

СИНТЕЗ И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ N-АЦИЛГИДРАЗОНОВ ИЗ ДИАЦЕТАТА БЕТУЛИНА

© 2023 г. Ю. В. Мясоедова^а, Э. Р. Беляева^{а, *}, Н. М. Ишмуратова^а, Д. В. Ишметова^б,
В. А. Вахитов^б, Г. Ю. Ишмуратов^а

^а Уфимский институт химии – обособленное структурное подразделение

ФГБНУ «Уфимского федерального исследовательского центра РАН», Россия, 450054 Уфа, просп. Октября, 71

^б Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение

ФГБНУ «Уфимского федерального исследовательского центра РАН», Россия, 450054 Уфа, просп. Октября, 71

*e-mail: ern_lbrn@bk.ru

Поступила в редакцию 12.05.2022 г.

После доработки 18.05.2022 г.

Принята к публикации 20.05.2022 г.

Синтезированы 8 новых N-ацилгидразонов из диацетата бетулина его низкотемпературным озонотическим превращением в 3 β ,3,28-диацетоксикси-20-оксо-29-норлупан и последующей конденсацией последнего с гидразидами ряда алифатических и ароматических кислот. Изучена *in vitro* цитотоксическая активность полученных соединений в отношении ряда опухолевых клеток. Производные, полученные конденсацией 3 β ,3,28-диацетоксикси-20-оксо-29-норлупана с гидразидами салициловой, изоникотиновой и никотиновой кислот, проявили умеренную активность в отношении клеточных линий гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2, рака толстой кишки человека НТС-116, лейкемии ТНР-1, острого Т-клеточного лейкоза Jurkat.

Ключевые слова: диацетат бетулина, озонотиз, гидразиды кислот, ацилгидразоны, противоопухолевая активность

DOI: 10.31857/S0514749223050075, **EDN:** DRBNSQ

ВВЕДЕНИЕ

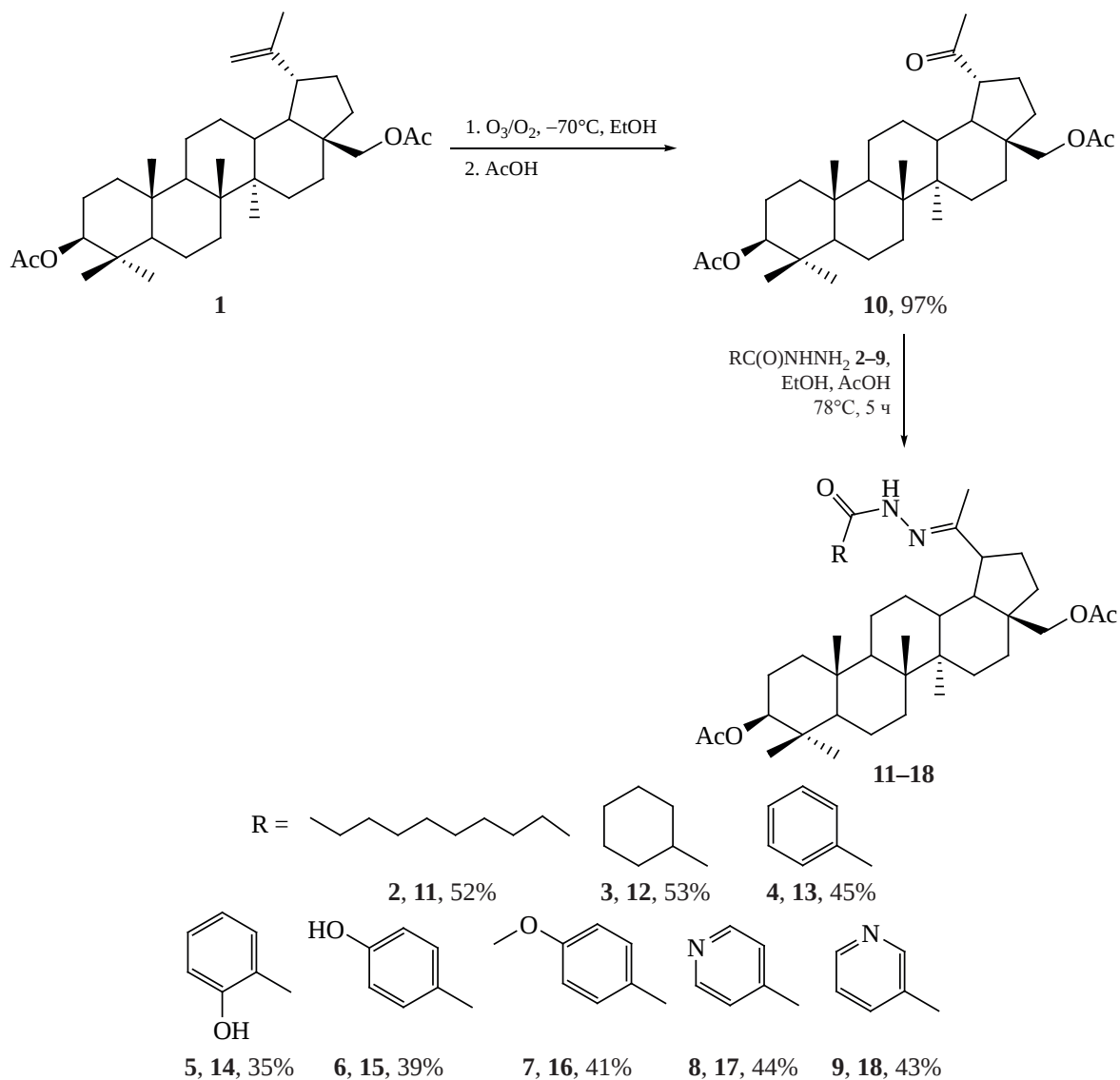
Доступность растительных тритерпеноидов в совокупности с высокой биологической активностью привлекает внимание к их синтезу. Бетулин и его производные – компоненты березовой коры – проявляют широкий спектр биологической активности [1–3]. Диацетат бетулина [3 β ,28-диацетоксилуп-20(29)-ен, **1**] обладает гиполлипидемическим и желчегонным действием [4, 5], выступает в роли ловушки для активных форм кислорода, а также способен либо стимулировать синтез антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы и каталазы, либо непосредственно влиять на их активность [6, 7].

