

УДК 54.057:547.92:547.752:547.314
DOI: 10.33184/bulletin-bsu-2025.4.9

СИНТЕЗ ОСНОВАНИЙ МАННИХА МЕТИЛОВОГО ЭФИРА 2,3-ИНДОЛО-БЕТУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ

А. В. Петрова^{1*}, В. Р. Ахметкириева², О. С. Куковинец²

¹*Уфимский институт химии УФИЦ РАН
Россия, Республика Башкортостан, 450054 г. Уфа, пр. Октября, 71.*

²*Уфимский институт науки и технологий
Россия, Республика Башкортостан, 450076 г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32.*

**Email: ana.orgchem@gmail.com*

Взаимодействием метилового эфира 2,3-индолобетулиновой кислоты с пропаргилбромидом в присутствии NaH синтезировано производное, содержащее терминальную тройную связь в индольном кольце. Последующим аминометилированием с использованием параформа и вторичного амина в присутствии катализатора одновалентной меди (CuI) получены новые основания Манниха, представляющие интерес в качестве потенциальных фармакологически значимых соединений.

Ключевые слова: природные соединения, бетулиновая кислота, индол, гетероциклические производные тритерпеноидов, пиперазин, основания Манниха.

Введение

Тритерпеноиды представляют собой группу природных веществ, проявляющих широкий спектр биологической активности, включая противовоспалительное, противораковое, противовирусное, антибактериальное, антидиабетическое и другие действия [1–4]. Их разнообразные структуры и сложные механизмы действия делают их привлекательным объектом для исследований в области медицинской химии и фармакологии. Одним из наиболее изученных тритерпеноидов является бетулиновая кислота (БК), пентациклический тритерпен, получаемый окислением бетулина [5]. БК демонстрирует значительную противораковую активность *in vitro* и *in vivo* в отношении различных типов раковых клеток, включая меланому, нейробластому, глиобластому, механизмы действия которых включают индукцию апоптоза, ингибирование ангиогенеза и метастазирования, а также модуляцию клеточного цикла [6–8]. Различные стратегии модификации, в частности введение азотсодержащих гетероциклических заместителей, были использованы для получения производных БК с новыми или улучшенными фармакологическими характеристиками. Так, 3-оксобетулиновая кислота, связанная через положение C28 с фрагментом пептидомиметика через триазольное кольцо, подавляла рост грамматрицательных бактерий (*E. coli* и *P. aeruginosa*) [9]. Введение в структуру бетулиновой кислоты замещенного пиперазина привело к противомалярийной активности в отношении штамма *Plasmodium falciparum* 3D7 (IC_{50} 175 нМ) [10].

Индольный фрагмент также является одним из наиболее распространенных гетероциклов, представляющих химический и фармацевтический интерес. Он встречается в биологических системах в составе таких аминокислот, как триптофан, серотонин и меланин, а также в молекулах природного происхождения (алкалоиды винкристин, винblastин, эргометрин), предназначенных для лечения рака или облегчения мигрени. Комбинация тритерпеновой молекулы и индольной системы на сегодняшний день является популярной стратегией синтеза оригинальных структур. К примеру, глицин- и фенилаланинамиды 2,3-индолобетулиновой кислоты оказались высоко активными ингибиторами α -глюкозидазы, демонстрируя антидиабетический потенциал со значениями IC_{50} 0,04 и 0,05 μM соответственно [11]. С другой стороны, наличие π -электронов и слабоосновного азота в пиррольном кольце делает возможным модификации индольного цикла с участием атома азота, такие как *N*-алкилирование. Данная стратегия легла в основу синтеза *N*-пропаргилиндолов и их оснований Манниха на базе олеаноловой и глицирретовой кислот, эффективных против вируса гриппа А со значением IC_{50} 7–10 μM и индексом селективности SI 20 ($CC_{50} > 145 \mu\text{M}$) [12]. Таким образом, синтез биологически активных гетероциклических производных тритерпеноидов является перспективным направлением. Несмотря на потенциал лупановых тритерпеноидов, в литературе отсутствует пример введения аминометильного фрагмента в индольное кольцо, конденсированного с бетулиновой кислотой. Ввиду этого в данной работе мы представляем синтез *N*-пропаргилиндола метилового эфира бетулиновой кислоты и его модификацию по методу реакции Манниха.

