

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Anna Froelich

**BADANIA STRUKTURY KRYSZTAŁÓW
POCHODNYCH OLEANANU METODĄ
RENTGENOGRAFICZNĄ**

Praca wykonana w Katedrze i Zakładzie Chemii
Organicznej Uniwersytetu Medycznego w
Poznaniu i przedłożona Radzie Wydziału
Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego
w celu uzyskania stopnia naukowego doktora

Promotor: Dr hab. Andrzej K. Gzella

Poznań 2011

słowa kluczowe: analiza rentgenograficzna, izostrukuralność, triterpenoidy pentacykliczne podgrupy oleananu, pochodne kwasu oleanolowego, substraty i produkty reakcji przegrupowania Beckmanna, azatriterpenoidy

OŚWIADCZENIE

Wyrażam zgodę na udostępnienie mojej rozprawy doktorskiej w Czytelni Naukowej Biblioteki Głównej Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu oraz w formie elektronicznej w Wielkopolskiej Bibliotece Cyfrowej (www.wbc.poznan.pl).

Poznań, dnia 7.06.2011r.

.....

OŚWIADCZENIE

Niniejszym oświadczam, iż jestem autorem pracy **doktorskiej** p.t.:

„Badania struktury kryształów pochodnych oleananu metodą rentgenograficzną”

Praca ta została przeze mnie napisana samodzielnie (bez jakiegokolwiek udziału osób trzecich), przy wykorzystaniu wykazanej w pracy literatury przedmiotu i materiałów źródłowych, stanowi ona pracę oryginalną, nie narusza praw autorskich oraz dóbr osobistych osób trzecich i jest wolna od jakichkolwiek zapożyczeń.

Oświadczam również, że wymieniona praca nie zawiera danych i informacji, które zostały uzyskane w sposób niedozwolony prawem oraz nie była dotychczas przedmiotem żadnej urzędowej procedury związanej z uzyskaniem stopnia **naukowego: doktor nauk farmaceutycznych**, a złożona przeze mnie dyskietka/płyta CD zawiera elektroniczny zapis przedstawionej przeze mnie pracy.

Jednocześnie oświadczam, że nieodpłatnie udzielam Uniwersytetowi Medycznemu im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu licencji do korzystania z wyżej wymienionej pracy bez ograniczeń czasowych i terytorialnych w zakresie obrotu nośnikami, na których pracę utrwalono przez: wprowadzanie do obrotu, użyczenie lub najem egzemplarzy w postaci elektronicznej a nadto upoważniam Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu do przechowywania i archiwizowania pracy w zakresie wprowadzania jej do pamięci komputera oraz do jej wielokrotniania i udostępniania w formie elektronicznej oraz drukowanej.

Anna Froelich

Poznań, 7.06.2011r.

Składam serdeczne podziękowania
Panu Doktorowi hab. Andrzejowi Gzelli
za wskazanie interesującej tematyki
oraz pomoc w trakcie realizacji pracy.

Spis treści

1. WIADOMOŚCI WSTĘPNE	8
1.1. Kwas oleanolowy – występowanie i struktura.....	8
1.2. Produkty chemicznych przekształceń pochodnych kwasu oleanolowego.....	11
1.3. Podstawowe wiadomości na temat reakcji przegrupowania Beckmanna.....	15
1.4. Doniesienia literaturowe odnoszące się do reakcji przegrupowania Beckmanna w grupie triterpenoidów pentacyklicznych.....	20
1.5. Działanie farmakologiczne kwasu oleanolowego oraz jego pochodnych	20
1.5.1. Działanie hepatoprotekcyjne	21
1.5.2. Działanie przeciwzapalne	22
1.5.3. Działanie przeciwnowotworowe	23
1.5.4. Działanie antyhiperlipidemiczne	23
1.5.5. Działanie przeciwrzodowe.....	24
1.5.6. Działanie przeciwbakteryjne, przeciwpierwotniakowe i przeciwwirusowe..	24
1.5.7. Działanie przeciwcukrzycowe	26
1.5.8. Promocja transportu przez błony lipidowe.....	27
2. PRZEDMIOT I CEL BADAŃ	31
3. WYNIKI BADAŃ WŁASNYCH	37
3.1. Ester metylowy kwasu 3-nitrylo-11-okso-3,4-seko-12a-azahomoolean-4(23)- en-28-owego (1).....	37
3.2. Struktura reagentów reakcji przegrupowania Beckmanna w obrębie pierścienia A triterpenoidu	45
3.2.1. Ester metylowy kwasu 3-hydroksyimino-18 β -olean-12-en-28-owego (2) i ester metylowy kwasu 3-okso-3a-aza-A-homoolean-12-en- 28-owego (3).....	45
3.2.2. Estry metylowe kwasu 3-hydroksyimino-11-okso-18 β -olean-12-en- 28-owego (4), kwasu 3,11-diokso-3a-aza-A-homoolean-12-en-28-owego (5) i kwasu 3-nitrylo-11-okso-3,4-sekoolean-4(23),12-dien-28-owego (6)..	60

3.2.3. Solwat dimetyloformamidowy 12 α -bromo-3-hydroksyimino-18 β -oleanano-28,13 β -laktonu (7), 12 α -bromo-3-okso-3a-aza-A-homooleanano-28,13 β -lakton (8) i 3-nitrylo- 12 α -bromo-3,4-sekoolean-4(24)-eno-28,13 β -lakton (9)	77
3.3. Struktura kryształów reagentów reakcji przegrupowaia Beckmanna w obrębie pierścienia C triterpenoidu.....	89
3.3.1. 3 β -acetoksy-12-hydroksyimino-18 β -oleanano-28,13 β -lakton (10), kwas 3 β -acetoksy- 12-okso-12a-aza-C-homoolean-13(18)-en-28-owy (11) i 3 β -acetoksy-12-nitrylo-12,13-seko-15(14-13)-abeoolean-14(27)-eno-28,13 β -lakton (12).....	90
3.3.2. Solwat dimetylosulfotlenkowy estru metylowego kwasu 3 β -acetoksy-12-hydroksyimino-18 β -oleanano-28-owego (13), ester metylowy kwasu 3 β -acetoksy- 12-okso-12a-aza-C-homoolean-28-owego (14) i ester metylowy kwasu 3 β -acetoksy-12-nitrylo-12,13-seko-15(14-13)-abeoolean-14(27)-en-28-owego (15).....	103
4. WNIOSKI.....	116
5. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA	120
5.1. Przygotowanie kryształu do badań dyfraktometrycznych	120
5.2. Dyfraktometryczne pomiary intensywności refleksów.....	120
5.3. Rozwiązywanie i udokładnianie struktury.....	120
5.4. Opracowanie wyników badań strukturalnych.....	122
6. STRESZCZENIE	123
SUMMARY.....	126
7. PIŚMIENNICTWO	129

Wykaz tabel

- Tabela 1. Statystyka długości wiązań oraz analiza porównawcza z danymi literaturowymi
- Tabela 2. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **1**
- Tabela 3. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **1**
- Tabela 4. Statystyka długości wiązań oraz analiza porównawcza z danymi literaturowymi
- Tabela 5. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **2**
- Tabela 6. Krótkie kontakty wodór-wodór w triterpenoidzie **2**
- Tabela 7. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **3**
- Tabela 8. Krótkie kontakty wodór-wodór w symetrycznie niezależnych cząsteczkach triterpenoidu **3**
- Tabela 9. Indeksy izostrukuralności par triterpenoidów z uwzględnieniem wartości stałych sieciowych i symboli grafów sieci zasocjowanych cząsteczek
- Tabela 10. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **4**
- Tabela 11. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **4**
- Tabela 12. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **5**
- Tabela 13. Krótkie kontakty wodór-wodór w symetrycznie niezależnych cząsteczkach triterpenoidu **5**
- Tabela 14. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **6**
- Tabela 15. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **6**
- Tabela 16. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **7**
- Tabela 17. Krótkie kontakty wodór-wodór w triterpenoidzie **7**
- Tabela 18. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **8**
- Tabela 19. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **8**
- Tabela 20. Wiązania wodorowe w triterpenoidzie **9**
- Tabela 21. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **9**
- Tabela 22. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **10**
- Tabela 23. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **10**
- Tabela 24. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **11**
- Tabela 25. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **11**
- Tabela 26. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **12**
- Tabela 27. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **12**

- Tabela 28. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **13**
- Tabela 29. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **13**
- Tabela 30. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **14**
- Tabela 31. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **14**
- Tabela 32. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **15**

Wykaz rycin

- Rycina 1. Kwas oleanolowy
- Rycina 2. Rentgenograficzna struktura solwatu etanolowego kwasu oleanolowego
- Rycina 3. Sieć międzycząsteczkowych wiązań wodorowych w kryształach monosolvatu etanolowego kwasu oleanolowego; kody symetrii: (i) $x, y, -1+z$; (ii) $x, 1+y, 1+z$
- Rycina 4. Produkty utleniania o charakterze karbonyloestrów
- Rycina 5. Produkty łagodnego utleniania o charakterze laktonoestrów
- Rycina 6. Izomeryzacja oksymu powodowana kwaśnym środowiskiem
- Rycina 7. Mechanizm reakcji przegrupowania Beckmanna
- Rycina 8. Mechanizm reakcji fragmentacji Beckmanna
- Rycina 9. Mechanizm reakcji otrzymywania ϵ -kapolaktamu z oksymu cykloheksanonu
- Rycina 10. Mechanizm reakcji fragmentacji Beckmanna dla oksymów ketonów cyklicznych
- Rycina 11. Cząsteczka semenozydu A
- Rycina 12. Saponina wyizolowana z *Pteleopsis suberosa*
- Rycina 13. Budowa skóry [wg 128]
- Rycina 14. Klasyfikacja metod zwiększania przenikania substancji leczniczych przez skórę
- Rycina 15. Azon (N-dodecylokaprolaktam)
- Rycina 16. Struktury cząsteczek pochodnych kwasu oleanolowego z grupą oksymową. Wzory związków określone w oparciu o wyniki analizy spektralnej
- Rycina 17. Struktury cząsteczek pochodnych kwasu oleanolowego o charakterze laktamu. Wzory związków określone w oparciu o wyniki analizy spektralnej
- Rycina 18. Struktury cząsteczek pochodnych kwasu oleanolowego o charakterze nitrylu. Wzory związków określone w oparciu o wyniki analizy spektralnej
- Rycina 19. Wzór triterpenoidu **1** określony w oparciu o badania spektroskopowe

- Rycina 20. Struktura cząsteczki triterpenoidu **1** wyznaczona metodą rentgenograficzną i niektóre dane krystalograficzne
- Rycina 21. Obraz przestrzenny cząsteczki triterpenoidu **1**
- Rycina 22. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **1**
- Rycina 23. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **1**
- Rycina 24. Wzory triterpenoidów **2** i **3** oraz niektóre dane krystalograficzne
- Rycina 25. Mechanizm reakcji przegrupowania Beckmanna I rodzaju w obrębie pierścienia A szkieletu triterpenoidowego
- Rycina 26. Nałożenie symetrycznie niezależnych cząsteczek A (kolor niebieski) i B (kolor czerwony), przy całkowitym dopasowaniu pierścieni C i D; (a) związek **2**, (b) związek **3**
- Rycina 27. Obraz przestrzenny symetrycznie niezależnych cząsteczek A i B triterpenoidu **2**
- Rycina 28. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **2**
- Rycina 29. Krótkie kontakty wodór-wodór w symetrycznie niezależnych cząsteczkach triterpenoidu **2**
- Rycina 30. Obraz przestrzenny symetrycznie niezależnych cząsteczek triterpenoidu **3**
- Rycina 31. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **3**; kody symetrii: (i) $-1+x, y, 1+z$; (iii) $1+x, y, z$; (iv) $x, y, 1+z$; kod symetrii (ii): patrz tabela 7
- Rycina 32. Krótkie kontakty wodór-wodór w symetrycznie niezależnych cząsteczkach A i B triterpenoidu **3**
- Rycina 33. Sposób upakowania cząsteczek triterpenoidów (a) **2** i (b) **3**
- Rycina 34. Wzory triterpenoidów **4** - **6** oraz niektóre dane krystalograficzne
- Rycina 35. Nakładanie symetrycznie niezależnych cząsteczek A (kolor niebieski) i B (kolor czerwony), przy całkowitym dopasowaniu pierścieni C i D
- Rycina 36. Symetrycznie niezależne cząsteczki A i B połączone wiązaniami wodorowymi typu $N-H \cdots O$ w dimer
- Rycina 37. Obraz przestrzenny cząsteczki triterpenoidu **4**
- Rycina 38. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **4**
- Rycina 39. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **4**
- Rycina 40. Obraz przestrzenny symetrycznie niezależnych cząsteczek triterpenoidu **5**
- Rycina 41. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **5**
- Rycina 42. Krótkie kontakty wodór-wodór w symetrycznie niezależnych cząsteczkach triterpenoidu **5**

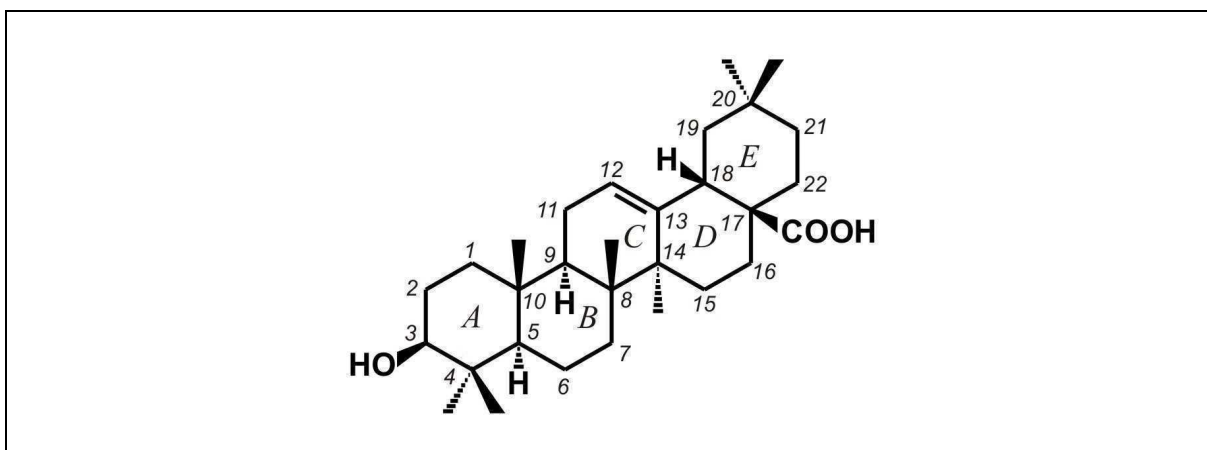
- Rycina 43. Obraz przestrzenny symetrycznie niezależnych cząsteczek triterpenoidu **6**
- Rycina 44. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **6**
- Rycina 45. Krótkie kontakty wodór-wodór w symetrycznie niezależnych cząsteczkach triterpenoidu **6**
- Rycina 46. Wzory triterpenoidów **7 - 9** oraz niektóre dane krystalograficzne
- Rycina 47. Obraz przestrzenny cząsteczki triterpenoidu **7**
- Rycina 48. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **7**
- Rycina 49. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **7**
- Rycina 50. Obraz przestrzenny cząsteczki triterpenoidu **8**
- Rycina 51. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **8**
- Rycina 52. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **8**
- Rycina 53. Krótkie kontakty wodór-wodór w symetrycznie niezależnych cząsteczkach triterpenoidu **9**
- Rycina 54. Sposób upakowania cząsteczek w komórce elementarnej triterpenoidu **9**
- Rycina 55. Krótkie kontakty wodór-wodór w symetrycznie niezależnych cząsteczkach triterpenoidu **9**
- Rycina 56. Wzory związków **10 - 14** określone za pomocą analiz spektralnych [8]
- Rycina 57. Wzory triterpenoidów **10 - 12** oraz niektóre dane krystalograficzne
- Rycina 58. Mechanizm reakcji zaproponowany w oparciu o wyniki analizy rentgenograficznej związków **10 - 12**
- Rycina 59. Obraz przestrzenny cząsteczki triterpenoidu **10**
- Rycina 60. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **10**
- Rycina 61. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **10**
- Rycina 62. Obraz przestrzenny cząsteczki triterpenoidu **11**
- Rycina 63. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **11**
- Rycina 64. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **11**
- Rycina 65. Obraz przestrzenny cząsteczki triterpenoidu **12**
- Rycina 66. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **12**
- Rycina 67. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **12**
- Rycina 68. Wzory triterpenoidów **13 - 15**, ich obrazy przestrzenne i niektóre dane krystalograficzne

- Rycina 69. Wzory teoretycznie możliwych trzech produktów reakcji fragmentacji Beckmanna
- Rycina 70. Zanik wiązań C14–C15, C13–N1 i C27–H i tworzenie się wiązań C13–C15 i C14=C27 w triterpenoidach 15 i 12 (rozdz. 3.3.1.) w reakcji eliminacji E2
- Rycina 71. Obraz przestrzenny cząsteczki triterpenoidu **13**
- Rycina 72. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **13**
- Rycina 73. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **13**
- Rycina 74. Obraz przestrzenny cząsteczki triterpenoidu **14**
- Rycina 75. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **14**
- Rycina 76. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **14**
- Rycina 77. Obraz przestrzenny cząsteczki triterpenoidu **15**
- Rycina 78. Sposób upakowania cząsteczek triterpenoidu **15** w kryształach
- Rycina 79. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **15**

1. WIADOMOŚCI WSTĘPNE

1.1. KWAS OLEANOLOWY - WYSTĘPOWANIE I STRUKTURA

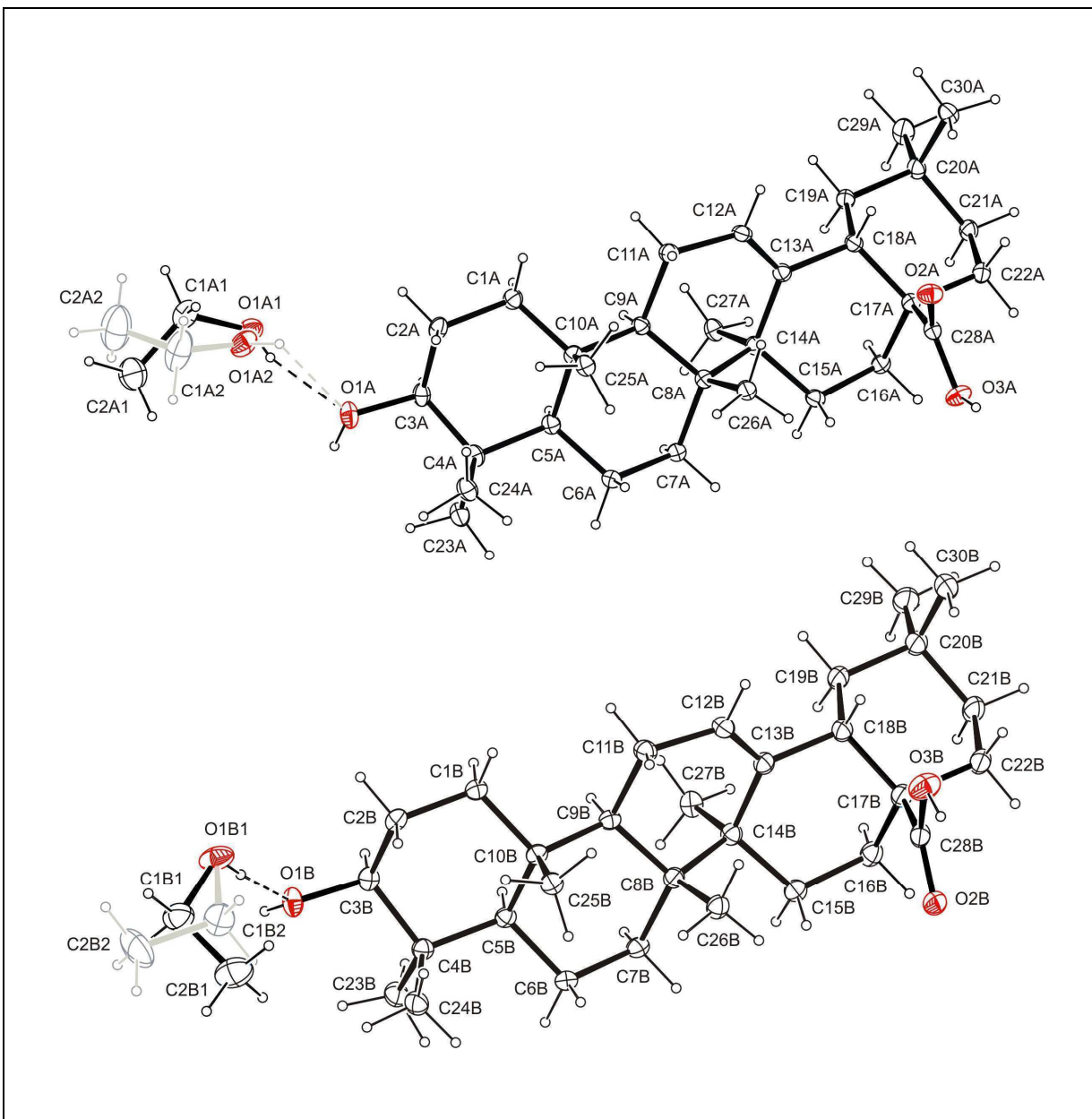
Kwas oleanolowy (kwas 3 β -hydroksy-olean-12-en-28-owy, Rycina 1) to naturalny przedstawiciel triterpenoidów pięciocyklicznych z podgrupy oleananu. Jest on szeroko rozpowszechniony w świecie roślinnym zarówno w postaci wolnej jak i glikozydowo związanej. W postaci związanej pełni on funkcję aglikonu w saponinach triterpenoidowych.



Rycina 1. Kwas oleanolowy

Stwierdzono obecność kwasu oleanolowego w ponad 120 gatunkach roślin dwuliściennych, na przykład w tak popularnych roślinach leczniczych, jak nagietek lekarski (*Calendula officinalis*), żeń-szeń (*Panax ginseng*), bluszcz pospolity (*Hedera helix*), tymianek pospolity (*Thymus vulgaris*), nostrzyk żółty (*Melilotus officinalis*), rozmaryn lekarski (*Rosmarinus officinalis*), jemięła pospolita (*Viscum album*) i inne [1-4].

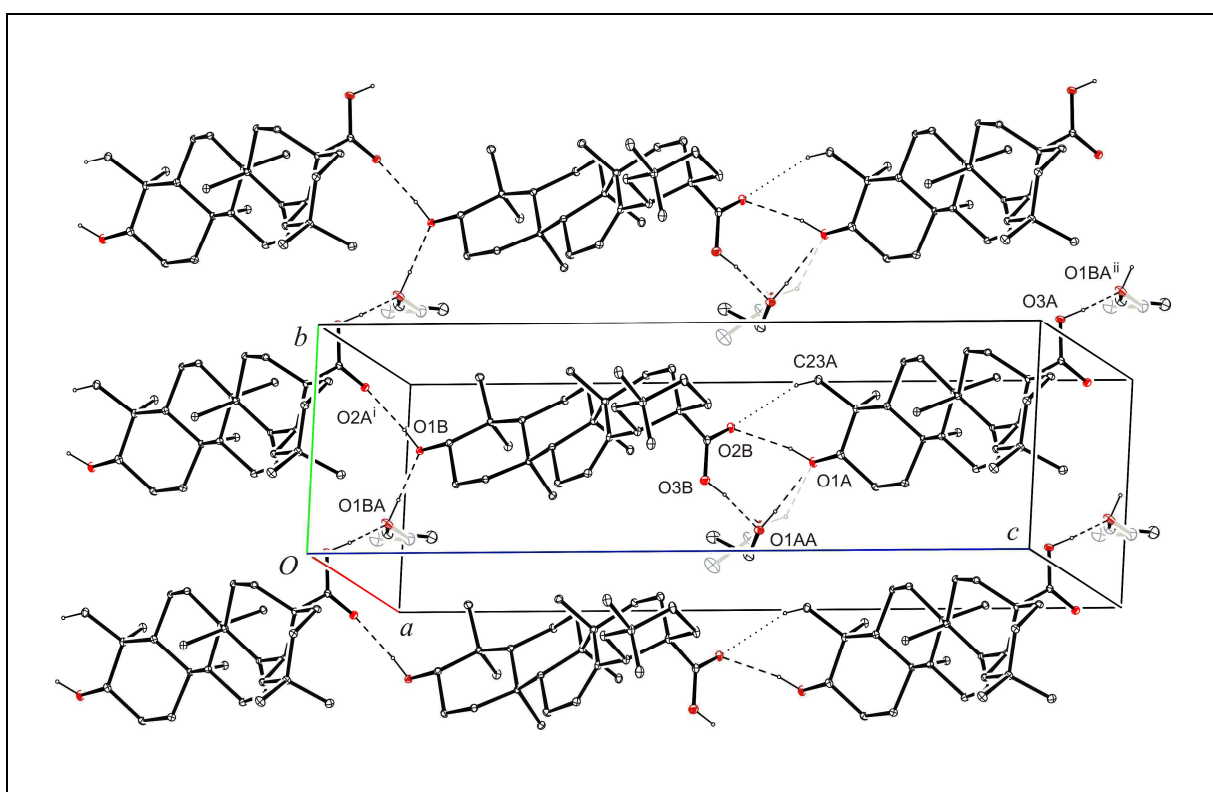
Po raz pierwszy kwas oleanolowy został wyodrębniony z liści *Olea europea* L. przez Powera i Tutina [5] w 1908 roku. Do ubiegłego roku jego struktura nie była jednak badana metodą rentgenograficzną z powodu trudności związanych z uzyskaniem monokryształu do pomiarów dyfraktometrycznych. Trudności te zostały przezwyciężone przez Autora niniejszej pracy po wielu próbach krystalizacji z zastosowaniem różnych modyfikatorów. Przedstawiony na rycinie 2 obraz przestrzenny kwasu oleanolowego został uzyskany z wykorzystaniem monokryształu, otrzymanego metodą krystalizacji z zastosowaniem 12 α -bromo-3 α -aza-A-homo-18 β -oleanano-28,13 β -laktanu jako modyfikatora [6].



Rycina 2. Rentgenograficzna struktura solwatu etanolowego kwasu oleanolowego

Kwas oleanolowy krystalizuje w postaci solwatu etanolowego w układzie jednoskośnym i niecentrosymetrycznej grupie przestrzennej $P2_1$. W asymetrycznej części komórki elementarnej znajdują się dwie niezależne cząsteczki triterpenoidu (gospodarza) i dwie cząsteczki etanolu krystalizacyjnego (gościa) (Rycina 2). Symetrycznie niezależne cząsteczki A i B kwasu oleanolowego różnią się pod względem konformacyjnym tylko nieznacznie. Różnica dotyczy głównie ustawienia kąтового grupy karboksylowej. W cząsteczce A ugrupowanie karbonylowe C28=O2 płaskiej grupy karboksylowej, w odniesieniu do wiązania C17–C18 wspólnego dla pierścieni D i E wykazuje konformację pośrednią pomiędzy

synperiplanarną i synklinalną ($-sp/-sc$), w cząsteczce B konformację pośrednią pomiędzy antyklinalną i antyperiplanarną ($+ac/+ap$). Ustawienie kątowe grupy karboksylowej w obydwu niezależnych cząsteczkach kwasu oleanolowego stabilizują międzycząsteczkowe wiązania wodorowe (Rycina 3). Pierścienie A, B, D i E w cząsteczkach kwasu oleanolowego posiadają konformację krzesła w różnym stopniu zniekształconego, zaś pierścień C konformację półodzi. Obydwe symetrycznie niezależne cząsteczki rozpuszczalnika wykazują w sieci kryształu nieuporządkowanie (Rycina 2 i 3).



Rycina 3. Sieć międzycząsteczkowych wiązań wodorowych w kryształach monosolvatu etanolowego kwasu oleanolowego; kody symetrii: (i) $x, y, -1+z$; (ii) $x, 1+y, 1+z$

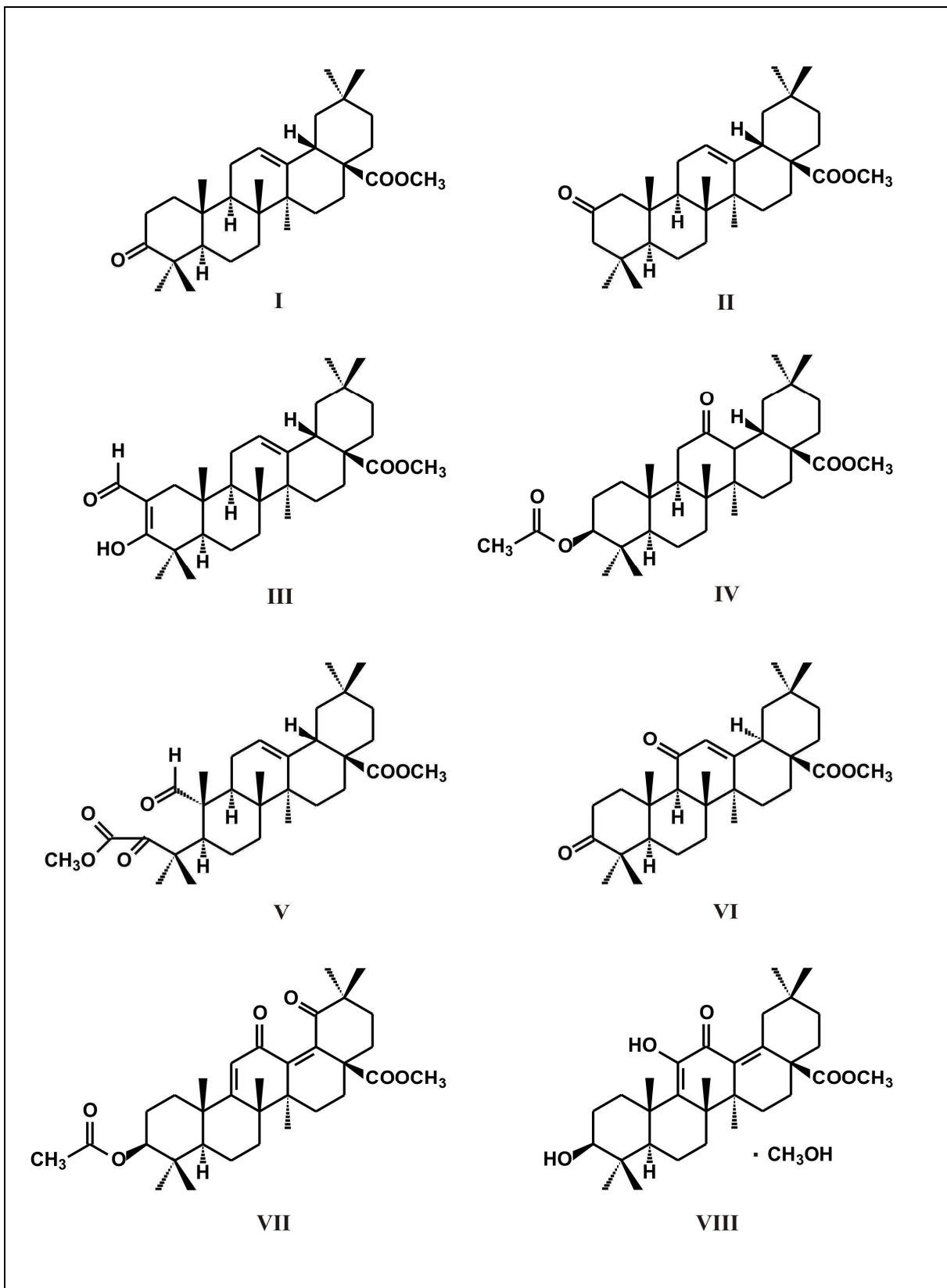
1.2. PRODUKTY CHEMICZNYCH PRZEKSZTAŁCEŃ POCHODNYCH KWASU OLEANOLEWEGO

Z danych literaturowych [7,8] wynika, iż modyfikacje chemiczne kwasu oleanolowego mogą dotyczyć grupy hydroksylowej i/lub karboksylowej, albo też polegać na wprowadzeniu do cząsteczki dodatkowych grup funkcyjnych. Warto zauważyć, iż grupa hydroksylowa (pozycja C-3) poddaje się reakcjom acylowania i utlenienia stosunkowo łatwo. Natomiast grupa karboksylowa (pozycja C-17) metyluje się raczej trudno. Jeszcze trudniej hydrolizuje powstała grupa estrowa (metoksykarbonylowa). Wiązanie podwójne w pierścieniu C jest odporne na katalityczną redukcję.

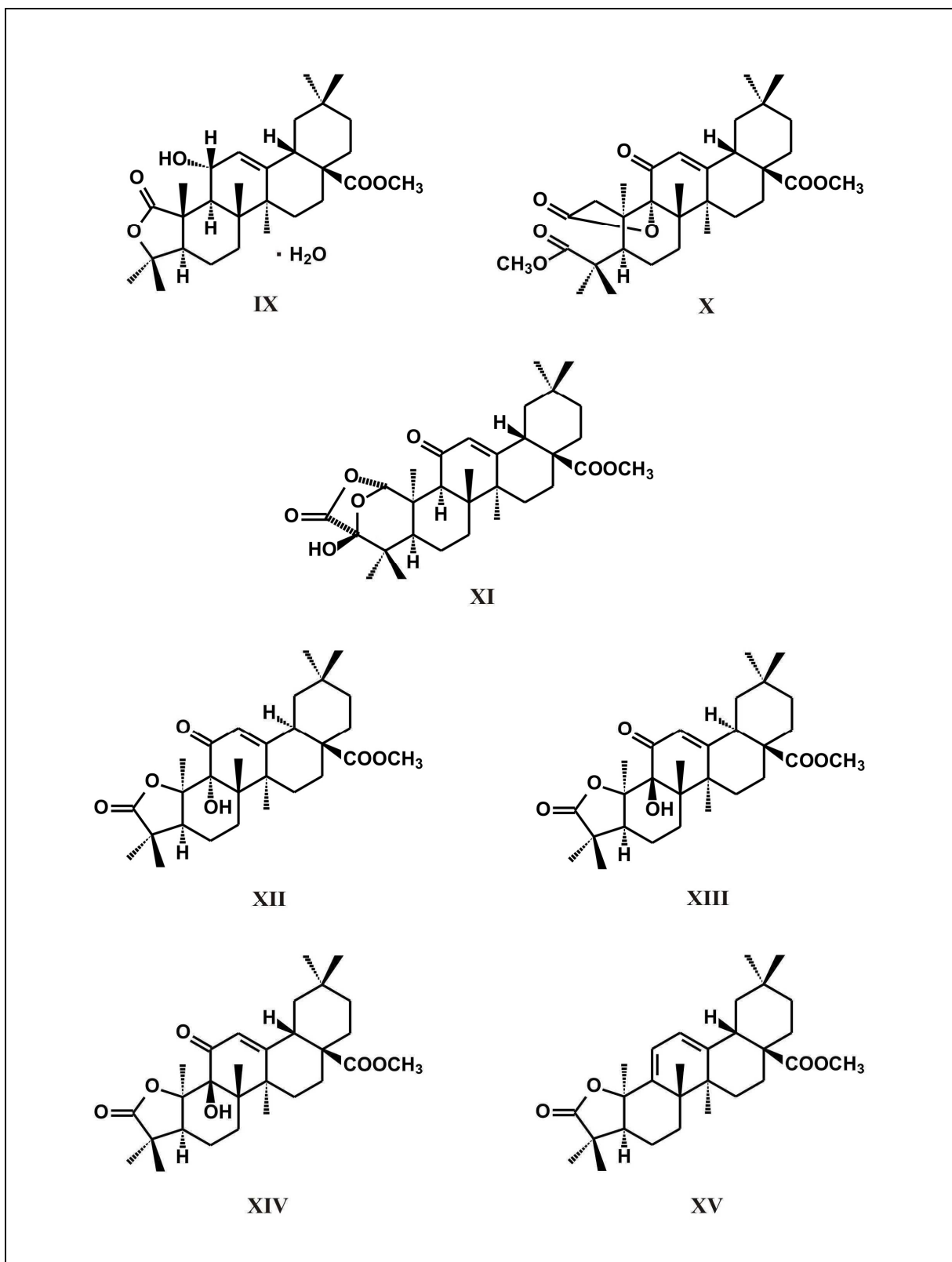
Pochodne kwasu oleanolowego ulegają reakcji izomeryzacji [9-11]. W naturalnym kwasie oleanolowym pierścienie A/B i B/C wykazują konfigurację przestrzenną *trans*, zaś pierścienie D/E konfigurację *cis*. W procesie izomeryzacji ma miejsce zmiana sposobu łączenia pierścieni D/E z *cis* na *trans*. Jednocześnie atom wodoru w pozycji C-18 zmienia orientację z β na α . Niezbędna dla reakcji izomeryzacji jest obecność w pozycji 11 pierścienia C grupy karbonylowej.

Pięciocykliczny szkielet cząsteczki kwasu oleanolowego jest podatny na modyfikacje chemiczne, szczególnie o charakterze oksydacyjnym. Reakcje takie prowadzone były w Katedrze i Zakładzie Chemii Organicznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. W ich wyniku otrzymano liczne związki z dodatkowymi funkcjami tlenowymi [12-47]. Niektóre triterpenoidy, produkty utlenienia estru metylowego kwasu oleanolowego oraz 11-okso-18 α -pochodnej, zostały poddane w wymienionej Katedrze analizie rentgenograficznej. Są wśród nich pochodne o charakterze karbonyloestrów [45,48, 51,53-55] (Rycina 4) oraz pochodne o charakterze laktonoestrów [48-50,52] (Rycina 5). Większość triterpenoidów przynależnych do pierwszej wymienionej grupy znalazła zastosowanie jako substraty w syntezie azatriterpenoidów. I tak na przykład, pochodne kwasu oleanolowego z grupą karbonylową w pozycji 3 pierścienia A, w tym związek **I**, posłużyły jako substraty w reakcji dobudowania do pięciocyklicznego szkieletu triterpenoidowego heterocyklicznego układu chinolinowego [56]. Pochodne kwasu 12,19-dioksoolean-9(11),13(18)-dien-28-owego posłużyły natomiast jako substraty w reakcji z hydrazyną dla otrzymania pochodnych pirydazynowych. Wyniki analizy rentgenograficznej, przeprowadzonej dla estru metylowego kwasu 3 β -acetoksy-12,19-dioksoolean-9(11),13(18)-dien-28-owego (**VII**), zostały wykorzystane dla wyjaśnienia małej podatności tej grupy

pochodnych kwasu oleanolowego na reakcję z wyżej wspomnianą aminą [55,57]. Jeszcze inne produkty utlenienia, w tym triterpenoid **III**, zostały użyte w reakcji z hydroksyloaminą, której celem było dobudowanie do szkieletu triterpenoidowego pięcioczłonowego heterocyklicznego układu izoksazolowego. Wyniki badań rentgenograficznych triterpenoidu **III** [51] pozwoliły skorygować wcześniejsze doniesienia literaturowe [58] dotyczące tak jego struktury jak i struktury produktu reakcji triterpenoidu **III** z hydroksyloaminą. Reakcji z tą ostatnią poddano także produkty utlenienia kwasu oleanolowego z grupą karbonylową w pozycji 3 (pierścień A) i/lub 12 (pierścień C), w tym triterpenoidy **I** i **IV**. Otrzymane z nich produkty o charakterze oksymów posłużyły jako substraty w reakcji przegrupowania Beckmanna, której celem było wprowadzenie do cząsteczki siedmioczłonowego heterocyklicznego układu laktamowego w miejsce izocyklicznego sześcioczłonowego pierścienia A i/lub C szkieletu triterpenoidowego [8].



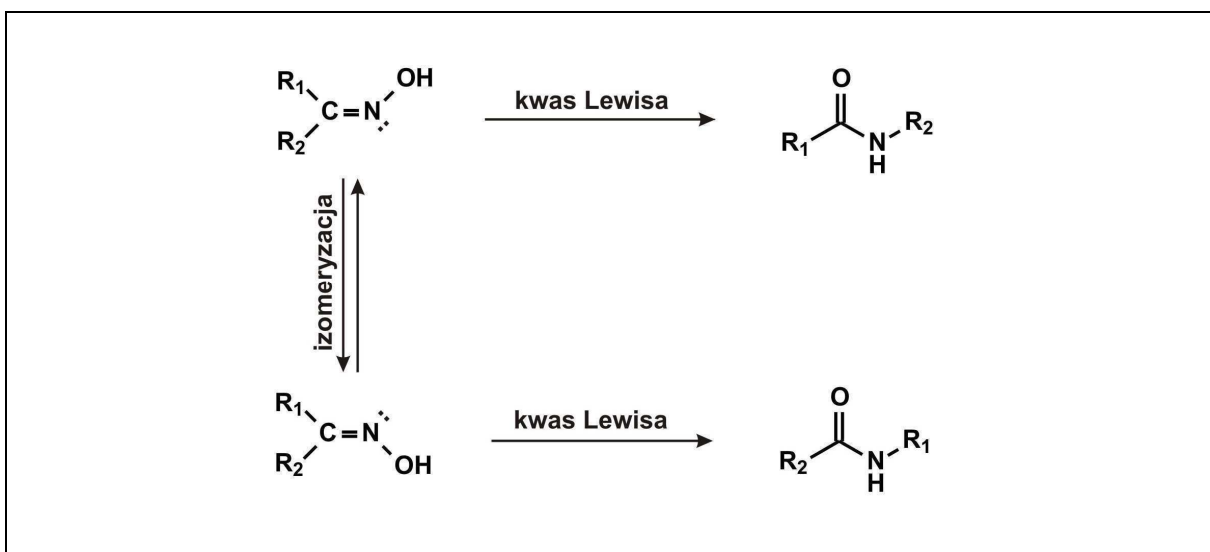
Rycina 4. Produkty utleniania o charakterze karbonyloestrów.



Rycina 5. Produkty łagodnego utleniania o charakterze laktonoestrów.

1.3. PODSTAWOWE WIADOMOŚCI NA TEMAT REAKCJI PRZEGRUPOWANIA BECKMANNA

Reakcja przegrupowania Beckmanna została po raz pierwszy opisana w 1886 roku [59]. Od tego czasu stanowi ona użyteczną metodę wprowadzenia atomu azotu zarówno do układu cyklicznego jak i niecyklicznego. Przegrupowanie Beckmanna, polegające na przekształceniu ketoksymów lub aldoksymów w amidy względnie laktamy, zachodzi pod wpływem szerokiego wachlarza kwasów Lewisa, między innymi kwasu mrówkowego, bezwodnego fluorowodoru, kwasu polifosforowego, stężonego kwasu siarkowego, pentachloru fosforu, chlorku fosforylu, chlorku tionylu, ciekłego ditlenku siarki [60]. Środowisko kwaśne reakcji sprzyja izomeryzacji oksymu (Rycina 6), przyczyniając się do utworzenia mieszaniny różnych produktów. Z tego względu w ostatnich latach coraz częściej stosowane są mniej konwencjonalne czynniki, umożliwiające zajście przegrupowania Beckmanna, takie jak zeolity [61], kwas sulfamowy [62], chlorek cyjanurowy w dimetyloformamidzie [63], aldehyd trichlorooctowy [64], chlorek indu [65] triftalan galu w acetonitrylu [66], kwas metaborowy [67], odczynnik Eatona ($P_2O_5 - CH_3SO_2OH$) [68].