Целенаправленная химическая модификация природных биологически активных соединений приводит в ряде случаев к получению веществ,

которые обладают более широким спектром действия и низкой токсичностью. Известно, что гидразоны обладают различными видами биологической активности [8]. В рамках поиска новых потенциальных противораковых соединений [9, 10], связанных с природными продуктами, сообщается о синтезе производных бетулина, содержащих гидразид-гидразонный фрагмент в качестве боковой цепи, присоединенной к C²⁰ бетулина. Бетулин-28-изоникотиногидразид [9] и бетулин-28-(индол-4-илметил)гидразон [10] предлагаются в качестве каркасов противоопухолевых средств с повышенной эффективностью.

Цель работы – синтез новых N-ацилгидразонов из диацетата бетулина **1** и изучение их цитотоксической активности в отношении ряда опухолевых клеток.

Схема 1



В качестве реагентов для введения ацилгидразонного фрагмента применяли гидразиды каприновой (2), циклогексановой (3), бензойной (4), *o*-гидроксипри- (5), *n*-гидроксипри- (6), *n*-метокси- (7) бензойных, изоникотиновой (8) и никотиновой (9) кислот.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Целевые соединения получены в результате двухстадийного синтеза. Для этого провели низкотемпературный (-70°C , EtOH) озонлиз двойной связи в диацетате 1 с последующей обработкой образующихся пероксидных продуктов 15-кратным мольным избытком ледяной AcOH. Полученный кетон 10 кипятили с гидразидами карбоновых кис-

лот 2–9 в EtOH в присутствии каталитических количеств AcOH. После кристаллизации из этанола с выходами от 35 до 53% получили целевые гидразоны 11–18. Отмечено, что у гидразидов алифатических кислот 2 и 3 активность в реакции присоединения–дегидратации несколько выше, чем у ароматических кислот 4–9, на что указывают более высокие выходы гидразонов 11 и 12 (схема 1).

Структуру полученных соединений устанавливали с помощью ИК, масс-спектрометрии и спектроскопии ЯМР. Для соединений 11–18 характеристичными, свидетельствующими о прошедшей конденсации являются сигналы в области 156–159 и 162–176 м.д., соответствующие атомам углерода

In vitro цитотоксическая активность соединений **11–18**^a

Соединение	IC ₅₀ , мкМ				
	HEK293	HTC-116	THP-1	Jurkat	HepG2, SH-SY5Y, MCF-7, A549
11	>100	>100	>100	>100	>100
12	>100	>100	>100	>100	>100
13	>100	>100	>100	>100	>100
14	25.86±0.36	11.38±1.34	14.93±1.63	39.96±3.46	>100
15	>100	>100	>100	>100	>100
16	>100	>100	>100	>100	>100
17	50.76±1.47	43.50±2.33	>100	88.45±0.21	>100
18	47.80±4.14	63.62±4.59	>100	87.58±5.89	>100