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C зарегистрированы на импульсном спектрометре «Bruker» Avance III (Bruker, США) с рабочей частотой 500,13 МГц (^1H) и 125,47 МГц (^{13}C) с использованием 5 мм датчика с Z-градиентом PABBO при постоянной температуре образца 298 К. Химические сдвиги ЯМР ^1H приведены относительно остаточного

сигнала CHCl_3 (δ_{H} 7,27 м.д., CDCl_3). Химические сдвиги ЯМР ^{13}C приведены относительно центрального сигнала растворителя CDCl_3 (δ_{C} 77,0 м.д.). Температуру плавления определяли на микростолике “Rapido PHMK05” (Nagema, Германия). ТСХ-анализ проводили на пластинках Сорб菲尔 (ЗАО Сорбполимер, Россия), используя систему растворителей хлороформ–тилацетат (40:1). Вещества обнаруживали 10%-ным водным раствором серной кислоты с последующим нагреванием при 100–120 °C в течение 2–3 мин. Масс-спектры соединений регистрировали на приборе LCMS-2010 EV (Shimadzu, Япония) с использованием метода химической ионизации при атмосферном давлении. Элементный анализ осуществляли на CHNS-анализаторе EuroEA-3000, основной стандарт ацетанилид. Соединение **1** получали по описанной ранее методике [13].

Метил 5a,5b,8,8,14a,16-гексаметил-1-(проп-1-ен-2-ил)-9-(проп-2-ин-1-ил)-2,3,4,5,5a,5b,6,7,7a,8,9,14,14a,14b,15,16,16a,16b-октадекагидроцикlopента [7,8]фенантро [2,1-b]карбазол-3a(1H)-карбоксилат 2. К раствору 0,50 г (1 ммоль) соединения **1** в 5 мл осущенного ДМФА добавляли NaN (кат.). После изменения окраски в реакционную массу по каплям добавляли 0,10 мл (1,3 ммоль) пропаргилбромида и перемешивали при 0–5 °C в течение 4 ч. Реакционную массу выливали в $\text{H}_2\text{O}/\text{H}^+$ (20 мл), выпавший осадок промывали водой до нейтральной pH, сушили на воздухе, очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (элюент петролейный эфир/ Et_2O 9:1→3:1). Выход 0,49 г (86%). Т. пл. 168,1 °C. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м.д.: 0,88, 0,90, 0,99, 1,30, 1,40, 1,68, (с, 18Н, 6 CH_3), 1,80–2,40 (м, 23Н, CH , CH_2), 2,85 (с, 1Н, Н-40), 3,67 (с, 3Н, OCH_3), 4,60 и 4,71 (оба с, 2Н, Н-29), 5,05 (с, 2Н, Н-38), 7,10–7,40 (м, 4Н, Н_{аром}). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3), δ , м.д.: 14,78, 15,74, 16,20, 19,31, 19,40, 21,54, 21,66, 25,74, 29,51, 29,70, 30,62, 32,17, 33,71, 34,74, 34,95, 37,00, 37,72, 37,84, 38,52, 40,71, 42,46, 47,01, 49,49, 49,67, 51,28, 55,46, 56,64, 72,21 (С-40), 79,03 (С-39), 108,35 (С-2), 108,99 (С-36), 109,69 (С-29), 118,03 (С-33), 119,30 (С-34), 121,31 (С-35), 128,06 (С-32), 137,29 (С-37), 140,95 (С-3), 150,57 (С-20), 176,71 (С-28). $\text{C}_{40}\text{H}_{53}\text{NO}_2$ (M 579,87). Вычислено (%): C, 82,85; H, 9,21; N, 2,42. Найдено (%): C, 82,91; H, 9,27; N, 2,44. Масс-спектр (ХИАД, 5 эВ), m/z ($I_{\text{отн}}$ (%)): 580,95 [$\text{M}+\text{H}]^+$ (100).