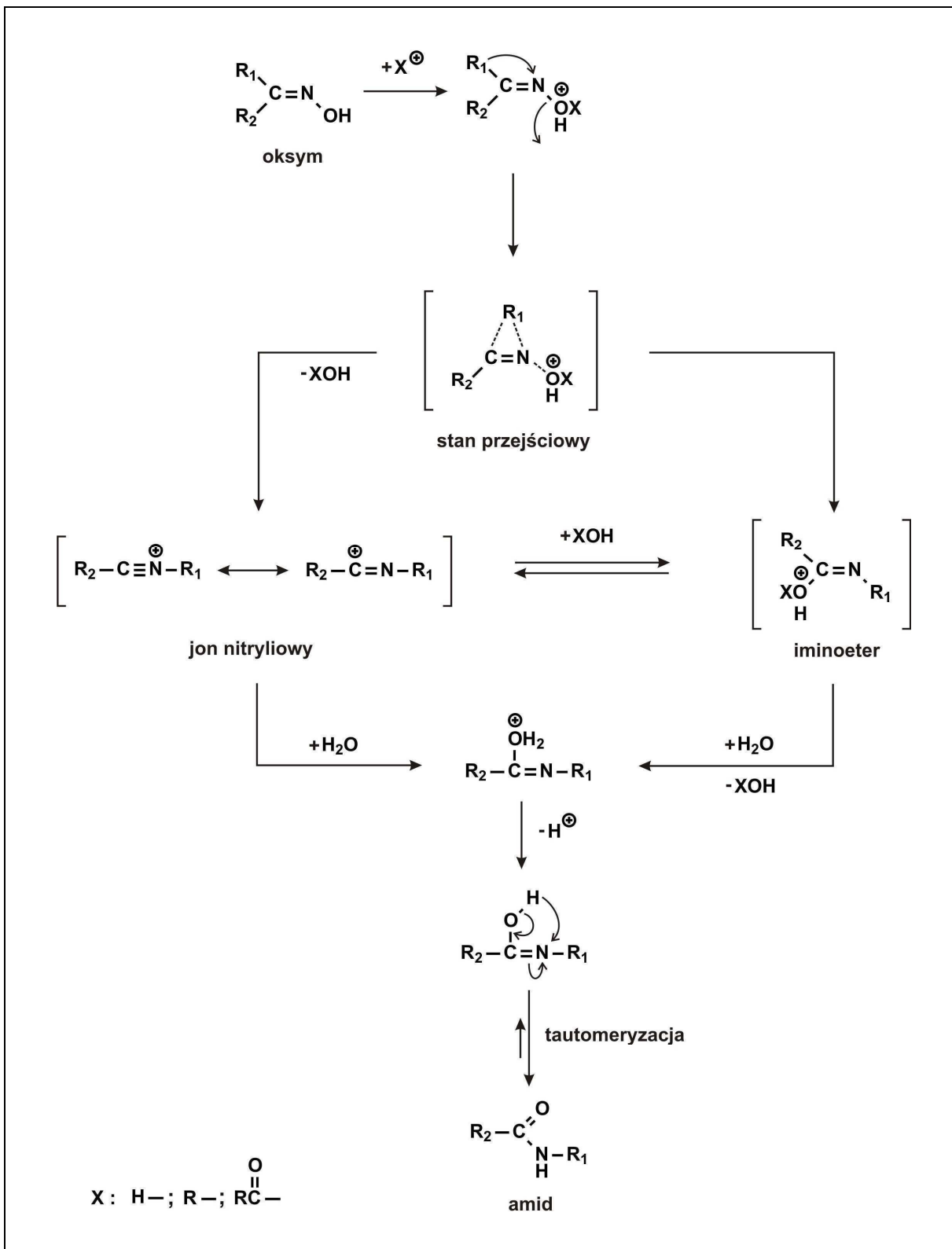


Rycina 6. Izomeryzacja oksymu powodowana kwaśnym środowiskiem

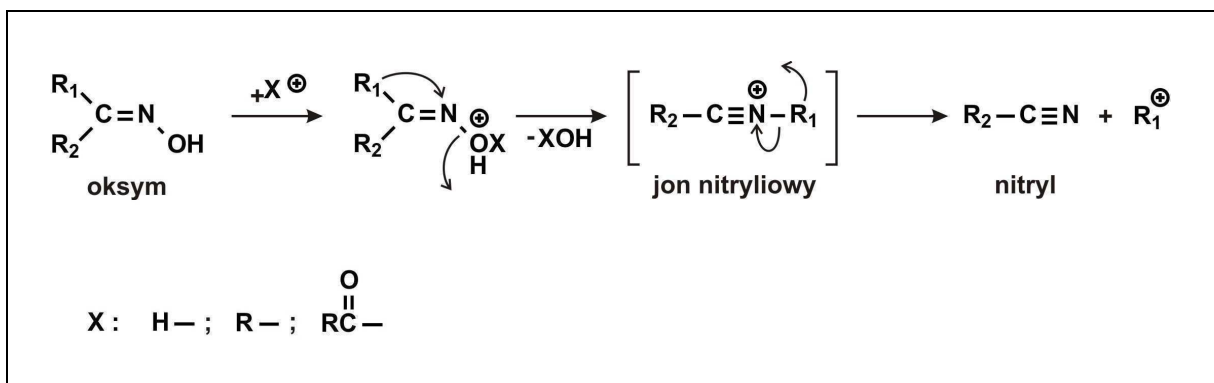
W reakcji przegrupowania Beckmanna z udziałem oksymów ketonów niesymetrycznych migracji ulega zazwyczaj podstawnik znajdujący się w położeniu *anti* względem grupy hydroksylowej. Stąd w oparciu o strukturę przestrzenną otrzymanego amidu lub laktamu, możliwe jest określenie konfiguracji wyjściowego oksymu.

Powszechnie akceptowany mechanizm reakcji przegrupowania Beckmanna przedstawiono na rycinie 7. W pierwszym etapie reakcji grupa oksymowa ulega aktywacji w wyniku przyłączenia protonu do grupy hydroksylowej, albo też eteryfikacji lub estryfikacji grupy hydroksylowej. Następnie dochodzi do odszczepienia cząsteczki HOX z jednoczesną migracją grupy R_1 do atomu azotu. Migracja tej ostatniej prowadzi poprzez nietrwały quasi trójczłonowy cykliczny kompleks aktywny, którego istnienie warunkuje stereospecyficzność reakcji przegrupowania Beckmanna. Głównymi produktami przekształceń wytworzonego nietrwałego stanu przejściowego mogą być jon nitryliowy względnie eter iminowy w postaci jonu oksoniowego. Obydwa mogą przechodzić wzajemnie w siebie. Dalsze etapy reakcji to addycja wody do jonu nitryliowego względnie wymiana grupy XOH na HOH w cząsteczce eteru iminowego, odszczepienie protonu oraz tautomeryzacja powstałego produktu z formy imidowej w amidową. Badania kinetyki reakcji wykazały, iż etapem, od którego zależy szybkość reakcji przegrupowania Beckmanna w roztworze, jest proces związany z migracją grupy R_1 . Warto zauważyć, iż obecny w cząsteczce ketonu asymetrycznego podstawnik aromatyczny z grupami o charakterze elektronodonorowym migruje łatwiej aniżeli pierścień aromatyczny z podstawnikami o właściwościach elektronodonorowych.

Z reakcją przegrupowania Beckmanna konkuruje reakcja fragmentacji Beckmanna (ang. *Beckmann fragmentation*), zwana również reakcją anormalnego przegrupowania Beckmanna (ang. *abnormal Beckmann rearrangement*) albo też reakcją przegrupowania Beckmanna drugiego rzędu (ang. *second-order Beckmann rearrangement*) (Rycina 8). W reakcji tej podstawnik, znajdujący się w położeniu *anti* w stosunku do grupy hydroksylowej oksymu ulega oderwaniu w postaci karbokationu, w następstwie czego powstaje związek o charakterze nitrylu. Reakcja fragmentacji Beckmanna może niekiedy dominować nad reakcją przegrupowania Beckmanna. Taka sytuacja ma miejsce wówczas, gdy podstawnik ulegający oderwaniu jest zdolny do utworzenia trwałego karbokationu. Można wyróżnić dwa czynniki wpływające na trwałość karbokationu. Są nimi dodatni efekt indukcyjny, obserwowany przykładowo u trzeciorzędowych grup alkilowych, oraz efekt mezomeryczny. Stabilizacji karbokationu sprzyja także obecność w cząsteczce grup o charakterze elektronodonorowym, takich jak OH, OR, i NH_2 [59,69].



Rycina 7. Mechanizm reakcji przegrupowania Beckmanna



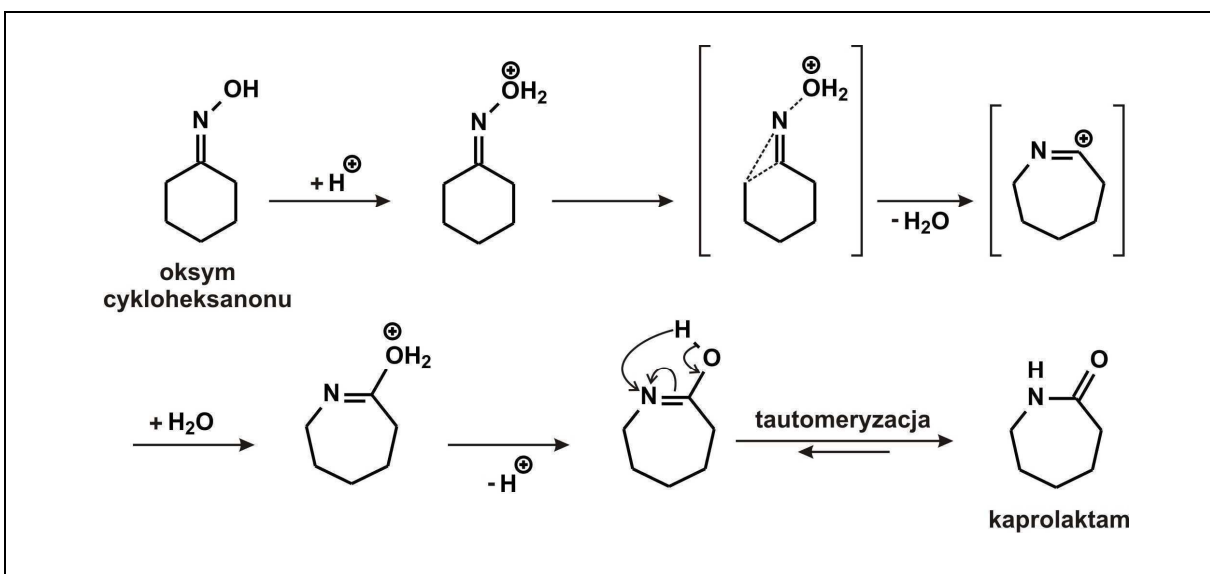
Rycina 8. Mechanizm reakcji fragmentacji Beckmanna.

Stosowane w reakcji przegrupowania Beckmanna jako substraty związki o charakterze oksymu, z uwagi na obecność wiązania podwójnego C=N w cząsteczce, mogą występować w postaci izomerów *Z* lub *E*. W ciele stałym izomery te są konfiguracyjnie trwałe, podczas gdy w roztworze mogą przechodzić w sposób dynamiczny wzajemnie w siebie. W mieszaninie formę dominującą stanowi izomer bardziej stabilny termodynamicznie. W przeciwieństwie do oksymów niepodstawionych konfiguracja pochodnych estrowych lub eterowych w roztworach jest zazwyczaj trwała. Ich izomeryzację może spowodować środowisko kwaśne względnie promieniowanie elektromagnetyczne. Przepuszczalny mechanizm izomeryzacji zakłada przyłączenie protonu do atomu azotu i dalej kolejno addycję, eliminację cząsteczki rozpuszczalnika o charakterze nukleofilu, aż do ustalenia się stanu równowagi pomiędzy dwoma izomerami. Z doniesień literaturowych wynika, iż zmiana konfiguracji podstawników w obrębie wiązania C=N oksymów jest możliwa również w ciele stałym. Za przykład niech posłuży odnotowana izomeryzacja pochodnych oksymu 1-indanonu, zachodząca podczas reakcji prowadzonej na żelu krzemionkowym w obecności AlCl₃. Według autorów czynnikiem umożliwiającym izomeryzację jest tworzący się w reakcji kompleks substrat - AlCl₃, znacząco obniżający barierę energetyczną rotacji wokół osi wiązania C-N. [70].

Rodzaj i wielkość podstawników *R*₁ i *R*₂ w cząsteczce ketoksymu warunkują względną trwałość stereoizomerów *Z/E*, mają zatem wpływ na stosunek ilościowy tworzących się amidów. W sytuacji, gdy izomery znacznie różnią się trwałością, można spodziewać się pojawienia tylko jednego produktu. W przypadku ketoksymów arylo-alkilowych, trwalszy stereoizomer to ten, w którym położenie *anti* zajmuje duża grupa arylova. Odstępstwo od tej zasady odnotowuje się dla ketoksymów z dużą grupą alkilową w znacznym stopniu rozgałęzioną. W tym przypadku trwalszym jest stereoizomer, w którym położenie *anti* w odniesieniu do grupy hydroksylowej posiada grupa alkilowa. Ketoksymy dialkilowe

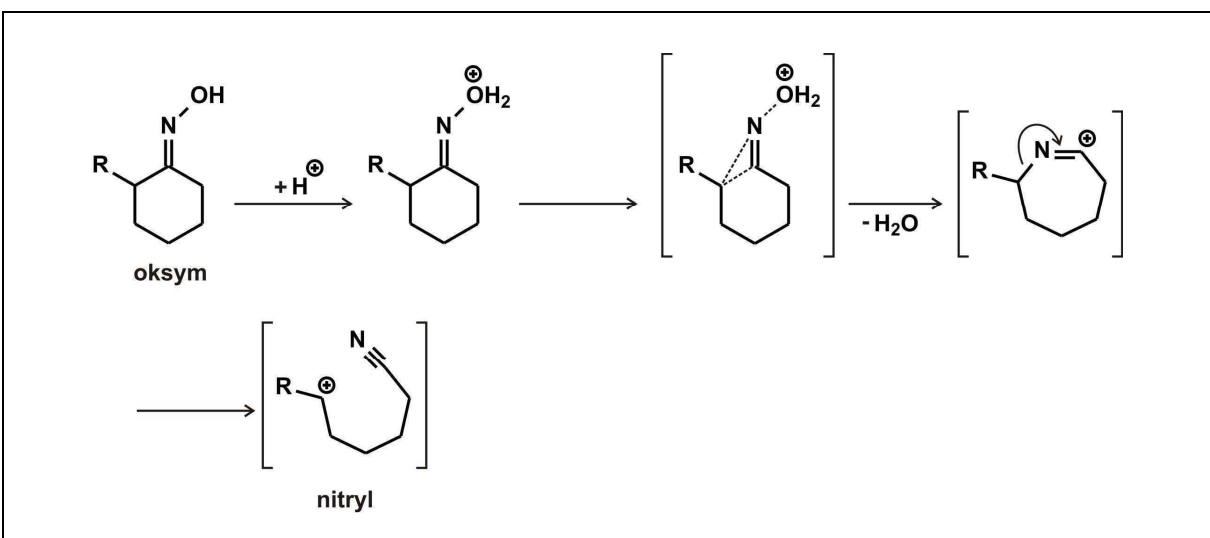
wykazują skłonność do tworzenia mieszaniny amidów z przewagą tego, który tworzy się ze stereoisomeru z większą grupą alkilową w położeniu *anti*.

Zależności opisane powyżej dotyczą również oksymów ketonów cyklicznych. Najbardziej znaną reakcją przegrupowania Beckmanna w tej grupie związków jest reakcja, prowadząca do otrzymania ϵ -kaprolaktamu z oksymu cykloheksanonu (Rycina 9).



Rycina 9. Mechanizm reakcji otrzymywania ϵ -kaprolaktamu z oksymu cykloheksanonu.

W przypadku oksymów ketonów cyklicznych z podstawnikiem stabilizującym tworzący się karbokation, zachodzi również reakcja fragmentacji Beckmanna (Rycina 9). Powstająca w końcowych etapach reakcji nietrwała forma karbokationu ulega przekształceniu z utworzeniem wiązania podwójnego C=C, najczęściej poprzez odłączenie protonu.



Rycina 10. Mechanizm reakcji fragmentacji Beckmanna dla oksymów ketonów cyklicznych.

Zależności odnoszące się do reakcji przegrupowania Beckmanna z udziałem ketoksymów nie obejmują aldoksymów, ponieważ w przypadku tych ostatnich migracji ulega wyłącznie atom wodoru, i to niezależnie od konfiguracji cząsteczki aldoksymu. Powoduje to, iż produktem reakcji przegrupowania Beckmanna aldoksymów jest amid niepodstawiony.

1.4. DONIESIENIA LITERATUROWE ODNOSZĄCE SIĘ DO REAKCJI PRZEGRUPOWANIA BECKMANNA W GRUPIE TRITERPENOIDÓW PIĘCIOCYKLICZNYCH

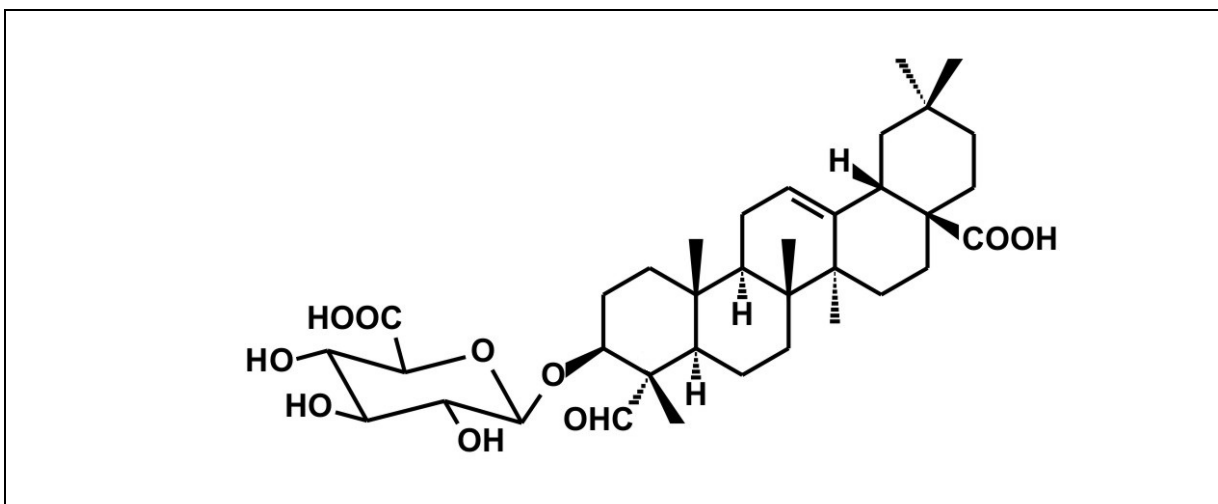
Z danych literaturowych wynika, iż reakcje przegrupowania Beckmanna z udziałem triterpenoidów pięciocyklicznych prowadziło dotychczas kilka grup badawczych z różnych krajów. Przekształceniom tym poddawano triterpenoidy pięciocykliczne podgrupy oleananu [71-79], ursanu [80,81], lupanu [73,74]. Na uwagę zasługuje obserwacja, iż opisane w literaturze chemicznej reakcje przegrupowania Beckmanna dotyczyły jak dotąd wyłącznie pierścienia A triterpenoidu.

1.5. DZIAŁANIE FARMAKOLOGICZNE KWASU OLEANOLEWEGO ORAZ JEGO POCHODNYCH

Kwas oleanolowy wykazuje aktywność biologiczną tak w postaci wolnej jak i glikozydowo związanej [82,83]. W postaci wolnej działa on hepatochronnie, przeciwbakteryjne, przeciwzapalnie, przeciwobrzękowo i przeciwwrzodowe. Kwas oleanolowy obniża ponadto poziom cukru i lipidów we krwi oraz hamuje rozwój komórek nowotworowych. Pochodne glikozydowe kwasu oleanolowego również charakteryzują się interesującymi właściwościami farmakologicznymi. Działają one przeciwcukrzycowo, przeciwwrzodowo, antymutagennie i bakteriobójczo. Saponozydy z kwasem oleanolowym jako aglikonem wraz z pochodnymi panaksadiolu i panaksatriolu stanowią kompleks substancji aktywnych żeń-szenia, rośliny znanej już w tradycyjnej medycynie chińskiej jako środek podnoszący ogólną sprawność organizmu. Obecnie wyciągi z żeń-szenia są uważane za jedno z najczęściej stosowanych w leczeniu preparatów roślinnych [84]. W Polsce popularne są takie produkty jak Geriavit[®] i Ginsengin 200 i 600.

1.5.1. Działanie hepatoprotekcyjne

Kwas oleanolowy jest skutecznym czynnikiem hepatochronnym w zatruciach czterochlorkiem węgla, paracetamolem, związkami kadmu, bromobenzenem, falloidyną, tioacetamidem, furosemidem i kolchicyną. Mechanizm jego działania osłonowego ma charakter wielokierunkowy. W przypadku czynników toksycznych, wymagających aktywacji metabolicznej, jak na przykład paracetamol, kluczową rolę odgrywa obniżenie aktywności enzymów wątrobowych cytochromu P-450 [85]. Kwas oleanolowy wywiera korzystny wpływ na mechanizmy obronne organizmu, powodując wzrost stężenia antyoksydantów, takich jak glutation, metalotioneina lub S-transferaza glutationowa. Wymienione antyoksydanty są odpowiedzialne za inaktywację wielu toksyn, w tym również takich, które nie wymagają aktywacji metabolicznej przez enzymy mikrosomalne wątroby. Kwas oleanolowy działa ponadto regenerująco na uszkodzone komórki wątroby, zapobiegając jej zwłóknieniu i marskości [82]. W niektórych krajach azjatyckich kwas oleanolowy stosowany jest w leczeniu zapalenia wątroby oraz w celach osłonowych w terapii z lekami potencjalnie hepatotoksycznymi, takimi jak izoniazyd względnie pirazynamid [86]. Działanie hepatoprotekcyjne wykazują również niektóre saponiny, w których aglikonem jest zarówno kwas oleanolowy jak i jego pochodne. Za przykład może posłużyć semenozyd A (Rycina 11) wyizolowany z nasion rośliny *Celosia cristata* L., stosowanej w chińskiej medycynie ludowej [87].



Rycina 11. Cząsteczka semenozydu A

1.5.2. Działanie przeciwzapalne

Przyjmuje się, iż działanie przeciwzapalne kwasu oleanolowego i jego pochodnych jest związane z hamowaniem uwalniania histaminy z mastocytów oraz zmniejszeniem aktywności enzymów lipooksygenazy i cyklooksygenazy, biorących udział w kaskadzie kwasu arachidonowego. Efektem zahamowania aktywności wspomnianych enzymów jest zmniejszenie produkcji mediatorów procesu zapalnego. Kwas oleanolowy działa jako inhibitor elastazy, enzymu proteolitycznego zaliczanego do czynników odpowiedzialnych za odczyn zapalny tkanek łącznych w reumatoidalnym zapaleniu stawów. Ponadto działa on hamująco na układ dopełniacza, prawdopodobnie poprzez inhibicję konwertazy C₃ drogi klasycznej, co prowadzi do zmniejszenia nieprawidłowej odpowiedzi immunologicznej, obserwowanej w schorzeniu [82].

Wśród pochodnych kwasu oleanolowego na uwagę zasługuje kwas 2-cyano-3,12-diooksooleana-1,9(11)-dien-28-owy (CDDO, bardoxolone), wyróżniający się wysoką aktywnością przeciwzapalną [88,89]. Posiada on siłę działania porównywalną do deksametazonu, powszechnie stosowanego syntetycznego związku sterydowego. Mechanizm działania CDDO opiera się przede wszystkim na hamowaniu aktywności wielu cytokin zapalnych, jak na przykład interferon γ , interleukina 1 czy TNF α , czego efektem jest zmniejszenie uwalniania tlenku azotu z makrofagów. Inne interesujące właściwości CDDO dotyczą hamowania namnażania różnych typów komórek rakowych oraz stymulacji apoptozy w białaczce, dokonującej się poprzez mechanizm zależny od kaspazy 8 [90,91]. CDDO stanowi ligand dla receptora aktywowanego przez proliferatory peroksysomów PPAR γ . Ten ostatni jest odpowiedzialny za magazynowanie tłuszczu i metabolizm glukozy w organizmie, [92]. Cennymi właściwościami farmakologicznymi charakteryzuje się również ester metylowy CDDO. Działa on przeciwzapalnie, zmniejszając stres oksydacyjny na skutek aktywacji czynnika transkrypcyjnego Nrf2, co przyczynia się do zwiększenia syntezy ponad 250 enzymów antyoksydacyjnych w organizmie [93]. Ester metylowy CDDO w roku 2011 ma zostać poddany trzeciej fazie testów klinicznych jako preparat do stosowania w zaawansowanej nefropatii będącej powikłaniem cukrzycy typu II [94].

1.5.3. Działanie przeciwnowotworowe

Kwas oleanolowy hamuje kancerogenezę głównie na etapie inicjacji i promocji. Jego działanie przeciwnowotworowe polega między innymi na zmniejszeniu aktywności promotorów guza i hamowaniu odczynu zapalnego wywołanego przez te promotory, a ponadto na zmniejszeniu ekspresji niektórych onkogenów i stymulacji różnicowania komórek. Ostatnia funkcja może przyczynić się do częściowej remisji niektórych typów nowotworów. Kwas oleanolowy wywiera korzystny wpływ na mechanizmy obronne organizmu [82,83]. Interesujący wydaje się fakt, iż działa on synergistycznie z doksorubicyną, antybiotykiem antracyklinowym powszechnie stosowanym w leczeniu nowotworów [95]. Działanie cytotoksyczne wykazują również kwas epioleanolowy (kwas 3α -oleanolowy) i kwas 2α -hydroksyoleanolowy, a ponadto niektóre pochodne kwasu oleanolowego o charakterze estrów i soli amoniowych [96]. Aktywność przeciwnowotworową obserwuje się również u saponin z kwasem oleanolowym i niektórymi jego pochodnymi jako aglikonem. Za przykład niech posłużą szeroko rozpowszechniona w przyrodzie β -hederyna [3-O- α -L-ramnopiranozylo-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopiranozyd kwasu oleanolowego] i hederakolchizyd A₁ {3-O- α -L-ramnopiranozylo-(1 \rightarrow 2)-[β -D-glukopiranozylo-(1 \rightarrow 4)]- α -L-arabinopiranozyd kwasu oleanolowego}. Obydwa związki o charakterze glikozydu wykazują wyższą aktywność cytotoksyczną od ich aglikonu, co jest raczej typowym zjawiskiem u saponin kwasu oleanolowego. Uważa się, iż kluczowym dla aktywności przeciwnowotworowej jest obecność w cząsteczce podstawnika α -L-ramnopiranozylo-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopiranozylowy w pozycji C3 kwasu oleanolowego [97].

1.5.4. Działanie antyhiperlipidemiczne

Prowadzone badania na zwierzętach potwierdziły działanie antyhiperlipidemiczne kwasu oleanolowego. Stwierdzono, iż powoduje on obniżenie poziomu cholesterolu i β -lipoprotein w osoczu (o niemal 50%) oraz wzrost niezbędnej dla prawidłowego funkcjonowania organizmu frakcji lipoproteinowej o wysokiej gęstości (HDL). Uzyskane wyniki są porównywalne z działaniem klofibratu, leku powszechnie stosowanego w hiperlipidemii. Warto zauważyć, iż opisanego powyżej działania kwasu oleanolowego nie stwierdza się w przypadku prawidłowego poziomu cholesterolu i triglicerydów w osoczu [82,98].

1.5.5. Działanie przeciwwrzodowe

Kwas oleanolowy i jego pochodne obok działania przeciwzapalnego wykazują ochronny wpływ na błonę śluzową żołądka [82,99]. Ta właściwość odróżnia je od niesteroidowych leków przeciwzapalnych, które poprzez hamowanie kaskady kwasu arachidonowego przyczyniają się do zmniejszenia syntezy prostaglandyn, chroniących ścianę żołądka przed niszczącym działaniem kwasu solnego. Warto tutaj wspomnieć, iż w macierzystej Katedrze znaleziono osiem triterpenoidów pochodnych kwasu oleanolowego, wykazujących aktywność podobną lub wyższą od karbenoksolonu, pochodnej kwasu glicyretynowego zarejestrowanej jako lek przeciwwrzodowy. Dwa triterpenoidy, to jest wodorobursztynian kwasu oleanolowego oraz 3-O-wodorobursztynian 28-(2-karboksyetylokarbonyloamino)-3 β -hydroksyolean-12-en zostały zastrzeżone patentami [100,101]. Na uwagę zasługuje fakt, iż wymienione pochodne kwasu oleanolowego w odróżnieniu od karbenoksolonu nie zaburzają gospodarki mineralnej ustroju. Ich stosowanie nie prowadzi zatem do wystąpienia nadciśnienia tętniczego. Uważa się, iż w przypadku stosowania karbenoksolonu zaburzenie gospodarki mineralnej ustroju wywołane jest hamowaniem 5 β -reduktazy, enzymu odpowiedzialnego za eliminację kortyzolu z ustroju [102].

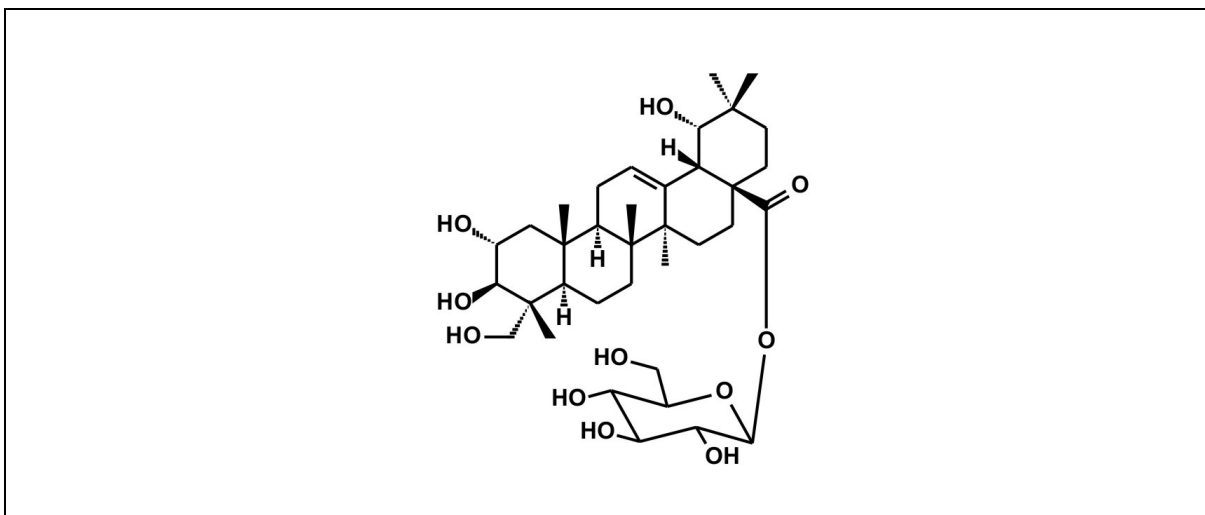
1.5.6. Działanie przeciwbakteryjne, przeciwpierwotniakowe i przeciwwirusowe

Poszukiwanie nowych związków o działaniu antybiotycznym stało się w ostatnich latach poważnym wyzwaniem ze względu na coraz częściej odnotowywane infekcje szczepami bakteryjnymi opornymi na większość znanych antybiotyków. W latach sześćdziesiątych ubiegłego wieku zaczęto odnotowywać infekcje szczepami gronkowcowymi opornymi na metycylinę (MRSA- *methicillin-resistant Staphylococcus aureus*). Jednym z nielicznych leków stosowanych w przypadkach tego rodzaju infekcji jest wankomycyna, antybiotyk glikopeptydowy charakteryzujący się oto- i nefrotoksycznością. W ostatnich latach coraz częściej odnotowuje się jednak infekcje wywołane przez szczepy gronkowca odporne również na ten antybiotyk (VRSA- *vancomycin-resistant Staphylococcus aureus*). Rosnącą antybiotykooporność napotyka się również wśród szczepów innych bakterii, takich jak streptokoki, enterokoki czy prątki gruźlicy [103,104].

Z danych literaturowych [104] wynika, iż kwas oleanolowy w postaci wolnej wykazuje aktywność wobec enterokoków opornych na wankomycynę (VRE- *vancomycin-resistant*

enterococci). Działa on także na szczepy *Mycobacterium tuberculosis*, w tym lekooporne. Lepsze właściwości przeciwgruźlicze posiadają jego pochodne, takie jak kwas 3-oleanonowy, kwas 3-epioleanolowy i ester p-kumarylowy kwasu oleanolowego. Ten ostatni wykazuje aktywność ośmiokrotnie wyższą od samego kwasu oleanolowego [105]. Warto wspomnieć, iż kwas oleanolowy wykazuje umiarkowaną aktywność wobec bakterii *Listeria monocytogenes*, *Shigella flexneri* czy *Yersinia enterocolitica*. Nieaktywny jest natomiast wobec bakterii *Klebsiella panumoniae* i niektórych szczepów *Escherichia coli* [104].

W przypadku glikozydów triterpenoidowych z kwasem oleanolowym względnie jego pochodnymi jako aglikonem, szczególnie interesująca jest saponina wyizolowana z rośliny *Pteleopsis suberosa* (*Combretaceae*), wykazująca aktywność w stosunku do szczepów *Helicobacter pylori*, opornych na metronidazol, jeden z trzech antybiotyków stosowanych standardowo w eradykacji tego drobnoustroju (Rycina 12) [106].



Rycina 12. Saponina wyizolowana z *Pteleopsis suberosa*

Kwas oleanolowy wykazuje aktywność skierowaną przeciwko pierwotniakom, jak na przykład *Trypanosoma cruzi* [107] i *Leishmania amazonensis* [108], odpowiedzialnym za choroby tropikalne.

Na kwas oleanolowy i jego pochodne zwrócono także uwagę w poszukiwaniach nowych leków zwalczających wirus HIV. I tak na przykład, w badaniach na komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej (PBMC) i komórkach układu monocytów-makrofagów (M/M) wykazano, iż kwas oleanolowy hamuje replikację wirusa HIV-1 poprzez inhibicję proteazy [109]. Potencjalne działanie hamujące namnażanie wirusa HIV wykazują także

pochodne kwasu oleanolowego, szczególnie jego estry z grupą sukcyńlową i glutarylową [110].

1.5.7. Działanie przeciwcukrzycowe

Cukrzyca jest schorzeniem metabolicznym o złożonej etiologii. Pojawia się ona w wyniku zmniejszenia wydzielania insuliny (cukrzyca I typu) względnie obniżonej wrażliwości komórek docelowych na insulinę (cukrzyca II typu), albo też obydwu tych zaburzeń równocześnie. Konsekwencją jest utrzymujący się podwyższony poziom glukozy we krwi, co z czasem może prowadzić do licznych groźnych powikłań, jak na przykład retinopatia cukrzycowa, nefropatia oraz zaburzenia krążenia obwodowego. Głównym celem prowadzonej terapii jest farmakologiczne zmniejszenie glikemii poposiłkowej. Obniżenie poziomu cukru we krwi uzyskuje się tą metodą poprzez zahamowanie aktywności enzymów α -amylazy i α -glukozydazy, hydrolizujących węglowodany złożone. Pierwszy z wymienionych jest wydzielany przez trzustkę, zaś drugi jest obecny w ścianie jelita cienkiego.

Z danych literaturowych wynika, iż kwas oleanolowy wykazuje silne działanie hamujące zarówno aktywność α -amylazy [111] jak i α -glukozydazy. Aktywność tego ostatniego enzymu obniżają również pochodne półsyntetyczne kwasu oleanolowego [112]. W badaniach na zwierzętach stwierdzono, że saponinowe pochodne kwasu oleanolowego opóźniają opróżnianie żołądka z zawartości na skutek zwiększonego wydzielania i/lub produkcji dopaminy, co mogłoby zostać wykorzystane w terapii cukrzycy II rodzaju [113,114]. Kwas oleanolowy może opóźnić rozwój powikłań cukrzycowych poprzez hamowanie glikozylacji cząsteczek białkowych [115,116]. Może on także obniżać stężenie glukozy we krwi na dwa sposoby, to jest poprzez zmniejszenie jej wchłaniania w jelicie, jak też zwiększenie uwalniania acetylocholiny, neuroprzekaźnika stymulującego receptory muskarynowe M3 w komórkach Langerhansa trzustki. W tym ostatnim przypadku do obniżenia stężenia glukozy we krwi dochodzi w wyniku zwiększenia wydzielania insuliny [117]. Pochodne glikozydowe takich właściwości nie posiadają.

Enzymem istotnym dla metabolizmu glukozy w cukrzycy II rodzaju - obok wspomnianych wyżej α -amylazy i α -glukozydazy - jest fosforylaza glikogenu. Jest ona odpowiedzialna za glikogenolizę. Zahamowanie aktywności fosforylazy glikogenu powoduje zmniejszenie uwalniania glukozy zmagazynowanej w wątrobie w postaci glikogenu. Badania

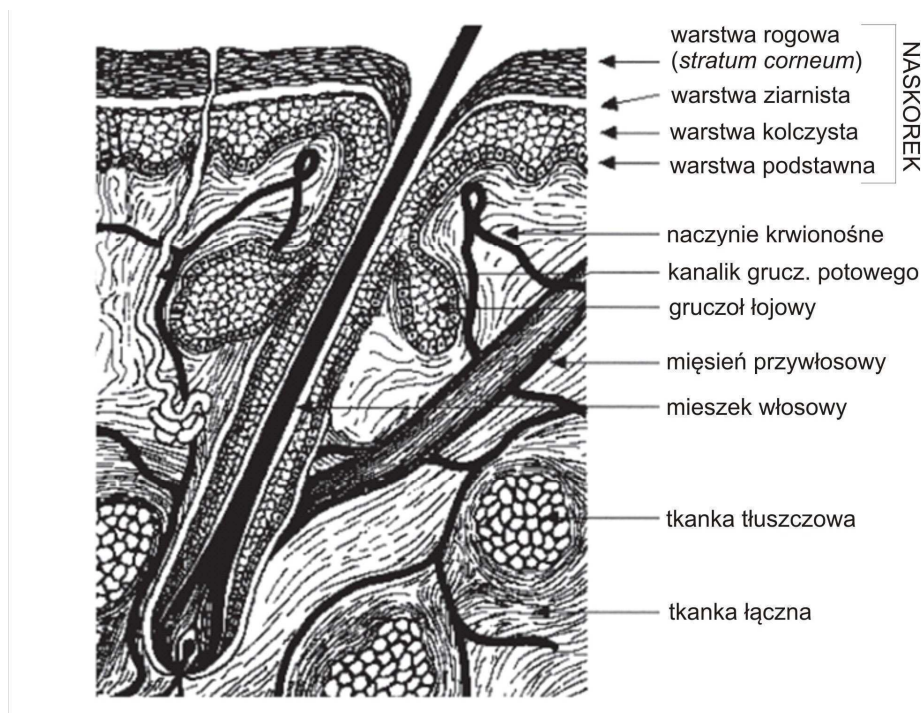
kwasy oleanolowe i niektórych jego półsyntetycznych pochodnych, wykonane *in vitro* oraz *in vivo*, dowiodły ich działania obniżającego aktywność fosforylasy glikogenowej [118].

W ostatnich latach szczególne zainteresowanie wzbudza wpływ białkowej fosfatazy tyrozynowej (PTP-1B) na powstawanie zjawiska insulinooporności. Wymieniony enzym dezaktywuje, białka biorące udział w pobudzeniu receptora insulinowego, zmniejszając odpowiedź receptora na insulinę poprzez defosforylację reszt tyrozynowych białek [119]. Badania *in vitro* wskazują na hamujące działanie kwasu oleanolowego w stosunku do wspomnianego enzymu PTP-1B [120].

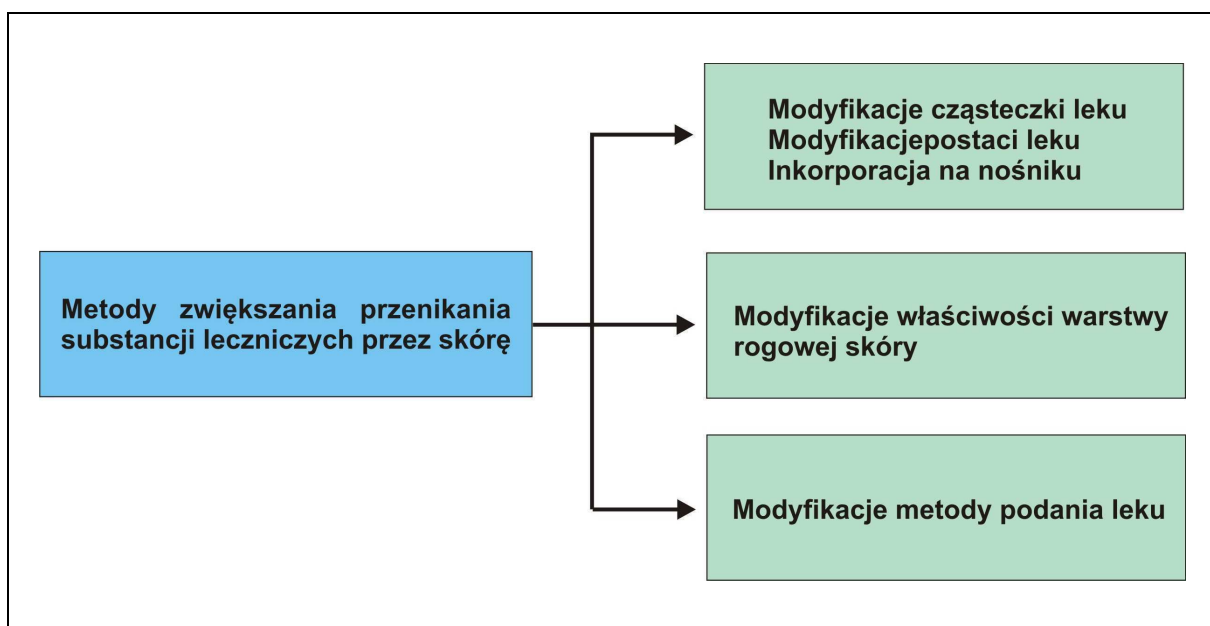
1.5.8. Promocja transportu przez błony lipidowe

Skóra stanowi jedną z najczęściej wykorzystywanych w lecznictwie dróg podawania leku. Dotyczy to zarówno preparatów działających miejscowo jak i środków przenikających do krwiobiegu, co pozwala na uzyskanie efektu ogólnoustrojowego. Podanie przezskórne leków o działaniu ogólnym posiada liczne zalety. Pozwala na przykład uniknąć efektu pierwszego przejścia, rozkładu substancji leczniczej w środowisku przewodu pokarmowego, działania drażniącego leku na przewód pokarmowy oraz interakcji z innymi lekami i składnikami pożywienia. Przenikalność leków przez skórę jest jednak ograniczona. Zależy ona bowiem od budowy jego cząsteczki [121,122]. Przy podawaniu przezskórnym największą barierę dla leku stanowi zewnętrzna warstwa rogowa naskórka (*stratum corneum*, Rycina 13), zbudowana z wielu warstw martwych, złuszczonej keratynocytów. Warstwa rogowa stanowi barierę chroniącą głębsze warstwy skóry przed zewnętrznymi czynnikami chemicznymi i biologicznymi oraz promieniowaniem ultrafioletowym. Warstwa rogowa naskórka ogranicza także utratę wody przez organizm. W przestrzeniach międzykomórkowych znajdują się substancje o charakterze lipidowym, takie jak ceramidy, triglicerydy, kwasy tłuszczowe, cholesterol i siarczan steroli. Tworzą one dwie warstwy, rozdzielone monomolekularną warstwą wody [123-125]. Ze względu na lipofilowy charakter zewnętrznej warstwy rogowej naskórka (*stratum corneum*), przez skórę najłatwiej przenikają substancje o charakterze hydrofobowym i raczej niewielkiej masie cząsteczkowej (<500 Da). Niekiedy zdarza się, iż przenikalność jest zbyt niska dla uzyskania pożądanego efektu terapeutycznego, nawet w przypadku substancji spełniających powyższe warunki. Dlatego też w wielu przypadkach konieczne jest zastosowanie technik zwiększających przenikalność substancji leczniczych przez skórę. Stosowane metody polegają na modyfikacji leku i/lub

jego postaci względnie modyfikacji warstwy rogowej naskórka albo też modyfikacji metody podania (Rycina 14) [121,122].



Rycina 13. Budowa skóry [wg 128].



Rycina 14. Klasyfikacja metod zwiększania przenikania substancji leczniczych przez skórę

Modyfikacje chemiczne leku sprowadzają się do stosowania prekursorów (proleków) charakteryzujących się lepszą wchłanialnością, aniżeli sam lek. W tej metodzie prekursor jest przekształcany w substancję aktywną dopiero po wchłonięciu. Za przykład niech posłużą leki sterydowe, podawane w postaci estrów. Modyfikacje obejmujące formulację leku polegają z kolei na zmianie postaci leku względnie inkorporacji leku w nośniku, na przykład w liposomach lub w stałych nanocząstkach lipidowych [126].

Modyfikacje metody podania leku obejmują między innymi techniki polegające na zastosowaniu prądu elektrycznego oraz wykorzystaniu zjawiska jonoforezy i elektroporacji. W przypadku zjawiska elektroporacji zwiększenie przepuszczalności zewnętrznej warstwy rogowej naskórka uzyskuje się za pomocą krótkich impulsów elektrycznych, które prowadzą do powstania drobnych kanalików [126]. Inne metody polegają na usunięciu warstwy rogowej i aplikacji leku na żywy naskórek albo też zastosowaniu zestawu mikroigieł do aplikacji substancji aktywnej bezpośrednio do żywych warstw skóry [127].

Metody wpływające na zwiększenie przepuszczalności zewnętrznej warstwy rogowej naskórka obejmują między innymi okluzję, przyczyniającą się do zwiększenia nawodnienia warstwy rogowej naskórka. Inna metoda polega na zastosowaniu promotorów wchłaniania, to jest substancji chemicznych, które po przeniknięciu do warstwy rogowej, zmieniają jej przepuszczalność w wyniku oddziaływania z zawartymi w niej lipidami. W zależności od właściwości fizykochemicznych promotorów sorpcji, uporządkowany układ lipidów międzykomórkowych, wchodzących w skład naskórka, może ulec zaburzeniu, polegającym na częściowym ich rozpuszczeniu, upłynnieniu względnie na zmianie hydratacji ich grup polarnych. Promotory wchłaniania rozpuszczając się w lipidach naskórkowych zwiększają rozpuszczalność leku, co również zwiększa wchłanianie. Aby substancja mogła być stosowana jako promotor sorpcji, powinna szybko przenikać do warstwy rogowej naskórka i tam się kumulować, być nieaktywna farmakologicznie, nietoksyczna, niedrażniąca i nie wywoływać odczynów alergicznych. Nie może ona wchodzić w interakcje z lekiem i innymi składnikami preparatu. Istotną właściwością promotora wchłaniania jest odwracalność jego działania, co oznacza przywrócenie normalnego funkcjonowania warstwy rogowej po jego eliminacji z naskórka. Najczęściej jako promotory wchłaniania stosuje się alkohole, glikole, nienasycone kwasy tłuszczowe oraz terpenoidy. Promotorem wchłaniania jest również woda, która zwiększa przepuszczalność warstwy rogowej naskórka na skutek jej silnego

nawodnienia. Substancją modelową w badaniach transportu przez skórnego jest N-dodecylokaprolaktam (Azon) [121].

Z doniesień literaturowych wynika, iż związki o charakterze saponin triterpenoidowych wchodzą w interakcje z błonami biologicznymi, zwiększając ich przepuszczalność. Uważa się, iż mechanizm tego zjawiska polega na tworzeniu kompleksów z udziałem cząsteczek saponin i cholesterolu w błonie komórkowej, co skutkuje wytworzeniem w niej porów. Stwierdzono, iż saponiny mogą zwiększać przepuszczalność również błon fosfolipidowych nie zawierających w swej strukturze cholesterolu. W tym ostatnim przypadku saponiny działają jak niespecyficzne detergenty. Zdolność zwiększania przepuszczalności błon komórkowych leży u podstaw właściwości hemolitycznych niektórych saponin [128,129].