^a Данные представлены в виде среднего арифметического ± стандартное отклонение (*N* = 2)

групп $\text{CH}=\text{N}$ и $\text{C}=\text{O}$ соответственно в спектре ЯМР ^{13}C , в протонных спектрах – уширенный синглет протона NH группы в области 9–10 м.д. в зависимости от строения полученного ацилгидразона. Кроме того, на образование соединений **8–12** указывает появление в ИК спектрах полос валентных колебаний в диапазонах 1647–1696 ($\text{C}=\text{N}$) и 2924–2947 (NH) см^{-1} . В масс-спектрах положительных ионов всех полученных ацилгидразонов присутствует пик соответствующего $[\text{M} + \text{H}]^+$ иона, интенсивность которого составляет 100%.

Для полученных соединений **11–18** исследована *in vitro* цитотоксическая активность по способности ингибировать рост условно-нормальных (клеточная линия эмбриональной почки человека HEK293) и опухолевых клеток (клеточные линии гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2; аденокарциномы толстого кишечника HTC-116; моноцитарной лейкемии человека THP-1; карциномы молочной железы MCF-7; аденокарциномы легкого A549; Т-клеточного лейкоза Jurkat и нейробластомы человека SH-SY5Y). Как следует из полученных результатов, производные **14**, **17**, **18**, полученные конденсацией 3β,3,28-диацетоксикси-20-оксо-29-норлупана (**10**) с гидразидами салициловой (**5**), изоникотиновой (**8**) и никотиновой (**9**) кислот, проявили умеренное цитотоксическое действие в отношении клеточных линий HEK293, HepG2, HTC-116, THP-1 и Jurkat. Наибольшей активностью среди изученных соединений обладало производное **14** со значениями IC₅₀ в диапазо-

не 11–40 μM в зависимости от клеточной линии. Соединения **11–13**, **15**, **16** не подавляли жизнеспособность данных клеточных линий (см. таблицу).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ИК спектры записывали на приборе IR Prestige-21 (Fourier Transform Spectrophotometer – Shimadzu) в тонком слое. Спектры ЯМР регистрировали на спектрометре Bruker Avance III 500 [рабочие частоты 500.13 (^1H), 125.47 (^{13}C) МГц] в CDCl_3 , внутренний стандарт – ТМС. ГЖХ-анализ выполняли на приборе Chrom-5 [длина колонки 1.2 м, неподвижная фаза – силикон SE-30 (5%) на носителе Chromaton N-AW-DMCS (0.16–0.20 мм), рабочая температура 50–300°C], газ-носитель – гелий. Масс-спектры снимали на хромато-масс-спектрометре LCMS-2010 EV (Shimadzu) (шприцевой ввод образца, элюент – ацетонитрил/вода в соотношении 95/5, скорость потока 0.1 мл/мин) в режиме регистрации положительных и отрицательных ионов при потенциале капилляра 4.5 и –3.5 кВ. Температура интерфейса ХИАД 250°C, нагревателя – 200°C, испарителя – 230°C. Скорость потока небулизирующего (распыляющего) газа (азот) 1.5 и 2.5 л/мин соответственно для ИЭР и ХИАД. Оптическое вращение измеряли на поляриметре Perkin Elmer 241-МС. Температуры плавления определяли на микростолике «Boetius». Элементный анализ выполняли на CHNS-анализаторе Euro-3000 (Hekatech). Контроль методом ТСХ проводили на пластинах SiO_2 марки

Sorbfil (Россия). Для колоночной хроматографии применяли SiO_2 (70–230) марки Lancaster (Великобритания). Производительность озонатора «ОГВК-02К» – 40 ммоль O_3 /ч. Бетулин (ее 100%, $[\alpha]_D^{20} +27.0$ (с 0.81, CHCl_3) и диацетат бетулина (ее 100%, $[\alpha]_D^{20} +32.0$ (с 0.95, CHCl_3) фармацевтической компании «БетулаФарм» (г. Пермь, Россия).

3 β ,3,28-Диацетоксикси-20-оксо-29-норлупан (10). Через раствор 2.00 г (3.80 ммоль) диацетата бетулина (1) в 150 мл абс. EtOH при -70°C барботировали озono-кислородную смесь до поглощения 4 ммоль O_3 . Реакционную смесь продували аргоном. Прибавляли (0°C) 4 мл (57 ммоль) ледяной AcOH, перемешивали при комнатной температуре до исчезновения пероксидов (24 ч, контроль – йод-крахмальная проба), упаривали. Хроматографировали остаток (2.00 г) (SiO_2 , CHCl_3). Выход 1.94 г (97%), т.пл. $222\text{--}223^\circ\text{C}$ ($222\text{--}223^\circ\text{C}$ [6]). $\text{C}_{33}\text{H}_{52}\text{O}_5$. Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C идентичны описанным ранее [6].