Общая методика синтеза оснований Манниха 3 и 4. К раствору 0,23 г (0,4 ммоль) соединения **4** в 5 мл осущенного 1,4-диоксана последовательно добавляли 0,12 г (4 ммоль) параформа, 0,04 мл (0,4 ммоль) *N*-метилпиперазина или 0,04 мл (0,4 ммоль) пиперазина, 0,16 г (2 ммоль) NaOAc и 0,01 г (0,05 ммоль) CuI . Реакционную смесь перемешивали при 60 °C в течении 16 ч. Далее, реакционную массу выливали в $\text{H}_2\text{O}/\text{H}^+$ (20 мл), продукт экстрагировали CHCl_3 (3×10 мл). Объединенный органический экстракт промывали водой (3×20 мл), сушили над CaCl_2 , упаривали в вакууме водоструйного насоса. Продукт очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюент 100:1→80:1 $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$).

Метиловый 5a,5b,8,8,14 а-пентаметил-9-(4-(4-метилпиперазин-1-ил)бут-2-ин-1-ил)-1-(проп-1-ен-2-ил)-2,3,4,5,5-a,5b,6,7,7a,8,9,14,14a,14b,15,16,16a,16b-октадекагидроцикlopента[7,8]фенантро[2,1-b]карбазол-3a(1H)-карбоксилат 3. Выход 0,22 г (80%). Т. пл. 144,5 °C. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м.д.: 0,88, 0,89, 1,00, 1,30, 1,40, 1,70, 2,05 (с, 21Н, 7 CH_3), 1,80–2,35 (м, 23Н, CH , CH_2), 2,40–2,80 (м, 8Н, 4 CH_2), 3,20 (с, 2Н, Н-41), 3,65 (с, 3Н, OCH_3), 4,61 и 4,72 (оба с, 2Н, Н-29), 5,03 (д, 2Н, Н-38), 7,00–7,70 (м, 4Н, Н_{аром}). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3), δ , м.д.: 16,22, 19,30, 19,39, 20,99, 21,68, 22,00, 25,72, 29,55, 29,80, 30,60, 31,95, 32,15, 33,69, 34,96, 36,98, 37,72, 37,84, 38,51, 40,56, 40,70, 42,45, 44,16, 46,65, 47,00, 49,47, 49,66, 49,88, 50,06, 50,38, 51,28, 53,66, 55,45, 56,62, 78,15 (С-40), 81,27 (С-39), 108,10 (С-2), 109,13 (С-36), 109,70 (С-29), 117,95 (С-33), 119,18 (С-34), 121,22 (С-35), 127,98 (С-32), 137,29 (С-37), 140,33 (С-3), 150,54 (С-20), 176,70 (С-28). $\text{C}_{46}\text{H}_{65}\text{N}_3\text{O}_2$ (M 692,05). Вычислено (%): C, 79,84; H, 9,47; N, 6,07. Найдено (%): C, 79,90; H, 9,52; N, 6,11. Масс-спектр (ХИАД, 5 эВ), m/z ($I_{\text{отн}}$ (%)): 693,09 [$\text{M}+\text{H}]^+$ (100).