2. PRZEDMIOT I CEL BADAŃ

Niniejsza praca stanowi kontynuację badań, prowadzonych w Katedrze i Zakładzie Chemii Organicznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, zmierzających do wprowadzenia heteroatomów, w tym głównie atomu azotu, do cząsteczek związków pochodzenia naturalnego, to jest triterpenoidów pięciocyklicznych podgrupy oleananu. Celem tych badań jest uzyskanie na bazie triterpenoidów klasy połączeń alkaloidopodobnych o interesujących właściwościach biologicznych [82,130].

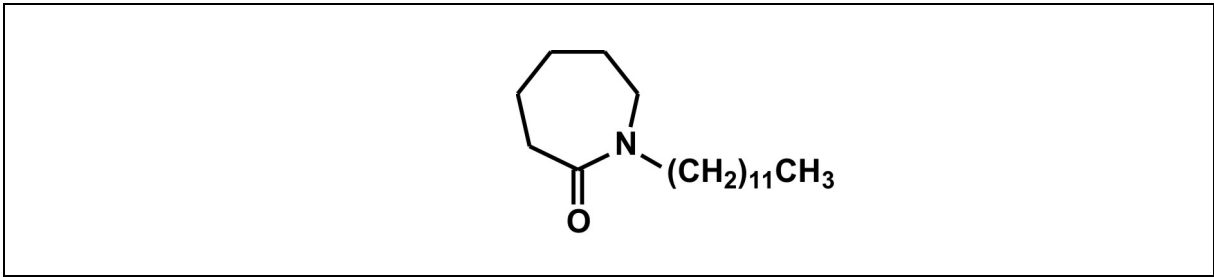
W Katedrze otrzymano szereg azotowych pochodnych kwasu oleanolowego, wśród których znalazły się związki z ugrupowaniem hydroksyiminowym w pozycji C-3 i/lub C-12 (Rycina 16). Te ostatnie posłużyły jako substraty w reakcji przegrupowania Beckmanna, prowadzącej do otrzymania pochodnych o charakterze laktamu z siedmioczłonowym układem heterocyklicznym, zastępującym sześcioczłonowy izocykliczny pierścień A i/lub C szkieletu triterpenoidowego, oraz pochodnych o charakterze nitrylu. Celowość podejmowanych wysiłków wprowadzenia do cząsteczki triterpenoidu głównie układu laktamowego, wynika z faktu, iż wywiera on korzystny wpływ na zdolność przenikania przezskórnego preparatów leczniczych aplikowanych na skórę. Potwierdziły to badania otrzymanych laktamów, przeprowadzone pod kątem ich zdolności do aktywowania transportu przezskórnego. W wielu przypadkach stwierdzono działanie nawet korzystniejsze od wzorcowego azonu, to jest N-dodecylokaprolaktamu (Rycina 15), znanego promotora wchłaniania [8,131].

Tematyka pracy doktorskiej rozszerza badania prowadzone w Katedrze o rentgenowską analizę strukturalną nowych azotowych pochodnych kwasu oleanolowego, zsyntezowanych przez dr Barbarę Bednarczyk-Cwynar* [8].

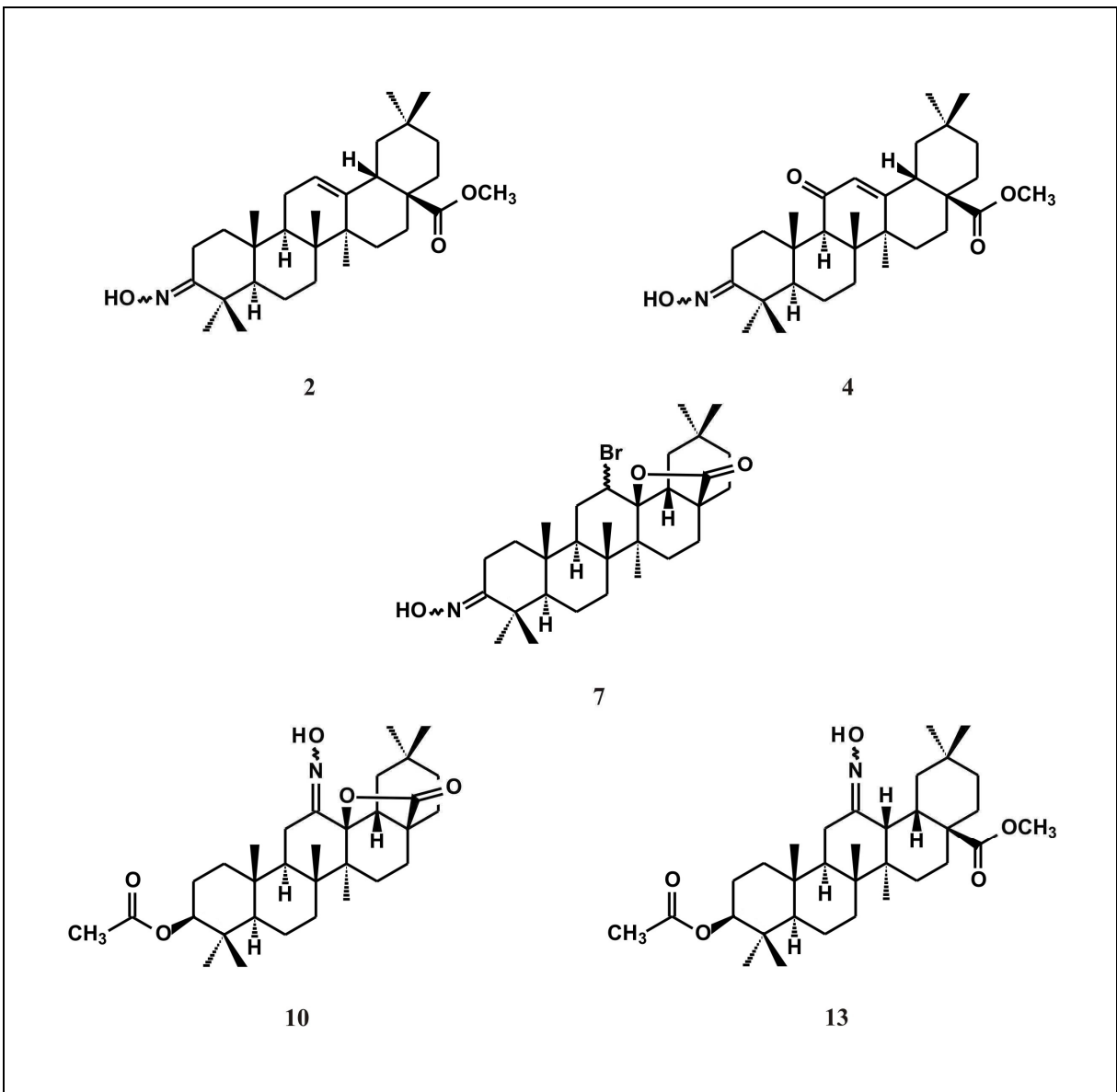
Badane związki mają charakter oksymu (**2, 4, 7, 10 i 13**; Rycina 16), laktamu (**1, 3, 5, 8, 11 i 14**; Rycina 17) oraz nitrylu (**1, 6, 9, 12 i 15**; Rycina 17 i 18). Pierwsze są produktami działania hydroksyloaminy na produkty utlenienia estru metylowego kwasu oleanolowego względnie estru metylowego kwasu 3 β -acetoksyoleanolowego.

Pochodne o charakterze laktamów i nitryli powstały natomiast z wymienionych oksymów w reakcji przegrupowania Beckmanna. Wszystkie wymienione wyżej związki nie były wcześniej poddawane analizie rentgenograficznej.

* Pani dr B. Bednarczyk-Cwynar składam serdeczne podziękowanie za udostępnienie związków do badań rentgenograficznych.

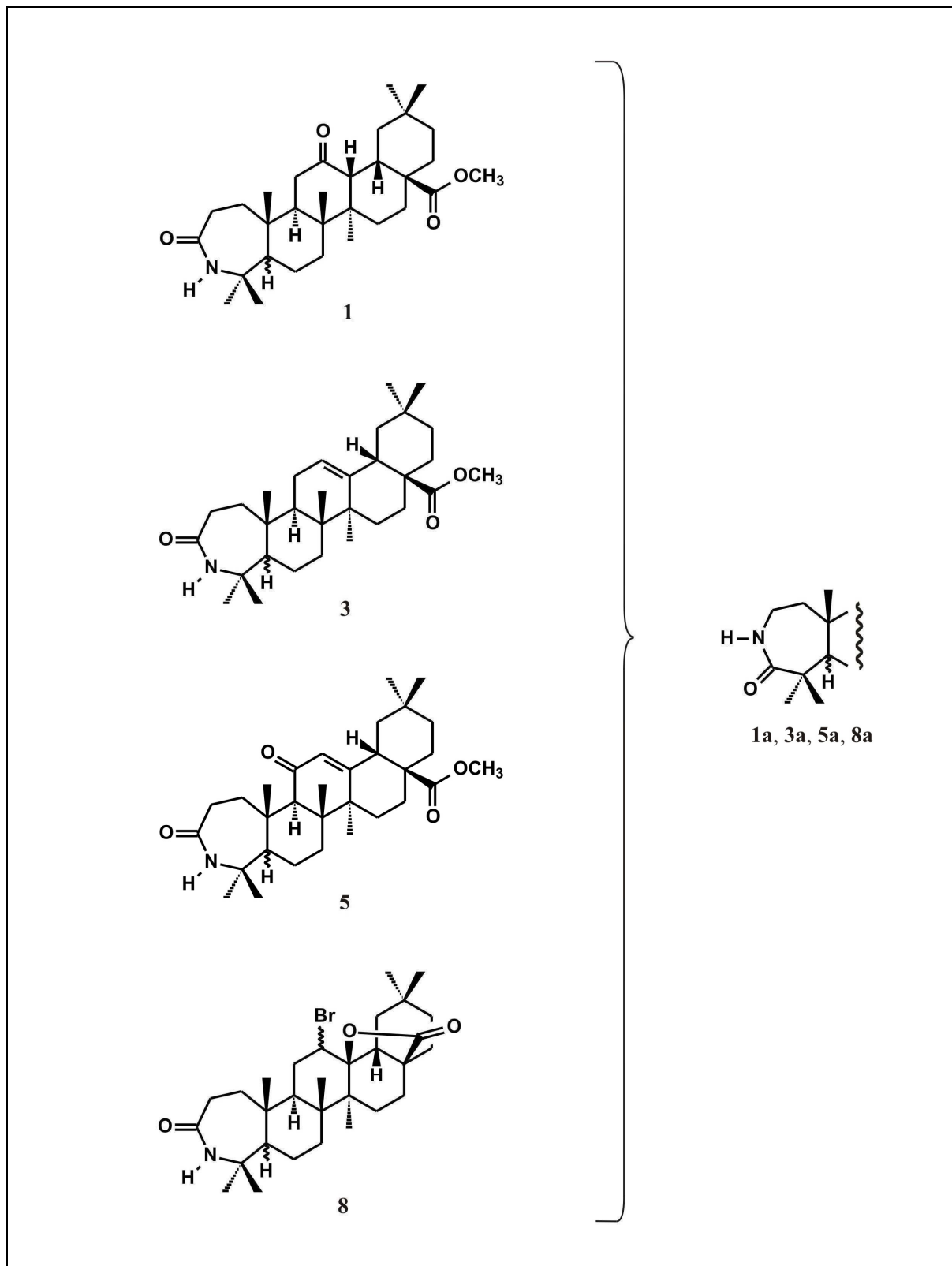


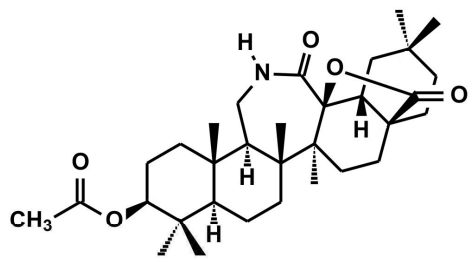
Rycina 15. Azon (*N*-dodecylokaprolaktam)



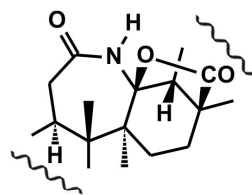
Rycina 16. Struktury cząsteczek pochodnych kwasu oleanolowego z grupą oksymową. Wzory związków określone w oparciu o wyniki analizy spektralnej

Rycina 17. Struktury cząsteczek pochodnych kwasu oleanolowego o charakterze laktamu. Wzory związków określone w oparciu wyniki analizy spektralnej

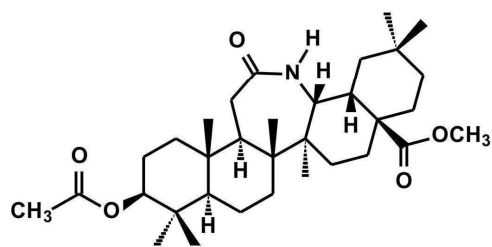




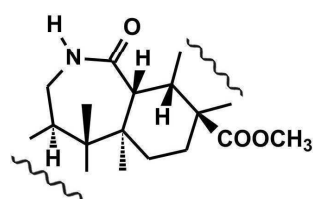
11



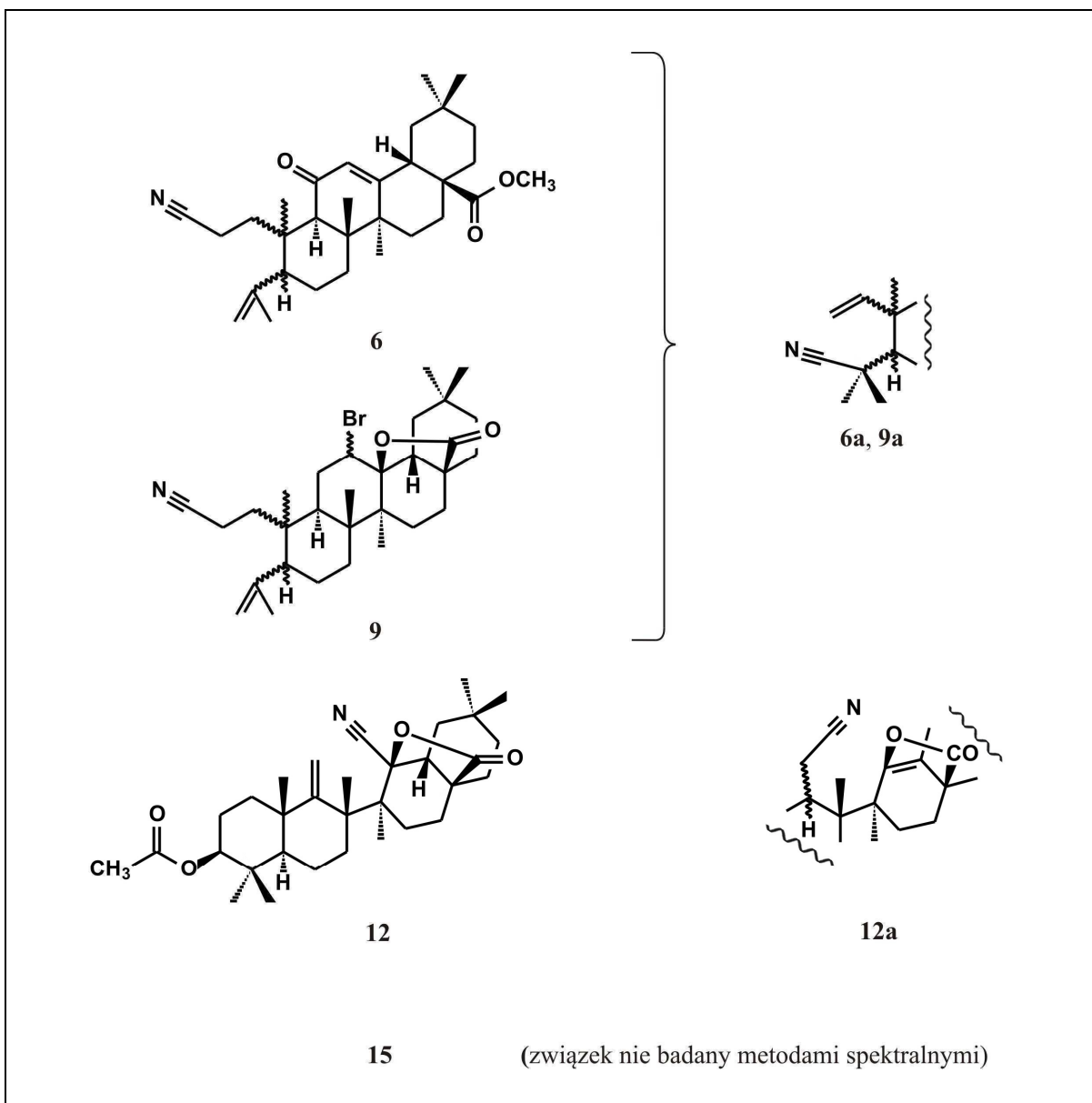
11a



14



14a



Rycina 18. Struktury cząsteczek pochodnych kwasu oleanolowego o charakterze nitylu. Wzory związków określone w oparciu o wyniki analizy spektralnej

Konieczność przeprowadzenia rentgenowskiej analizy strukturalnej zarówno substratów jak i produktów reakcji przegrupowania Beckmanna w obrębie pierścienia A lub C szkieletu triterpenoidowego została podyktowana faktem stwierdzenia znacznej rozbieżności pomiędzy strukturą sondażowo wybranego do analizy produktu reakcji Beckmanna, który określono w oparciu o badania spektralne (IR, NMR, MS) [8] jako ester metylowy kwasu 12-okso-3a-aza-A-homo-18 β -oleanan-28-owego (**1**, Rycina 17), a strukturą rzeczywistą tego związku, uzyskaną za pomocą analizy rentgenograficznej. W oparciu o wyniki tej ostatniej wykazano,

iż jest on estrem metylowym kwasu 3-nitrylo-11-okso-3,4-seko-12a-aza-C-homoolean-4(23)-en-28-owego (Rycina 20, 21, rozdz. 3.1).

Rozstrzygnięcia, odnoszące się do struktury piętnastu wybranych azotowych pochodnych kwasu oleanolowego, dały możliwość uzupełnienia i weryfikacji ich struktury. Dotyczą one szczególnie jednoznacznego określenia:

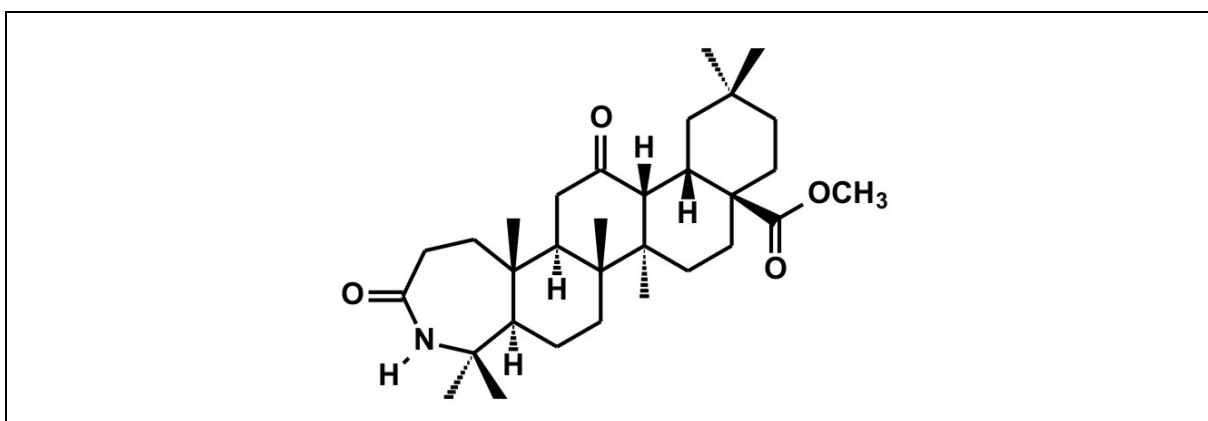
- konfiguracji grup hydroksyiminowych w pozycji 3 lub 12 w triterpenoidach **2, 4, 7, 10 i 13** (Rycina 16);
- struktury układów laktamowych, to jest przypisania im jednej z dwóch alternatywnych struktur **1/1a, 3/3a, 5/5a, 8/8a, 11/11a, 14,14a** (Rycina 17);
- lokalizacji grupy nitrylowej i wiązania podwójnego w triterpenoidach **1, 6, 9, 12, 15** (Rycina 18);
- konfiguracji na nowych centrach asymetrii w triterpenoidach **1 – 15**;
- konformacji poszczególnych pierścieni;
- sposobu łączenia pierścieni *A/B, B/C, C/D* i *D/E*.

Wyniki analizy rentgenograficznej dały ponadto możliwość zbadania kwestii stereospecyficzności reakcji przegrupowania Beckmanna w grupie triterpenoidów pentacyklicznych pochodnych oleananu, a także wyłonienia związków wykazujących podobieństwo struktury kryształów, określenia ich stopnia podobieństwa w sposób ilościowy i prześledzenia roli wiązań wodorowych w kształtowaniu się podobieństwa struktury kryształów analizowanych par związków.

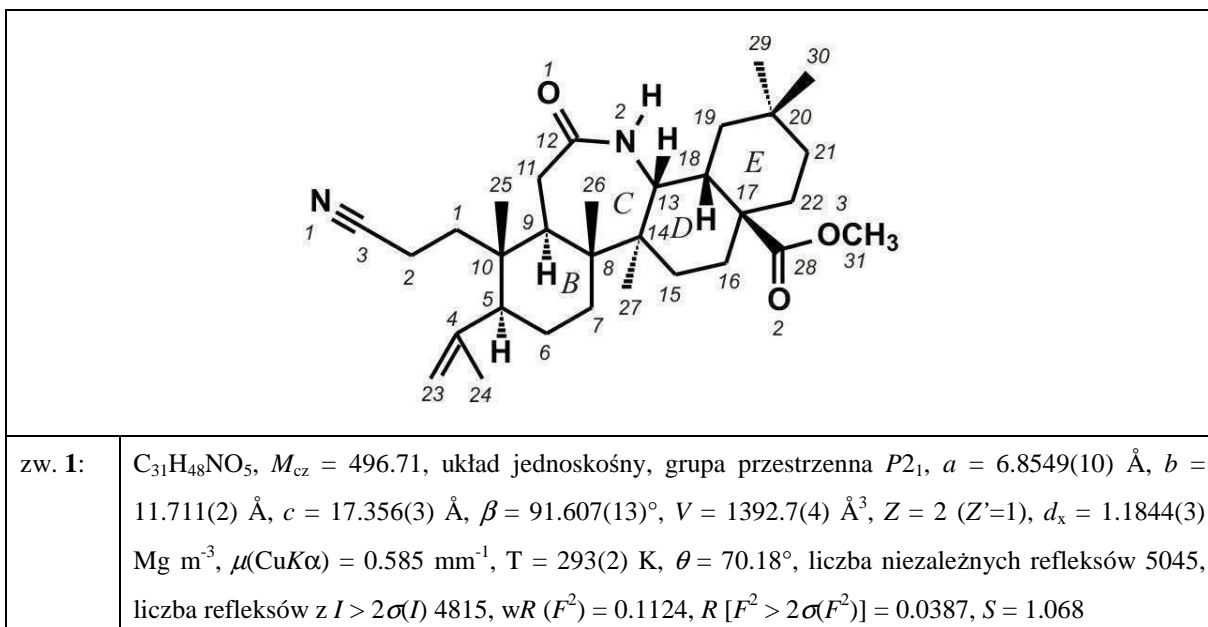
3. WYNIKI BADAŃ WŁASNYCH

3.1. ESTER METYLOWY KWASU 3-NITRYLO-11-OKSO-3,4-SEKO-12A-AZA-C-HOMO-OLEAN-4(23)-EN-28-OWEGO (1)

Cząsteczce triterpenoidu **1** przypisano w oparciu o wyniki analiz spektralnych (IR, ^1H - i ^{13}C -NMR) strukturę estru metylowego kwasu 12-okso-3a-aza-A-homo-18 β -oleanan-28-owego (Rycina 19) [8].



Rycina 19. Wzór triterpenoidu **1** określony w oparciu o badania spektroskopowe



Rycina 20. Struktura cząsteczki triterpenoidu **1** wyznaczona metodą rentgenograficzną i niektóre dane krystalograficzne

Analiza rentgenograficzna wykazała, iż cząsteczka związku **1** zaproponowanej wcześniej struktury nie posiada, lecz jest estrem metylowym kwasu 3-nitrylo-11-okso-3,4-seko-12a-aza-

C-homo-18 β -olean-4(23)-en-28-owego (Rycina 20 i 21). Uzyskany obraz cząsteczki jest dowodem na to, iż reakcja estru metylowego kwasu 3,12-diokso-18 β -oleanan-28-owego z chlorowodorkiem hydroksyloaminy oraz kolejna reakcja przegrupowania Beckmanna, obydwie zaszły w obrębie pierścieni A i C triterpenoidu, a nie - jak sugerowano w oparciu o badania spektroskopowe - tylko w pierścieniu A. Badania pozwoliły stwierdzić, iż w obrębie pierwotnego pierścienia A miała miejsce nie reakcja przegrupowania Beckmanna I rzędu, lecz reakcja przegrupowania Beckmanna II rzędu albo inaczej reakcja fragmentacji Beckmanna. Reakcja przegrupowania Beckmanna I rzędu zaszła również, lecz w obrębie pierścienia C.

W wyniku reakcji fragmentacji Beckmanna pierścień A uległ otwarciu na skutek rozerwania wiązania C3–C4. Z jego elementów utworzyły się dwa nowe podstawniki. Przy atomie węgla C10 znajduje się grupa 2-cyanoetylowa o orientacji α , obejmująca atomy węgla C1, C2 i C3 pierwotnego pierścienia A. Liniowy fragment tej grupy, obejmujący atomy C2, C3, N1, w odniesieniu do wiązania C1–C10 przyjmuje konformację pośrednią pomiędzy antyklinalną i antyperiplanarną (+*ac*/*ap*) [kąt torsyjny C3–C2–C1–C10: 162.75(17) $^\circ$]. Z kolei wiązanie C1–C2 w stosunku do wiązania C5–C10 pierścienia B przyjmuje konformację antyklinalną (-*ac*) [kąt torsyjny C2–C1–C10–C5: -67.07(19)], do wiązania C10–C25 konformację antyperiplanarną (+*ap*) [kąt torsyjny C2–C1–C10–C25: 174.38(15) $^\circ$]. Na drugą grupę podstawnikową, to jest izopropenylową, składają się atomy węgla C4, C23 i C24, które wraz z atomem C5 pierścienia B tworzą układ w przybliżeniu płaski [r.m.s. = 0.012 Å]. Średnia płaszczyzna tego układu tworzy z płaszczyzną najmniejszych kwadratów pierścienia B kąt dwuścienny 67.27(8) $^\circ$. Jednocześnie wiązanie podwójne C4=C23 [1.326(4) Å] w podstawniku izopropenylowym przyjmuje w stosunku do wiązania C5–C10 pierścienia B konformację pośrednią pomiędzy synklinalną i antyklinalną (+*sc*/*ac*) [kąt torsyjny C23–C4–C5–C10: 93.3(2) $^\circ$].

Aksjalna grupa metylowa C25 posiada w cząsteczce triterpenoidu **1** orientację β , zaś atom wodoru w pozycji C5 orientację α . Wymienione podstawniki zachowują zatem niezmienną orientację w stosunku do kwasu oleanolowego [6].

W cząsteczce triterpenoidu **1** pierwotny izocykliczny pierścień C zastępuje siedmioczłonowy układ laktamowy, w obrębie którego amidowy atom azotu N2 łączy atomy węgla karbonylowy C12 i trzeciorzędowy C13 (Rycina 20 i 21). Obserwowana długość wiązania C12–N2, 1.338(2) Å, wykazuje daleko idącą zgodność z literaturową długością

pojedynczego wiązania (C^* -)NH-C(=O), 1.334(1) Å, dla drugorzędowej grupy amidowej [132].

Siedmioczłonowy pierścień laktamowy posiada konformację krzesła {parametry C.&P.* [133]: $Q(2) = 0.388(2)$ Å, $Q(3) = 0.695(2)$ Å, $\varphi(2) = 319.8(3)^\circ$, $\varphi(3) = 282.47(14)^\circ$ }, podobnie jak pierścienie sześcioczłonowe *B*, *D* i *E* w cząsteczce [parametry C.&P. [134] dla pierścienia *B*: $Q = 0.557(2)$ Å, $\theta = 13.5(2)^\circ$, $\phi = 40.8(8)^\circ$; dla pierścienia *D*: $Q = 0.540(2)$ Å, $\theta = 166.4(2)^\circ$, $\phi = 33.8(9)^\circ$; dla pierścienia *E*: $Q = 0.543(2)$ Å, $\theta = 173.3(2)^\circ$, $\phi = 342(2)^\circ$].

Pierścienie *B/C* (drugi z nich to układ laktamowy) i *C/D* posiadają przestrzenną konfigurację *trans* [kąty dwuścienne 16.63(10) i 19.07(10)°], zaś pierścienie *D/E* konfigurację *cis* [kąt dwuścienny 56.69(7)°].

Grupa metoksykarbonylowa w pozycji C17, ustawiona aksjalnie do pierścienia *D* i ekwatorialnie do pierścienia *E*, jest płaska (C28,C31,O2,O3; r.m.s. = 0.006 Å), a występujące w niej ugrupowanie karbonylowe C28=O2 ustawia się synperiplanarnie (*-sp*) względem wiązania C17-C18 wspólnego dla pierścieni *D* i *E* [kąt torsyjny C18-C17-C28-O2: -6.5(3)°].

Wartości długości wiązań węgiel-węgiel i węgiel-tlen w triterpenoidzie **1** są zbliżone do znalezionych w kwasie oleanolowym [6] (Tabela 1). Długości wiązań węgiel-azot są porównywalne z literaturowymi wartościami wiązań $Csp^3-NH(-C=O)$, $(O=C)-NH$ i $(Csp^3)-C\equiv N$ [132] (Tabela 1). Podobne stwierdzenia dotyczą również kątów walencyjnych, głównie endocyklicznych. Niezależnie od poczynionych obserwacji, warto zwrócić uwagę wydłużenie o około 35σ (odchylen standardowych) wiązania C8-C14 [1.613(2) Å] (pomiędzy czwartorzędowymi atomami węgla) w stosunku do normalnej długości pojedynczego wiązania Csp^3-Csp^3 , 1.535(1) [132] oraz znaczne rozwarście endocyklicznego kąta walencyjnego C8-C9-C10 [118.94(13)°]. Co ciekawe, niewiele mniejszą deformację obserwuje się w przypadku egzocyklicznego kąta walencyjnego C4-C5-C10 [115.24(14)°]. Dla porównania w kwasie oleanolowym kąty C4-C5-C10 i C8-C9-C10 wynoszą w niezależnej cząsteczce A: 117.30(13) i 117.33(13)°, w cząsteczce B: 117.90(13) i 116.98(13)° [6]. Do deformacji kąta C4-C5-C10 przyczynia się - jak się wydaje - ustawienie grupy izopropenyłowej, wymuszone zawadą przestrzenną, którą tworzy grupa cyjanoetylowa. W konsekwencji dochodzi nie tylko do wzajemnego odpychania grup metylowych C25 i C26,

* Używany w pracy skrót "parametry C.&P." oznacza parametry Cremera i Pople'a.

ale także grup metylowych C24 i C25, jak w kwasie oleanolowym oraz jego pochodnych z zachowanym sześcioczołowym pierścieniem A [6,135-153]. Niewiążące odległości międzyatomowe C24...C25 i C25...C26 [3.325(3) i 3.383(3) Å] wykazują zbliżone wartości i są wyraźnie zwiększone w porównaniu z niezdeformowanym układem 1a,3a-dimetylocykloheksanu, dla którego odległość pomiędzy atomami węgla grup metylowych wynosi zaledwie 2.52 Å [154].

Tabela 1. Statystyka długości wiązań oraz analiza porównawcza z danymi literaturowymi

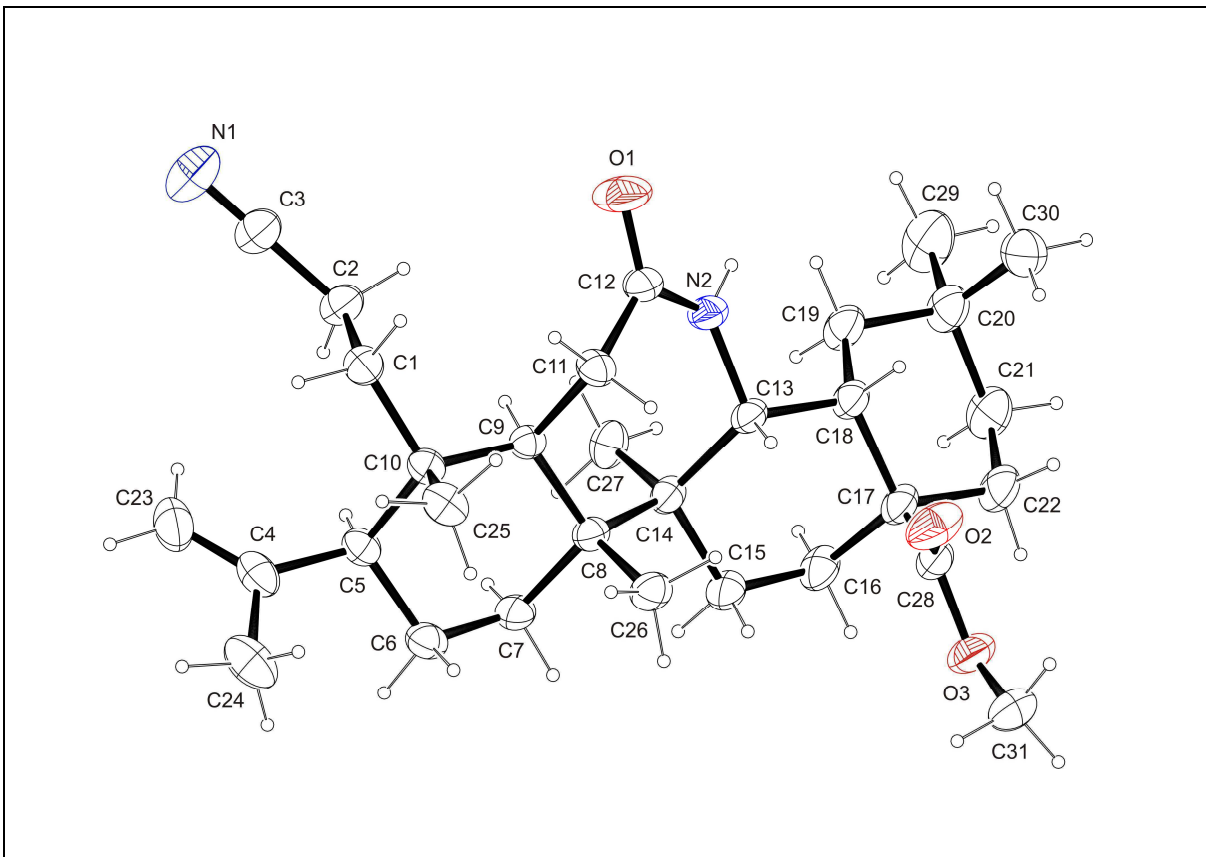
Triterpenoid 1		Dane literaturowe [6,132]	
Rodzaj wiązania {liczba wiązań}	Zakres wartości (Å) {wartość średnia}	Rodzaj wiązania	Zakres wartości (Å) {wartość średnia}
Csp^3-Csp^3 {26}	1.507(4) - 1.613(2) {1.543(4)}	Csp^3-Csp^3	1.509(2) - 1.594(2) † {1.542(2)}
Csp^3-Csp^2 {4}	1.489(2)-1.522(3) {1.506(8)}	Csp^3-Csp^2	1.503(2) – 1.537(2) † {1.524(5)}
Csp^3-Csp {1}	1.463(3)	Csp^3-Csp	1.470(1) ‡
C=C {1}	1.326(4)	C=C	1.324(2), 1.331(3) † {1.327(3)}
Csp^3-O {1}	1.435(3)	Csp^3-O	1.4401(19), 1.4373(19) † {1.4387(14)}
Csp^2-O {1}	1.331(2)	Csp^2-O	1.319(2), 1.317(3) † {1.318(1)}
C=O {2}	1.196(3), 1.219(2) {1.207(11)}	C=O	1.213(2), 1.218(2) † 1.215(2)
Csp^3-N {1}	1.467(3)	Csp^3-N	1.478(6) ‡
Csp^2-N {1}	1.338(2)	Csp^2-N	1.334(2) ‡
$C\equiv N$ {1}	1.138(3)	$C\equiv N$	1.136(1) ‡

† Zamieszczone wartości zostały uzyskane ze struktury kwasu oleanolowego [6].

‡ Wartości znalezione w pracy pt. *Typical interatomic distances: organic compounds* [132].

W sieci kryształu związku **1** cząsteczki łączą się za pomocą niekonwencjonalnych wiązań wodorowych $C15^i-H15B^i\cdots O2$ i $C31-H31B\cdots O1^{ii}$ (Tabela 2, Rycina 22) w warstwy, narastające równolegle do płaszczyzny *ab*. Warto zauważyć, iż amidowy atom azotu układu laktamowego nie uczestniczy w tworzeniu wiązań wodorowych.

W obrębie cząsteczki związku **1** stwierdzono obecność czternastu krótkich kontaktów wodór - wodór, obejmujących przedział wartości 1.92 - 2.20 Å, (Tabela 3, Rycina 23; suma promieni van der Waalsa dla atomów H: 2.40 Å). Łatwo zauważyć, iż kontakty te są następstwem głównie obecności aksjalnych grup metylowych C25, C26 i C27 w cząsteczce.

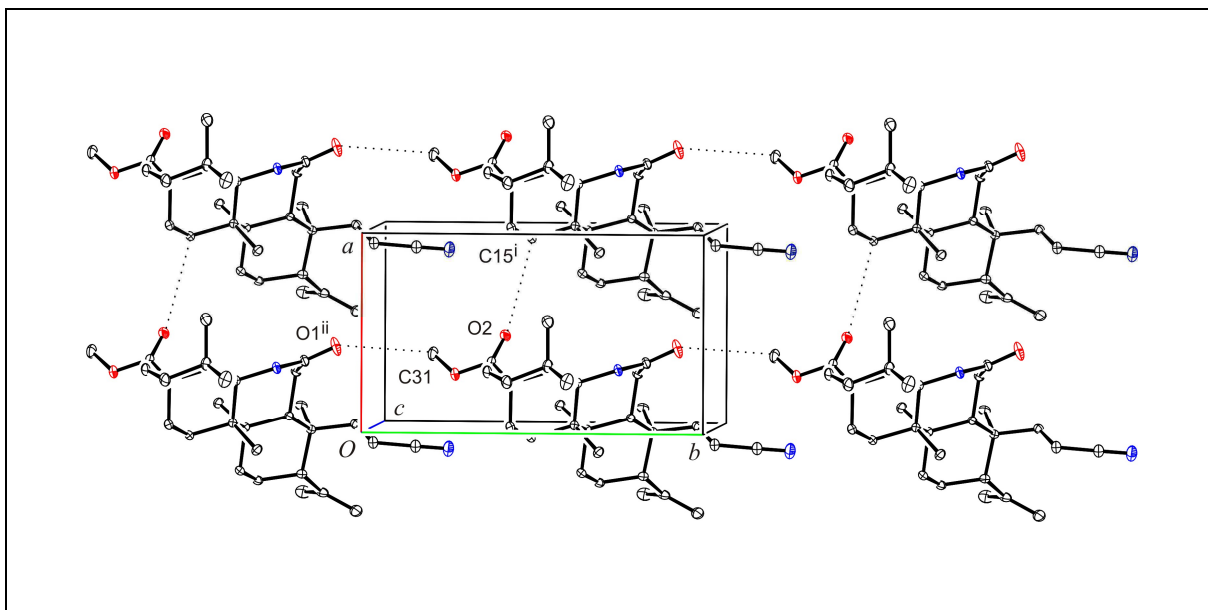


Rycina 21. Obraz przestrzenny cząsteczki triterpenoidu **1**

Tabela 2. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **1**

Wiązanie	Donor–H (Å)	H···Akceptor (Å)	Donor···Akceptor (Å)	Donor–H···A (°)
C13–H13···O2	0.98	2.40	3.029(2)	121
C15 ⁱ –H15B ⁱ ···O2	0.98	2.57	3.508(3)	163
C31–H31B···O1 ⁱⁱ	0.96	2.43	3.357(3)	163

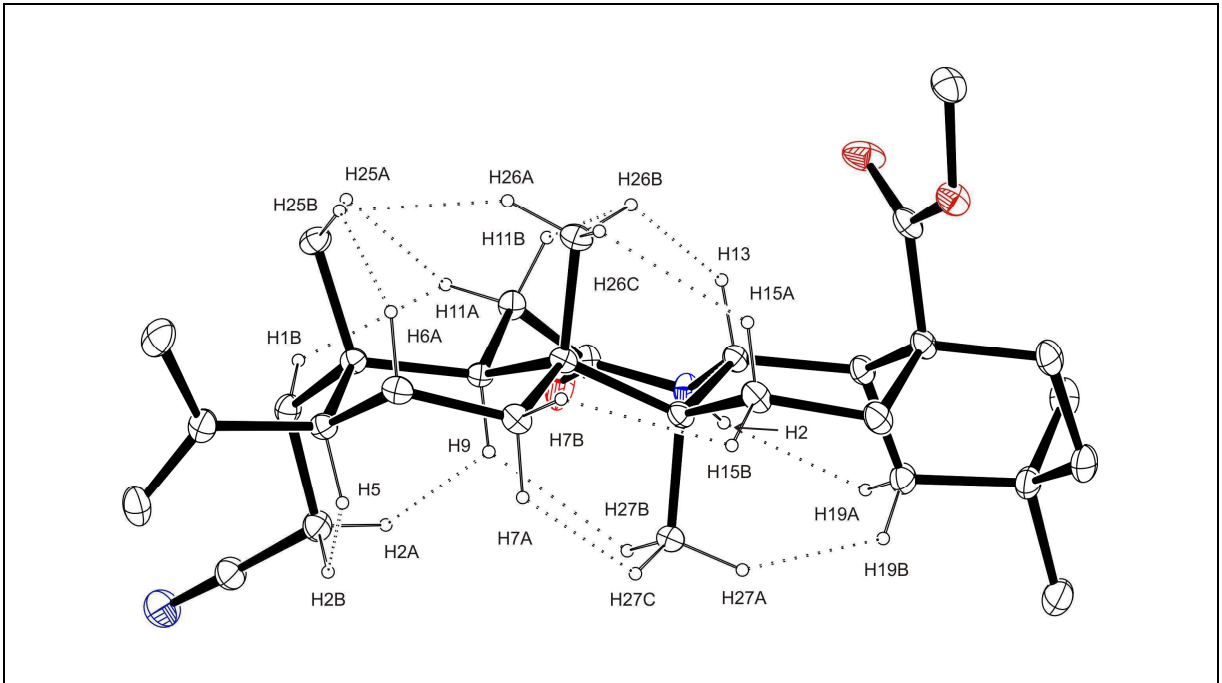
kody symetrii: (i) $-1+x, y, z$; (ii) $x, -1+y, z$



Rycina 22. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **1**

Tabela 3. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **1**

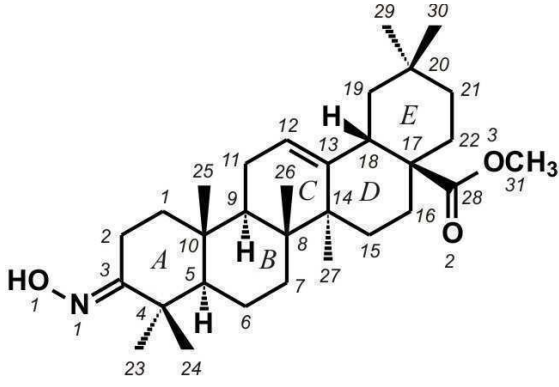
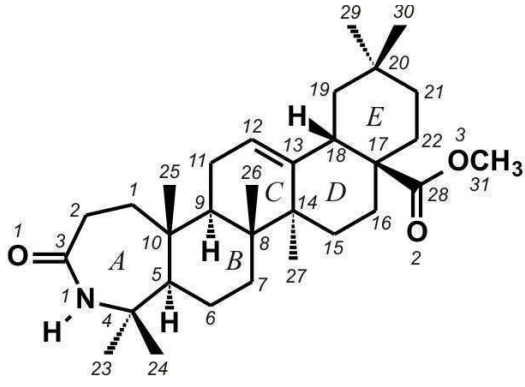
Odległości międzyatomowe (Å)	
H1B...H25A	2.02
H2...H19A	1.92
H2A...H9	2.19
H2B...H5	2.14
H6A...H25B	2.13
H7A...H27C	1.93
H7B...H15B	2.19
H9...H27B	2.07
H11A...H25A	2.11
H11B...H26B	2.20
H13...H26B	1.94
H15A...H26C	2.12
H19B...H27A	2.05
H25B...H26A	2.06