Ацилгидразоны 11–18 (общая методика). 3 β ,3,28-Диацетоксикси-20-оксо-29-норлупан (10) (0.1 г, 0.19 ммоль) растворяли в 7.5 мл этанола и по каплям вносили в раствор, состоящий из 0.19 ммоль гидразида карбоновой кислоты (0.26–0.35 г) 2–9, 7.5 мл EtOH и 2 капель AcOH. Кипятили в течение 5 ч (контроль – ТСХ), упаривали. Остаток растворяли в 1 мл EtOH, охлаждали в морозильной камере (-10°C), отфильтровывали. Фильтрат упаривали, получали целевой продукт 11–18.

N'-(20-{3-Ацетокси-28-(ацетоксиметил)-4,4-,8,10,14-пентаметиличиозагидро-1H-циклопента-[a]кризен-1-ил}этилиден)деканогидразид (11). Выход 0.07 г (52%). R_f 0.27 (EtOAc). Белый порошок, т.пл. $227\text{--}228^\circ\text{C}$. ИК спектр (KBr), ν , cm^{-1} : 2932 (NH), 1677 ($\text{C}=\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 0.85, 0.88, с (6H, 2CH_3), 0.87–0.94 с (1H, CH), 0.91, 0.97, 0.99, 1.00 с (12H, 4CH_3), 1.05–1.37 м (20H, 10CH_2), 1.38–1.40 м (1H, CH), 1.42–1.69 м (22H, 11CH_2), 1.79 с (3H, CH_3), 1.86–1.93 м (8H, 4CH_2), 2.03, 2.06 с (6H, 2CH_3), 2.23–2.30 м (2H, 2CH), 2.54–2.57 м (2H, CH_2), 2.80–2.84 м (1H, CH), 3.35–3.41 м (2H, CH_2), 4.39–4.42 м (1H, CH), 9.87 уш.с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 14.07, 14.79, 15.91, 159.35, 16.03, 16.32, 16.54, 171.04, 171.15, 174.57, 18.17, 20.92, 21.31, 21.95, 22.68,

23.71, 24.76, 24.99, 26.89, 27.96, 28.19, 28.95, 29.84, 30.42, 30.45, 30.95, 31.89, 33.68, 34.55, 35.39, 37.09, 37.62, 37.83, 38.42, 41.47, 45.15, 46.48, 46.62, 48.62, 50.91, 55.39, 64.08, 81.01, 159.35 ($\text{CH}=\text{N}$), 171.04 ($\text{C}=\text{O}$), 171.15, 174.57. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 697 (100) $[\text{M} + \text{H}]^+$. Найдено, %: C 73.89; N 4.12; H 10.67. $\text{C}_{43}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_5$. Вычислено, %: C 74.09; N 4.01; H 10.41.

N'-(20-{3-Ацетокси-28-(ацетоксиметил)-4,4-,8,10,14-пентаметиличиозагидро-1H-циклопента-[a]кризен-1-ил}этилиден)циклогексанкарбогидразид (12). Выход 0.07 г (53%). R_f 0.26 (EtOAc). Белый порошок, т.пл. $224\text{--}225^\circ\text{C}$. ИК спектр (KBr), ν , cm^{-1} : 2931 (NH), 1675 ($\text{C}=\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 0.72 с (3H, CH_3), 0.78 с (3H, CH_3), 0.89 с (3H, CH_3), 1.07 с (3H, CH_3), 1.17 с (3H, CH_3), 1.21–1.87 м (10H, 5CH_2), 2.06 с (3H, CH_3), 2.09 с (3H, CH_3), 2.47–2.54 м (1H, CH), 3.41–3.54 м (2H, CH_2), 4.25–4.32 уш.с (1H, CH), 10.25 уш.с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 14.54, 15.39, 15.76, 156.49, 16.14, 171.04, 171.15, 176.47, 18.23, 20.68, 20.92, 25.49, 25.74, 25.87, 26.78, 27.03, 27.84, 28.99, 29.27, 29.31, 33.87, 34.09, 36.16, 36.72, 38.88, 40.56, 42.57, 43.42, 47.27, 47.41, 49.76, 51.01, 52.18, 54.41, 63.28, 85.04, 156.49 ($\text{CH}=\text{N}$), 171.04 ($\text{C}=\text{O}$), 171.15, 176.47. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 653 (100) $[\text{M} + \text{H}]^+$. Найдено, %: C 74.01; N 4.13; H 9.63. $\text{C}_{40}\text{H}_{64}\text{N}_2\text{O}_5$. Вычислено, %: C 73.58; N 4.29; H 9.88.