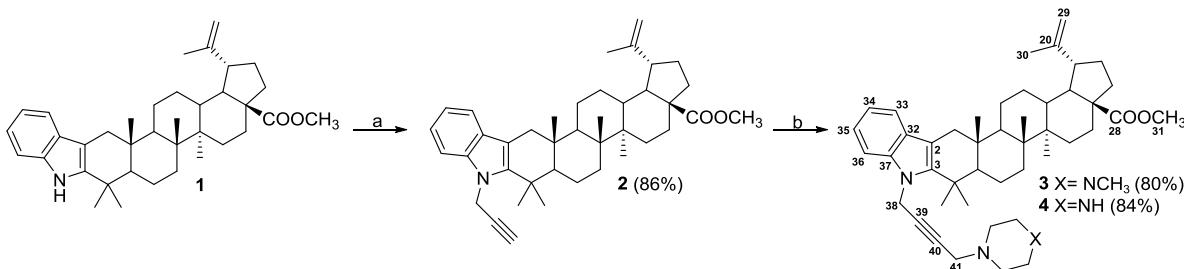
Метил 5a,5b,8,8,14 а-пентаметил-9-(4-(пиперазин-1-ил)но-2-ин-1-ил)-1-(проп-1-ен-2-ил)-2,3,4,5,5-a,5b,6,7,7 a,8,9,14,14a,14b,15,16,16a,16b-октадекагидроцикlopента[7,8]фенантро[2,1-b]карбазол-3a(1H)-карбоксилат 4. Выход 0,23 г (84%). Т. пл. 159,3 °C. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м.д.: 0,80, 0,99, 1,00, 1,30, 1,40, 1,71 (с, 18Н, 6 CH_3), 1,80–2,30 (м, 23Н, CH , CH_2), 2,40–2,82 (м, 8Н, 4 CH_2), 3,25 (с, 2Н, Н-41), 3,70 (с, 3Н, OCH_3), 4,60 и 4,70 (оба с, 2Н, Н-29), 5,05 (с, 2Н, Н-38), 7,00–7,80 (м, 4Н, Н_{аром}). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3), δ , м.д.: 19,31, 19,39, 19,58, 21,52, 21,69, 23,01, 23,17, 25,75, 26,14, 28,60, 29,56, 29,80, 30,85, 31,98, 32,15, 33,70, 34,14, 34,97, 36,88, 37,00, 37,29, 38,67, 40,69, 42,45, 47,00, 49,45, 49,65, 51,33, 51,81, 51,98, 53,29, 55,44, 78,17 (С-40), 81,24 (С-39), 109,17 (С-2), 109,72 (С-29), 110,36 (С-36), 118,86 (С-33), 119,12 (С-34), 121,16 (С-35), 127,93 (С-32), 137,28 (С-37), 140,31 (С-3), 150,58 (С-20), 176,73 (С-28). $\text{C}_{45}\text{H}_{63}\text{N}_3\text{O}_2$ (M 678,02). Вычислено (%): C, 79,72; H, 9,37; N, 6,20. Найдено (%): C, 79,77; H, 9,41; N, 6,26. Масс-спектр (ХИАД, 5 эВ), m/z ($I_{\text{отн}}$ (%)): 679,08 [$\text{M}+\text{H}]^+$ (100).

Результаты и обсуждение

Целевые соединения, содержащие гетероциклическое звено, были синтезированы, как показано на схеме 1. В качестве исходной молекулы использовали метиловый эфир 2,3-индоловетуиновой кислоты, получаемый из 3-оксо-аналога по реакции Фишера с фенилгидразином в уксусной кислоте, и последующим взаимодействием с метанолом через стадию образования ацилхлорида [13]. Далее, реакцией соединения **1** с пропаргилбромидом в присутствии NaN в ДМФА получено производное **2**, содержащее терминальную тройную связь по NH-группе индольного кольца с выходом 86%. Последующее аминометилирование *N*-пропаргилиндоля **2** *N*-метил пиперазином или пиперазином и параформом в присутствии NaOAc и катализатора одновалентной меди (CuI)