Rycina 23. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **1**

3.2. STRUKTURA SUBSTRATÓW I PRODUKTÓW REAKCJI PRZEGRUPOWANIA BECKMANNA W OBRĘBIE PIERŚCIENIA A TRITERPENOIDU

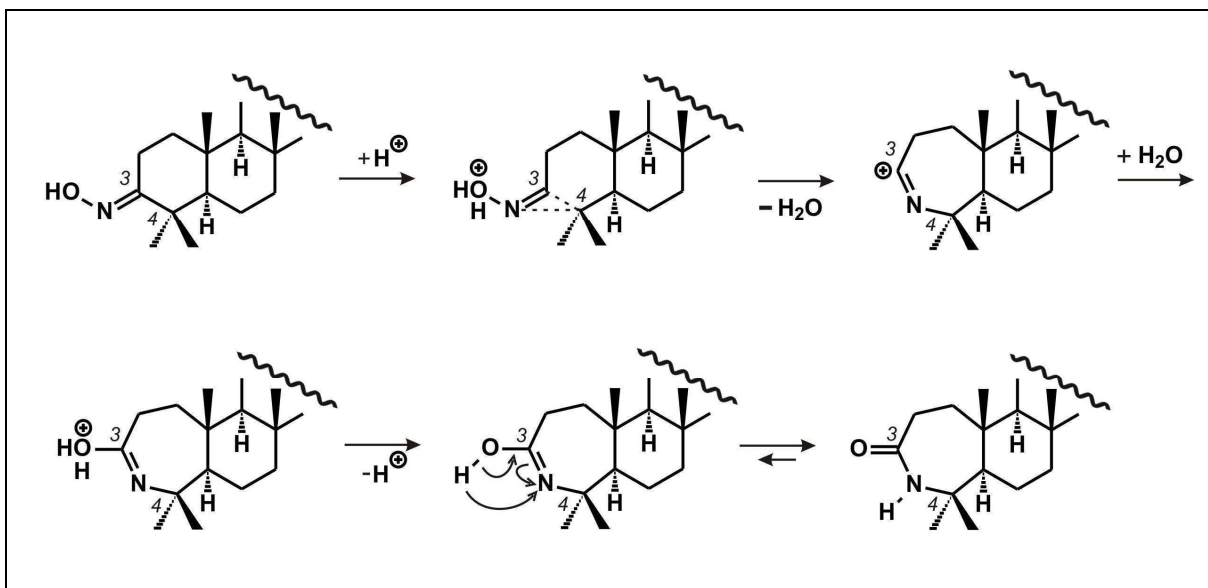
3.2.1. Ester metylowy kwasu 3-hydroksylimino-18 β -olean-12-en-28-owego (2) i ester metylowy kwasu 3-okso-3a-aza-A-homoolean-12-en-28-owego (3)

 <p style="text-align: center;">2</p>	 <p style="text-align: center;">3</p>
zw. 2:	C ₃₁ H ₄₉ NO ₃ , $M_{cz} = 483.71$, układ jednoskośny, grupa przestrzenna $P2_1$, $a = 6.974(1) \text{ \AA}$, $b = 37.691(8) \text{ \AA}$, $c = 10.775(2) \text{ \AA}$, $\beta = 93.35(3)^\circ$, $V = 2827.4(9) \text{ \AA}^3$, $Z = 4$ ($Z'=2$), $d_x = 1.1364(3) \text{ Mg m}^{-3}$, $\mu(\text{CuK}\alpha) = 0.552 \text{ mm}^{-1}$, $T = 293(2) \text{ K}$, $\theta = 70.37^\circ$, liczba niezależnych refleksów 10267, liczba refleksów z $I > 2\sigma(I)$ 8871, $wR(F^2) = 0.1142$, $R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.0384$, $S = 1.030$
zw. 3:	C ₃₁ H ₄₉ NO ₃ , $M_{cz} = 483.71$, układ jednoskośny, grupa przestrzenna $P2_1$, $a = 6.9067(8) \text{ \AA}$, $b = 37.446(4) \text{ \AA}$, $c = 10.5434(12) \text{ \AA}$, $\beta = 90.739(7)^\circ$, $V = 2726.6(5) \text{ \AA}^3$, $Z = 4$ ($Z'=2$), $d_x = 1.1784(2) \text{ Mg m}^{-3}$, $\mu(\text{MoK}\alpha) = 0.074 \text{ mm}^{-1}$, $T = 100(2) \text{ K}$, $\theta = 25.2^\circ$, liczba niezależnych refleksów 4984, liczba refleksów z $I > 2\sigma(I)$ 4415, $wR(F^2) = 0.2141$, $R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.0736$, $S = 1.064$

Rycina 24. Wzory triterpenoidów 2 i 3 oraz niektóre dane krystalograficzne

Triterpenoid **2**, użyty jako substrat w reakcji przegrupowania Beckmanna, różni się od kwasu oleanolowego rodzajem grupy funkcyjnej w pierścieniu A. W miejsce grupy hydroksylowej w pozycji 3 występuje grupa hydroksyliminowa (Rycina 24 i 27). Z analizy rentgenograficznej wynika, iż grupa ta posiada konfigurację *E* [kąt torsyjny O1A–N1A–C3A–C4A: $-178.4(2)^\circ$, O1B–N1B–C3B–C4B: $178.3(2)^\circ$]. W cząsteczkach triterpenoidu **3**, to jest cząsteczkach produktu reakcji przegrupowania Beckmanna I rzędu, pierwotny izocykliczny sześcioczłonowy pierścień A substratu zastępuje siedmioczłonowy układ laktamowy, w którym amidowy atom azotu N1 łączy atomy węgla karbonylowy C3 i czwartorzędowy C4 (Rycina 24 i 30). Otrzymane struktury substratu **2** i produktu **3** pozwalają wnioskować, iż

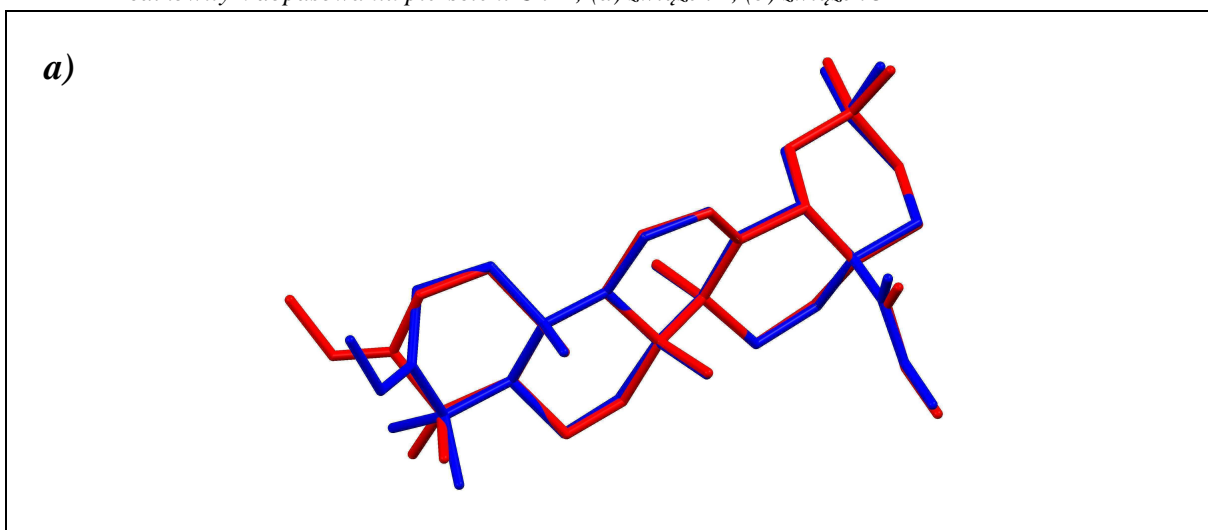
reakcja przegrupowania Beckmanna z ich udziałem posiada charakter stereospecyficzny. Schemat reakcji przedstawiono na rycinie 25.

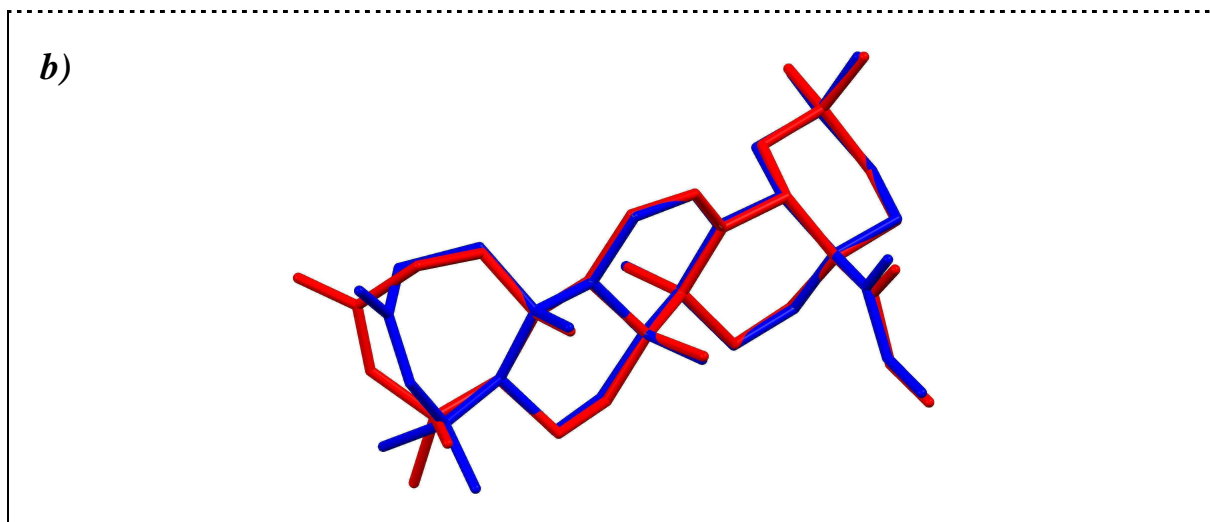


Rycina 25. Mechanizm reakcji przegrupowania Beckmanna I rodzaju w obrębie pierścienia A triterpenoidu

Badania rentgenograficzne wykazały, iż w asymetryczna część komórki elementarnej kryształów związków **2** i **3** zawiera dwie symetrycznie niezależne cząsteczki A i B, różniące się głównie konformacją pierścienia A (Rycina 26a i b).

Rycina 26. Nałożenie symetrycznie niezależnych cząsteczek A (kolor niebieski) i B (kolor czerwony), przy całkowitym dopasowaniu pierścieni C i D; (a) związek **2**, (b) związek **3**





U obydwu triterpenoidów pierścień A (w drugim przypadku o charakterze siedmioczłonowego układu laktamowego) posiada w cząsteczce A konformację skręconej łodzi, w cząsteczce B konformację krzesła {parametry C.&P. [133,134] dla związku **2**, cząsteczka A: $Q = 0.687(2) \text{ \AA}$, $\theta = 85.60(17)^\circ$, $\phi = 279.7(2)^\circ$, cząsteczka B: $Q = 0.524(2) \text{ \AA}$, $\theta = 6.1(2)^\circ$, $\phi = 318(2)^\circ$; dla związku **3**, cząsteczka A: $Q(2)=1.012(8) \text{ \AA}$, $Q(3)=0.208(8) \text{ \AA}$, $\phi(2)=332.2(5)^\circ$, $\phi(3)=175(2)^\circ$, cząsteczka B: $Q(2) = 0.400(9) \text{ \AA}$, $Q(3) = 0.614(9) \text{ \AA}$, $\phi(2) = 127.6(12)^\circ$, $\phi(3) = 103.1(8)^\circ$ }.

Pierścień C z wiązaniem podwójnym C12=C13 [zw. **2**: $1.316(2) \text{ \AA}$ (cząst. A), $1.320(2) \text{ \AA}$ (cząst. B); zw. **3**: $1.328(10) \text{ \AA}$ (cząst. A), $1.348(10) \text{ \AA}$ (cząst. B)] posiada w badanych związkach konformację półłodzi [C.&P. dla związku **2**, cząsteczka A: $Q = 0.545(2) \text{ \AA}$, $\theta = 48.7(2)^\circ$, $\phi = 9.3(3)^\circ$; dla cząsteczki B: $Q = 0.566(2) \text{ \AA}$, $\theta = 51.5(2)^\circ$, $\phi = 359(3)^\circ$; dla związku **3**, cząsteczka A: $Q = 0.538(8) \text{ \AA}$, $\theta = 47.6(9)^\circ$, $\phi = 7.2(12)^\circ$; cząsteczka B: $Q = 0.576(8) \text{ \AA}$, $\theta = 51.5(8)^\circ$, $\phi = 358.6(10)^\circ$] z atomem węgla C8 wychylającym się od płaskiego lub w przybliżeniu płaskiego układu pozostałych atomów pierścienia (C9/C11/C12/C13/C14) na odległość $0.7431(17)$ i $0.7684(17) \text{ \AA}$ (zw. **2**, cząst. A i B) oraz $0.730(8)$ i $0.786(8) \text{ \AA}$ (zw. **3**, cząst. A i B). Pierścienie B, D i E posiadają w cząsteczkach obydwu badanych związków konformację krzesła w różnym stopniu zniekształconego.

Związane z pierścieniem A aksjalnie ustawione grupy metylowe C24 i C25 w niezależnych cząsteczkach A i B obydwu badanych triterpenoidów przyjmują względem siebie odpowiednio konformację pośrednią pomiędzy synperiplanarną i synklinalną (*-sp/-sc*) [kąt torsyjny C24A–C4A–C10A–C25A dla zw. **2**: $-32.41(19)^\circ$; dla zw. **3**: $-38.8(7)^\circ$] oraz

konformację synperiplanarną (-sp) względnie zbliżoną do synperiplanarnej (+sp) [kąt torsyjny C24B–C4B–C10B–C25B dla zw. **2**: $-2.7(2)^\circ$; dla zw. **3**: $8.4(7)^\circ$]. Obserwacje te pozostają w zgodzie z wzajemnym ustawieniem aksjalnie ustawionych grup metylowych ($\theta_{Me} = \pm 30^\circ$ oraz $\theta_{Me} = 0^\circ$) w układzie 1a,3a-dimetylocykloheksanu o konformacji skręconej łodzi oraz konformacji krzesła [155].

Pierścienie *D/E* wykazują konfigurację przestrzenną *cis*, [kąty dwuścienne dla związku **2**: $61.37(5)^\circ$ (cząst. A) i $59.26(6)^\circ$ (cząst. B), dla związku **3**: $60.75(22)^\circ$ (cząst. A) i $60.15(21)^\circ$ (cząst. B)], zaś pierścienie *A/B* i *B/C* konfigurację *trans* [kąty dwuścienne dla związku **2**: $16.40(5)^\circ$ i $16.40(5)^\circ$ (cząst. A), $16.40(5)^\circ$ i $16.40(5)^\circ$ (cząst. B); dla związku **3**: $22.13(26)^\circ$ i $12.58(27)^\circ$ (cząst. A), $22.87(26)^\circ$ i $12.27(25)^\circ$ (cząst. B)].

W niezależnych cząsteczkach A i B triterpenoidu **3** aksjalna grupa metylowa C25 posiada orientację β , zaś atom wodoru w pozycji C5 orientację α . Wymienione podstawniki zachowują zatem niezmienną orientację w stosunku do substratu **2** oraz do kwasu oleanolowego [6].

Grupa estrowa przy atomie węgla C17, ustawiona w cząsteczkach związków **2** i **3** aksjalnie do pierścienia *D* i ekwatorialnie do pierścienia *E*, jest płaska (r.m.s. dla związku **2**: 0.0012 \AA ; dla związku **3**: 0.0110 \AA), a występujące w niej wiązanie C28=O2 przyjmuje konformację pośrednią pomiędzy synperiplanarną i synklinalną [kąt torsyjny C18–C17–C28–O2 dla związku **2**: $-27.9(3)^\circ$ (cząst. A), $-30.6(3)^\circ$ (cząst. B); dla związku **3**: $-33.1(11)^\circ$ (cząst. A), $-32.2(11)^\circ$ (cząst. B)] względem wiązania C17–C18 wspólnego dla pierścieni *D* i *E*.

Długości wiązań węgiel-węgiel i węgiel-tlen w triterpenoidach **2** i **3** są zbliżone do opisanych w triterpenoidzie **1** (rozd. 3.1.; Tabela 1) i kwasie oleanolowym [6] (Tabela 4). Długości wiązań węgiel-azot i azot-tlen są porównywalne z długościami wiązań $Csp^3-NH(-C=O)$, $(O=C)-NH$, $(Csp^3)_2C=N$ i $(C=)N-OH$ (Tabela 4) [132].

Tabela 4. Statystyka długości wiązań oraz analiza porównawcza z danymi literaturowymi

Rodzaj wiązania	Triterpenoid 2	Triterpenoid 3	Dane literaturowe [6,132]
	Zakres wartości (Å) {wartość średnia; liczba wiązań}		Zakres wartości (Å) {wartość średnia}
Csp^3-Csp^3	1.510(3) - 1.589(2) {1.539(2); 54}	1.509(11) - 1.614(11) {1.547(3); 54}	1.509(2) - 1.594(2) † {1.542(2)}
Csp^3-Csp^2	1.487(3) - 1.535(2) {1.511(4); 12}	1.492(11) - 1.531(9) {1.512(4); 10}	1.503(2) - 1.537(2) † {1.524(5)}
C=C	1.316(2), 1.320(2) {1.318(2); 2}	1.328(10), 1.348(10) {1.338(10); 2}	1.324(2), 1.331(3) † {1.327(3)}
Csp^3-O	1.439(3), 1.440(3) {2}	1.432(10)-1.437(10) {1.434(2); 2}	1.4401(19), 1.4373(19) † {1.4387(14)}
Csp^2-O	1.335(2), 1.336(2) {2}	1.352(9)-1.361(10) {1.356(4); 2}	1.319(2), 1.317(3) † {1.318(1)}
C=O	1.195(2), 1.195(2) {2}	1.208(10)-1.231(10) {1.220(6); 2}	1.213(2), 1.218(2) † 1.215(2)
Csp^3-N	–	1.467(10)-1.482(10) {1.474(7); 2}	1.478(6) ‡
Csp^2-N	–	1.347(10)-1.358(10) {1.352(5); 2}	1.334(2) ‡
C=N	1.256(3), 1.268(3) {1.262(6); 2}	–	1.281(2) ‡
Nsp^2-O	1.410(2), 1.412(3) {1.411(1); 2}	–	1.416(2) ‡

† Zamieszczone wartości zostały uzyskane ze struktury kwasu oleanolowego [6].

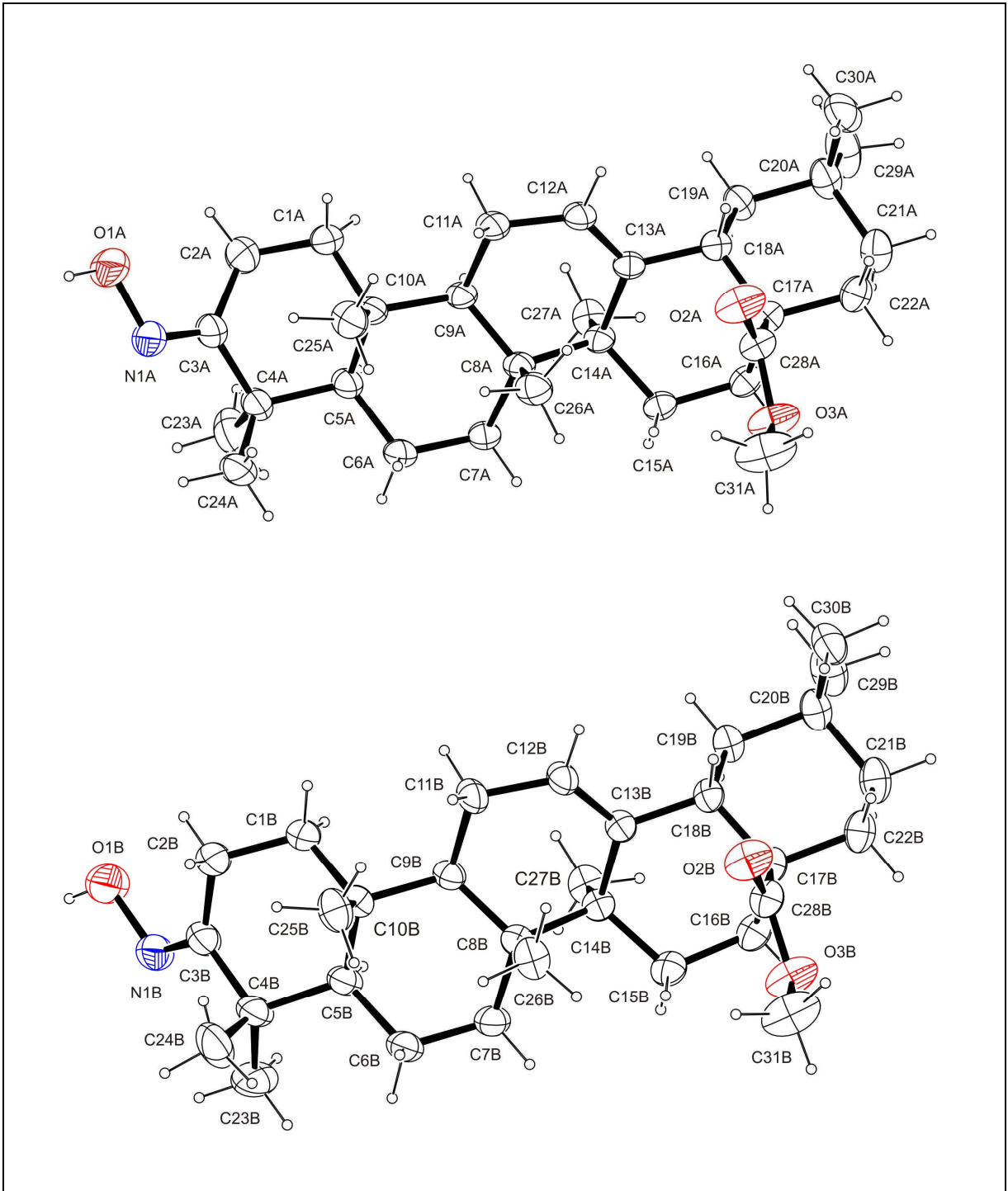
‡ Wartości znalezione w pracy pt. Typical interatomic distances: organic compounds [132].

Sieci kryształów triterpenoidów **2** i **3** wykazują podobieństwo strukturalne oraz dodatkowo podobne motywy wiązań wodorowych (Tabela 5 i 7, Ryciny 28, 31 i 33). W obydwu kryształach symetrycznie niezależne cząsteczki A i B łączą się wiązaniami wodorowymi typu N–H...O w dimery, zaś te ostatnie wiązaniami typu C–H...O w stopy, narastające równoległe do osi *a* (Rycina 28 i 31, Tabela 5 i 7). W przypadku związku **2** w dimery łączą się cząsteczki za pomocą wiązań wodorowych O1Aⁱ–H1Aⁱ...N1B i O1B–H1B...N1Aⁱ [(i): *x*+1, *y*, *z*-1], w tworzenie których zaangażowane są atomy tlenu i azotu grup hydroksyiminowych. Stosując metodę grafów opisu wiązań wodorowych [156-158], odnotowano motywy pierścieniowe $R_2^2(6)$ (Rycina. 28). W kryształach związku **3** niezależne cząsteczki A i B tworzą również dimery, łącząc się wiązaniami wodorowymi N1A–H1A...O1Bⁱ oraz N1Bⁱ–H1Bⁱ...O1A [(i) -1+*x*, *y*, 1+*z*] z udziałem atomów tlenu i azotu grup amidowych układów laktamowych. Te ostatnie

wiązania wodorowe tworzą motyw pierścieniowy o wzorze $R_2^2(8)$ (Rycina 31). W sieci kryształu triterpenoidu **2** utworzone dimery łączą się w stopy wiązaniami wodorowymi C27B–H27F...O2Bⁱⁱⁱ, w kryształ triterpenoidu **3** wiązaniami wodorowymi trójcentrowymi C16A–H16B...O2Aⁱⁱⁱ...H27C–C27A i C16B–H16D...O2Bⁱⁱⁱ...H27D–C27B (Tabela 5 i 7, Rycina 28 i 31). W kryształach obydwu triterpenoidów w wiązaniach niekonwencjonalnych typu C–H...O rolę akceptora protonu pełni karbonylowy atom tlenu grupy metoksykarbonylowej.

W triterpenoidzie **3** stwierdza się obecność 26 wewnątrzcząsteczkowych krótkich kontaktów wodór – wodór (Tabela 8, Rycina 32), zaś w triterpenoidzie **2** obserwuje się szesnaście kontaktów wodór-wodór wewnątrzcząsteczkowych, jeden międzycząsteczkowy (Tabela 6, Rycina 29).

Jak można zauważyć, jakość uzyskanej struktury triterpenoidu **3** jest niska (wskaźnik rozbieżności $R = 0.0736$, $wR = 0.2141$). Przyczyną jest zbliźniaczenie niemeroedryczne kryształu z dużym procentowym udziałem nakładających się refleksów. Prowadzone liczne próby krystalizacji triterpenoidu **3** z wykorzystaniem różnych rozpuszczalników prowadziły za każdym razem do tej samej zbliźnianej struktury kryształu. Operatorem zbliźniaczenia jest oś dwukrotna równoległa do osi krystalograficznej c . Stosunek ilościowy pomiędzy dwiema przenikającymi się domenami w kryształ triterpenoidu wynosi około 1 : 2.

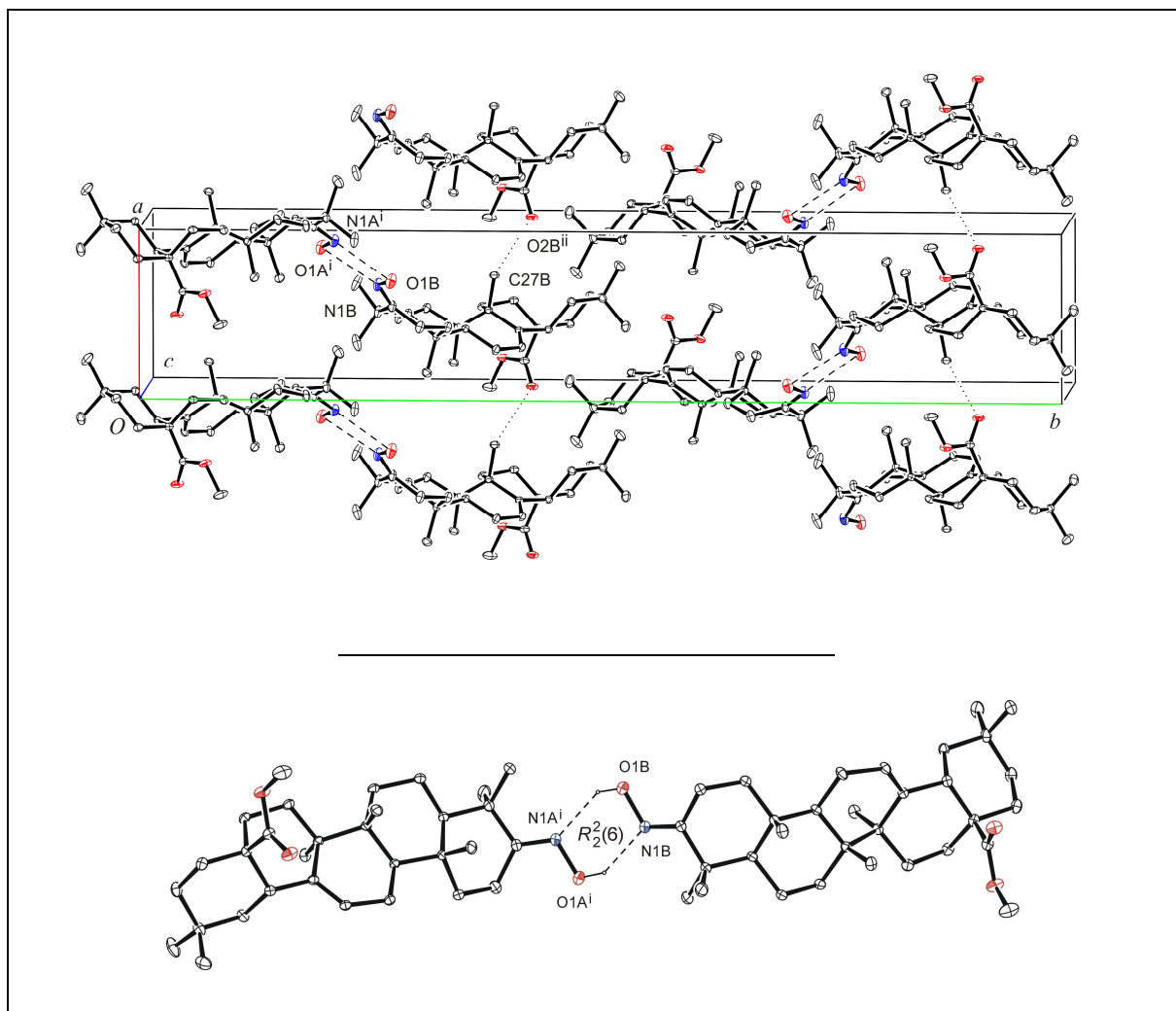


Rycina 27. Obraz przestrzenny symetrycznie niezależnych cząsteczek A i B triterpenoidu 2

Tabela 5. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu 2

Wiązanie	Donor-H (Å)	H...Akceptor (Å)	Donor...Akceptor (Å)	Donor-H...Akceptor (°)
C15A-H15A...O3A	0.97	2.60	3.132(3)	115
C15B-H15C...O3B	0.97	2.56	3.104(3)	115
O1A ⁱ -H1A ⁱ ...N1B	0.82	2.08	2.780(3)	142
O1B-H1B...N1A ⁱ	0.82	2.14	2.821(3)	141
C27B-H27F...O2B ⁱⁱ	0.96	2.41	3.341(3)	163

kody symetrii: (i) $x+1, y, z-1$; (ii) $1+x, y, z$



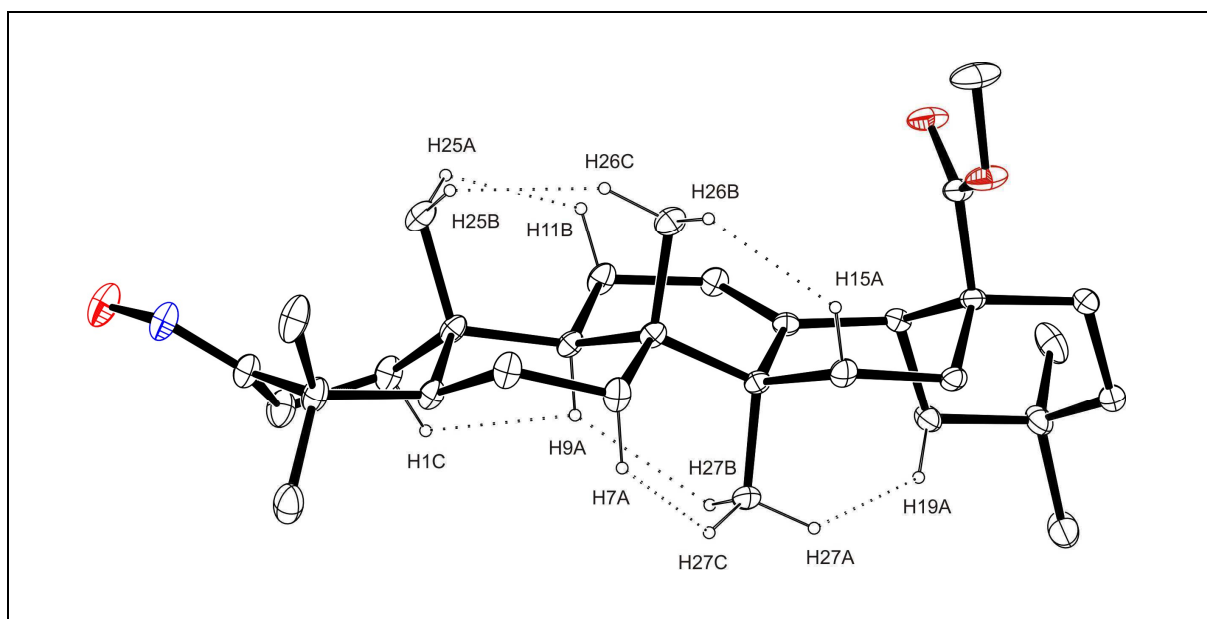
Rycina 28. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu 2

Tabela 6. Krótkie kontakty wodór-wodór w triterpenoidzie 2

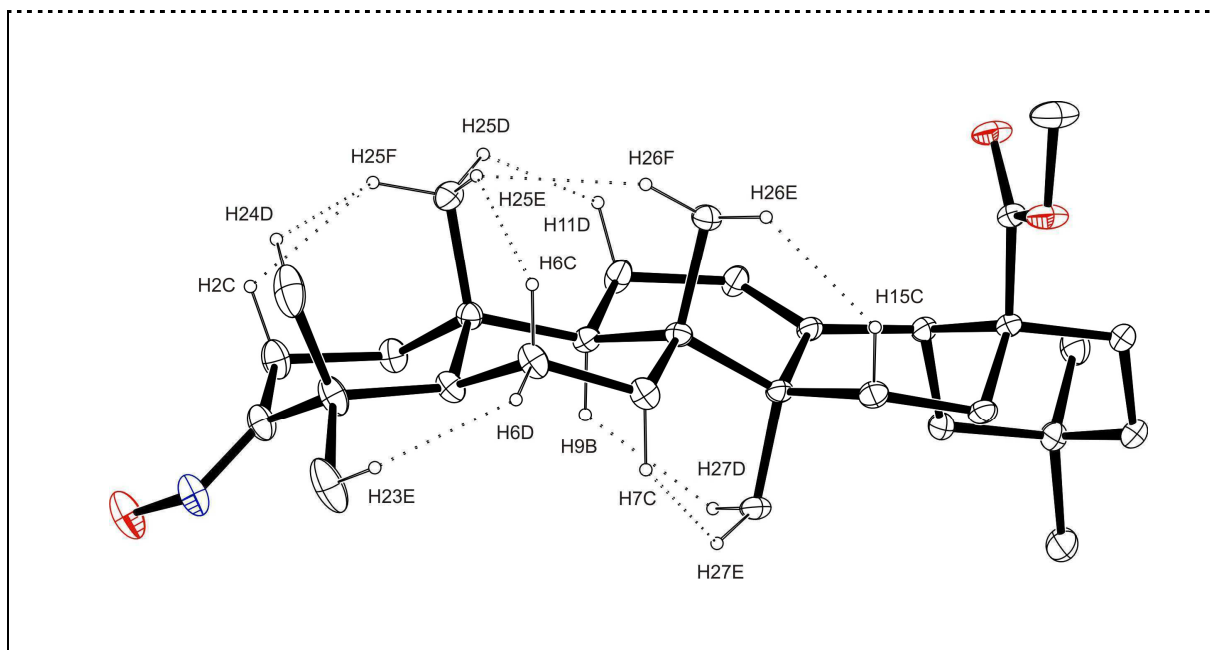
Odległości międzyatomowe (Å)			
cząsteczka A		cząsteczka B	
H1A...H23D ⁱ	2.03	H2C...H25F	2.14
H1C...H9A	2.12	H6C...H25E	2.08
H7A...H27C	1.90	H6D...H23E	2.00
H9A...H27B	2.12	H7C...H27E	1.95
H11B...H25A	2.02	H9B...H27D	2.05
H15A...H26B	2.02	H11D...H25D	1.95
H19A...H27A	2.11	H15C...H26E	1.94
H25B...H26C	2.01	H24D...H25F	2.07
		H25E...H26F	2.13

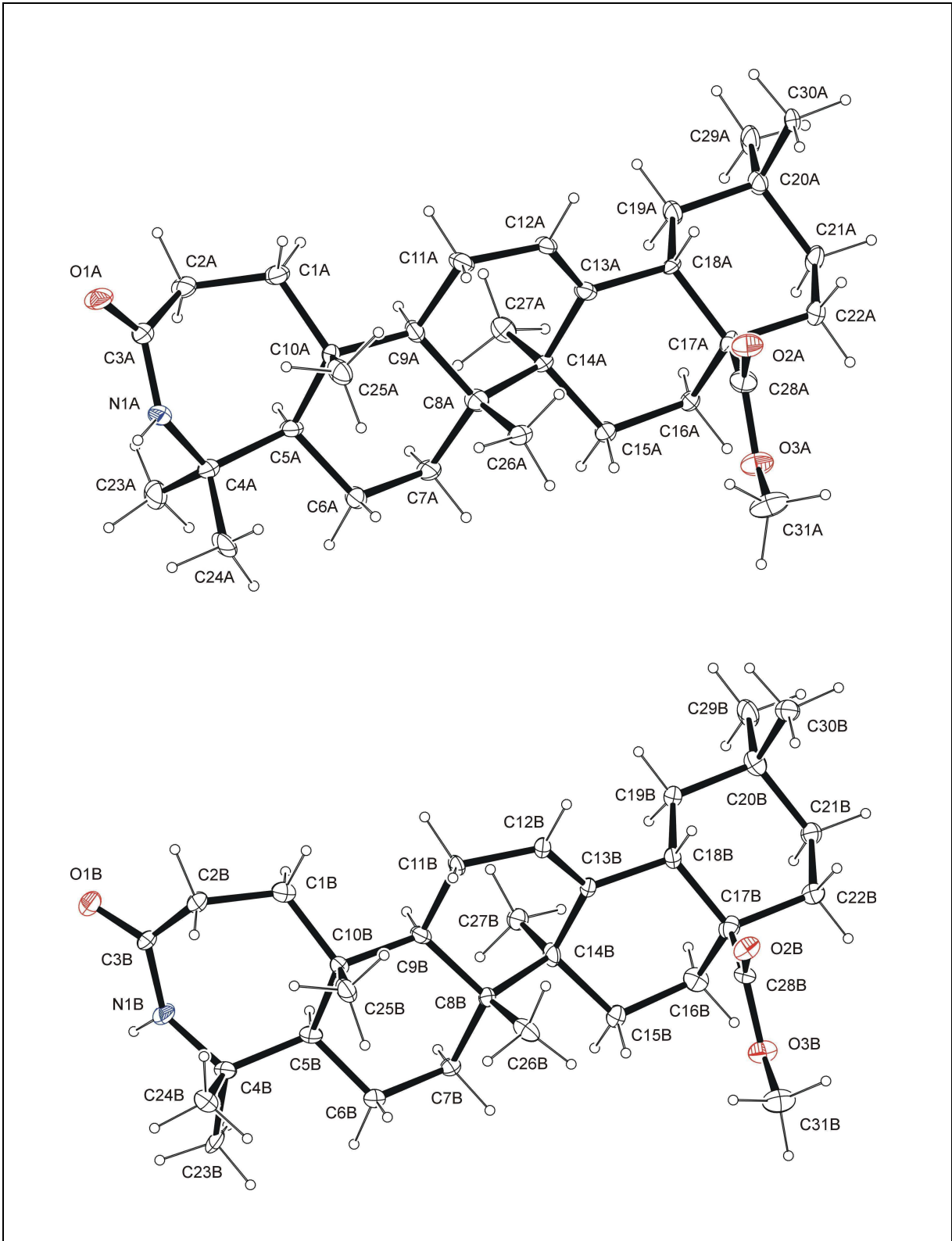
kod symetrii: (i) $-1+x, y, 1+z$

Rycina 29. Krótkie kontakty wodór-wodór w symetrycznie niezależnych cząsteczkach triterpenoidu 2



Rycina 29. *cd.*



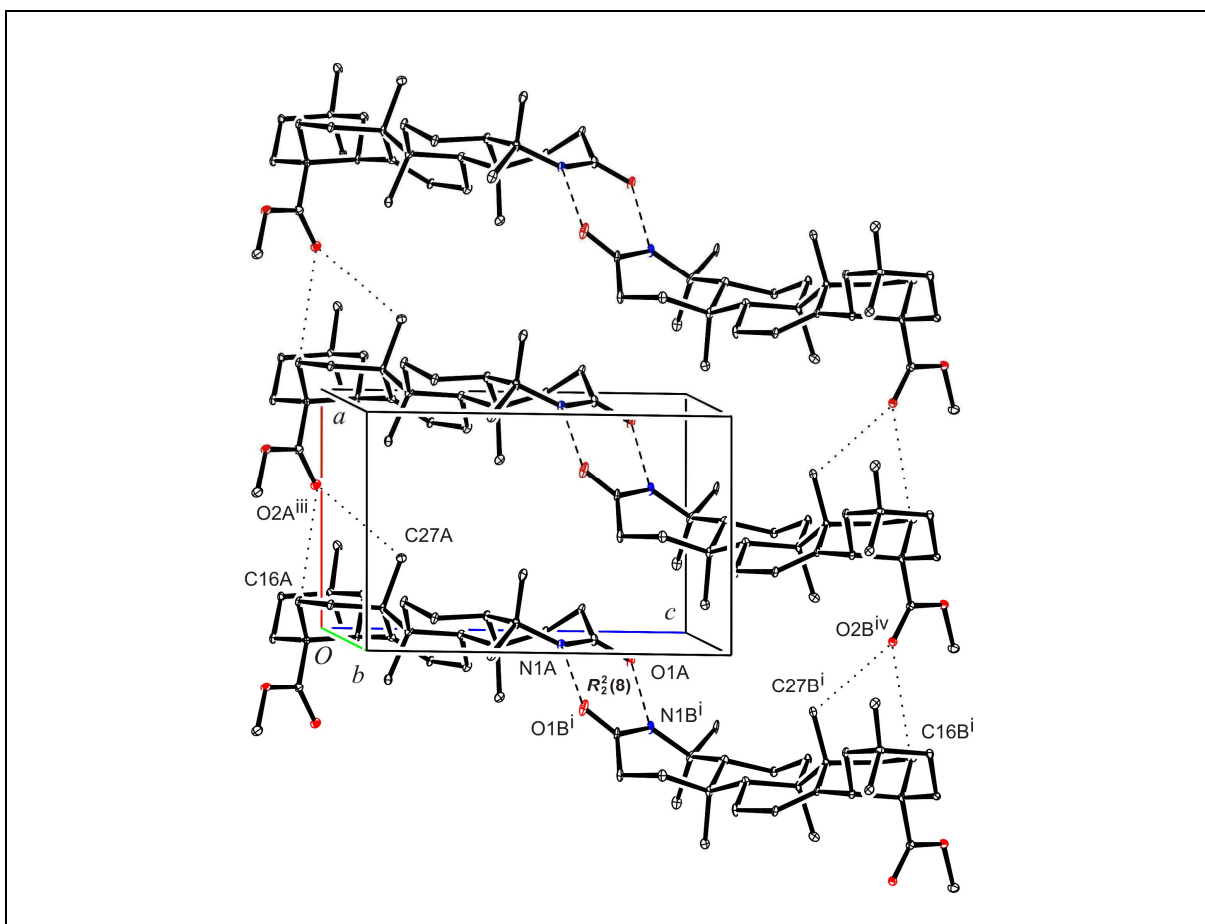


Rycina 30. *Obraz przestrzenny symetrycznie niezależnych cząsteczek triterpenoidu 3*

Tabela 7. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu 3

Wiązanie	Donor–H (Å)	H…Akceptor (Å)	Donor…Akceptor (Å)	Donor–H…Akceptor (°)
C15A–H15A…O3A	0.99	2.54	3.102(10)	115
C15B–H15C…O3B	0.99	2.48	3.048(10)	115
C25A–H25B…N1A	0.98	2.52	3.118(10)	119
N1A–H1…O1B ⁱ	0.88	2.08	2.959(10)	175
N1B–H2…O1A ⁱⁱ	0.88	2.13	2.966(10)	158
C16A–H16B…O2A ⁱⁱⁱ	0.99	2.53	3.460(10)	157
C16B–H16D…O2B ⁱⁱⁱ	0.99	2.57	3.510(9)	163
C27A–H27C…O2A ⁱⁱⁱ	0.98	2.52	3.483(10)	168
C27B–H27D…O2B ⁱⁱⁱ	0.96	2.52	3.423(8)	157

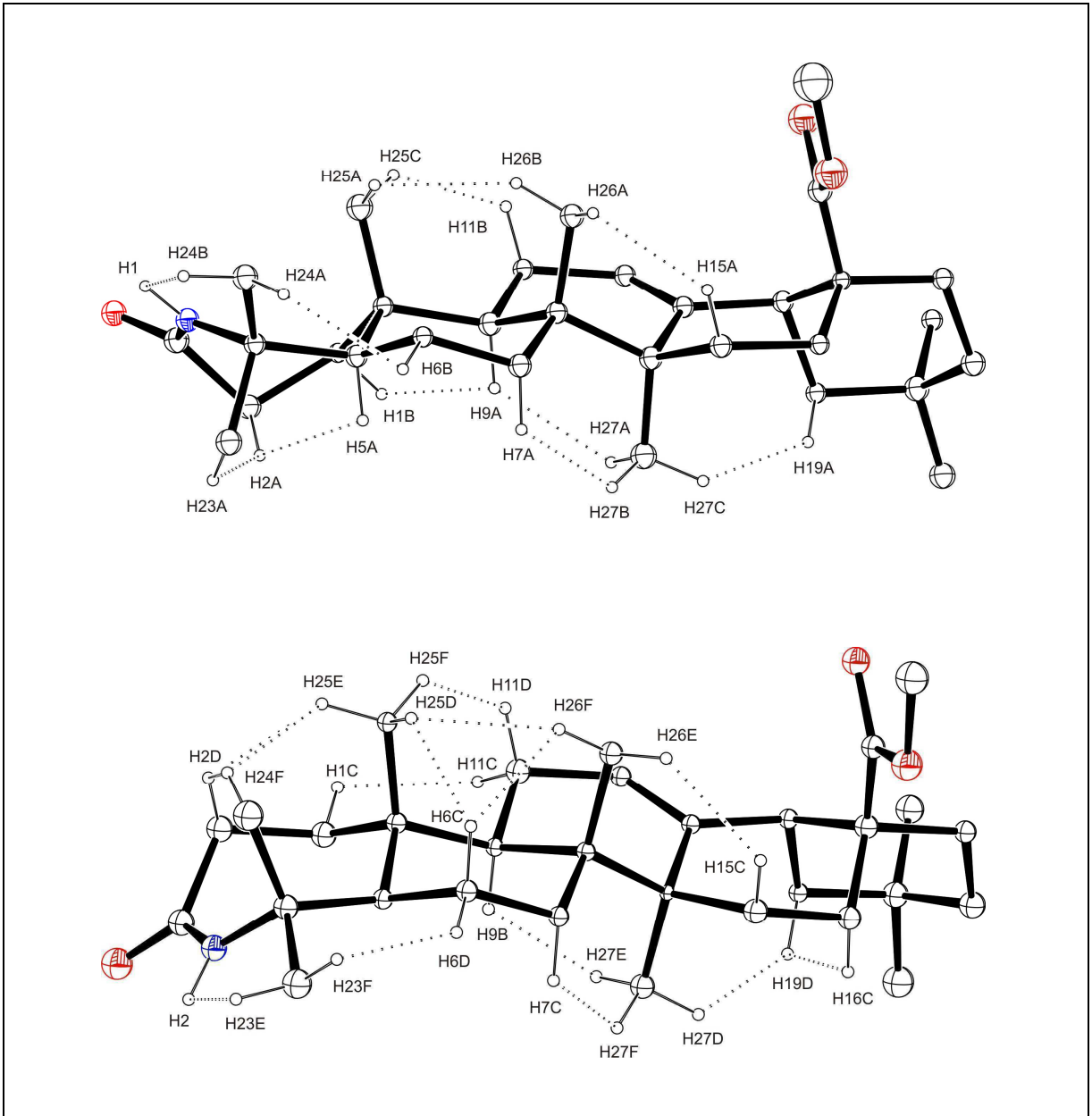
kody symetrii: (i) $-1+x, y, 1+z$; (ii) $1+x, y, -1+z$; (iii) $1+x, y, z$.