N'-(20-{3-Ацетокси-28-(ацетоксиметил)-4,4-,8,10,14-пентаметиличиозагидро-1H-циклопента-[a]кризен-1-ил}этилиден)бензогидразид (13). Выход 0.05 г (45%). R_f 0.24 (EtOAc). Белый порошок, т.пл. $198\text{--}199^\circ\text{C}$. ИК спектр (KBr), ν , cm^{-1} : 2947 (NH), 1668 ($\text{C}=\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 0.78 с (3H, CH_3), 0.94 с (3H, CH_3), 0.97 с (3H, CH_3), 1.72 с (3H, CH_3), 2.50–2.60 м (1H, $\text{CH}=\text{N}$), 3.10–3.20 м (1H, CHON), 3.20–3.30 м (1H, CH_2OH), 2.02 с (3H, CH_3), 2.15 с (3H, CH_3), 4.45–4.56 м (1H, CH), 7.31–7.56 м (3H, $3\text{CH}_{\text{аром}}$), 7.80–7.85 м (2H, $2\text{CH}_{\text{аром}}$), 10.25 уш.с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 14.56, 14.66, 14.93, 15.41, 15.91, 16.05, 18.26, 20.81, 25.47, 26.91, 27.31, 27.99, 28.90, 29.66, 34.60, 34.72, 36.90, 37.33, 38.56, 40.63, 40.95, 45.22, 47.68, 47.72, 49.45, 50.97, 54.64, 58.42, 81.47, 126.85 ($2\text{CH}_{\text{аром}}$), 127.74 ($2\text{CH}_{\text{аром}}$), 131.32 ($\text{C}_{\text{аром}}$), 133.63 ($\text{CH}_{\text{аром}}$), 159.41 ($\text{CH}=\text{N}$), 162.46 ($\text{C}=\text{O}$), 171.01, 171.24. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %):

648 (100) $[M + H]^+$. Найдено, %: C 74.15; N 4.61; H 9.14. $C_{40}H_{58}N_2O_5$. Вычислено, %: C 74.27; N 4.33; H 9.04.

2-Гидрокси-*N'*-(20-{3-ацетокси-28-(ацетоксиметил)-4,4,8,10,14-пентаметилюкозагидро-1*H*-циклопента[*a*]кризен-1-ил}этилиден)бензогидразид (14). Выход 0.04 г (35%). R_f 0.28 (EtOAc). Белый порошок, т.пл. 235–236°C. ИК спектр (KBr), ν , cm^{-1} : 2946 (NH), 1667 (C=N). Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 0.78 с (3H, CH₃), 0.82 с (3H, CH₃), 0.91 с (3H, CH₃), 1.07 с (3H, CH₃), 1.23 с (3H, CH₃), 1.56 с (3H, CH₃), 2.55–2.60 м (1H, CH), 3.20–3.27 м (2H, CH₂), 4.17–4.28 м (1H, CH), 6.69–6.78 м (2H, 2CH_{аром}), 6.89–7.05 (2H, 2CH_{аром}), 9.58 с (2H, NH, OH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 14.24, 14.68, 15.31, 15.84, 15.98, 18.12, 20.63, 24.57, 26.66, 27.33, 27.98, 28.56, 29.62, 33.89, 34.10, 36.18, 37.10, 38.63, 38.77, 40.77, 42.63, 46.27, 47.51, 49.88, 50.19, 55.36, 61.34, 82.61, 117.46 (C_{аром}), 120.62 (CH_{аром}), 121.63 (CH_{аром}), 126.63 (CH_{аром}), 130.56 (CH_{аром}), 157.42 (CH=N), 160.23 (C_{аром}-OH), 164.52 (C=O), 171.31, 171.36. Масс-спектр, m/z ($I_{отн}$, %): 664 (100) $[M + H]^+$. Найдено, %: C 74.52; N 4.36; H 8.42. $C_{40}H_{58}N_2O_6$. Вычислено, %: C 72.47; N 4.23; H 8.82.