в среде 1,4-диоксана приводило к образованию конъюгатов **3** и **4** с выходом 80 и 84% соответственно. Структура полученных соединений была подтверждена методом ЯМР спектроскопии. В спектре алкинилпроизводного **2** наблюдалось появление сигналов при δ 72,21 и 79,03 м.д., характерных для углеродов тройной связи. Кроме того, в спектре ЯМР ^1H присутствовали сигналы в области δ 5,05 м.д., принадлежащие протонам метиленовой группы. В спектрах ЯМР ^{13}C оснований Манниха **3** и **4** наблюдалось смещение сигнала δ 72,21 м.д. в область $\delta \sim 78,15$ м.д., что доказывает присоединение аминометильного фрагмента и образование четвертичного атома углерода.

Схема 1



Реагенты и условия: (а) $\text{BrCH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$, NaH , ДМФА, 0–5 °C; (б) N -метилпиперазин или пиперазин, параформ, NaOAc , CuI , 1,4-диоксан, 60 °C.

Заключение

Таким образом, путем поэтапного конъюгирования 2,3-индоло-бетулиновой кислоты с пропаргиловым бромидом и вторичными аминами осуществлен синтез новых оснований Манниха, представляющих интерес для дальнейших биологических испытаний.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, в рамках государственного задания №125020601629-0.

ЛИТЕРАТУРА

- Xiao S., Tian Z., Wang Y., Si L., Zhang L., Zhou D. Recent progress in the antiviral activity and mechanism study of pentacyclic triterpenoids and their derivatives // Medicinal Research Reviews. 2018. Vol. 38. No. 3. P. 951–976. DOI: 10.1002/med.21484.
- Liu Z., Huang Y., Chen J., et al. Pentacyclic triterpenoids with cytotoxic activity from the stems of *Syzygium jambos* (L.) Alston // Fitoterapia. 2025. Vol. 181. Art. 106346. DOI: 10.1016/j.fitote.2024.106346.
- Wang C. M., Chen H. T., Wu Z. Y., Jhan Y. L., Shyu C. L., Chou C. H. Antibacterial and Synergistic Activity of Pentacyclic Triterpenoids Isolated from *Alstonia scholaris* // Molecules. 2016. Vol. 21. No. 2. P. 139. DOI: 10.3390/molecules21020139.
- Żwawiak J., Pawełczyk A., Olenier D., Zaprutko L. Structure and Activity of Pentacyclic Triterpenes Codrugs. A Review // Mini-Reviews in Medicinal Chemistry. 2021. Vol. 21. No. 12. P. 1509–1526. DOI: 10.2174/138955752166210105110848.
- Melnikova N., Burlova I., Kiseleva T., et al. A practical synthesis of betulonic acid using selective oxidation of betulin on aluminium solid support // Molecules. 2012. Vol. 17. No. 10. P. 11849–11863. DOI: 10.3390/molecules171011849.
- Aswathy M., Vijayan A., Daimary U. D., Girisa S., Radhakrishnan K. V., Kunnumakkara A. B. Betulinic acid: A natural promising anticancer drug, current situation, and future perspectives // Journal of Biochemical and Molecular Toxicology. 2022. Vol. 36. No. 12. Art. e23206. DOI: 10.1002/jbt.23206.
- Fernandes S., Vieira M., Prudencio C., Ferraz R. Betulinic Acid for Glioblastoma Treatment: Reality, Challenges and Perspectives // International Journal of Molecular Sciences. 2024. Vol. 25. No. 4. Art. 2108. DOI: 10.3390/ijms25042108.
- Kumar P., Bhaduria A. S., Singh A. K., Saha S. Betulinic acid as apoptosis activator: Molecular mechanisms, mathematical modeling and chemical modifications // Life Sciences. 2018. Vol. 209. P. 24–33. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.07.056.
- Cai S., Guo X., Yang H., et al. Synthesis and antitumor effects of novel betulinic acid derivatives bearing electrophilic moieties // Bioorganic and Medicinal Chemistry. 2025. Vol. 119. Art. 118062. DOI: 10.1016/j.bmc.2025.118062.
- Innocente A. M., Silva G. N. S., Cruz L. N., Moraes M. S., Nakabashi M., Sonnet P., Gosmann G., Garcia C. R. S., Gnoatto S. C. B. Synthesis and antiplasmodial activity of betulinic acid and ursolic acid analogues // Molecules. 2012. Vol. 17. P. 12003–12014. DOI: 10.3390/molecules171012003.
- Khusnutdinova E. F., Petrova A. V., Thu H. N. T., et al. Structural modifications of 2,3-indolobetulinic acid: Design and synthesis of highly potent α -glucosidase inhibitors // Bioorganic Chemistry. 2019. Vol. 88. P. 102957. DOI: 10.1016/j.bioorg.2019.102957.
- Petrova A. V., Tretyakova E., Khusnutdinova E., et al. Antiviral opportunities of Mannich bases derived from triterpenic N-propargylated indoles // Chemical Biology and Drug Design. 2024. Vol. 103. No. 1. Art. e14370. DOI: 10.1111/cbdd.14370.
- Казакова О. Б., Хуснутдинова Э. Ф., Супоницкий К. Ю. Молекулярная структура метил 1-изопропенил-5 α ,5 β ,8,8,14 α -пентаметил-1,2,3,3 α ,4,5,5 α ,5 β ,6,7,7 α ,8,9,14,14 α ,14 β ,15,16,16 α ,16 β -икосагидроцикlopента[7,8]фенантро [2,1-*b*]карбазол-3-а-карбоксилат // ЖСХ. 2011. Т. 52. №5. С. 1055–1057.