Rycina 31. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu 3; kody symetrii: (i) $-1+x, y, 1+z$; (iii) $1+x, y, z$; (iv) $x, y, 1+z$; kod symetrii (ii): patrz tabela 7

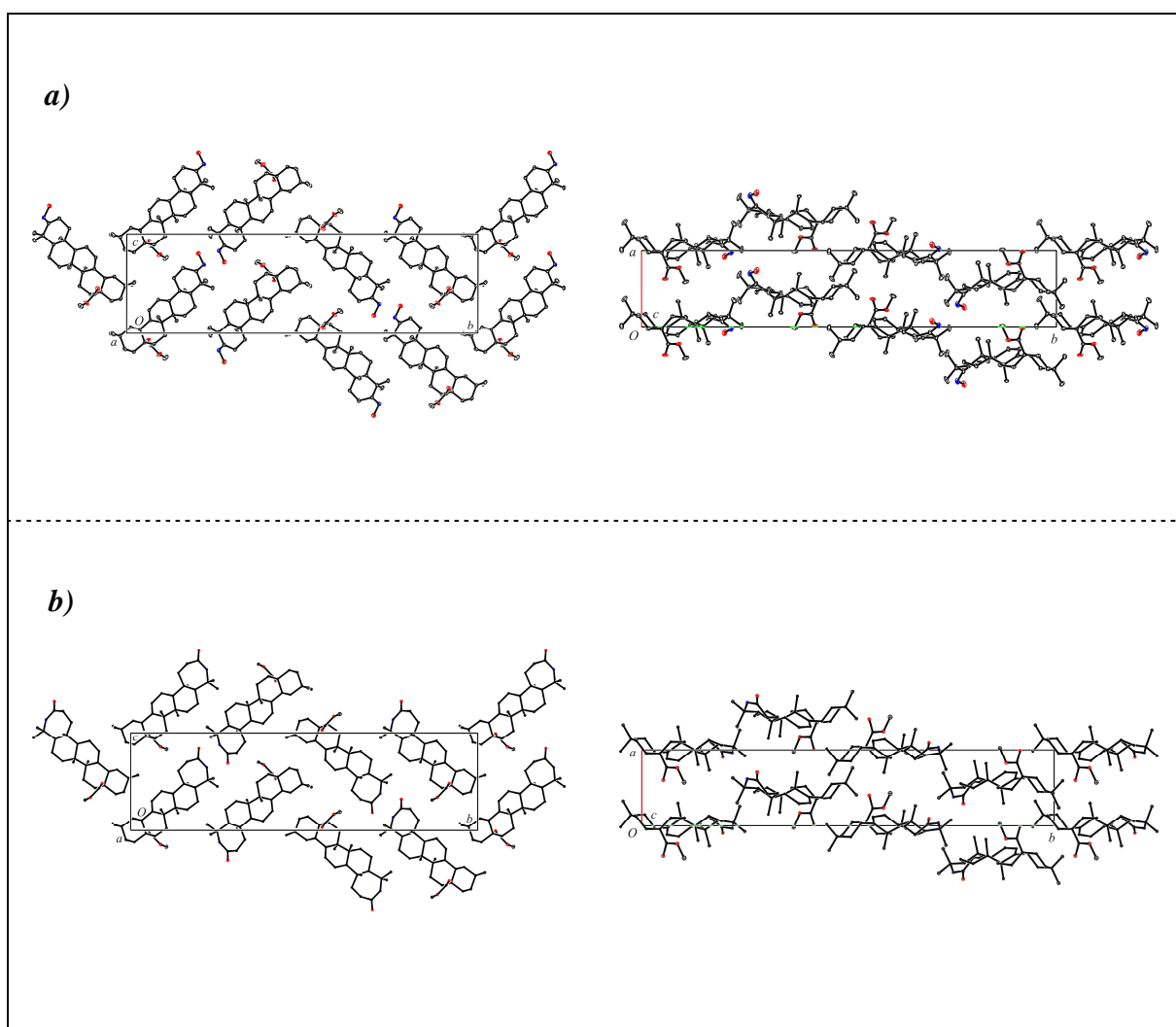
Tabela 8. Krótkie kontakty wodór-wodór w symetrycznie niezależnych cząsteczkach triterpenoidu 3.

cząsteczka A		cząsteczka B	
H1C...H24B	2.16	H1C...H11C	2.11
H1B...H9A	2.04	H2...H23E	2.17
H2A...H5A	2.20	H2D...H24E	2.07
H2A...H23A	2.19	H2D...H25E	2.04
H6B...H24A	2.13	H6C...H25D	2.04
H7A...H27B	1.95	H6C...H26F	2.16
H9A...H27A	2.06	H6D...H23F	1.91
H11B...H25C	1.91	H7C...H27F	1.99
H15A...H26A	2.04	H9B...H27E	1.97
H19A...H27C	2.03	H11D...H25F	1.88
H25A...H26B	2.11	H15C...H26E	2.02
		H16C...H19D	2.19
		H19D...H27D	2.10
		H24F...H25E	2.13
		H25D...H26F	2.10



Rycina 32. Krótkie kontakty wodór-wodór w symetrycznie niezależnych cząsteczkach A i B triterpenoidu 3

Rycina 33. Sposób upakowania cząsteczek triterpenoidów (a) 2 i (b) 3



Rycina 33. Sposób upakowania cząsteczek triterpenoidów (a) 2 i (b) 3

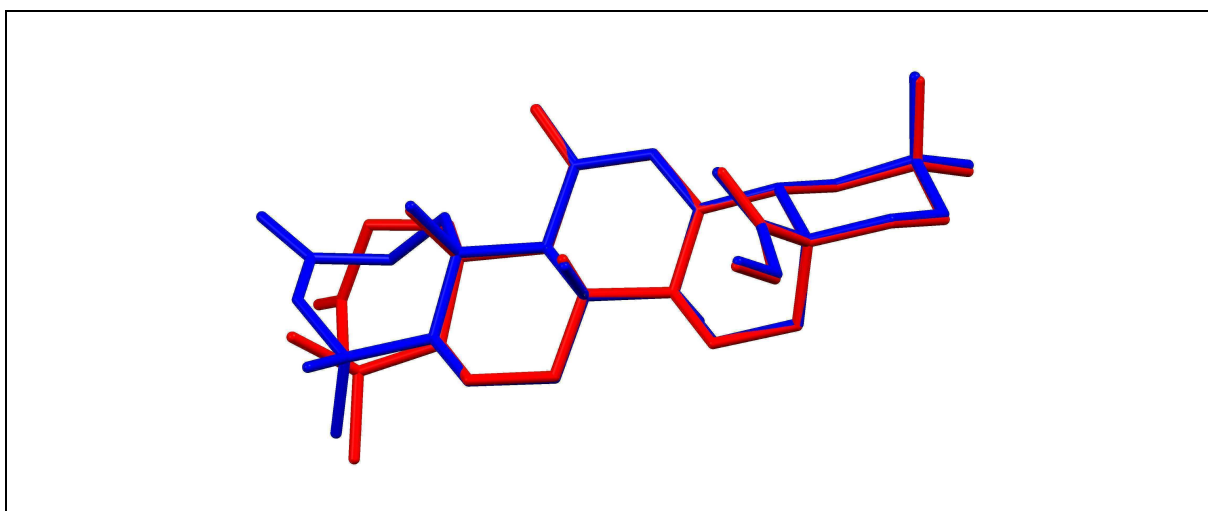
3.2.2. Estry metylowe kwasu 3-hydroksyimino-11-okso-18 β -olean-12-en-28-owego (4), kwasu 3,11-diokso-3a-aza-A-homoolean-12-en-28-owego (5) i kwasu 3-nitrylo-11-okso-3,4-sekoolean-4(23),12-dien-28-owego (6)

zw. 4:	$C_{31}H_{47}NO_4$, $M_{cz} = 497.70$, układ jednoskośny, grupa przestrzenna $P2_1$, parametry komórki elementarnej: $a = 7.473(1) \text{ \AA}$, $b = 9.016(2) \text{ \AA}$, $c = 20.751(4) \text{ \AA}$, $\beta = 94.91(3)^\circ$, $1393.0(5) \text{ \AA}^3$, $Z = 2$ ($Z' = 1$), $d_x = 1.1866(4) \text{ Mg m}^{-3}$, $\mu(\text{CuK}\alpha) = 0.604 \text{ mm}^{-1}$, $T = 293(2) \text{ K}$, $\theta_{\max} = 70.12^\circ$, liczba niezależnych refleksów: 5028, liczba refleksów z $I > 2\sigma(I)$: 4892, $wR(F^2) = 0.1102$, $R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.0380$, $S = 1.068$
zw. 5:	$C_{31}H_{47}NO_4$, $M_{cz} = 497.70$, układ jednoskośny, grupa przestrzenna $P2_1$, parametry komórki elementarnej: $a = 6.6643(1) \text{ \AA}$, $b = 37.962(7) \text{ \AA}$, $c = 10.8761(8) \text{ \AA}$, $\beta = 90.765(2)^\circ$, $V = 2751.31(8) \text{ \AA}^3$, $Z = 4$ ($Z' = 2$), $d_x = 1.2015(1) \text{ Mg m}^{-3}$, $\mu(\text{CuK}\alpha) = 0.612 \text{ mm}^{-1}$, $T = 100(2) \text{ K}$, $\theta_{\max} = 76.08^\circ$, liczba niezależnych refleksów: 20703, liczba refleksów z $I > 2\sigma(I)$: 19713, $wR(F^2) = 0.1791$, $R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.0528$, $S = 1.028$
zw. 6:	$C_{31}H_{46}NO_3$, $M_{cz} = 480.69$, układ jednoskośny, grupa przestrzenna $C2$, parametry komórki elementarnej: $a = 30.986(3) \text{ \AA}$, $b = 6.7755(9) \text{ \AA}$, $c = 13.5378(15) \text{ \AA}$, $\beta = 104.224(9)^\circ$, $V = 2755.1(6) \text{ \AA}^3$, $Z = 4$ ($Z' = 2$), $d_x = 1.1589(3) \text{ Mg m}^{-3}$, $\mu(\text{CuK}\alpha) = 0.567 \text{ mm}^{-1}$, $T = 293(2) \text{ K}$, $\theta_{\max} = 70.16^\circ$, liczba niezależnych refleksów: 5023, liczba refleksów z $I > 2\sigma(I)$: 4704, $wR(F^2) = 0.1088$, $R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.0366$, $S = 1.033$

Rycina 34. Wzory triterpenoidów 4 - 6 oraz niektóre dane krystalograficzne

Badane triterpenoidy **4**, **5** i **6** - reagenty reakcji przegrupowania Beckmanna to produkty utlenienia kwasu oleanolowego. Różnią się one od triterpenoidów omawianych w rozdziale 3.2.1. dodatkową obecnością grupy karbonylowej w pozycji 11 pierścienia C^{*}.

Kryształy analizowanych triterpenoidów należą do jednoskośnego układu krystalograficznego i niecentrosymetrycznej grupy przestrzennej $P2_1$ (zw. **4** i **5**) względnie $C2$ (zw. **6**). W asymetrycznej części komórki elementarnej triterpenoidu **5** znajdują się dwie symetrycznie niezależne cząsteczki A i B, różniące się, podobnie jak cząsteczki triterpenoidów **2** i **3** wcześniej omawianych (patrz rozdz. 3.2.1), głównie konformacją pierścieni A (Rycina 35). U pozostałych dwóch triterpenoidów **4** i **6** asymetryczna część komórki elementarnej zawiera tylko jedną cząsteczkę.



Rycina 35. Nakładanie symetrycznie niezależnych cząsteczek A (kolor niebieski) i B (kolor czerwony), przy najlepszym dopasowaniu pierścieni C i D

Z analizy rentgenograficznej wynika, iż w triterpenoidzie **4**, substracie reakcji przegrupowania Beckmanna, obecna w pozycji 3 pierścienia A grupa hydroksyiminowa posiada konfigurację *E* [kąt torsyjny O1–N1–C3–C4: $-175.53(14)^\circ$]. W triterpenoidzie **5**, produkcie reakcji przegrupowania Beckmanna I rzędu, siedmioczłonowy pierścień laktamowy w obydwu niezależnych cząsteczkach A i B posiada strukturę, w której amidowy atom azotu N1 łączy atomy węgla karbonylowy C3 i czwartorzędowy C4. Poczynione wyżej obserwacje pozostają zatem w zgodzie z tymi dla triterpenoidów **2** i **3** wcześniej omawianych (rozd. 3.2.1.).

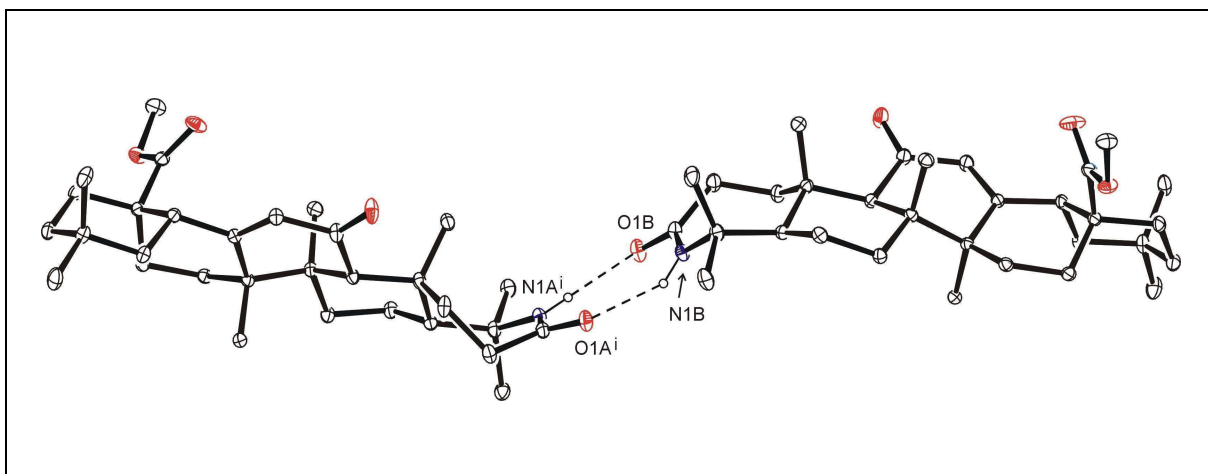
^{*} W poprzednim rozdziale nie badano struktury związku o charakterze nityrylu z powodu trudności w uzyskaniu monokryształu do pomiarów dyfraktometrycznych.

W triterpenoidzie **6**, produkcie reakcji przegrupowania Beckmanna II rzędu (r. fragmentacji Beckmanna), pierwotny sześcioczłonowy pierścień *A* uległ otwarciu na skutek rozerwania wiązania C3–C4 i z jego atomów węgla utworzyły się dwa podstawniki. Z atomów węgla C1, C2 i C3 powstała grupa 2-cyanoetylowa o konfiguracji α . Związana jest ona z atomem węgla C10 pierścienia *B*. Liniowy fragment podstawnika cyanoetylowego, złożony z atomów C2, C3 i N1, przyjmuje względem wiązania C1–C10 konformację pośrednią pomiędzy synklinalną i antyklinalną (*-sc/-ac*) [kąt torsyjny N1–C2–C1–C10: $-82.78(16)^\circ$]. Z kolei wiązanie C1–C2 ustawia się synklinalnie w stosunku do wiązania C9–C10 (*+sc*) [kąt torsyjny C2–C1–C10–C9: $54.8(2)^\circ$] oraz antyperiplanarnie (*+ap*) w stosunku do grupy metylowej C25 o zachowanej konfiguracji β [kąt torsyjny C2–C1–C10–C25: $177.45(16)^\circ$]. W pozycji C5 pierścienia *B* znajduje się grupa izopropenylova, złożona z atomów węgla C4, C23 i C24. Atomy te tworzą płaski układ, który w stosunku do płaszczyzny najmniejszych kwadratów pierścienia *B* ustawia się pod kątem $71.20(16)^\circ$. Przestrzenne ustawienie grupy izopropenylowej wymuszone jest - jak się wydaje - zawadą przestrzenną, którą tworzy grupa cyanoetylowa. Podobnych obserwacji dokonano w przypadku triterpenoidu **1** (rozdz. 3.1.). Brak możliwości rotacji grupy izopropenylowej przyczynia się do wzajemnego odpychania się grup metylowych C24 i C25 w stopniu porównywalnym do grup metylowych C25 i C26. Niewiążące odległości międzyatomowe C24...C25 i C25...C26, wynoszące odpowiednio $3.228(3)$ i $3.287(2)$ Å, odpowiadają odległościom międzyatomowym C24...C25 i C25...C26 [$3.225(1)$ i $3.224(1)$ Å], obserwowanym w triterpenoidzie **4** z sześcioczłonowym pierścieniem *A*.

Długości wiązań C4–C23 [$1.419(3)$ Å] i C4–C24 [$1.412(3)$ Å] w grupie izopropenylowej są porównywalne (różnica $< 3\sigma$), jednocześnie wykazują wartość pośrednią pomiędzy długością wiązania pojedynczego i podwójnego. Można z tego wnioskować, iż w kryształach triterpenoidu **6** liczba cząsteczek z układem C23–C4=C24 odpowiada w przybliżeniu liczbie cząsteczek z układem C23=C4–C24.

W niezależnych cząsteczkach *A* i *B* triterpenoidu **5** siedmioczłonowe pierścienie laktamowe (pierścienie *A*) różnią się konformacją. W cząsteczce *A* pierścień ten wykazuje konformację zniekształconej łodzi [parametry C.&P. [133]: $Q(2) = 1.033(2)$ Å, $Q(3) = 0.204(2)$ Å, $\phi(2) = 336.98(13)^\circ$, $\phi(3) = 179.1(7)^\circ$], w cząsteczce *B* konformację zniekształconego krzesła [parametry C.&P.: $Q(2) = 0.325(2)$ Å, $Q(3) = 0.623(2)$ Å, $\phi(2) = 136.0(4)^\circ$, $\phi(3) = 103.9(2)^\circ$]. Różne konformacje pierścienia *A* (układu laktamowego) w niezależnych cząsteczkach *A* i *B* triterpenoidu **5** sprzyjają, podobnie jak w kryształach

triterpenoidów **2** i **3** (rozd. 3.2.1.), tworzeniu międzycząsteczkowych wiązań wodorowych typu N–H···O, łączących cząsteczki w dimery (Rycina 36).



Rycina 36. Symetrycznie niezależne cząsteczki A i B połączone wiązaniami wodorowymi typu N–H···O w dimer

W cząsteczkach triterpenoidów **4** - **6** pierścień C z grupą ketonową w pozycji 11, sprzężoną z wiązaniem podwójnym C12=C13, posiada konformację półłodzi z płaszczyzną lustrzaną, przechodzącą przez atomy węgla C8 i C12 [parametry C.&P. dla związku **4** [134]: $Q = 0.5463(17) \text{ \AA}$, $\theta = 49.5(2)^\circ$, $\varphi = 359.9(3)^\circ$; dla związku **5**, cząst. A: $Q = 0.536(2) \text{ \AA}$, $\theta = 51.6(2)^\circ$, $\varphi = 358.7(3)^\circ$, cząst. B: $Q = 0.563(2) \text{ \AA}$, $\theta = 49.5(2)^\circ$, $\varphi = 2.2(3)^\circ$; dla związku **6**: $Q = 0.535(2) \text{ \AA}$, $\theta = 48.8(2)^\circ$, $\varphi = 5.4(3)^\circ$]. Warto zauważyć, iż konformację półłodzi w niewielkim stopniu zniekształconej wykazuje również pierścień C z endocyklicznym wiązaniem podwójnym w tej samej pozycji (C12=C13) w przypadku kwasu oleanolowego [6]. Można z tego wnioskować, iż obecność grupy karbonylowej w pozycji 11 nie wywiera godnego uwagi wpływu na konformację pierścienia C.

W cząsteczkach badanych triterpenoidów sześcioczłonowe pierścienie A (zw. **4** i **5**) oraz B, D i E (zw. **4** - **6**) posiadają konformację krzesła w różnym stopniu zniekształconego. Najmniejszy stopień deformacji konformacji krzesłowej wykazują skrajne pierścienie A [zw. **4**; parametry C.&P.: $Q = 0.5610(17) \text{ \AA}$, $\theta = 3.49(17)^\circ$, $\varphi = 104(3)^\circ$] i E [zw. **4** - **6**; parametry C.&P. dla **4**: $Q = 0.541(2) \text{ \AA}$, $\theta = 171.1(2)^\circ$, $\varphi = 0.3(16)^\circ$; dla **5** cząst. A: $Q = 0.550(2) \text{ \AA}$, $\theta = 175.4(2)^\circ$, $\varphi = 345(3)^\circ$, cząst. B: $Q = 0.545(2) \text{ \AA}$, $\theta = 177.8(2)^\circ$, $\varphi = 353(4)^\circ$ dla **6**: $Q = 0.548(2) \text{ \AA}$, $\theta = 173.3(2)^\circ$, $\varphi = 355(2)^\circ$], zaś największy pierścienie D z atomem węgla C13 o hybrydyzacji sp^2 [zw. **4** - **6**; parametry C.&P. dla **4**: $Q = 0.492(2) \text{ \AA}$, $\theta = 158.1(2)^\circ$, $\varphi = 15.5(6)^\circ$; dla **5** cząst. A: $Q = 0.504(2) \text{ \AA}$, $\theta = 155.7(2)^\circ$, $\varphi = 23.6(6)^\circ$, cząst. B:

$Q = 0.507(2) \text{ \AA}$, $\theta = 155.6(2)^\circ$, $\varphi = 21.6(6)^\circ$; dla **6**: $Q = 0.5034(19) \text{ \AA}$, $\theta = 157.1(2)^\circ$, $\varphi = 17.1(5)^\circ$].

Pierścienie *A/B* (zw. **4** i **5**) i *B/C* zw. **4** - **6** wykazują przestrzenną konfigurację *trans* [kąty dwuścienne *A/B* dla związku **4**: $16.93(8)^\circ$; dla związku **5**: $24.32(6)^\circ$ (częst. A), $21.56(8)^\circ$ (częst. B); kąty dwuścienne *B/C* dla związku **4**: $11.85(10)^\circ$, dla związku **5**: $10.50(11)^\circ$ (częst. A), $14.12(10)^\circ$ (częst. B), dla związku **6**: $11.91(8)^\circ$], pierścienie *D/E* konfigurację *cis*, [kąty dwuścienne dla związku **4**: $54.40(7)^\circ$, dla związku **5**: $56.09(5)^\circ$ (częst. A) i $56.47(5)^\circ$ (częst. B)], dla związku **6**: $54.68(10)^\circ$].

Wiązanie C28=O3 (zw. **4** i **5**) względnie C28=O2 (zw. **6**) płaskiej grupy metoksykarbonylowej wykazuje konformację zbliżoną do synperiplanarnej w odniesieniu do wiązania C17–C18 [kąty torsyjne C18–C17–C28–O3(lub O2) dla **4**: $-19.6(3)^\circ$, dla **5**, częst. A: $-11.2(3)^\circ$, częst. B: $-13.0(3)^\circ$, dla **6**: $-7.2(3)^\circ$].

Długości wiązań i wartości kątów walencyjnych oraz wpływ aksjalnych grup metylowych C24, C25 i C26 na deformację cząsteczek triterpenoidów **4** - **6** są zbliżone do opisanych wcześniej dla triterpenoidów **1** - **3**.

W sieci kryształu triterpenoidów **4** i **6** cząsteczki związane translacją wzdłuż osi krystalograficznej *b* łączą się w łańcuchy, w pierwszym przypadku wiązaniami wodorowymi klasycznymi O1–H...O2ⁱ (Tabela 10, Rycina 38), w drugim wiązaniami wodorowymi niekonwencjonalnymi C15–H15B...O2ⁱ (Tabela 14, Rycina 44).

W kryształ triterpenoidu **5** niezależne cząsteczki A i B łączą się - jak wspomniano wcześniej - wiązaniami wodorowymi N1A–H1A...O1Bⁱ i N1Bⁱ–H1Bⁱ...O1A [(i): *x*, *y*, 1+*z*] w dimery, zaś te ostatnie wiązaniami wodorowymi trójcentrowymi C30B^{vi}–H30^{vi}...O2A...H31Aⁱ–C31Aⁱ oraz wiązaniami C30A–H30A...O2B^{iv} i C31B–H31E...O2Bⁱ [(iv): 1–*x*, –0.5+*y*, –*z*; (vi): 1–*x*, –0.5+*y*, 1–*z*] w warstwy narastające równolegle do płaszczyzny *bc*. Grubość warstwy odpowiada wartości parametru sieciowego *a*. Sąsiednie warstwy, łączą się wiązaniami wodorowymi C27A–H27B...O3Aⁱⁱⁱ [(iii): 1+*x*, *y*, *z*] w trójwymiarową sieć (Tabela 12, Rycina 41).

Z analizy rycin 41, 33a i 33b wynika, iż sposób upakowania cząsteczek w kryształ triterpenoidu **5** wykazuje podobieństwo do sposobu upakowania cząsteczek w kryształach triterpenoidów **2** i **3** wcześniej omawianych. W tabeli 9, zamieszczonej poniżej, zestawiono trzy wymienione triterpenoidy w parę z uwzględnieniem indeksu izostrukturalności I_d ,

którego wartość zależy od kwadratów odległości odpowiadających sobie atomów w parach^{*}, wartości stałych sieciowych i symboli grafów sieci zasocjowanych cząsteczek. Indeks izostrukuralności może przyjmować wartości od 0 do 100%. Co ważne, jest on liczony na poziomie atomowym.

Z danych zamieszczonych w tabeli 9 wynika, iż najwyższą wartość indeksu I_d , wynoszącą 94.3%, uzyskano dla pary triterpenoidów **2 / 3**. Dwie pary pozostałe, to jest **2 / 5** i **3 / 5**, posiadają wartości indeksu izostrukuralności porównywalne, jednakże na poziomie 84.0 i 85.8%. Na uwagę zasługuje obserwacja, iż najwyższą wartość indeksu I_d uzyskano dla pary triterpenoidów **2 / 3**, wykazujących dość znaczne różnice w budowie pierścienia A (rozd. 3.2.1., Rycina 24), a nie – jak można było się spodziewać - dla pary triterpenoidów **3 / 5**, różniących się tylko dodatkową obecnością karbonylowego atomu tlenu w pozycji 11 pierścienia C w triterpenoidzie **5** (Rycina 40; Rycina 24, rozdz. 3.2.1.). Przyczyną takiego stanu rzeczy jest – jak się wydaje - znaczny udział wiązań wodorowych tworzących tzw. inne motywy (Tabela 9, rubryka x) w obydwu triterpenoidach pary.

W obrębie cząsteczek triterpenoidów **4**, **5** i **6** występują wewnątrzcząsteczkowe krótkie kontakty wodór - wodór, w pierwszym osiem (Tabela 11, Rycina 39), w drugim siedemnaście (Tabela 13, Rycina 42), zaś w trzecim dziesięć (Tabela 15, Rycina 45).

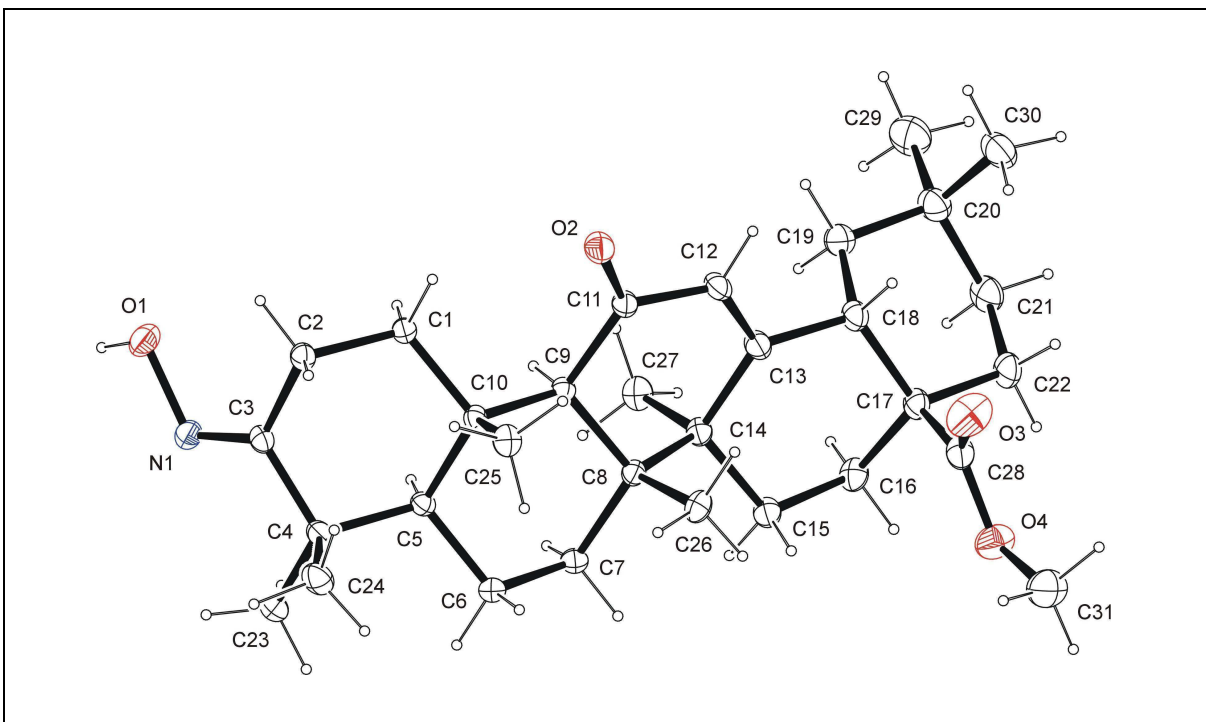
^{*} Wartości indeksu izostrukuralności zostały wyliczone przez mgr. Marcina Kowiela, programem SimMK [159]. W tym miejscu autor pragnie serdecznie podziękować mgr. Kowielowi za bezinteresowne wykonanie powyższych obliczeń.

Tabela 9. Indeksy izostrukturalności par triterpenoidów z uwzględnieniem wartości stałych sieciowych i symboli grafów sieci zasocjowanych cząsteczek

Numer pary	Para triterpenoidów	Wartości stałych sieciowych (Å, °)				I_d (%)	Symbole grafów sieci zasocjowanych cząsteczek			Numer ryciny
		<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	β		jednakowe†	podobne††	inne	
i	ii	iii	iv	v	vi	vii	viii	ix	x	xi
1	2	6.974(1)	37.691(8)	10.775(2)	93.35(3)	94.3	$D(2),D(2),C(8)$	$R_2^2(6)$	–	33a
	3	6.8996(6)	37.460(5)	10.533(2)	90.969(14)		$D(2),D(2),C(8)$	$R_2^2(8)$	$C(5),C(5),C(8)$	33b
2	2	6.974(1)	37.691(8)	10.775(2)	93.35(3)	84.0	$D(2),D(2),C(8)$	$R_2^2(6)$	–	33a
	5	6.6643(1)	37.962(7)	13.5378(15)	104.224(9)		$D(2),D(2),C(8)$	$R_2^2(8)$	$D(2),D(2),C(10),C(10)$	41
3	3	6.8996(6)	37.460(5)	10.533(2)	90.969(14)	85.8	$D(2),D(2),C(8),R_2^2(8)$	–	$C(5),C(5),C(8)$	33b
	5	6.6643(1)	37.962(7)	13.5378(15)	104.224(9)		$D(2),D(2),C(8),R_2^2(8)$	–	$D(2),D(2),C(10),C(10)$	41

† Odnoszą się do odpowiadających sobie w triterpenoidach pary motywów / sieci zasocjowanych cząsteczek wyrażonych tymi samymi symbolami grafów.

†† Odnoszą się do odpowiadających sobie w triterpenoidach pary motywów / sieci zasocjowanych cząsteczek wyrażonych różnymi symbolami grafów.

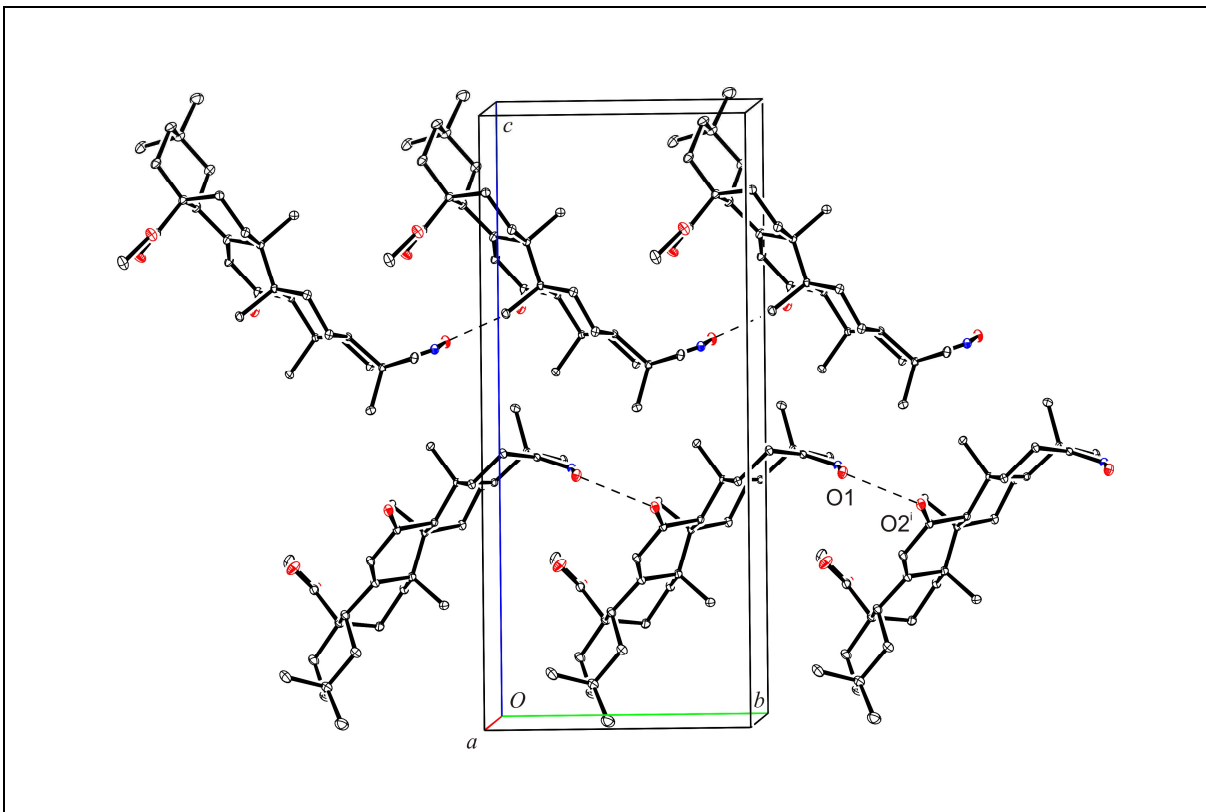


Rycina 37. Obraz przestrzenny cząsteczki triterpenoidu 4

Tabela 10. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu 4

Wiązanie	Donor-H (Å)	H...Akceptor (Å)	Donor...Akceptor (Å)	Donor-H...Akceptor (°)
C1-H1B...O2	0.97	2.33	2.937(2)	120
C25-H25C...O2	0.96	2.49	3.094(2)	121
O1-H1B...O2 ⁱ	0.82	2.09	2.867(2)	158

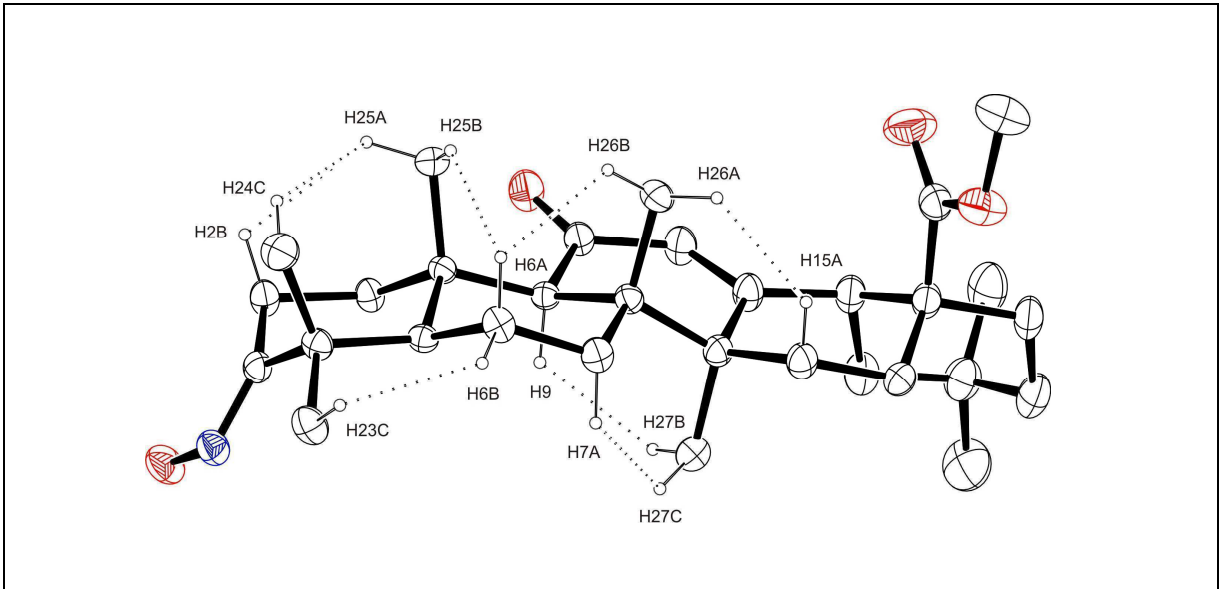
kod symetrii: (i) $x, 1+y, z$



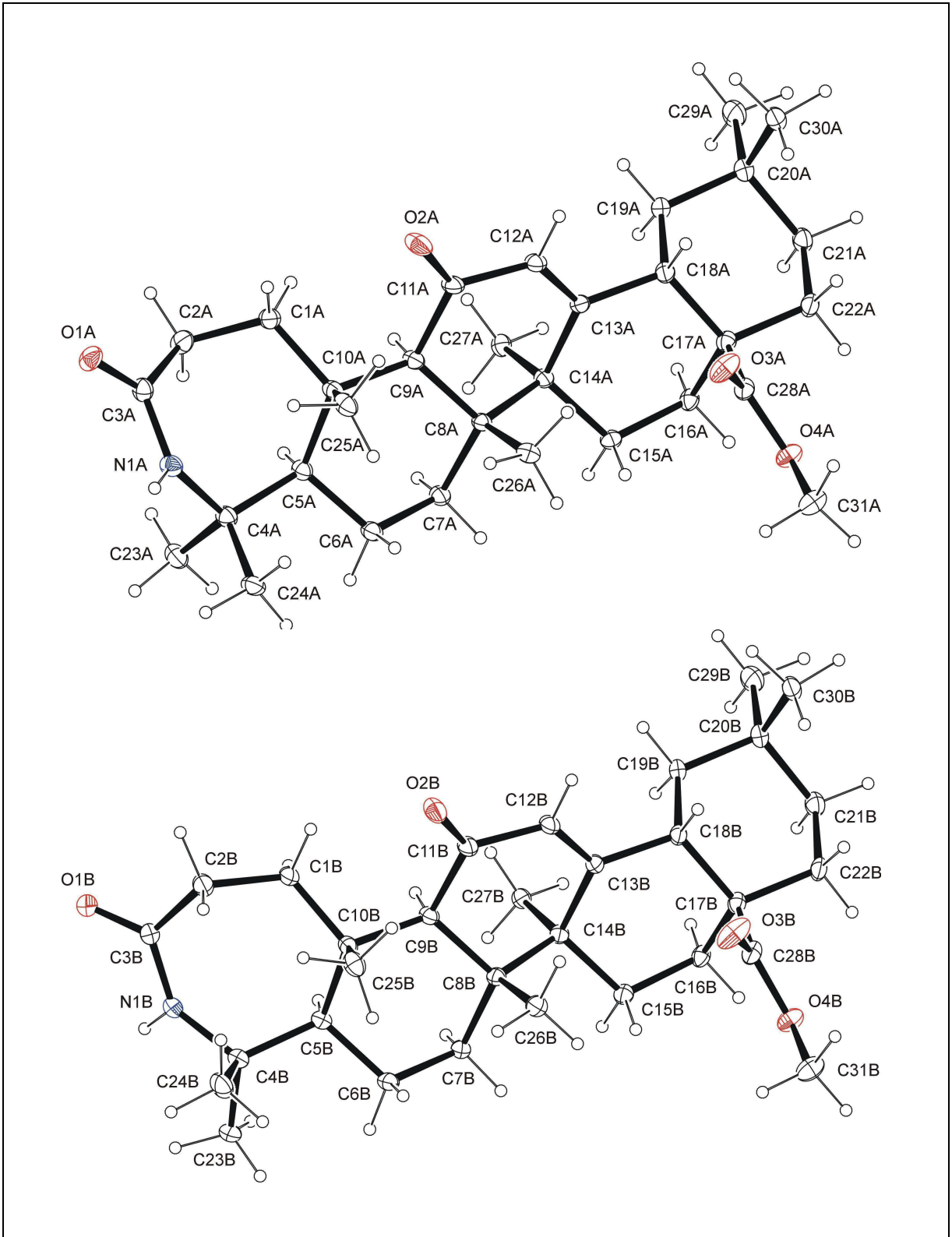
Rycina 38. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu 4

Tabela 11. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu 4

Odległości międzyatomowe (Å)	
H2B...H25A	2.19
H6A...H25B	1.92
H6A...H26B	2.19
H6B...H23C	2.14
H7A...H27C	2.13
H9...H27B	1.93
H15A...H26A	2.19
H24C...H25A	2.07



Rycina 39. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu 4



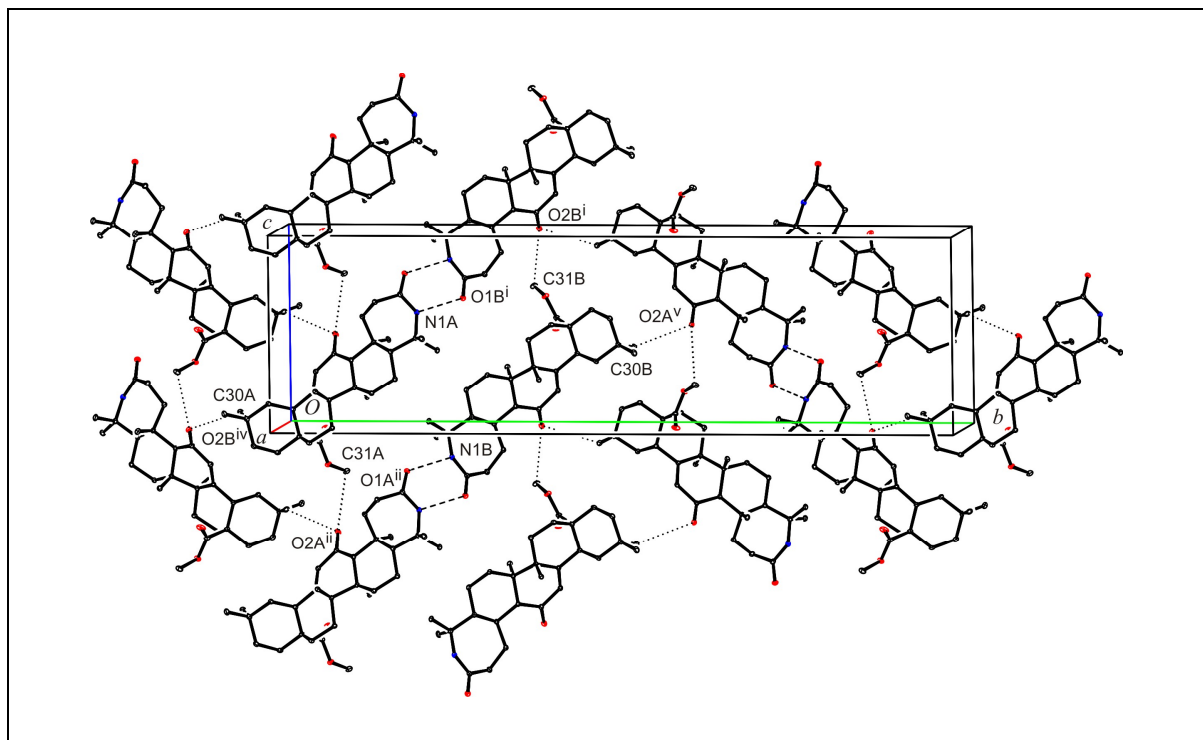
Rycina 40. *Obraz przestrzenny symetrycznie niezależnych cząsteczek triterpenoidu 5*

Tabela 12. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu 5

Wiązanie	Donor–H (Å)	H… Akceptor (Å)	Donor… Akceptor (Å)	Donor–H… Akceptor (°)
C1B–H1C…O2B	0.97	2.30	3.004(3)	129
C25A–H25A…N1A	0.96	2.53	3.111(3)	119
C25A–H25B…O2A	0.96	2.28	2.954(3)	127
C25B–H25D…O2B	0.96	2.26	2.945(3)	127
N1A–H1A…O1B ⁱ	0.77(4)	2.25(4)	2.976(3)	157(3)
N1B–H1B…O1A ⁱⁱ	0.88(4)	2.11(4)	2.943(3)	156(4)
C27B–H27F…O3B ⁱⁱⁱ	0.96	2.50	3.105(3)	121
C30A–H30C…O2B ^{iv}	0.96	2.44	3.354(3)	158
C30B–H30F…O2A ^v	0.96	2.49	3.400(3)	158
C31A–H31B…O2A ⁱⁱ	0.96	2.51	3.407(3)	155
C31B–H31E…O2B ⁱ	0.96	2.57	3.424(4)	149

kody symetrii: (i) $x, y, 1+z$; (ii) $x, y, -1+z$; (iii) $1+x, y, z$; (iv) $1-x, -0.5+y, -z$; (v) $1-x, 0.5+y, 1-z$.

