природных соединений. 2023. Т. 59, № 6. С. 936–947.
- Mills J. E., Maryanoff C. A., McComsey D. F., Stanzone R. C., Scott L. Reaction of amines with methylene chloride. Evidence for rapid amination formation from N-methyl-ene-pyrrolidinium chloride and pyrrolidine // J. Org. Chem. 1987. Vol. 52, No. 9. P. 1857–1859.
- Porzelle A., Williams C. M. Direct access to functionalized cyclic enones using Mannich, Morita–Baylis–Hillman and elimination // Synthesis. 2006. Vol. 18, No. 18. P. 3025–3030.
- Salas-Coronado R., Gálvez-Ruiz J. C., Jaen-Gaspar J. C., Nöth H., Flores-Parra A. 3-(1,3-Heterazolidin-3-yl-methyl)-1,3-oxazolidines and their reduction with borane-THF // J. Mol. Struct. THEOCHEM. 2003. Vol. 640, No. 3. P. 95–108.
- Хайруллина Р. Р., Акманов Б. Ф., Кунакова Р. В., Ибрагимов А. Г. Синтез аминосульфидов с участием катали-

- затов на основе редкоземельных и переходных металлов // Журн. орган. химии. 2012. Т. 48, № 7. С. 907–912.
- 19 Wilson J. K., Sargent J. M., Elgie A. W., Hill J. G., Taylor C. G. A feasibility study of the MTT assay for chemosensitivity testing in ovarian malignancy // Br. J. Cancer. 1990. Vol. 62, No. 2. P. 189–194.
- 20 Харитонов Ю. В., Шульц Э. Э., Шакиров М. М., Толстиков Г. А. Синтетические трансформации высших терпеноидов. XVII. Внутримолекулярная циклизация фуруриламидов лабданового типа // Журн. орган. химии. 2008. Т. 44, № 4. С. 521–528.
- 21 Arend M., Westermann B., Risch N. Modern variants of the Mannich reaction // Angew. Chem. Int. Ed. 1998. Vol. 37, No. 8. P. 1044–1070.
- 22 Mironov M. E., Kharitonov Yu. V., Shul'ts E. E., Shakirov M. M., Bagryanskaya I. Yu., Tolstikov G. A. Synthetic transformations of higher terpenoids. XXI. Preparation of phlomisic acid and its N-containing derivatives // Chem. Nat. Compd. 2010. Vol. 46, No. 2. P. 233–241.
- 23 Rivankar S. An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy // J. Cancer Res. Ther. 2014. Vol. 10, No. 4. P. 853–858.