Поступила в редакцию 16.04.2025 г.

DOI: 10.33184/bulletin-bsu-2025.4.9

SYNTHESIS OF MANNICH BASES OF METHYL ESTER OF 2,3-INDOLO-BETULINIC ACID**A. V. Petrova^{1*}, V. R. Akhmetkirieva², O. S. Kukovinets²**¹*Ufa Institute of Chemistry, Ufa Federal Research Center of RAS
71 Oktyabrya pr., 450054 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.*²*Ufa University of Science and Technology
32 Zaki Validi st., 450076 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.***Email: ana.orgchem@gmail.com*

The reaction of methyl ester of 2,3-indolobetulinic acid with propargyl bromide in the presence of NaH yielded a derivative containing a terminal triple bond in the indole ring. Subsequent aminomethylation using paraformaldehyde and a secondary amine in the presence of a monovalent copper (CuI) catalyst led to new Mannich bases of interest as potential pharmacologically significant compounds.

Keywords: natural compounds, betulinic acid, indole, heterocyclic derivatives of triterpenoids, piperazine, Mannich bases.

*Received 16.04.2025.***Об авторах / About the authors**

Петрова Анастасия Валерьевна
канд. хим. н., научный сотрудник
Уфимского института химии УФИЦ РАН
ana.orgchem@gmail.com
ResearcherID: ABC-9578-2021

Petrova Anastasiya Valer'evna
Candidate of Chemical Sciences, researcher
of Ufa Institute of Chemistry,
Ufa Federal Research Center of RAS,
ana.orgchem@gmail.com
ORCID: 0000-0003-2910-6805
Researcher ID: ABC-9578-2021
Scopus ID: 57196985570

Ахметкириева Вилене Рифовна
магистрант УУНиТ
vaxmetkirieva@bk.ru

Куковинец Ольга Сергеевна
д.х.н., проф. кафедры технической химии
и материаловедения УУНиТ
Ku47os@yandex.ru

Akhmetkirieva Vilena Rifovna
Master's student of Ufa University of Science and Technology
vaxmetkirieva@bk.ru

Kukovinets Olga Sergeevna
Doctor of Chemical Sciences, Professor of the Department
of Technical Chemistry and Materials Science
of Ufa University of Science and Technology,
Ku47os@yandex.ru