Rycina 41. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu 5



Rycina 41. cd.

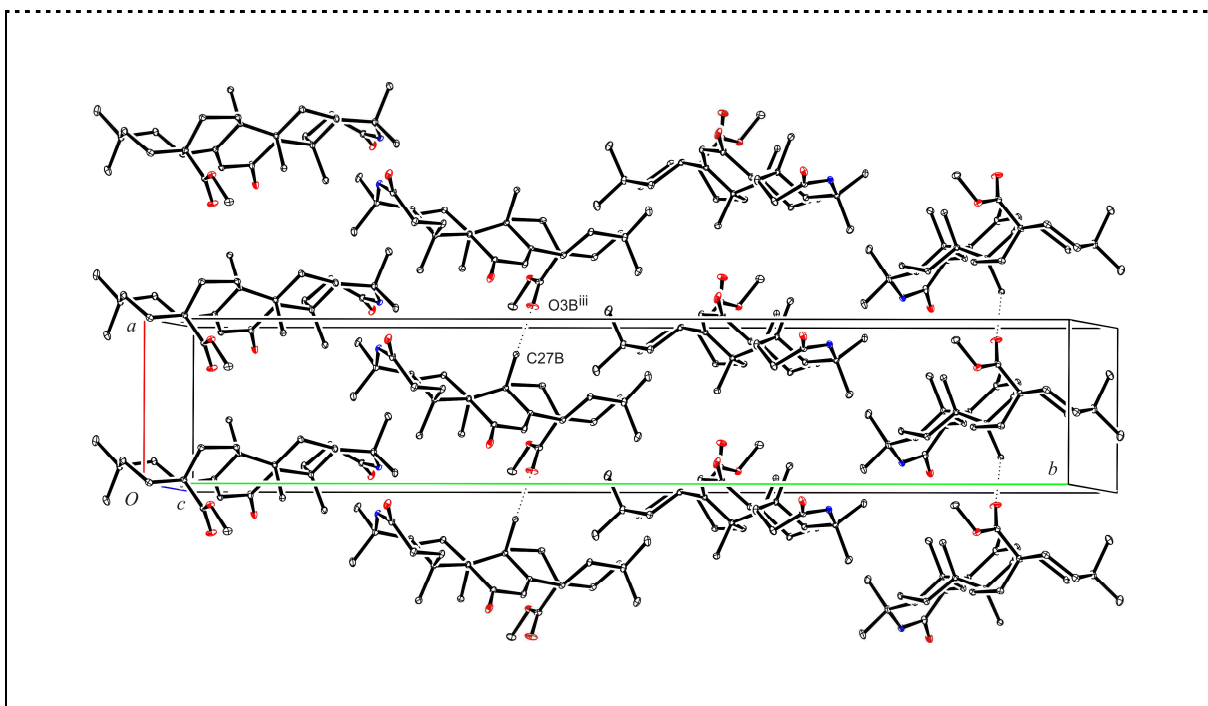
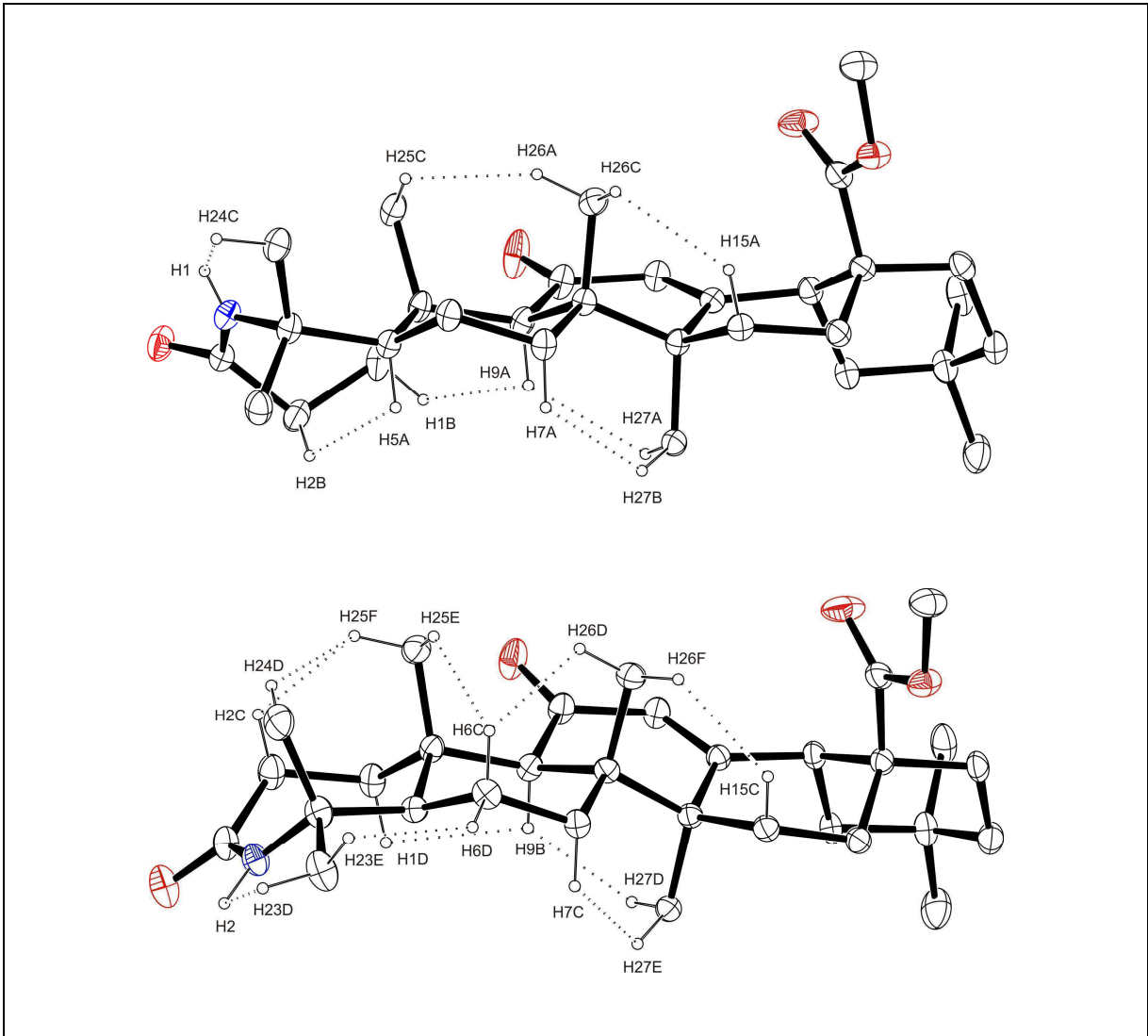
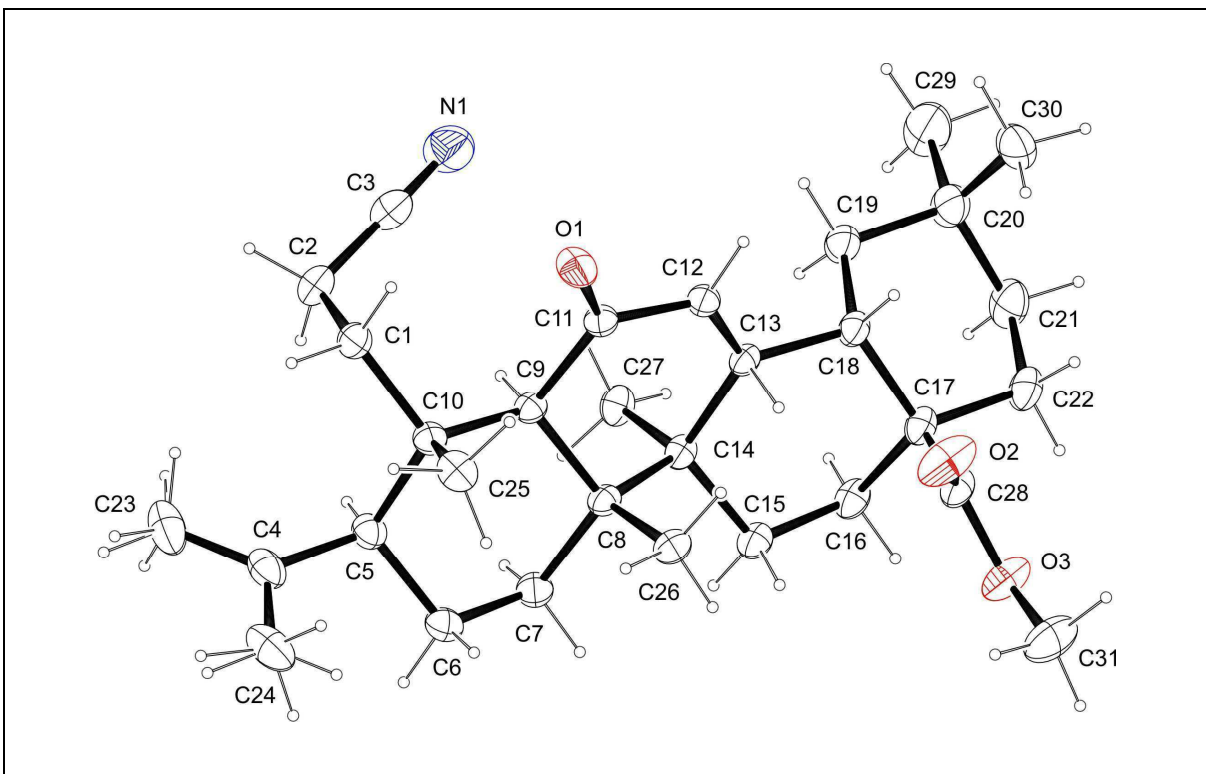


Tabela 13. Krótkie kontakty wodór-wodór w symetrycznie niezależnych cząsteczkach triterpenoidu 5

Odległości międzyatomowe (Å)			
cząsteczka A		cząsteczka B	
H1...H24C	2.17	H1D...H9B	2.20
H1B...H9A	2.05	H2...H23D	2.09
H2B...H5A	2.08	H2C...H25F	2.04
H7A...H27B	2.03	H6C...H25E	2.13
H9A...H27A	2.07	H6C...H26D	2.14
H15A...H26C	2.10	H6D...H23E	2.02
H25C...H26A	2.08	H7C...H27E	2.05
		H9B...H27D	2.02
		H15C...H26F	2.00
		H24D...H25F	2.00



Rycina 42. Krótkie kontakty wodór-wodór w symetrycznie niezależnych cząsteczkach triterpenoidu 5

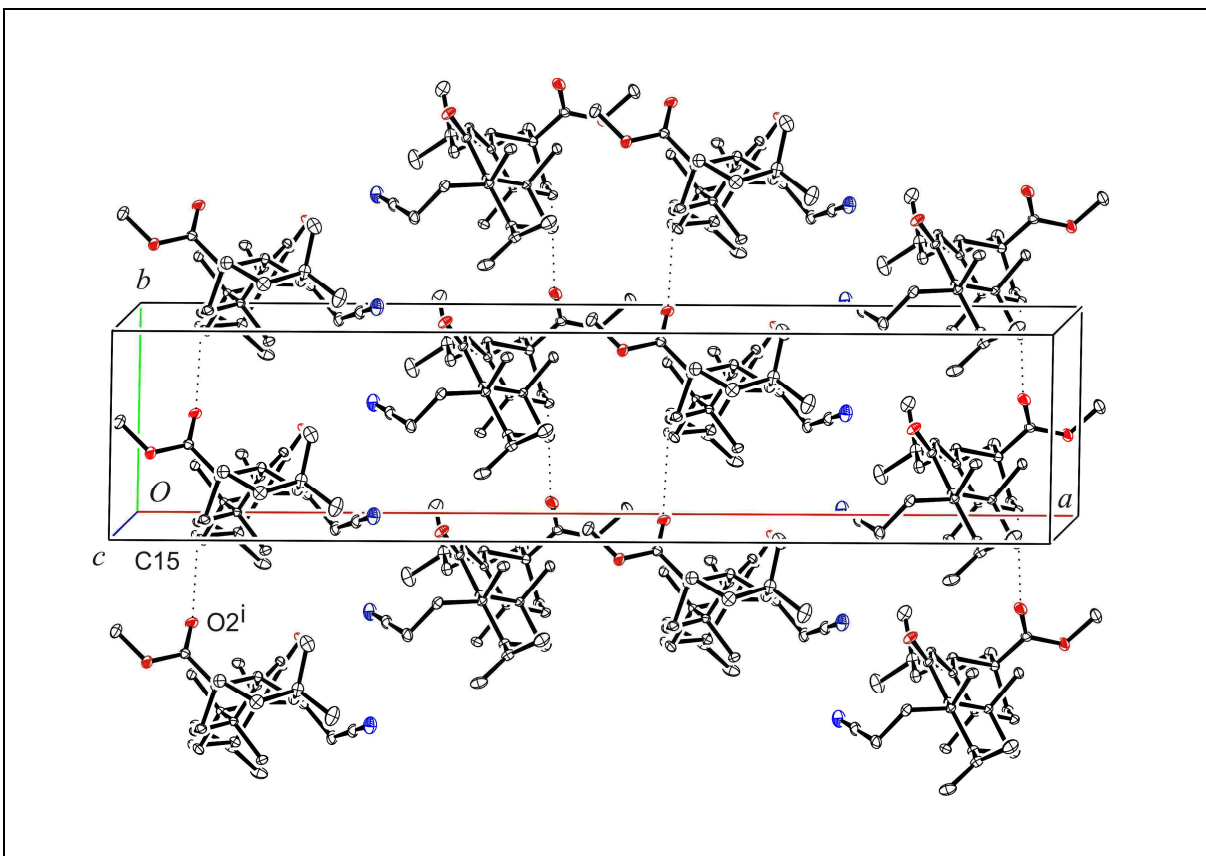


Rycina 43. Obraz przestrzenny symetrycznie niezależnych cząsteczek triterpenoidu 6

Tabela 14. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu 6

Wiązanie	Donor-H (Å)	H... Akceptor (Å)	Donor... Akceptor (Å)	Donor-H... Akceptor (°)
C1-H1B...O1	0.97	2.33	2.975(2)	123
C13-H13...O2	0.98	2.30	3.115(2)	140
C25-H25C...O1	0.96	2.37	3.034(2)	126
C15-H15B...O2 ⁱ	0.97	2.45	3.296(2)	146

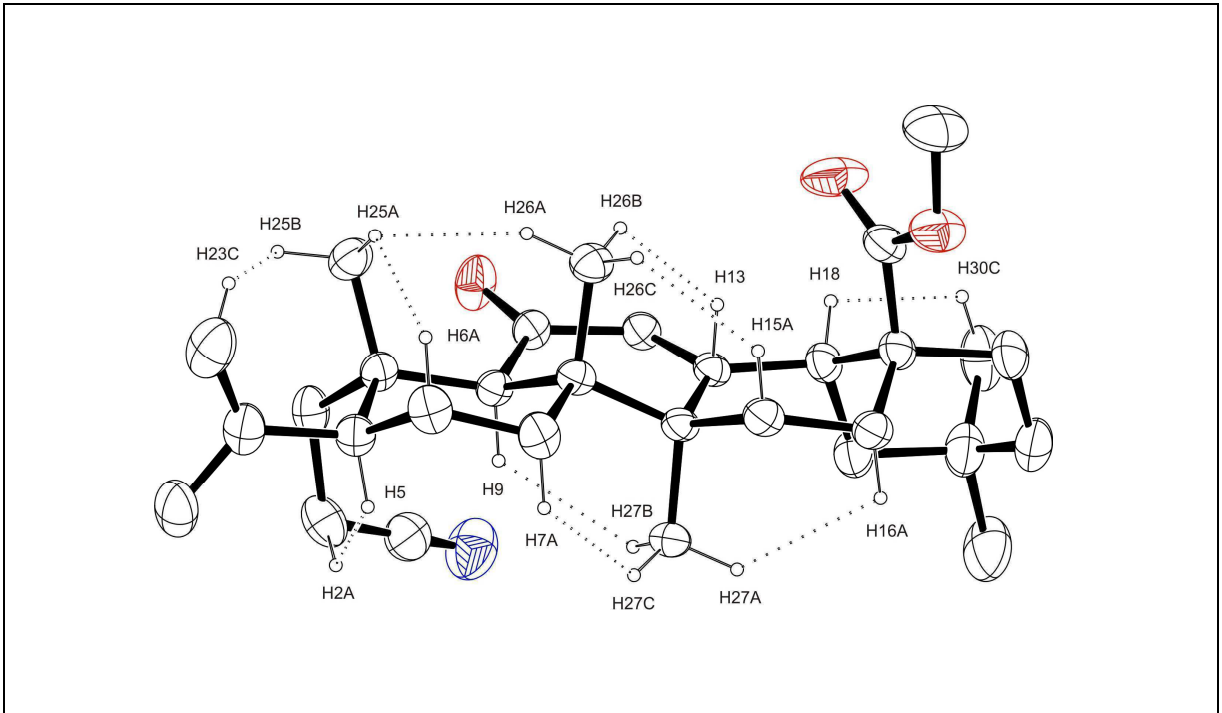
kody symetrii: (i) $x, -1+y, z$



Rycina 44. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **6**

Tabela 15. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **6**

Odległości międzyatomowe (Å)	
H2B...H5	2.11
H6A...H25a	2.16
H7A...H27C	1.93
H9...H27B	2.11
H13...H26B	1.86
H15A...H26C	2.00
H16A...H27A	2.20
H18...H30C	2.17
H23C...H25B	2.18
H25A...H26A	2.01



Rycina 45. Krótkie kontakty wodór-wodór w symetrycznie niezależnych cząsteczkach triterpenoidu 6

3.2.3. Solwat dimetyloformamidowy 12 α -bromo-3-hydroksyimino-18 β -oleanano-28, 13 β -laktonu (7), 12 α -bromo-3-okso-3a-aza-A-homooleanano-28,13 β -lakton (8) i 3-nitrylo-12 α -bromo-3,4-sekoolean-4(24)-eno-28,13 β -lakton (9)

zw. 7:	$C_{30}H_{46}NO_3Br \cdot C_3H_7NO$, $M_{cz} = 621.68$, układ rombowy, $P2_12_12_1$, $a = 6.6878(3) \text{ \AA}$, $b = 13.7858(6) \text{ \AA}$, $c = 33.8814(16) \text{ \AA}$, $V = 3123.7(2) \text{ \AA}^3$, $Z = 4$ ($Z' = 1$), $d_x = 1.2671(1) \text{ Mg m}^{-3}$, $\mu(\text{MoK}\alpha) = 1.314 \text{ mm}^{-1}$, $T = 100(2) \text{ K}$, $\theta_{\max} = 30.50^\circ$, liczba niezależnych refleksów: 9523, liczba refleksów z $I > 2\sigma(I)$: 8571, $wR(F^2) = 0.0641$, $R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.0285$, $S = 1.015$
zw. 8:	$C_{30}H_{46}BrNO_3$, $M_{cz} = 548.58$, układ jednoskośny, $C2$, $a = 14.1869(3) \text{ \AA}$, $b = 6.7207(3) \text{ \AA}$, $c = 29.1944(8) \text{ \AA}$, $\beta = 93.202(8)^\circ$, $V = 2779.22(13) \text{ \AA}^3$, $Z = 4$ ($Z' = 1$), $d_x = 1.3111(1) \text{ Mg m}^{-3}$, $\mu(\text{MoK}\alpha) = 1.510 \text{ mm}^{-1}$, $T = 293(2) \text{ K}$, $\theta_{\max} = 29.08^\circ$, liczba niezależnych refleksów: 6218, liczba refleksów z $I > 2\sigma(I)$: 5379, $wR(F^2) = 0.0833$, $R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.0385$, $S = 1.031$
zw. 9:	$C_{30}H_{44}NO_2Br$, $M_{cz} = 530.57$, układ rombowy, $P2_12_12_1$, $a = 6.8061(4) \text{ \AA}$, $b = 13.8831(10) \text{ \AA}$, $c = 27.940(4) \text{ \AA}$, $V = 2640.0(5) \text{ \AA}^3$, $Z = 4$ ($Z' = 1$), $d_x = 1.3349(3) \text{ Mg m}^{-3}$, $\mu(\text{MoK}\alpha) = 1.584 \text{ mm}^{-1}$, $T = 110(2) \text{ K}$, $\theta_{\max} = 29.12^\circ$, liczba niezależnych refleksów: 5963, liczba refleksów z $I > 2\sigma(I)$: 4016, $wR(F^2) = 0.0891$, $R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.0439$, $S = 0.937$

Rycina 46. Wzory triterpenoidów 7 - 9 oraz niektóre dane krystalograficzne

Triterpenoidy **7** - **9**, kolejna grupa reagentów reakcji przegrupowania Beckmanna, to produkty reakcji addycji bromu do nienasyconego pierścienia *C*. Charakteryzują się one brakiem w wymienionym pierścieniu endocyklicznego wiązania podwójnego C12=C13 oraz dodatkową obecnością atomu bromu w pozycji C12 o orientacji α {kąt pomiędzy wiązaniem C12–Br1 a normalną do płaszczyzny Cremer’a i Pople’a pierścienia *C* wynosi dla związku **7** 14.20(6)°, dla związku **8** 15.20(13)°, zaś dla związku **9** 16.25(13)° [134,160]}.

Wszystkie trzy analizowane triterpenoidy posiadają charakter 28,13 β -laktonu.

Kryształy triterpenoidów **7** i **9** należą do rombowego układu krystalograficznego i niecentrosymetrycznej grupy przestrzennej $P2_12_12_1$, kryształ triterpenoidu **8** do układu jednoskośnego i grupy przestrzennej $C2$. Rozpuszczalnik krystalizacyjny (dimetyloformamid) uczestniczy w tworzenie sieci kryształu triterpenoidu **7**. Stosunek molowy gospodarza (triterpenoid) do gościa (rozwpuszczalnik) w solwacie wynosi 1 : 1.

Z analizy rentgenograficznej wynika, iż struktura triterpenoidów **7** - **9** w obrębie pierścienia *A* odpowiada strukturze związków wcześniej omawianych w rozdziałach 3.2.1. i 3.2.2. I tak, w triterpenoidzie **7** grupa hydroksyiminowa w pozycji 3 pierścienia *A* wykazuje konfigurację *E* [kąt torsyjny O1–N1–C3–C4: 178.25(14)°], w triterpenoidzie **8** siedmioczłonowy układ laktamowy posiada strukturę, w której atom azotu N1 łączy atomy węgla karbonylowy C3 i czwartorzędowy C4, zaś w triterpenoidzie **9** pierścień *A* uległ otwarciu i z jego elementów utworzyły się dwa podstawniki. Z atomów węgla C4, C23 i C24 powstała płaska grupa izopropenyłowa o orientacji β . Związana jest ona z atomem węgla C5 pierścienia *B*. W stosunku do płaszczyzny najmniejszych kwadratów wymienionego pierścienia grupa izopropenyłowa ustawia się w przybliżeniu prostopadle. Kąt dwuścienny wynosi 84.23(15)°. Jednocześnie wiązanie podwójne C4=C23 [1.340(5) Å] w odniesieniu do wiązania C5–C10 pierścienia *B* wykazuje konformację zbliżoną do synklinalnej (*-sc*) [kąt torsyjny C23–C4–C5–C10: -72.5(4)°]. Przy atomie węgla C10 pierścienia *B* znajduje się grupa 2-cyjanooetyłowa o orientacji α , obejmująca atomy węgla C1, C2 i C3 pierwotnego pierścienia *A*. Liniowy fragment tej grupy, złożony z atomów C2, C3, N1, przyjmuje względem wiązania C1–C10 konformację zbliżoną do antyperiplanarnej (*+ap*) [kąt torsyjny C3–C2–C1–C10: 167.6(3)°]. Konformację antyperiplanarną wykazuje również wiązanie C1–C2 w odniesieniu do grupy metylowej C25 o zachowanej orientacji β . Kąt torsyjny dla układu atomów C2–C1–C10–C25 wynosi 173.4(3)°.

Rozwiązane metodą rentgenograficzną struktury triterpenoidów **7** - **9**, podobnie jak struktury triterpenoidów **2** i **3** (rozdz. 3.2.1.) oraz **4** - **6** (rozdz. 3.2.2.) wcześniej omawiane, wskazują na stereospecyficzny charakter reakcji przegrupowania Beckmanna w grupie triterpenoidów podgrupy oleananu w obrębie pierścienia A. Co więcej, w triterpenoidach **1**, **6** i **9** lokalizacja wiązania podwójnego {wiązanie C4=C23(C24)}, utworzonego w reakcji fragmentacji Beckmanna, wskazuje na orientację reakcji eliminacji niezgodną z regułą Zajcewa, w myśl której w wyniku reakcji eliminacji powstaje węglowodór, posiadający najmniej atomów wodoru przy nienasyconych atomach węgla. Obserwacja ta pozwala wnioskować, iż w grupie triterpenoidów pochodnych kwasu oleanolowego reakcja eliminacji, prowadząca do utworzenia wiązań podwójnych C4=C23 (zw. **1**, **6**, **9**), zachodzi prawdopodobnie nie według mechanizmu *E1* lecz *E2*. Orientacja reakcji eliminacji *E1* jest bowiem zgodna z regułą Zajcewa, co jest podyktowane faktem, iż położenie wiązania podwójnego określane jest w jej drugim etapie i nie zależy od rodzaju grupy opuszczającej.

W triterpenoidzie **7** sześcioczłonowy pierścień A z atomem węgla C3 w stanie hybrydyzacji sp^2 posiada konformację skręconej łodzi (twist-boat) [parametry C.&P. [134]: $Q = 0.7677(17) \text{ \AA}$, $\theta = 90.75(13)^\circ$, $\varphi = 268.09(13)^\circ$], natomiast siedmioczłonowy układ laktamowy zastępujący w triterpenoidzie **8** sześcioczłonowy pierścień A substratu, wykazuje konformację zniekształconej łodzi [parametry C.&P. [133]: $Q(2) = 1.009(3) \text{ \AA}$, $Q(3) = 0.174(3) \text{ \AA}$, $\varphi(2) = 337.44(19)^\circ$, $\varphi(3) = 180.2(11)^\circ$].

Triterpenoidy **7** - **9** charakteryzują się, jak wspomniano wcześniej, brakiem endocyklicznego wiązania podwójnego w pierścieniu C. Brak ten powoduje, iż pierścień ten posiada zmienioną konformację w stosunku do nienasyconych pierścieni C w triterpenoidach **2** - **6** wcześniej omawianych, to jest krzesłową zniekształconą w związkach **7** i **8** w kierunku konformacji łodziowej [parametry C.&P. dla związku **7**: $Q = 0.5528(15) \text{ \AA}$, $\theta = 15.39(16)^\circ$, $\varphi = 57.8(6)^\circ$; dla związku **8**: $Q = 0.559(3) \text{ \AA}$, $\theta = 17.5(3)^\circ$, $\varphi = 58.0(10)^\circ$], w związku **9** w kierunku skręconej łodzi [$Q = 0.564(3) \text{ \AA}$, $\theta = 15.8(3)^\circ$, $\varphi = 39.4(12)^\circ$]. Konformację krzesłową, w różnym stopniu zdeformowaną, wykazują także pozostałe pierścienie B, D i E triterpenoidów **7** - **9**.

Obecny w cząsteczkach analizowanych triterpenoidów pięcioczłonowy układ laktonowy posiada konformację koperty [parametry C.&P. dla związku **7**: $Q = 0.4986(15) \text{ \AA}$, $\varphi = 69.59(16)^\circ$; dla związku **8**: $Q = 0.496(3) \text{ \AA}$, $\varphi = 74.3(3)^\circ$; dla związku **9**: $Q = 0.497(3) \text{ \AA}$, $\varphi = 68.9(3)^\circ$]. Dla celów analizy porównawczej wykorzystano struktury pochodnych oleananu

o charakterze γ -laktonu, zdeponowane w strukturalnej bazie danych krystalograficznych (CSD, Cambridge wersja 5.32, [153]). Znalaziono w niej dane krystalograficzne 20 struktur [48-50,52,136, 142,161-171] i stwierdzono, iż układ laktonowy może przyjmować konformację tak koperty jak i półkrzesła, najczęściej jednak posiada konformację koperty.

Pierścienie *A/B* (zw. **7** i **8**), *B/C* i *C/D* (zw. **7** - **9**) wykazują przestrzenną konfigurację *trans* [kąty dwuścienne dla związku **7**: 18.03(5), 10.26(5) i 18.58(5)°; dla związku **8**: 22.24(10), 13.09(14) i 17.85(12)°; dla związku **9**: 12.11(13) i 16.60(11)°], pierścienie *D/E* konfigurację *cis* [kąty dwuścienne dla związku **7**: 59.15(4)°; dla związku **8**: 59.92(9)°; dla związku **9**: 60.20(9)°].

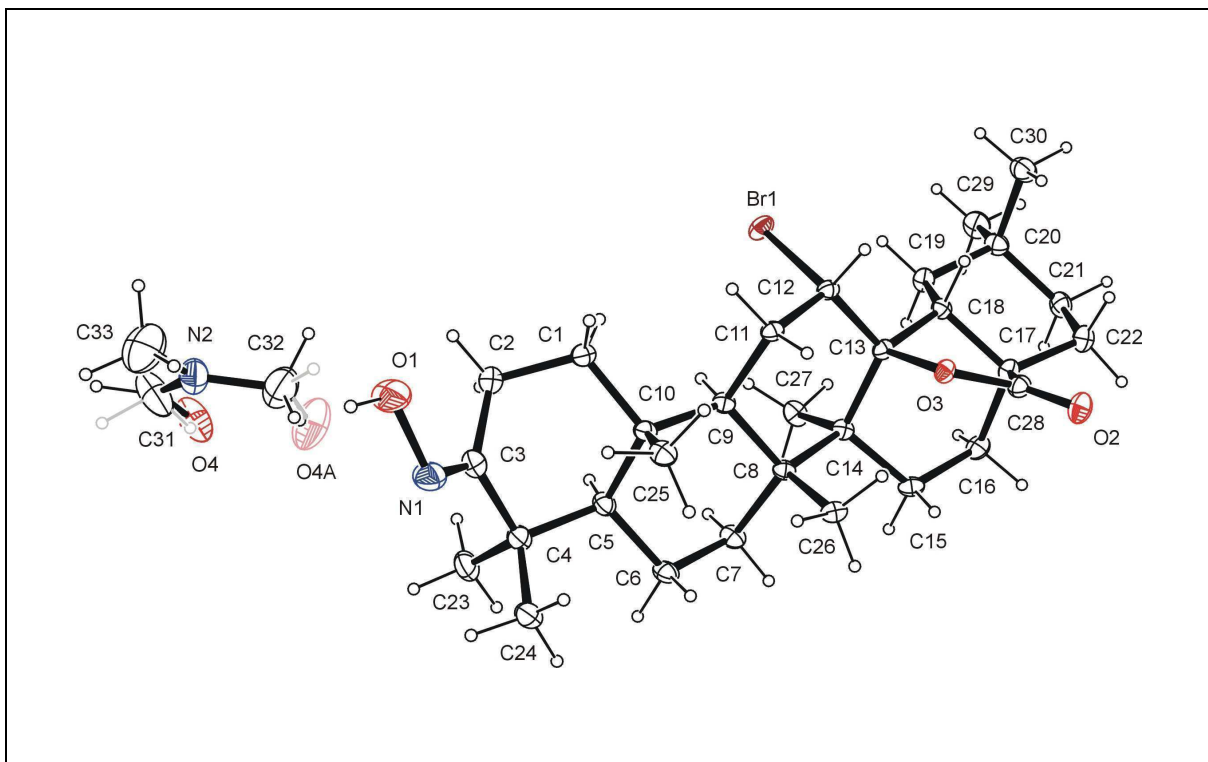
Wpływ aksjalnie ustawionych grup metylowych C24, C25 i C26 na deformację cząsteczki jest podobny do opisanego dla triterpenoidów **1** - **3** (rozdz. 3.1.; 3.2.1.] i kwasu oleanolowego [6].

W sieci kryształu triterpenoidu **7** o charakterze solwatu dimetyloformamidowego cząsteczki triterpenoidu i rozpuszczalnika krystalizacyjnego biorą udział w tworzeniu wiązań wodorowych O1–H1...O4, w których atom tlenu O1 grupy hydroksyiminowej triterpenoidu pełni rolę donora protonu, zaś karbonylowy atom tlenu rozpuszczalnika rolę akceptora protonu. Cząsteczki triterpenoidu związane osią śrubową 2_1 łączą się dodatkowo słabymi wiązaniami wodorowymi C6–H6A...Br1ⁱ w łańcuchy, narastające wzdłuż osi krystalograficznej *b* (Tabela 16, Rycina 48). Rozpuszczalnik krystalizacyjny wykazuje w sieci kryształu nieuporządkowanie. Cząsteczka zajmuje dwie alternatywne pozycje na skutek obrotu o kąt około 180° wokół wiązania N2–C33. Warto zauważyć, iż cząsteczka nie leży na elemencie symetrii.

W sieci kryształu triterpenoidu **8** cząsteczki związane osią dwukrotną łączą się w dimery za pomocą wiązań wodorowych N1–H1...O1ⁱ z udziałem atomów azotu i tlenu grup amidowych.

W sieci kryształu triterpenoidu **9** brak międzycząsteczkowych wiązań wodorowych.

W kryształach badanych triterpenoidów **7** - **9** stwierdza się obecność wewnątrzcząsteczkowych krótkich kontaktów wodór - wodór (Tabele 17, 19 i 21, Ryciny 49, 52, 55), w pierwszym wymienionym dziewięciu, zaś w drugim i trzecim jedenastu.

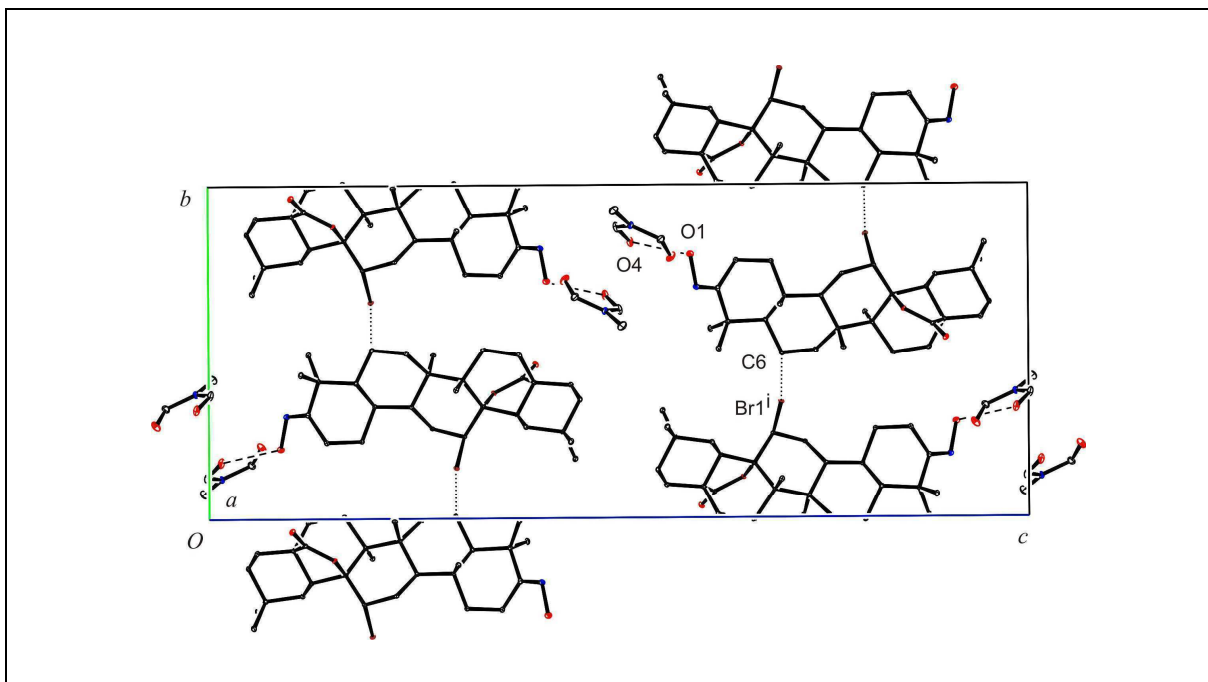


Rycina 47. Obraz przestrzenny cząsteczki triterpenoidu 7

Tabela 16. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu 7

Wiązanie	Donor-H (Å)	H...Akceptor (Å)	Donor...Akceptor (Å)	Donor-H...Akceptor (°)
C9-H9A...Br1	1.00	2.82	3.3728(15)	116
C19-H19A...Br1	0.99	2.81	3.4857(14)	126
C26-H26C...O2	0.98	2.17	2.956(2)	137
C27-H27A...Br1	0.98	2.85	3.4439(16)	120
O1-H1...O4	0.84	1.94	2.754(2)	161
C6-H6A...Br1 ⁱ	0.99	2.93	3.6766(14)	133

kod symetrii: (i) $2-x, -0.5+y, 1.5-z$

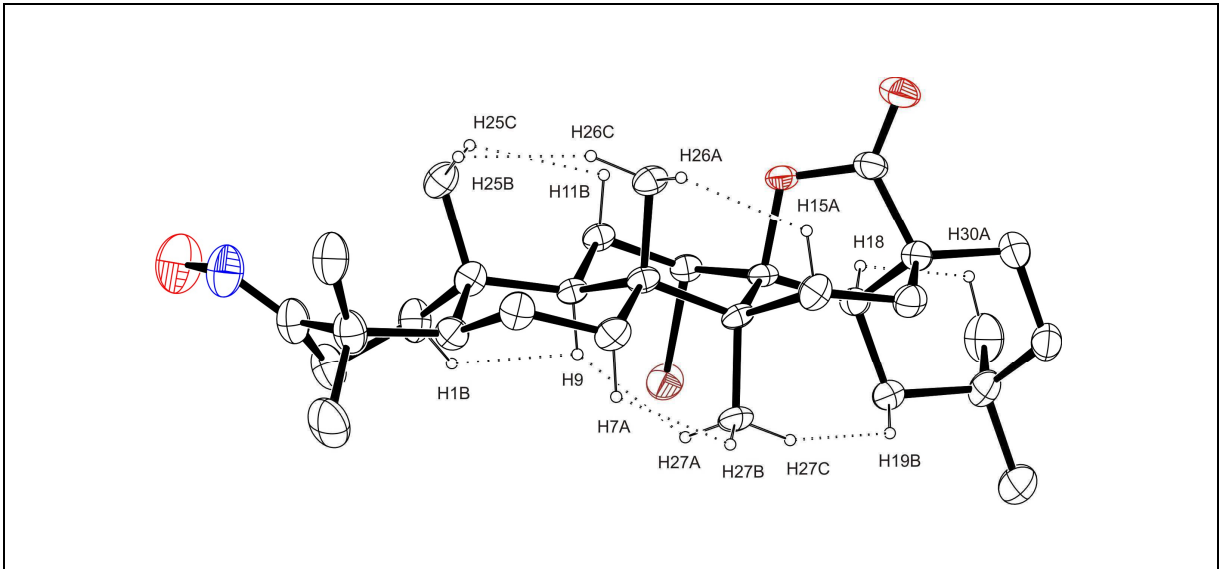


Rycina 48. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu 7

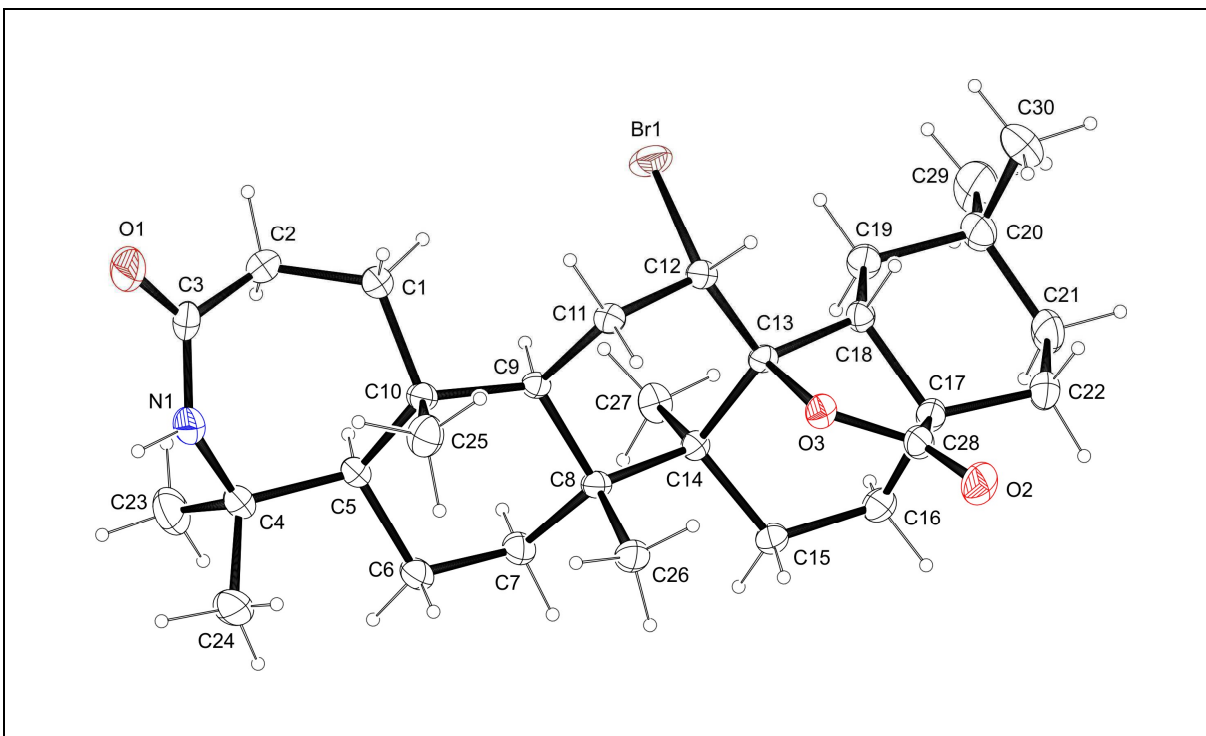
Tabela 17. Krótkie kontakty wodór-wodór w triterpenoidzie 7

Odległości międzyatomowe (Å)	
H1A...H26A ⁱ	2.20
H1B...H9	2.12
H7A...H27B	2.01
H9...H27A	2.05
H11B...H25C	2.20
H15A...H26A	2.11
H18...H30A	2.12
H19B...H27C	1.84
H25B...H26C	2.01

kod symetrii: (i) 1-x, 0.5+y, 1.5-z



Rycina 49. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu 7

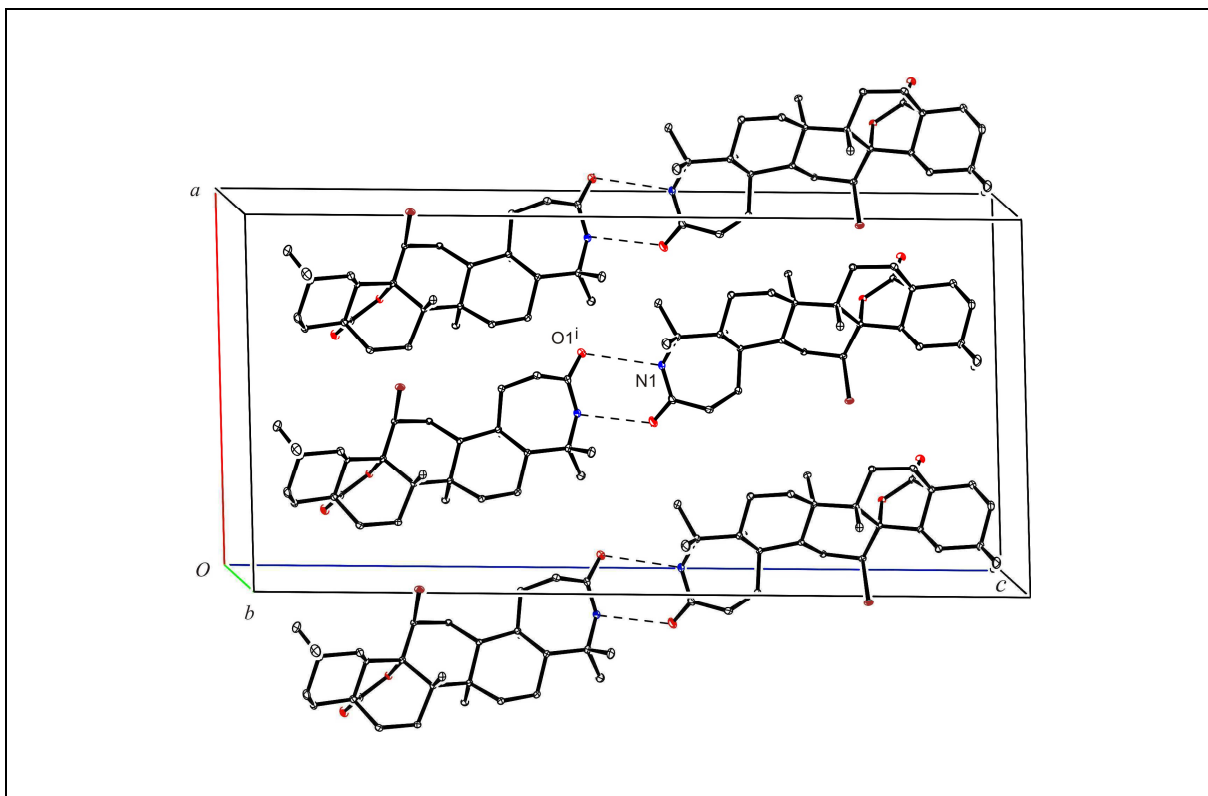


Rycina 50. Obraz przestrzenny cząsteczki triterpenoidu 8

Tabela 18. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu 8

Wiązanie	Donor–H (Å)	H···Akceptor (Å)	Donor····Akceptor (Å)	Donor–H···Akceptor (°)
C9–H9···Br1	0.98	2.81	3.364	117
C19–H19A···Br1	0.97	2.81	3.467	126
C25–H19A···Br1	0.96	2.58	3.161	119
C26–H26A···O3	0.96	2.27	3.021	135
C27–H27C···Br1	0.96	2.87	3.485	123
N1–H1···O1 ⁱ	0.84(4)	2.20(4)	3.007(4)	162(3)
C24–H24C···O1 ⁱ	0.96	2.60	3.417(4)	143

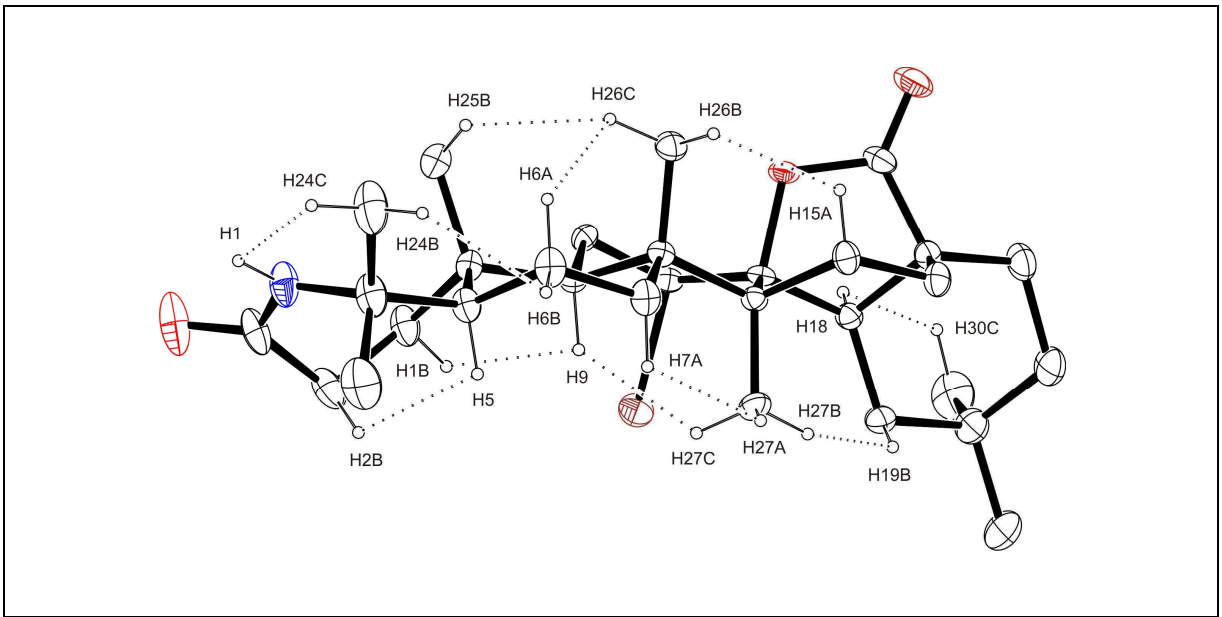
kod symetrii: (i) 1-x, y, 1-z.