4-Гидрокси-*N'*-(20-{3-ацетокси-28-(ацетоксиметил)-4,4,8,10,14-пентаметилюкозагидро-1*H*-циклопента[*a*]кризен-1-ил}этилиден)бензогидразид (15). Выход 0.05 г (39%). R_f 0.27 (EtOAc). Белый порошок, т.пл. 242–243°C. ИК спектр (KBr), ν , cm^{-1} : 2924 (NH), 1647 (C=N). Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 0.72 с (3H, CH₃), 0.78 с (3H, CH₃), 0.89 с (3H, CH₃), 0.96 с (3H, CH₃), 1.26 с (3H, CH₃), 2.02 с (3H, CH₃), 2.45–2.57 м (1H, CH), 3.13–3.26 м (1H, CH), 3.35–3.70 м (2H, CH₂), 7.36–7.46 м (2H, 2CH_{аром}), 7.54–7.76 (2H, 2CH_{аром}), 9.95 с (2H, NH, OH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 14.47, 14.62, 15.45, 15.99, 16.14, 18.24, 20.78, 25.33, 26.91, 27.65, 27.95, 28.85, 29.65, 33.92, 34.10, 36.18, 37.11, 38.64, 38.84, 40.45, 44.26, 45.56, 48.47, 49.77, 51.34, 57.56, 63.71, 85.26, 117.69 (C_{аром}), 127.37 (2CH_{аром}), 129.35 (2CH_{аром}), 159.64 (CH=N), 170.33 (C_{аром}-OH), 174.48 (C=O), 176.51, 176.54. Масс-спектр, m/z ($I_{отн}$, %): 664 (100) $[M + H]^+$. Найдено, %: C 74.63; N 4.57; H 8.43. $C_{40}H_{58}N_2O_6$. Вычислено, %: C 74.47; N 4.23; H 8.82.

4-Метокси-*N'*-(20-{3-ацетокси-28-(ацетоксиметил)-4,4,8,10,14-пентаметилюкозагидро-

1*H*-циклопента[*a*]кризен-1-ил}этилиден)бензогидразид (16). Выход 0.05 г (41%). R_f 0.25 (EtOAc). Белый порошок, т.пл. 193–194°C. ИК спектр (KBr), ν , cm^{-1} : 2929 (NH), 1696 (C=N). Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 0.74 с (3H, CH₃), 0.79 с (3H, CH₃), 0.90 с (3H, CH₃), 0.99 с (3H, CH₃), 1.31 с (3H, CH₃), 2.15 с (3H, CH₃), 2.45–2.56 м (1H, CH), 3.02–3.11 м (1H, CH), 3.19–3.45 м (2H, CH₂), 3.81 (3H, CH₃), 6.41–6.59 м (2H, 2CH_{аром}), 6.71–6.88 (2H, 2CH_{аром}), 9.80 уш.с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 14.41, 14.78, 15.65, 15.99, 16.14, 18.21, 20.96, 26.21, 26.75, 27.65, 27.95, 28.85, 29.65, 33.92, 34.10, 36.18, 37.11, 38.64, 38.84, 40.70, 44.15, 45.69, 48.27, 49.72, 50.31, 57.49, 65.12, 84.90, 115.58 (C_{аром}), 128.43 (2CH_{аром}), 129.96 (2CH_{аром}), 158.41 (CH=N), 165.71, 173.78 (C=O), 173.78 (C=O), 175.01, 175.13. Масс-спектр, m/z ($I_{отн}$, %): 678 (100) $[M + H]^+$. Найдено, %: C 72.26; N 4.00; H 8.78. $C_{41}H_{60}N_2O_6$. Вычислено, %: C 72.75; N 4.14; H 8.93.

***N'*-(20-{3-Ацетокси-28-(ацетоксиметил)-4,4,8,10,14-пентаметилюкозагидро-1*H*-циклопента[*a*]кризен-1-ил}этилиден)пиридин-4-илгидразид (17).** Выход 0.05 г (44%). R_f 0.26 (EtOAc). Белый порошок, т.пл. 214–215°C. ИК спектр (KBr), ν , cm^{-1} : 2931 (NH), 1636 (C=N). Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 0.88 с (3H, CH₃), 0.91 с (3H, CH₃), 0.95 с (3H, CH₃), 1.01 с (3H, CH₃), 1.26 с (3H, CH₃), 2.22 с (3H, CH₃), 2.77–2.83 м (1H, CH), 3.14–3.22 м (1H, CH), 3.59–3.65 м (2H, CH₂), 6.74–6.86 м (2H, 2CH), 7.13–7.27 (2H, 2CH), 10.55 уш.с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 14.37, 14.42, 145.96, 15.28, 15.57, 150.95, 16.11, 18.34, 20.81, 25.44, 26.93, 27.59, 27.97, 28.95, 29.72, 33.94, 34.12, 36.13, 37.56, 38.54, 38.78, 40.59, 44.75, 45.46, 48.57, 49.74, 50.20, 55.22, 62.13, 82.56, 122.82, 145.96, 150.95, 157.42 (CH=N), 162.62 (C=O), 172.27, 172.33. Масс-спектр, m/z ($I_{отн}$, %): 649 (100) $[M + H]^+$. Найдено, %: C 72.63; N 6.80; H 8.55. $C_{39}H_{57}N_3O_5$. Вычислено, %: C 72.30; N 6.49; H 8.87.