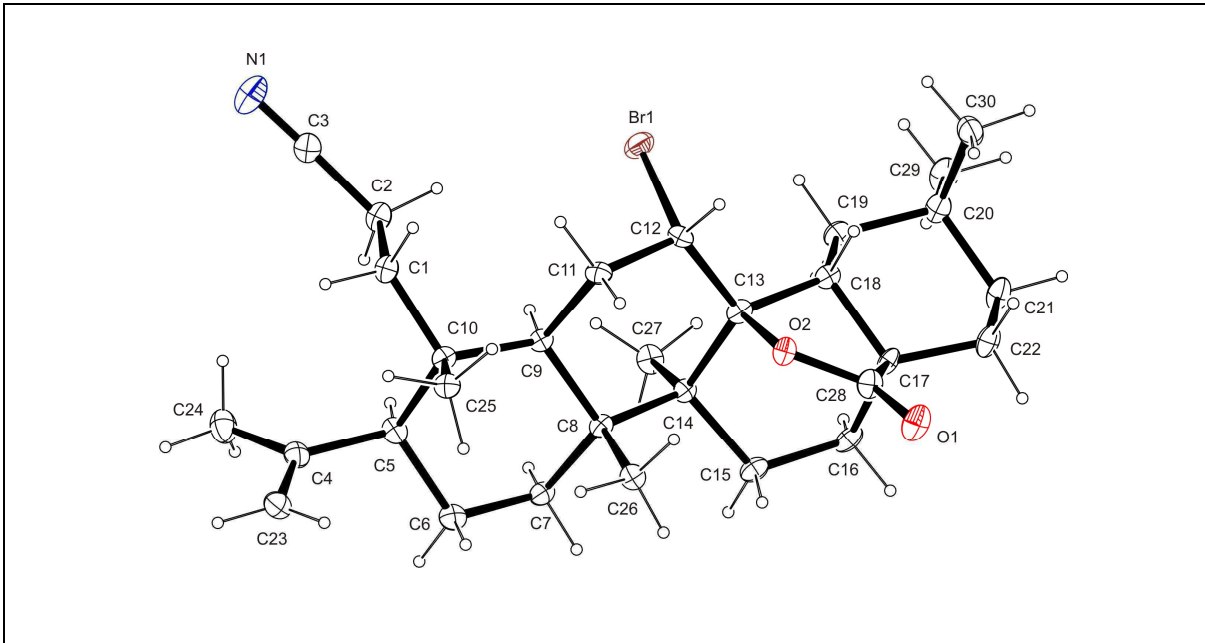
Rycina 51. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu 8

Tabela 19. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu 8

Odległości międzyatomowe (Å)	
H1...H24C	2.20
H1B...H9	2.03
H2B...H25	2.16
H6A...H26C	2.19
H6B...H24C	2.16
H7A...H27A	1.97
H9...H27C	2.04
H15A...H26B	2.14
H18...H30C	2.12
H19B...H27B	1.78
H25B...H26C	2.03



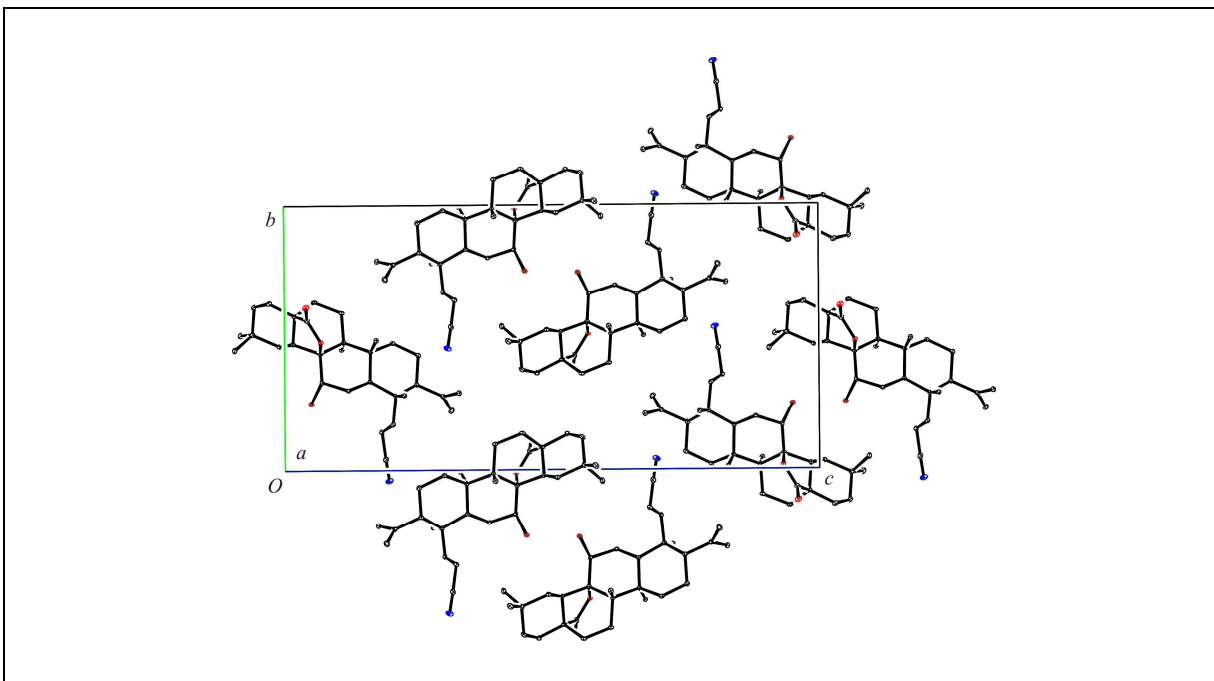
Rycina 52. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu 8



Rycina 53. Krótkie kontakty wodór-wodór w symetrycznie niezależnych cząsteczkach triterpenoidu **9**

Tabela 20. Wiązania wodorowe w triterpenoidzie **9**

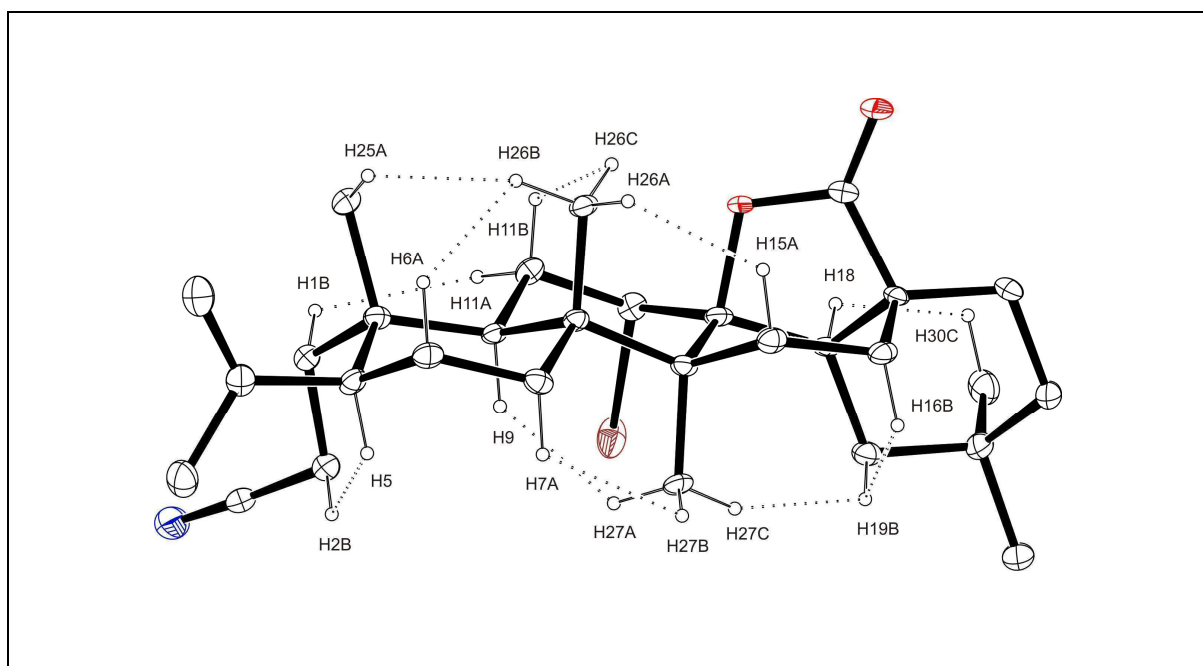
Wiązanie	Donor-H (Å)	H... Akceptor (Å)	Donor... Akceptor (Å)	Donor-H... Akceptor (°)
C19-H19A...Br1	0.97	2.82	3.481(3)	126
C26-H26C...O2	0.96	2.21	2.902(4)	128



Rycina 54. Sposób upakowania cząsteczek w komórce elementarnej triterpenoidu **9**

Tabela 21. *Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu 9*

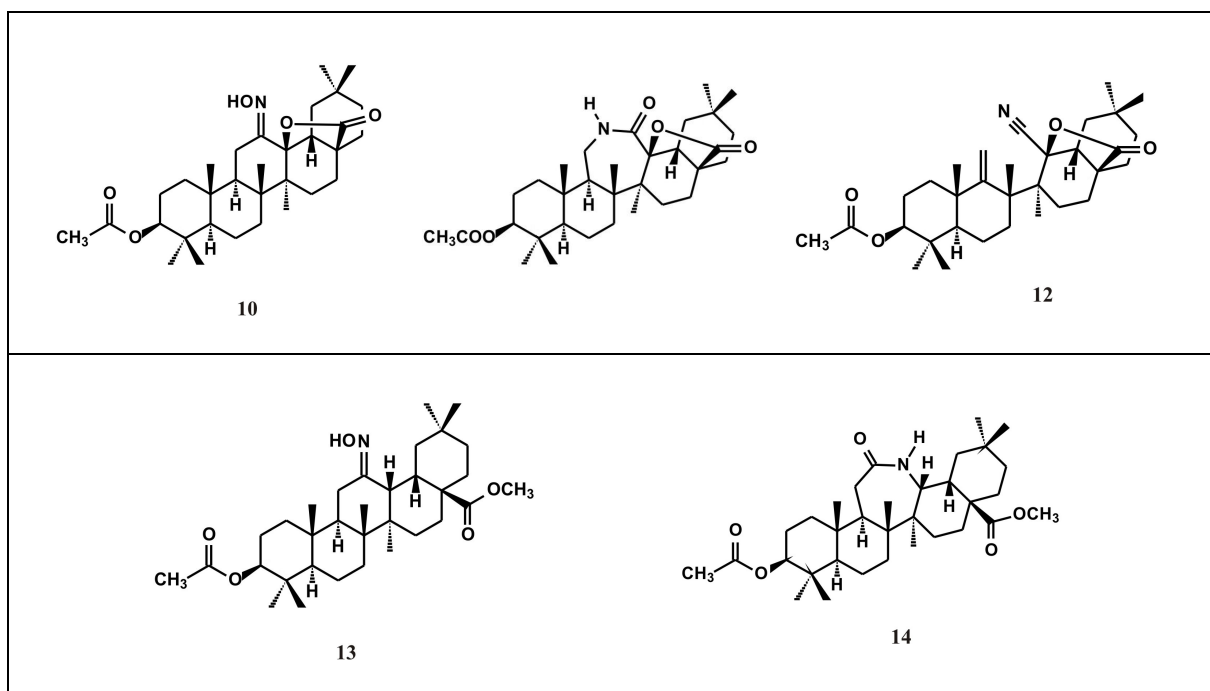
Odległości międzyatomowe (Å)	
H1B...H11A	2.17
H2B...H5	2.16
H6A...H26B	2.12
H7A...H27B	2.13
H9...H27A	1.96
H11B...H26C	2.17
H15A...H26A	2.00
H16B...H19B	2.17
H18...H30C	2.15
H19B...H27C	1.90
H25B...H26B	1.97



Rycina 55. *Krótkie kontakty wodór-wodór w symetrycznie niezależnych cząsteczkach triterpenoidu 9*

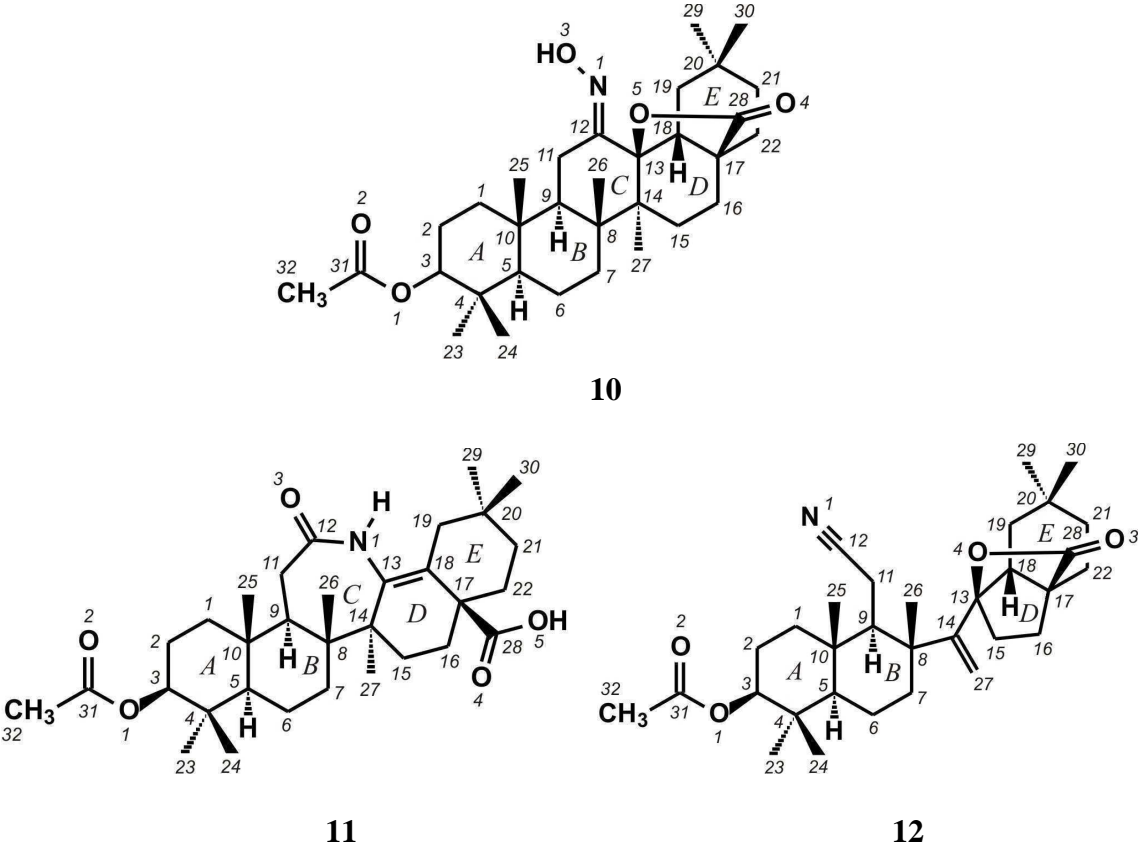
3.3. STRUKTURA KRYSTAŁÓW REAGENTÓW REAKCJI PRZEGRUPOWANIA BECKMANNA W OBRĘBIE PIERŚCIENIA C TRITERPENOIDU

Wyniki analizy rentgenograficznej triterpenoidów **10** - **12** oraz **13** - **15**, reagentów dwóch reakcji przegrupowania Beckmanna w obrębie pierścienia C, pozwoliły skorygować ich struktury, określone wcześniej metodami spektralnymi {IR, NMR, MS; [8]}. Za pomocą tych ostatnich produktów reakcji przegrupowania Beckmanna **11** i **14** przypisano różne struktury układów laktamowych. Cząsteczce związku **11** przypisano układ 12,11-laktamowy z grupą karbonylową sąsiadującą z atomem węgla C13, zaś cząsteczce związku **14** układ 12,13 α -laktamowy, to jest z grupą karbonylową sąsiadującą z atomem węgla C11. W przypadku produktu reakcji fragmentacji Beckmanna **12** stwierdzono otwarcie pierścienia C i utworzenie z jego elementów wiązania podwójnego i grupy nitrylowej. Wiązanie podwójne zlokalizowano pomiędzy atomami węgla C9 i C11, zaś grupę nitrylową w pozycji C13 (Rycina 56). Nie udało się wyjaśnić struktury produktu reakcji fragmentacji Beckmanna **15**. Struktury triterpenoidów **11**, **12** i **14** wykorzystano dla określenia konfiguracji grupy hydroksyiminowej, obecnej w cząsteczkach substratów reakcji **10** i **13**. W pierwszym przypadku konfigurację określono jako *Z*, w drugim jako *E*. W oparciu o badania spektroskopowe triterpenoidy **10** - **12** określono jako pochodne 28,13 β -laktonowe, zaś triterpenoidy **13** i **14** jako pochodne estrowe.



Rycina 56. Wzory związków **10** - **14** określone za pomocą analiz spektralnych [8]

3.3.1. 3 β -acetoksy-12-hydroksyimino-18 β -oleanano-28,13 β -lakton (10), kwas 3 β -acetoksy-12-okso-12a-aza-C-homoolean-13(18)-en-28-owy (11) i 3 β -acetoksy-12-nitrylo-12,13-seko-15(14 \rightarrow 13)-abeoolean-14(27)-eno-28,13 β -lakton (12)

	 <p style="text-align: center;">10</p> <p style="text-align: center;">11</p> <p style="text-align: center;">12</p>
zw. 10 :	C ₃₂ H ₄₉ NO ₅ , $M_{cz} = 527.72$, układ jednoskośny, grupa przestrzenna $P2_1$, $a = 7.469(1) \text{ \AA}$, $b = 15.288(3) \text{ \AA}$, $c = 12.943(3) \text{ \AA}$, $\beta = 104.78(3)^\circ$, $V = 1429.0(5) \text{ \AA}^3$, $Z = 2$ ($Z'=1$), $d_x = 1.2265(4) \text{ Mg m}^{-3}$, $\mu(\text{MoK}\alpha) = 0.081 \text{ mm}^{-1}$, $T = 100(2) \text{ K}$, $\theta = 36.85^\circ$, liczba niezależnych refleksów 11246, liczba refleksów z $I > 2\sigma(I)$ 10294, $wR(F^2) = 0.103$, $R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.0395$, $S = 1.039$.
zw. 11 :	C ₃₂ H ₄₉ NO ₅ , $M_{cz} = 527.72$, układ rombowy, grupa przestrzenna $P2_12_12_1$, $a = 8.1495(1) \text{ \AA}$, $b = 14.3252(3) \text{ \AA}$, $c = 25.2958(5) \text{ \AA}$, $V = 2953.11(9) \text{ \AA}^3$, $Z = 4$ ($Z'=1$), $d_x = 1.1870(1) \text{ Mg m}^{-3}$, $\mu(\text{MoK}\alpha) = 0.079 \text{ mm}^{-1}$, $T = 110(2) \text{ K}$, $\theta = 29.12^\circ$, liczba niezależnych refleksów 6488, liczba refleksów z $I > 2\sigma(I)$ 5573, $wR(F^2) = 0.0764$, $R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.0329$, $S = 0.986$.
zw. 12 :	C ₃₂ H ₄₇ NO ₄ , $M_{cz} = 509.71$, układ trójskośny, grupa przestrzenna $P1$, $a = 8.9322(5) \text{ \AA}$, $b = 9.3534(4) \text{ \AA}$, $c = 10.4867(5) \text{ \AA}$, $\alpha = 102.119(4)^\circ$, $\beta = 109.856(4)^\circ$, $\gamma = 111.838(4)^\circ$, $V = 705.88(6) \text{ \AA}^3$, $Z = 1$ ($Z'=1$), $d_x = 1.1990(1) \text{ Mg m}^{-3}$, $\mu(\text{MoK}\alpha) = 0.077 \text{ mm}^{-1}$, $T = 110(2) \text{ K}$, $\theta = 29.05^\circ$, liczba niezależnych refleksów 6666, liczba refleksów z $I > 2\sigma(I)$ 6318, $wR(F^2) = 0.0807$, $R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.0292$, $S = 1.086$.

Rycina 57. Wzory triterpenoidów **10** - **12** oraz niektóre dane krystalograficzne

Analiza rentgenograficzna wykazała, iż reagenty **10** - **12** reakcji przegrupowania Beckmanna nie posiadają żadnej z zaproponowanych wcześniej struktur (patrz rozdz. 3.3.). Stwierdzono, iż nie trzy lecz dwa triterpenoidy (zw. **10** i **12**) są pochodnymi 28,13 β -laktonowymi kwasu oleanolowego. U obydwu grupa karbonylowa (C28=O5, zw. **10**; C28=O4, zw. **12**) układu laktonowego sąsiaduje z atomem węgla C17, zaś ustawiony aksjalnie do pierścieni C i D atom tlenu (O4, zw. **10**; O3, zw. **12**) o orientacji β , łączy atomy węgla C13 i C28. Trzeci z reagentów reakcji przegrupowania Beckmanna, to jest triterpenoid **11**, w odróżnieniu od triterpenoidów **10** i **12** nie posiada układu 28,13 β -laktonowego lecz wolną grupę karboksylową w pozycji C17 oraz dodatkowo wiązanie podwójne C13=C18 [1.3386(18) Å] w pierścieniu D. Obecna w cząsteczce grupa karboksylowa ustawia się aksjalnie do pierścienia D oraz ekwatorialnie do pierścienia E, a występujące w niej wiązanie C28=O4 posiada konformację pośrednią pomiędzy antyklinalną i antyperiplanarną [kąt torsyjny C18-C17-C28-O4: -150.40(13) $^\circ$] względem wiązania C17-C18.

Z analizy rentgenograficznej wynika, iż w cząsteczce triterpenoidu **10**, użytego w reakcji przegrupowania Beckmanna jako substrat, grupa hydroksyiminowa obecna w pozycji 12 pierścienia C nie posiada konfiguracji Z, określonej w oparciu o wyniki analiz spektralnych, lecz konfigurację E [kąt torsyjny O3-N1-C12-C13: -176.48(7) $^\circ$].

W przypadku triterpenoidu **11**, produktu reakcji przegrupowania Beckmanna, wykazano nie tylko brak układu 28,13 β -laktonowego w cząsteczce, ale również różną od zaproponowanej wcześniej na podstawie analizy widm spektralnych strukturę siedmioczłonowego pierścienia laktamowego. Stwierdzono, iż obecny w tym pierścieniu heterocyklicznym amidowy atom azotu łączy nie atomy węgla C11 i C12, lecz atomy C12 i C13 (Rycina 57 i 62). Również grupa karbonylowa nie sąsiaduje z atomem węgla C13 lecz C11.

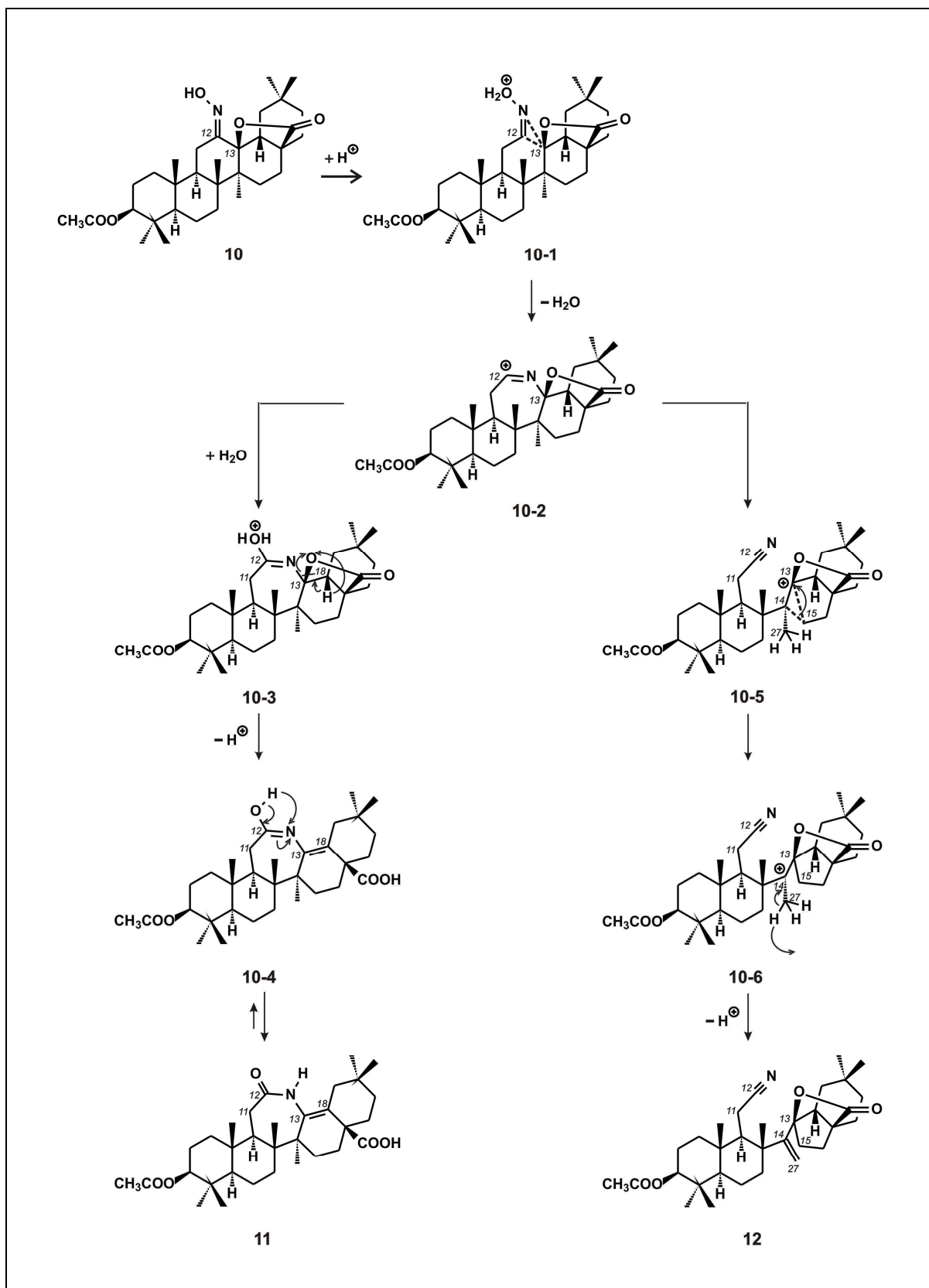
Przeprowadzone badania struktury triterpenoidu **12**, produktu reakcji fragmentacji Beckmanna, wykazały, iż związek ten powstał w wyniku daleko idących zmian w obrębie pierścieni C i D substratu. W wyniku tych przekształceń nastąpiło otwarcie pierścienia C na skutek rozerwania wiązania C12-C13 i utworzenie z jego atomów C11 i C12 grupy cyjanometrylowej o orientacji β , związanej z atomem węgla C9 pierścienia B. Grupa ta przyjmuje względem wiązania C9-C8 konformację pośrednią pomiędzy antyklinalną i antyperiplanarną (+*ac*/*ap*) [kąt torsyjny C8-C9-C11-C12: 141.46(9) $^\circ$]. Tworzące się obok grupy nitrylowej (C9-cyjanometrylowej) wiązanie podwójne zlokalizowano pomiędzy atomami węgla C14 i C27 [1.3337(15) Å], pierwotnie o charakterze czwartorzędowym (C14)

i charakterze grupy metylowej (C27). Co więcej, pierwotny sześcioczłonowy pierścień *D* uległ kontrakcji w wyniku utworzenia wiązania C13–C15 kosztem wiązania C14–C15.

Jak można zauważyć, cząsteczkę stanowią dwa sztywne układy dwupierścieniowy (*A* i *B*) i trójpierścieniowy (*D*, *E* i układ γ -laktonowy), oddzielone od siebie dwoma wiązaniami pojedynczymi C8–C14 [1.5481(14) Å] i C14–C13 [1.5323(14) Å] ze wspólnym atomem węgla C14. Wzajemną przestrzenną orientację tych układów można wyznaczyć, biorąc pod uwagę wzajemne ustawienie układów dwupierścieniowych *A* - *B* oraz *E* - układ γ -laktonowy, w których pierścienie posiadają konfigurację przestrzenną *trans*. Kąt dwuścienny pomiędzy płaszczyznami najmniejszych kwadratów układów dwupierścieniowych, wynoszący 77.39(3)°, wskazuje na wzajemne ich ustawienie zbliżone do prostopadłego.

Obecne w cząsteczce wiązanie podwójne C14=C27 ustawia się antyperiplanarnie (+*ap*) w odniesieniu do wiązania C8–C9 [kąt torsyjny C9–C8–C14–C27: 119.35(11)°] oraz synklinalnie (+*sc*) w stosunku do wiązania C13–C18 [kąt torsyjny C18–C13–C14–C27: 58.44(13)°].

Uzyskane za pomocą analizy rentgenograficznej struktury reagentów reakcji przegrupowania Beckmanna, tak substratu **10** jak i produktów **11** i **12**, pozwoliły zaproponować mechanizm reakcji, prowadzący do ich powstania. Przemiana triterpenoidu **10** w triterpenoidy o strukturach **11** i **12** prowadzi, jak przedstawiono na rycinie 58, do jonu nitryliowego **10-2**, który tworzy się z nietrwałego stanu przejściowego **10-1** w wyniku odszczepienia cząsteczki wody i utworzenia wiązania C13–N1 kosztem wiązania C12–C13. Jon nitryliowy ulega dwóm konkurencyjnym reakcjom, w których tworzą się produkty pośrednie **10-3** oraz **10-5**, pierwszy w wyniku przyłączenia cząsteczki wody do atomu węgla C12 o charakterze karbokationu, drugi na skutek rozerwania wiązania C13–N1 i utworzenia grupy cyjanometylowej z udziałem atomów C11, C12 i N1. W przekształceniach produktu pośredniego **10-3** reakcji przegrupowania Beckmanna, mają miejsce dwa niezależne procesy, a mianowicie odszczepienie protonu od grupy oksoniowej w pozycji C12 oraz dodatkowo hydroliza układu laktonowego. W wyniku tej ostatniej reakcji tworzy się grupa karboksylowa i wiązanie podwójne C13=C18 w pierścieniu *D*. Otrzymany w reakcji konkurencyjnej produkt pośredni **10-5** posiada charakter karbokationu z ładunkiem dodatnim lokalizującym się na atomie węgla C13. Jak się wydaje, z uwagi na brak możliwości spłaszczenia tego



Rycina 58. Mechanizm reakcji zaproponowany w oparciu o wyniki analizy rentgenograficznej związków **10** - **12**

trzeciorzędowego karbokationu (C13⁺ z podstawnikami C14, C18 i O3) dochodzi do przegrupowania 1,2 w obrębie pierścienia *D*, które skutkuje kontrakcją tego pierścienia, związaną z utworzeniem wiązania C13–C15 kosztem wiązania C13–C14. Warto zauważyć, iż przegrupowanie 1,2 w obrębie pierścienia *D* pociąga za sobą migrację ładunku dodatniego od atomu węgla C13 do C14 (stan pośredni **10-6**). Kolejne odłączenie kationu wodorowego od atomu węgla C27, a następnie utworzenie wiązania podwójnego C14=C27 skutkują utworzeniem końcowego produktu **12**. W przedstawionym schemacie reakcji, prowadzącym do otrzymania triterpenoidu **12**, zakłada się, iż reakcja eliminacji zachodzi według ogólnie przyjętego mechanizmu *E1*.

Warto odnotować brak reakcji hydrolizy grupy laktonowej w szlaku reakcji, prowadzącym do triterpenoidu **12**. Przyczynę tego faktu można upatrywać w obecności ładunku dodatniego tak na atomie węgla C13 w stanie przejściowym **10-5** jak i atomie C14 w stanie przejściowym **10-6**, stabilizującej wiązanie C13–O3.

W cząsteczkach badanych triterpenoidów **10** - **12** sześcioczłonowe pierścienie o charakterze nasyconym *A*, *B* (zw. **10** - **12**), *D* (zw. **10**) i *E* (zw. **10** i **12**) wykazują konformację krzesła nieznacznie tylko zniekształconego. Dotyczy to również pierścienia *E* w triterpenoidzie **11** z jednym atomem węgla w stanie hybrydyzacji *sp*² w tym pierścieniu. Większy stopień deformacji konformacji krzesłowej stwierdzono natomiast dla pierścienia *C* z atomem węgla C12 o hybrydyzacji *sp*² w triterpenoidzie **10**. Zniekształcenie konformacji krzesłowej tego pierścienia ukierunkowane jest na formę półłodzi [parametry C.&P. [134]: $Q = 0.5589(10) \text{ \AA}$, $\theta = 26.16(10)^\circ$, $\varphi = 2.7(2)^\circ$]. W triterpenoidzie **11** pierścień *D* z wiązaniem podwójnym C13=C18 posiada konformację półkrzesła [parametry C.&P. $Q = 0.4194(14) \text{ \AA}$, $\theta = 51.54(19)^\circ$, $\varphi = 143.5(2)^\circ$], zaś w triterpenoidzie **12** pierścień *D*, pomniejszony o atom węgla C14, posiada konformację koperty [parametry C.&P.: $Q = 0.5739(13) \text{ \AA}$, $\varphi = 145.12(14)^\circ$]. Pierścień *D* w triterpenoidzie **12** posiada trzy węzłowe atomy C13, C17 i C18 z układem 28,13β-laktonowym również o konformacji koperty [parametry C.&P.: $Q = 0.5744(13) \text{ \AA}$, $\varphi = 73.82(12)^\circ$]. Obydwa te pierścienie przecina płaszczyzna lustrzana, przechodząca przez wspólny atom węgla C18 oraz przedzielająca wiązania C15–C16 (pierścień *D*) i C28–O3 (układ laktonowy). Pierścień laktonowy, obecny w cząsteczce triterpenoidu **10**, posiada również konformację koperty [parametry C.&P.: $Q = 0.490(1) \text{ \AA}$, $\varphi = 71.15(10)^\circ$] z płaszczyzną lustrzaną przepoławiającą wiązanie O3–C28. Obecny w cząsteczce triterpenoidu **11** siedmioczłonowy pierścień laktamowy przyjmuje konformację

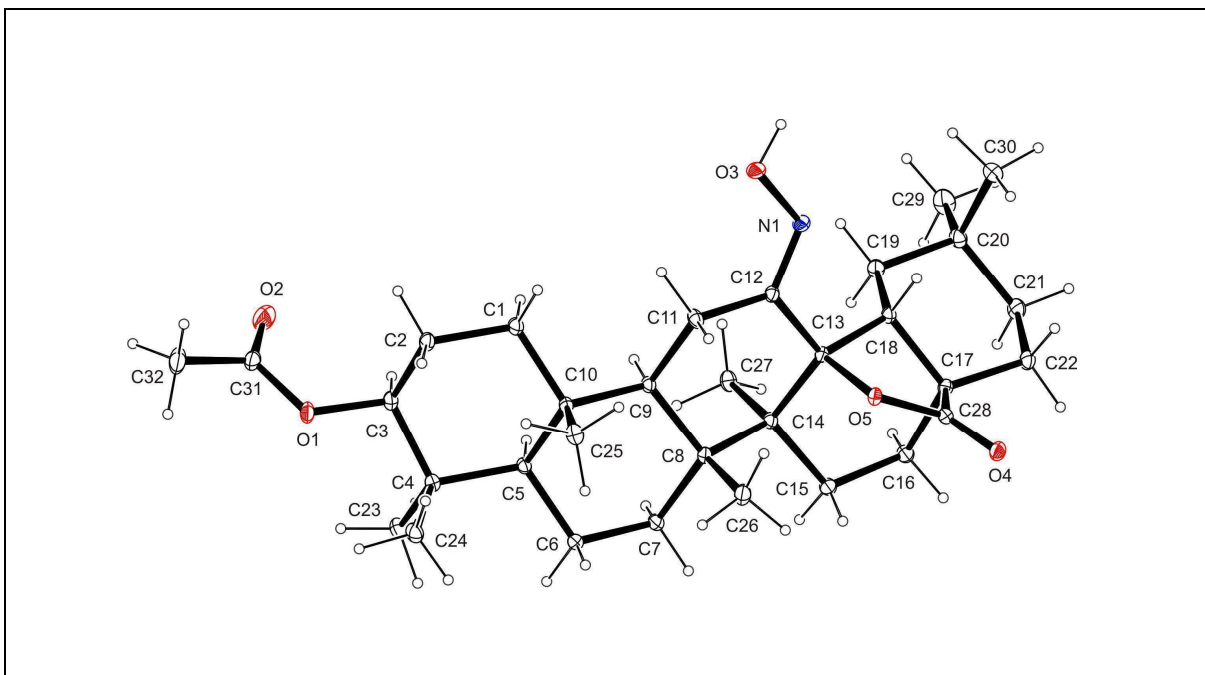
krzesła [parametry C.&P. [133]: $Q(2) = 0.4822(13) \text{ \AA}$, $Q(3) = 0.6863(13) \text{ \AA}$, $\varphi(2) = 320.76(16)^\circ$, $\varphi(3) = 279.33(11)^\circ$], pomimo obecności w pierścieniu aż dwóch atomów węgla w stanie hybrydyzacji sp^2 (C12, C13).

W cząsteczkach triterpenoidów **10** - **12** płaska grupa acetoksyłowa w pozycji C3 posiada orientację β . Występujące w niej ugrupowanie karbonyłowe przyjmuje we wszystkich trzech przypadkach konformację pośrednią pomiędzy synklinalną i antyklinalną w odniesieniu do wiązania C2–C3 (+*sc*/*ac*) [kąt torsyjny C2–C3...C31–O2 dla związku **10**: $94.16(2)^\circ$; dla związku **11**: $78.15(13)^\circ$; dla związku **12**: $83.37(1)^\circ$], zaś zbliżoną do synperiplanarnej w stosunku do wiązania O1–C3 [kąt torsyjny C3–O1–C31–O2 dla związku **10**: $17.35(15)^\circ$; dla związku **11**: $4.3(2)^\circ$; dla związku **12**: $4.17(16)^\circ$].

Wpływ aksjalnych grup metylowych C24, C25 i C26 na deformację pierścieni A i B triterpenoidów **10** - **12** jest zbliżony do opisanego dla triterpenoidów **1** - **3**. W triterpenoidach **10** - **12** wartości długości wiązań węgiel-węgiel i węgiel-tlen oraz wartości kątów walencyjnych w badanych triterpenoidach są zbliżone do znalezionych w kwasie oleanolowym [6]. Z kolei długości wiązań węgiel-azot są porównywalne z długościami literaturowymi (O=C)–NH, C=N, C≡N [132].

W sieci kryształu wszystkich trzech badanych triterpenoidów **10**, **11** i **12** cząsteczki związane translacją wzdłuż osi krystalograficznej *a* łączą się wiązaniami wodorowymi typu O–H...O, N–H...O i/lub C–H...O w łańcuchy. I tak, w kryształach triterpenoidu **10** cząsteczki łączą się wiązaniami wodorowymi O3–H3...O4ⁱ [Tabela 22, Rycina 60], w które angażują grupę hydroksylową podstawnika hydroksyiminowego oraz karbonyłowy atom tlenu układu laktonowego. W kryształach triterpenoidu **11** cząsteczki łączą się wiązaniami wodorowymi N1–H1...O4ⁱ i O5ⁱ–H4ⁱ...O3 [Tabela 24, Rycina 63], w których uczestniczą grupa amidowa układu laktamowego i grupa karboksylowa. Stosując metodę grafów dla opisu sieci wiązań wodorowych [156-158], odnotowano w tym ostatnim przypadku motywy wiązań wodorowych łańcuchowe C(7),C(9) pierwszorzędowe oraz bardziej interesujący motyw pierścieniowy drugiego rzędu, $R_2^2(8)$ (Rycina 63). Z kolei w sieci kryształu triterpenoidu **12** cząsteczki łączą się wiązaniami wodorowymi C18–H18B...O2ⁱ [Tabela 26, Rycina 66], w których akceptorem protonu jest karbonyłowy atom tlenu grupy acetoksyłowej.

W triterpenoidach **10**, **11** i **12** stwierdza się obecność krótkich wewnątrzcząsteczkowych kontaktów wodór – wodór, dwunastu w pierwszym wymienionym, jedenastu w drugim, zaś ośmiu w trzecim (Tabele 23, 25 i 27, Ryciny 61, 64 i 67).