***N'*-(20-{3-Ацетокси-28-(ацетоксиметил)-4,4,8,10,14-пентаметилюкозагидро-1*H*-циклопента[*a*]кризен-1-ил}этилиден)пиридин-3-илгидразид (18).** Выход 0.05 г (43%). R_f 0.25 (EtOAc). Белый порошок, т.пл. 217–218°C. ИК спектр (KBr), ν , cm^{-1} : 2942 (NH), 1674 (C=N). Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 0.79 с (3H, CH₃), 0.82 с (3H, CH₃), 0.86 с (3H, CH₃), 0.97 с (3H, CH₃), 1.12 с (3H, CH₃), 1.97

с (3H, CH₃), 2.64–2.73 м (1H, CH), 3.06–3.16 м (1H, CH), 3.56–3.78 м (2H, CH₂), 8.42–8.49 м (2H, 2CH), 9.19–9.32 м (2H, 2CH), 11.10 с (1H, NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м.д.: 14.79, 14.88, 149.29, 15.38, 15.87, 151.51, 16.02, 18.24, 20.78, 25.53, 26.41, 27.35, 27.95, 28.19, 28.97, 33.68, 34.55, 37.18, 37.60, 38.42, 38.78, 40.67, 45.15, 45.71, 48.46, 49.73, 50.90, 55.39, 63.77, 82.16, 126.21, 132.13, 136.14, 149.29, 151.51, 154.65 (CH=N), 162.46 (C=O), 170.03, 170.11. Масс-спектр, *m/z* (*I*_{отн.}, %): 649 (100) [*M* + H]⁺. Найдено, %: С 72.58; N 6.76; H 8.98. C₃₉H₅₇N₃O₅. Вычислено, %: С 72.30; N 6.49; H 8.87.

Экспериментальная биологическая часть.

Клетки линии НЕК293 (2.0×10⁴ клеток/лунка), HepG2 (1.8×10⁴ клеток/лунка), SH-SY5Y (5.0×10⁴ клеток/лунка), MCF7 (0.6×10⁴ клеток/лунка), A549 (0.5×10⁴ клеток/лунка), НТС-116 (1.0×10⁴ клеток/лунка) культивировали в среде ДМЕМ (Gibco, Великобритания) в присутствии 10%-ной эмбриональной телячьей сыворотки (Invitrogen, США), 2 мМ L-глутамин и 50 мкг/мл гентамицина сульфата. Клетки линии ТНР-1 (2.0×10⁴ клеток/лунка) и Jurkat (5.0×10⁴ клеток/лунка) культивировали в среде RPMI (Gibco, Великобритания) в присутствии 10%-ной эмбриональной телячьей сыворотки (Invitrogen, США), 2 мМ L-глутамин и 50 мкг/мл гентамицина сульфата. После 24 ч культивирования в каждую лунку вносили исследуемые соединения в конечных концентрациях 1, 10, 100 мкМ (в 0.1% ДМСО) и инкубировали в течение 48 ч. По окончании инкубации к клеткам прибавляли коммерческий реагент «PrestoBlue®» (Invitrogen, США) в количестве, рекомендованном производителем (1/9 объема культуры). Флуоресценцию красителя (степень редукции красителя) измеряли при длине волны 590 нм, используя мультипланшетный анализатор «2300 EnSpire Multimode Plate Readers» (Perkin Elmer, США). Значение концентрации соединений, вызывающее 50%-ное подавление жизнеспособности клеток (IC₅₀), определяли на основе дозозависимых кривых с помощью программного обеспечения «GraphPad Prism v.5.02» (GraphPad Software Inc., США). Данные, полученные в 2 независимых экспериментах, выражали в виде среднего значения 3 измерений для каждой концентрации ± стандартное отклонение, по отношению к значениям контроля (0.1% ДМСО), принятого за 100%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Озонолитическим превращением диацетата бетулина в 3β,3,28-диацетоксикси-20-оксо-29-норлупан и последующей его конденсацией с рядом гидразидов карбоновых кислот синтезированы 8 новых *N*-ацилгидразонов и изучена их *in vitro* цитотоксическая активность в отношении ряда опухолевых клеток. Ацилгидразоны диацетата бетулина на основе гидразидов салициловой, изоникотиновой и никотиновой кислот проявили умеренную активность в отношении клеточных линий гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2, рака толстой кишки человека НТС-116, лейкемии ТНР-1, острого Т-клеточного лейкоза Jurkat.

БЛАГОДАРНОСТИ

В работе использовано оборудование Центра коллективного пользования «Химия» Уфимского института химии УФИХ Уфимского федерального исследовательского центра РАН.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке программы РАН «Направленный синтез низкомолекулярных биорегуляторов на основе селективных превращений липидов, терпеноидов и стероидов» (№ 1021062311392-9-1.4.1).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Мясоедова Юлия Викторовна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0486-6269>

Беляева Эвелина Рашитовна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2031-0060>

Ишмуратова Наиля Мавлетзяновна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9114-1284>

Ишметова Диана Валиевна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9393-2875>

Вахитов Венер Абсатарович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8805-9872>

Ишмуратов Гумер Юсупович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7549-1874>

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jonnalagadda S.C., Suman P., Morgan D.C., Seay J.N. *Stud. Nat. Prod. Chem.* **2017**, 53, 45–84. doi 10.1016/B978-0-444-63930-1.00002-8

2. Alakurtti S., Makela T., Koskimies S., Yli-Kauhaluoma J. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2006**, 2, 1–13. doi 10.1016/j.ejps.2006.04.006
3. Amiria Sh., Dastghaibb S., Ahmadi M., Mehrbodd P., Khademe F., Behroujb H., Aghanoorif M.-R., Machajg F., Ghamsaric M., Rosikg J., Hudeckih A., Afkhamic A., Hashemii M., Losj k M.J., Mokarramb P., Madrakianc T., Ghavami S. *Biotech. Adv.* **2020**, 38, 107409. doi 10.1016/j.biotechadv.2019.06.008
4. Толстиков Г.А., Флехтер О.Б., Шульц Э.Э., Балтина Л.А., Толстиков А.Г. *Хим. в интересах устойчивого развития*. **2005**, 13, 1–30.
5. Василенко Ю.К., Семенченко В.Ф., Фролова Л.М., Коноплева Г.Е., Парфентьева Е.П., Скульте И.В. *Эксперим. клин. фармакол.* **1993**, 56, 53–55.
6. Kuznetsova S.A., Vasilieva N.Yu., Kalacheva G.S., Titova N.M., Redkina E.S., Skvortsova G.P. *J. Siberian Federal Univer. Chem.* **2008**, 1, 151–165.
7. Kuznetsov B.N., Levanskii V.A., Kuznetsova S.A., Kogay T.I. *J. Siberian Federal Univer. Chem.* **2011**, 4, 408–423.
8. Mali S.N., Thorat B.R., Gupta D.R., Pandey A. *Eng. Proc.* **2021**, 11, 21. doi 10.3390/ASEC2021-11157
9. Wu J., Wang J., Han Y., Lin Y., Wang J., Bu M. *Nat. Prod. Commun.* **2021**, 16, 1–7. doi 10.1177/1934578X211055345
10. Wang J., Wu J., Han Y., Zhang J., Lin Y., Wang H., Wang J., Bu M. *Braz. Chem. Soc.* **2022**, 33, 227–237. doi 10.21577/0103-5053.20210140

Synthesis and Antitumor Activity of N-Acylhydrazones from Betulin Diacetate

**Yu. V. Myasoyedova^a, E. R. Belyaeva^{a,*}, N. M. Ishmuratova^a, D. V. Ishmetova^b,
V. A. Vakhitov^b, and G. Yu. Ishmuratov^a**

^a Ufa Institute of Chemistry, Ufa Federal Research Center, Russian Academy of Sciences,
prosp. Oktyabrya, 71, Ufa, 450054 Russia

^b Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center, Russian Academy of Sciences,
prosp. Oktyabrya, 71, Ufa, 450054 Russia

*e-mail: ern_lbrn@bk.ru

Received May 12, 2022; revised May 18, 2022; accepted May 20, 2022

Eight new N-acylhydrazones were synthesized from betulin diacetate by its low-temperature ozonolysis to obtain 3 β ,3,28-diacetoxyoxy-20-oxo-29-norlupan and condensation of the latter with hydrazides of aliphatic and aromatic acids. Cytotoxic activity of the obtained compounds in relation to a number of tumor cells was studied *in vitro*. Derivatives obtained by condensation of 3 β ,3,28-diacetoxy-20-oxo-29-norlupan with hydrazides of salicylic, isonicotinic and nicotinic acids showed moderate activity against cell lines of human hepatocellular carcinoma HepG2, human colon cancer HTC-116, leukemia THP-1, acute T-cell leukemia Jurkat.

Keywords: betulin diacetate, ozonolysis, acid hydrazides, acylhydrazones, antitumor activity