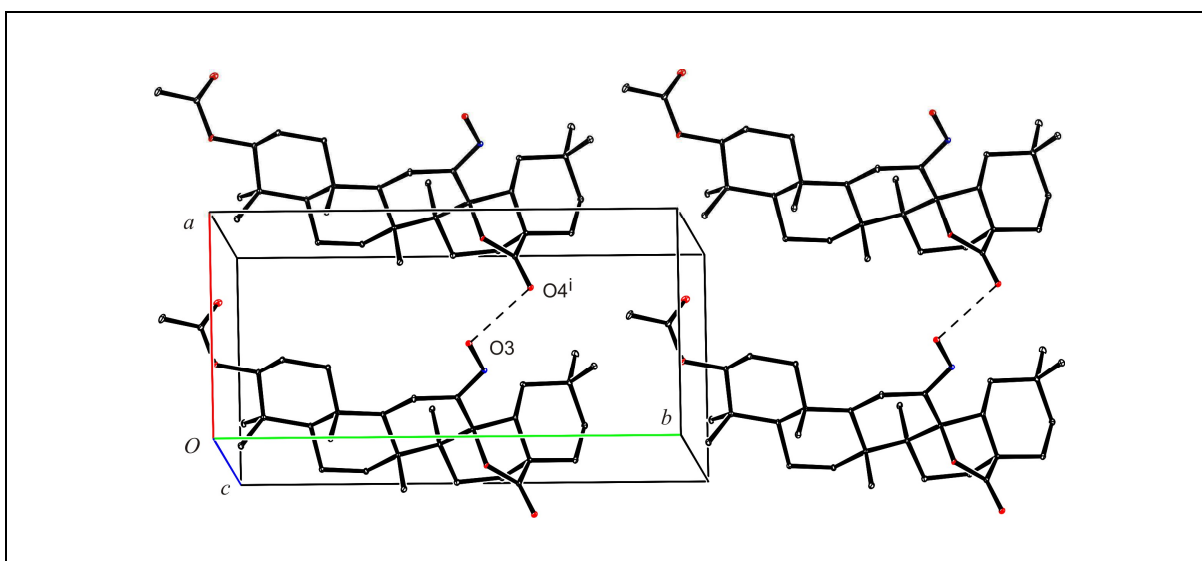


Rycina 59. Obraz przestrzenny cząsteczki triterpenoidu 10

Tabela 22. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu 10

Wiązanie	Donor-H (Å)	H...Akceptor (Å)	Donor...Akceptor (Å)	Donor-H...Akceptor (°)
O3-H1A...O4 ⁱ	0.89(2)	1.91(2)	2.758 (12)	159.1(17)

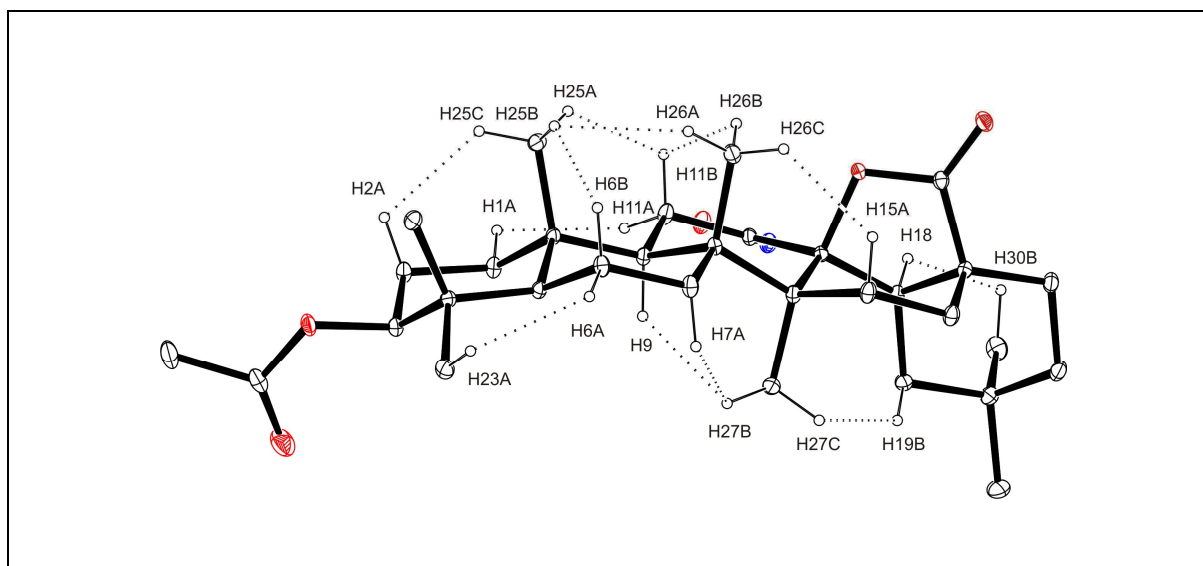
kod symetrii: (i) 1+x, y, z



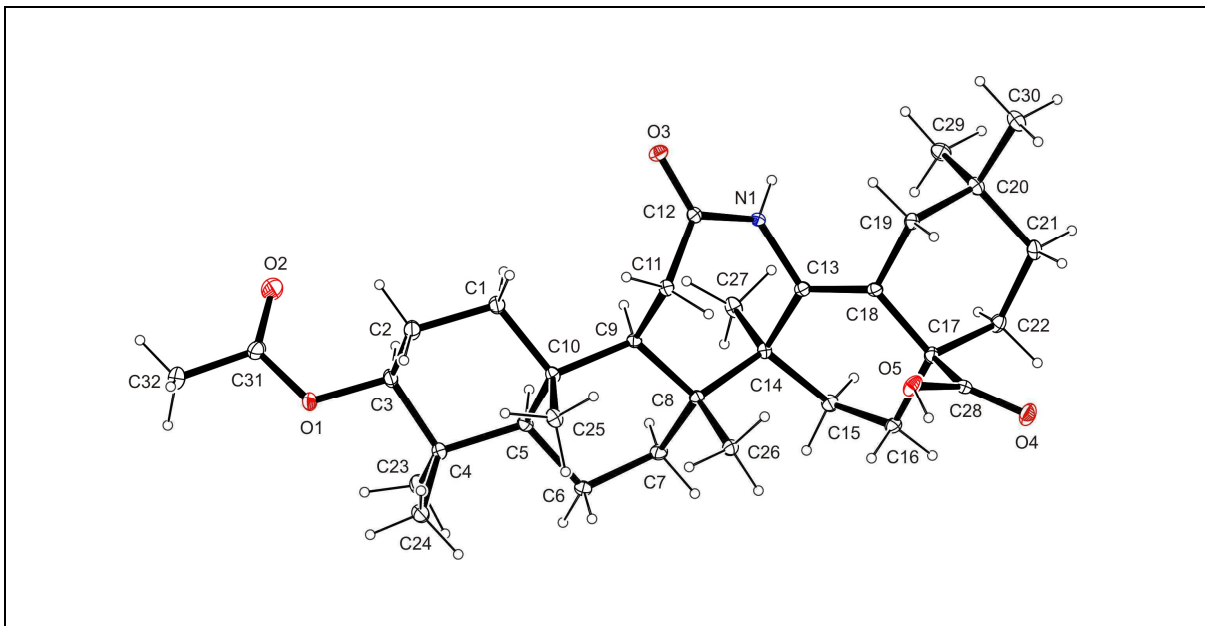
Rycina 60. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu 10

Tabela 23. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **10**

Odległości międzyatomowe (Å)	
H1A...H11A	2.15
H2A...H25C	2.13
H6A...H23A	2.17
H6B...H25B	2.09
H7A...H27B	1.91
H9...H27B	2.17
H11B...H25A	2.09
H11B...H26B	2.13
H15A...H26C	2.02
H18...H30B	2.19
H19B...H27C	2.08
H25B...H26A	2.19



Rycina 61. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **10**

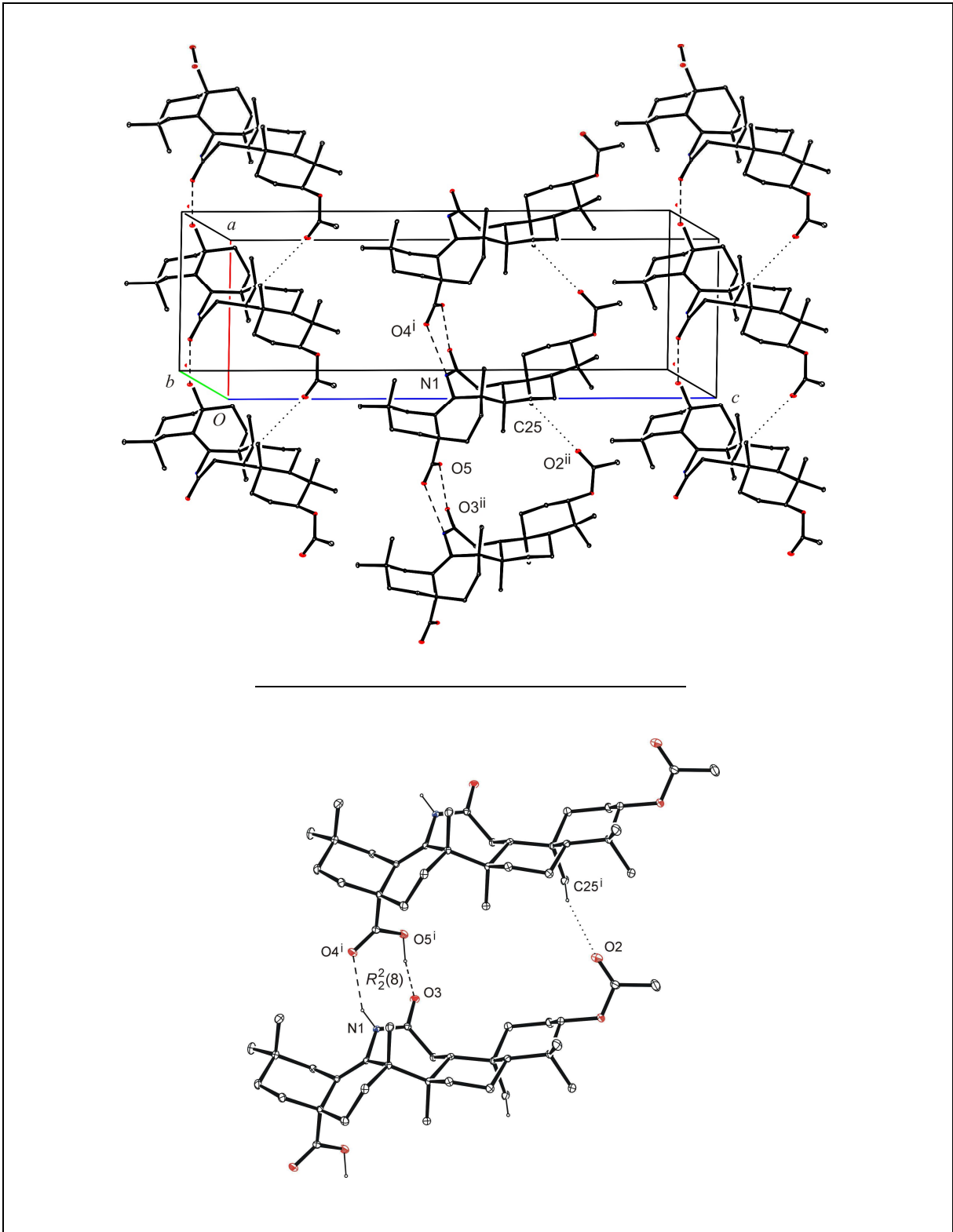


Rycina 62. Obraz przestrzenny cząsteczki triterpenoidu **11**

Tabela 24. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **11**

Wiązanie	Donor–H (Å)	H···Akceptor (Å)	Donor····Akceptor (Å)	Donor–H···Akceptor (°)
N1–H1···O4 ⁱ	0.832(16)	2.213(16)	2.9707 (14)	151.4(14)
O5–H5···O3 ⁱⁱ	0.94(2)	1.62(2)	2.5503(13)	166.9(19)
C25–H25A···O2 ⁱⁱ	0.96	2.56	3.4498(18)	155

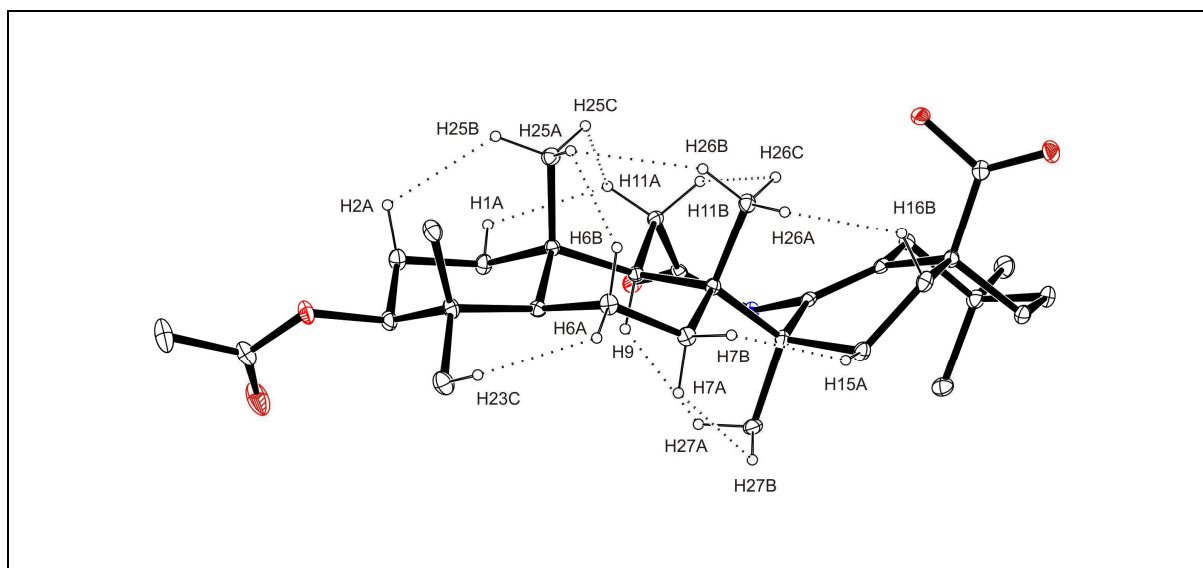
kod symetrii: (i) 1+x, y, z; (ii) -1+x, y, z.



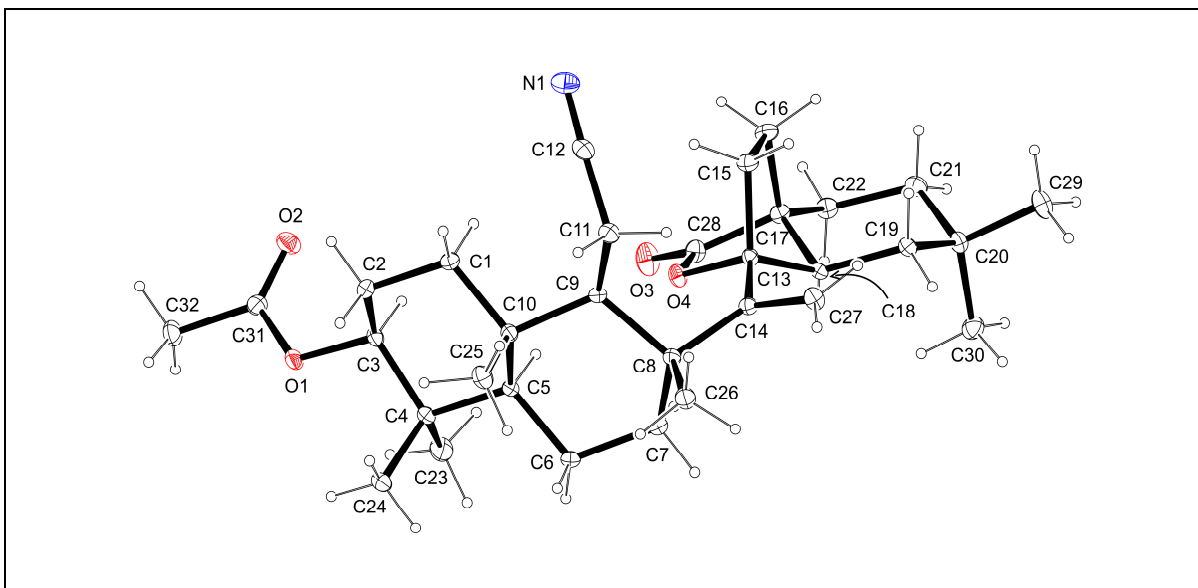
Rycina 63. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu 11

Tabela 25. *Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu II*

Odległości międzyatomowe (Å)	
H1A...H11A	2.08
H2A...H25B	2.13
H6A...H23C	2.12
H6B...H25A	2.10
H7A...H27C	2.08
H7B...H15A	2.11
H9...H27A	1.96
H11A...H25C	2.20
H11B...H26C	2.09
H16B...H26A	2.07
H25A...H26B	2.19



Rycina 64. *Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu II*

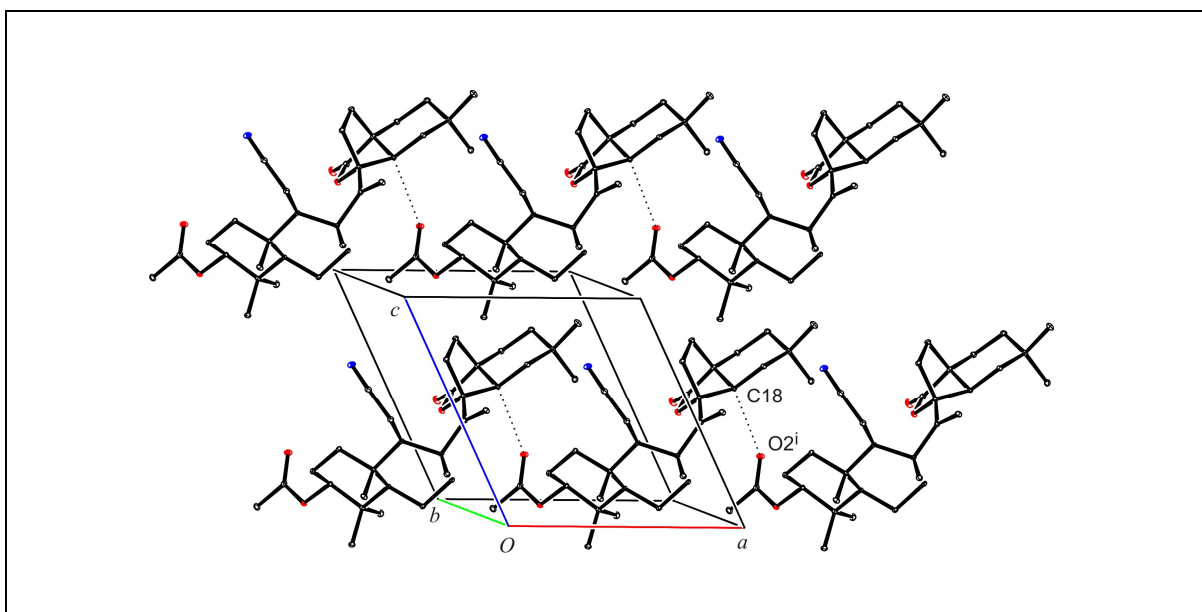


Rycina 65. Obraz przestrzenny cząsteczki triterpenoidu 12

Tabela 26. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu 12

Wiązanie	Donor-H (Å)	H...Akceptor (Å)	Donor...Akceptor (Å)	Donor-H...Akceptor (°)
C7-H7A...O4	0.97	2.23	2.9145(14)	127
C9-H9...O4	0.98	2.18	2.9346(15)	133
C18-H18...O2 ⁱ	0.98	2.46	3.4072(14)	162

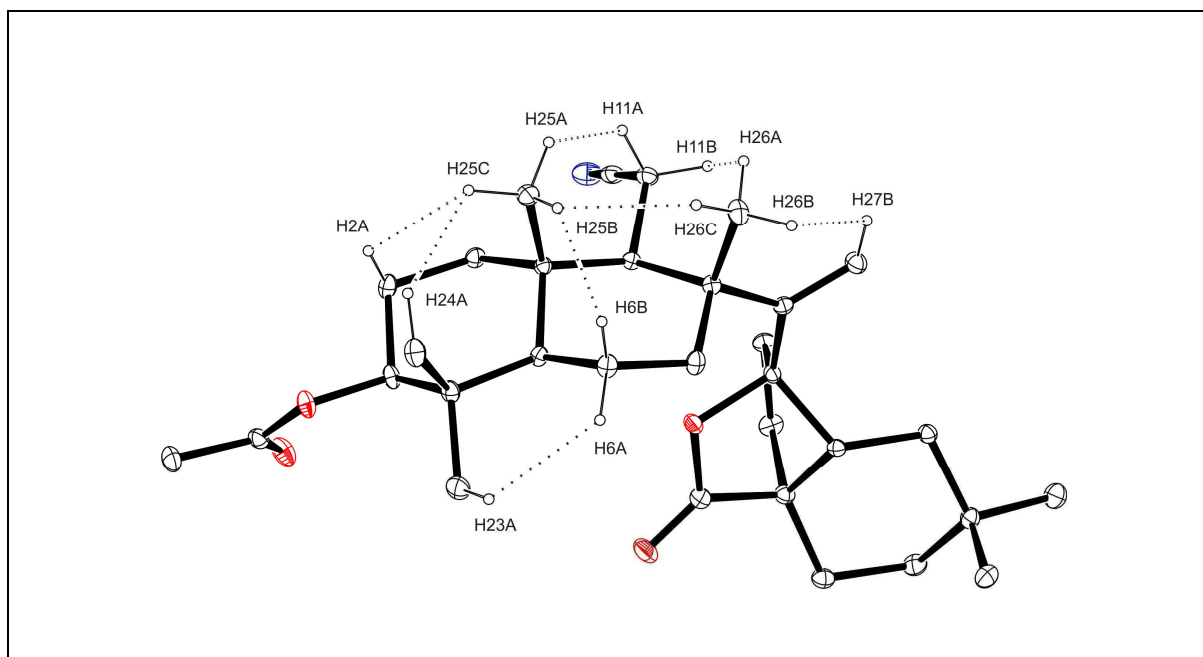
kod symetrii: (i) 1+x, y, z.



Rycina 66. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu 12

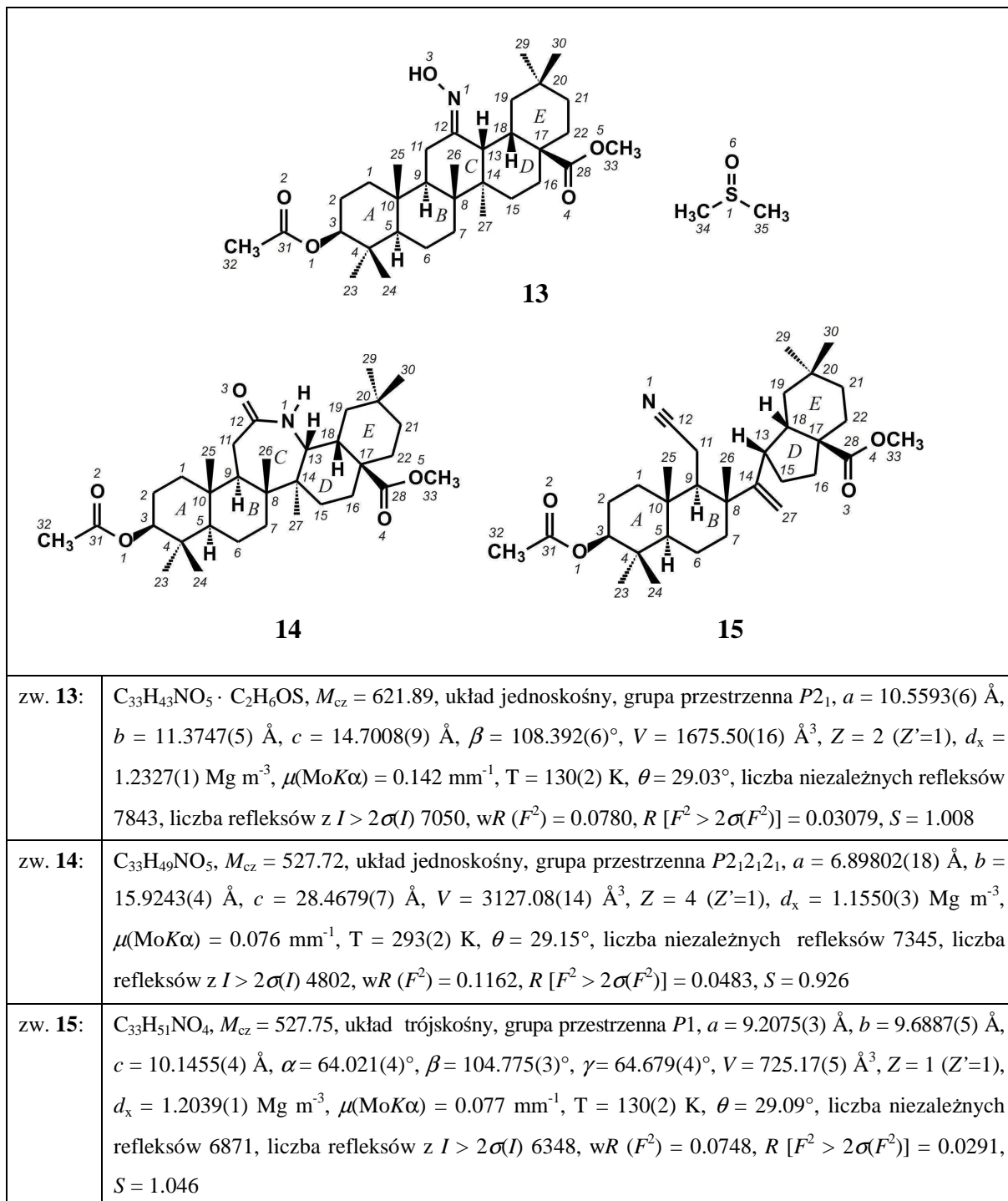
Tabela 27. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **12**

Odległości międzyatomowe (Å)	
H2A...H25C	2.16
H6A...H23A	2.16
H6B...H25B	2.00
H11A...H25A	1.99
H11B...H26A	2.14
H24A...H25C	2.15
H25B...H26C	2.19
H26B...H27B	2.14



Rycina 67. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **12**

3.3.2. Solwat dimetylosulfotlenkowy estru metylowego kwasu 3 β -acetoksy-12-hydroksyimino-18 β -oleanan-28-owego, (13), ester metylowy kwasu 3 β -acetoksy-12-okso-12a-aza-C-homooleanan-28-owego (14) i ester metylowy kwasu 3 β -acetoksy-12-nitrylo-12,13-seko-15(14 \rightarrow 13)-abeoolean-14(27)-en-28-owego (15)



Rycina 68. Wzory triterpenoidów 13 - 15, ich obrazy przestrzenne i niektóre dane krystalograficzne

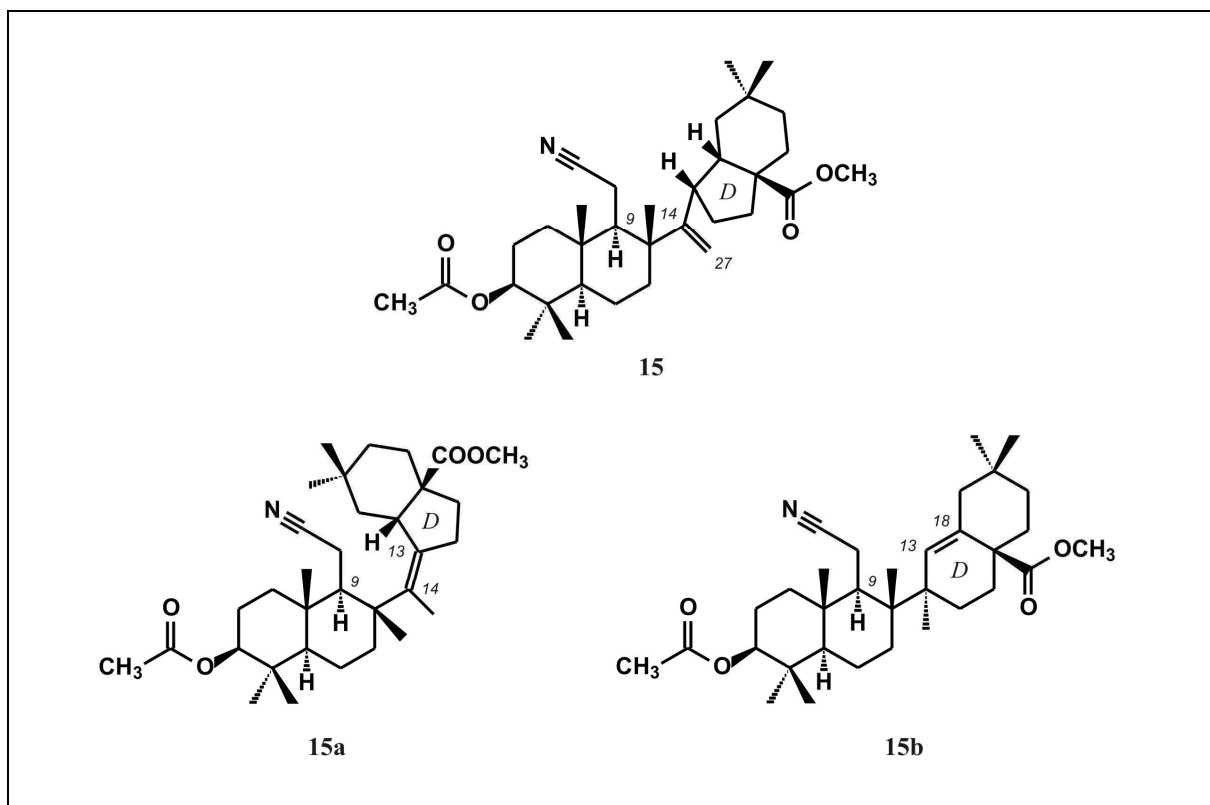
Triterpenoidy **13** - **15** to druga grupa reagentów reakcji przegrupowania Beckmanna w obrębie pierścienia *C* poddana analizie rentgenograficznej.

Triterpenoid **14** krystalizuje w rombowym układzie krystalograficznym i niecentrosymetrycznej grupie przestrzennej $P2_12_12_1$, triterpenoid **13** w układzie jednoskośnym i grupie przestrzennej $P2_1$, zaś triterpenoid **15** w układzie trójskośnym i grupie przestrzennej $P1$. Rozpuszczalnik krystalizacyjny (dimetylosulfotlenek) uczestniczy w tworzeniu sieci kryształu triterpenoidu **13**. Stosunek molowy gospodarza (triterpenoid) do gościa (dimetylosulfotlenek) w utworzonym solwacie wynosi 1 : 1.

Badania rentgenograficzne wykazały, iż wszystkie trzy związki **13** - **15** posiadają charakter estru metylowego kwasu oleanolowego (Ryciny 68, 71, 74 i 77). Obecna w pozycji C17 grupa estrowa (metoksykarbonylowa), ustawiająca się aksjalnie do pierścienia *D* i ekwatorialnie do pierścienia *E*, jest płaska lub w przybliżeniu płaska [r.m.s. dla związku **13**: 0.0259 Å; dla związku **14**: 0.0017 Å ; dla związku **15**: 0.0025 Å], a występujące w niej wiązanie podwójne C=O [C28=O4 (zw. **13** i **14**); C28=O3 (zw. **15**)] przyjmuje względem wiązania C17–C18, wspólnego dla pierścieni *D* i *E*, w triterpenoidach **13** i **15** konformację pośrednią pomiędzy antyklinalną i antyperiplanarną (+*ac*/*ap*) [kąt torsyjny C18–C17–C28–O4 dla związku **13**: 145.22(14)°; kąt torsyjny C18–C17–C28–O3 dla związku **15**: 142.19(11)°], w triterpenoidzie **14** konformację pośrednią pomiędzy synperiplanarną i synklinalną (-*sp*/*sc*) [kąt torsyjny C18–C17–C28–O4 dla związku **14**: -23.9(3)°].

Z przeprowadzonej analizy wynika, iż w cząsteczce substratu reakcji przegrupowania Beckmanna (zw. **13**), grupa hydroksyiminowa w pozycji 12 pierścienia *C* posiada konfigurację taką samą jak w triterpenoidzie **10** (rozd. 3.3.1.), to jest *E* [kąt torsyjny O3–N1–C12–C13: -176.02(11)°]. Obserwacja ta dawała pewne podstawy przypuszczać, iż mechanizm reakcji przegrupowania Beckmanna I i II rzędu z użyciem triterpenoidu **13** będzie odpowiadał temu z poprzedniego rozdziału. Istniały jednakże uzasadnione wątpliwości z uwagi na różnice strukturalne substratów **13** i **10** (rozd. 3.3.1.), związane z obecnością w ich cząsteczkach różnych grup funkcyjnych, odpowiednio C17-metoksykarbonylowej i 28,13β-laktonowej. Z faktem obecności różnych funkcji w cząsteczkach wiąże się bowiem zmiana rzędowości atomu węgla C13 (z czwartorzędowego na trzeciorzędowy), biorącego czynny udział w reakcji. Z uwagi na trzeciorzędowy charakter atomu C13 można było oczekiwać utworzenia w reakcji fragmentacji Beckmanna nie jednego produktu, jak w reakcji z rozdziału 3.3.1., lecz trzech izomerycznych produktów **15**, **15a** i **15b** o strukturach przedstawionych na rycinie 69.

Jak można zauważyć, w cząsteczkach teoretycznie możliwych izomerów grupa cyjanometylowa znajduje się w pozycji C9, zaś wiązanie podwójne w strukturze **15** występuje pomiędzy atomami węgla C14 i C27, w strukturze **15a** pomiędzy atomami C13 i C14, zaś w strukturze **15b** pomiędzy atomami C13 i C18. Na uwagę zasługuje również obserwacja, iż tylko u jednego z trzech teoretycznie możliwych produktów reakcji fragmentacji Beckmanna



Rycina 69. Wzory teoretycznie możliwych trzech produktów reakcji fragmentacji Beckmanna

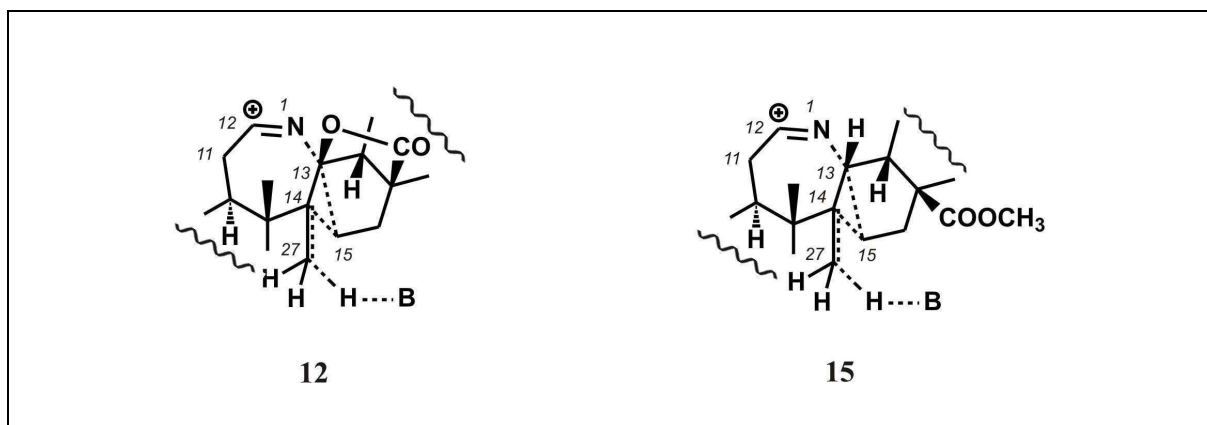
zachował się pierwotny sześcioczłonowy pierścień *D* substratu (zw. **15b**). W dwóch pozostałych przypadkach (zw. **15** i **15a**) pierścień uległ zmniejszeniu do pięcioczłonowego.

Badania rentgenograficzne wykazały, iż triterpenoid **14** posiada siedmioczłonowy pierścień 12,13 α -laktamowy, w którym grupa karbonylowa sąsiaduje z atomem węgla C11, zaś amidowy atom azotu N1 łączy atomy węgla C12 i C13 (Rycina 68 i 74).

Triterpenoid **15**, drugi z produktów, powstał w wyniku daleko idących zmian w obrębie pierścieni *C* i *D* substratu. W wyniku tych przekształceń nastąpiło otwarcie pierścienia *C* i utworzenie z jego atomów C11 i C12 grupy cyjanometylowej o orientacji β , połączonej z atomem węgla C9 pierścienia *B*. Grupa ta przyjmuje względem wiązania C8–C9 konformację pośrednią pomiędzy antyklinalną i antyperiplanarną (+*ac*/+*ap*) [kąt torsyjny

C8–C9–C11–C12: 145.15(9)°]. Zmiany strukturalne pierścienia *D* związane są z kontrakcją pierwotnego pierścienia sześciocząłowego do pięciocząłowego w wyniku utworzenia wiązania C13–C15 kosztem wiązania C14–C15. Warto zauważyć, iż reakcja przegrupowania 1, 2 w obrębie pierścienia *D* nie prowadzi do zmiany orientacji β atomu wodoru w pozycji C13. W triterpenoidzie **15** wiązanie podwójne, tworzące się obok grupy nitrylowej (cyjanometrylowej), zlokalizowano pomiędzy atomami węgla C14 i C27 [1.3273(16) Å], pierwotnie czwartorzędowym i o charakterze grupy metylowej. Wiązanie to ustawia się antyklinalnie (+*ac*) w odniesieniu do wiązania C8–C9 [kąt torsyjny C9–C8–C14–C27: 116.00(11)°] oraz synklinalnie (+*sc*) do wiązania C13–C18 [kąt torsyjny C18–C13–C14–C27: 66.93(14)°].

Badania rentgenograficzne wykazały podobieństwo struktury triterpenoidów **14** i **15** ze strukturami produktów reakcji przegrupowania Beckmanna (zw. **11** i **12**), opisanymi w rozdziale 3.3.1. W triterpenoidzie **15** usytuowanie wiązania podwójnego, podobnie jak w triterpenoidzie **12**, to jest pomiędzy atomami węgla C14 i C27, wskazuje na orientację reakcji eliminacji niezgodną z regułą Zajcewa. Triterpenoid **15** powinien zatem stanowić uboczny produkt reakcji fragmentacji Beckmanna, co pozostaje w sprzeczności z doświadczeniem. Inne przykłady produktów reakcji fragmentacji Beckmanna, jak związki **1** (rozd. 3.1.), **6** (rozd. 3.2.2.) i **9** (rozd. 3.2.3.) oraz triterpenoidy pochodne oleananu znalezione w literaturze chemicznej [71-79], również wskazują na orientację reakcji eliminacji niezgodną z regułą Zajcewa. Poczynione obserwacje stawiają pod znakiem zapytania ogólnie przyjęty mechanizm *E1* reakcji eliminacji w grupie triterpenoidów pentacyklicznych pochodnych oleananu, ponieważ orientacja reakcji eliminacji *E1* jest zgodna z regułą Zajcewa. Przyjęcie mechanizmu *E2* zamiast *E1* tłumaczyłoby obserwowany kierunek eliminacji. Co więcej, jednoczesny zanik wiązań C14–C15, C13–N1 i C27–H oraz tworzenie się wiązań pojedynczego C13–C15 i podwójnego C14=C27 (Rycina 70) pozwoliłoby uniknąć koncepcji tworzenia się nietrwałego stanu karbokationu w pozycji C13 po rozerwaniu wiązania C13–N1 w reakcji prowadzącej do otrzymania triterpenoidów **15** i **12** (Rycina 58, rozdz. 3.3.1.). Istnienie karbokationu w tej pozycji jest bowiem mało prawdopodobne, szczególnie w reakcji prowadzących do triterpenoidu **12**. Wyjaśnienie problemu mechanizmu reakcji fragmentacji Beckmanna w grupie triterpenoidów pochodnych oleananu wymaga dalszych badań.



Rycina 70. Zanik wiązań C14–C15, C13–N1 i C27–H i tworzenie się wiązań C13–C15 i C14=C27 w triterpenoidach **15** i **12** (rozdz. 3.3.1.) w reakcji eliminacji E2

Badania rentgenograficzne struktury triterpenoidów **13** - **15** oraz **10** - **12** (rozdz. 3.3.1) wskazują na stereospecyficzny charakter reakcji przegrupowania Beckmanna I i II rzędu w obrębie pierścienia C.

W cząsteczce triterpenoidu **15** występują dwa sztywne układy dwupierścieniowe A - B oraz D - E, oddzielone od siebie dwoma wiązaniami pojedynczymi C8-C14 [1.5483(14) Å] i C13-C14 [1.5232(14) Å]. Układy pierścieni sześciocząłonowych, należące do tych sztywnych fragmentów cząsteczki, to jest układ dwupierścieniowy A - B z jednej strony oraz pierścieni E z drugiej, w kryształach ustawiają się względem siebie niemalże prostopadle. Kąt dwuścienny pomiędzy płaszczyznami najmniejszych kwadratów tych ostatnich układów pierścieniowych wynosi 87.00(3)°.

W cząsteczkach triterpenoidów **13** - **15** sześciocząłonowe pierścienie o charakterze nasyconym A, B, E (zw. **13** - **15**) i D (zw. **13** i **14**) oraz pierścienie C sześciocząłonowy (zw. **13** i **14**), obydwa z jednym atomem węgla w stanie hybrydyzacji sp^2 , posiadają konformację krzesła w różnym stopniu zniekształconego. Największy stopień deformacji konformacji krzesłowej wykazują pierścienie C z atomem węgla C12 w stanie hybrydyzacji sp^2 w triterpenoidzie **13** [parametry C.&P. [134]: $Q = 0.5923(14)$ Å, $\theta = 20.20(14)^\circ$, $\varphi = 316.3(4)^\circ$] i pierścienie D o charakterze nasyconym w triterpenoidach **13** i **14** [parametry C.&P. dla zw. **13**: $Q = 0.5457(14)$ Å, $\theta = 163.02(15)^\circ$, $\varphi = 64.1(5)^\circ$; dla zw. **14**: $Q = 0.540(2)$ Å, $\theta = 162.9(2)^\circ$, $\varphi = 56.1(7)^\circ$]. Siedmiocząłonowy układ laktamowy w triterpenoidzie **14** posiada konformację krzesła tylko nieznacznie zniekształconego, mimo obecności w nim atomu węgla (C12) w stanie hybrydyzacji sp^2 [parametry C.&P.[133]: $Q(2) = 0.4117(19)$ Å, $Q(3) = 0.699(2)$ Å, $\varphi(2) = 306.3(3)^\circ$, $\varphi(3) = 279.70(16)^\circ$].

Pięcioczłonowy pierścień *D* w triterpenoidzie **15** posiada konformację koperty [parametry C.&P.: $Q = 0.4729(14) \text{ \AA}$, $\varphi = 144.32(17)^\circ$] z płaszczyzną lustrzaną, przechodzącą przez atom węgla C18 i przedzielającą wiązanie C15–C16. Atom węgla C18 wychyla się od płaskiego układu pozostałych atomów pierścienia na odległość $0.7167(12) \text{ \AA}$.

Pierścienie *A/B* (zw. **13** - **15**), *B/C*, *C/D* (zw. **13** i **14**) wykazują przestrzenną konfigurację *trans* [kąty dwuścienne *A/B* dla zw. **13** - **15**: $13.02(2)$, $16.27(9)$, $15.69(5)^\circ$; *B/C* dla zw. **13**, **14**: $3.86(3)$, $16.18(8)^\circ$; *C/D* dla zw. **13**, **14**: $14.04(3)$, $21.96(7)^\circ$], zaś pierścienie *D/E* (zw. **13** - **15**) konfigurację *cis* [kąty dwuścienne: $60.82(4)$, $62.70(6)$, $68.40(5)^\circ$].

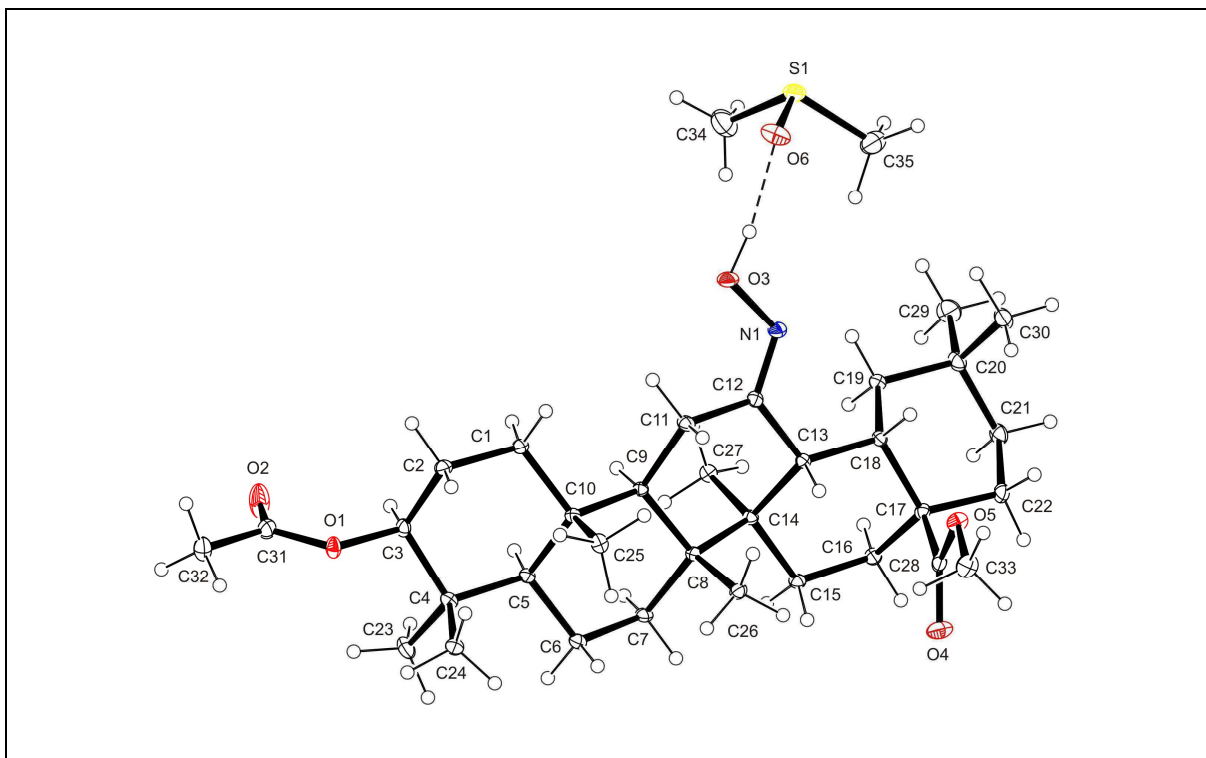
Grupa acetoksylova w pozycji C3 w badanych triterpenoidach **13** - **15** jest płaska i posiada orientację β . Jej grupa karbonylova C31=O2 przyjmuje w odniesieniu do wiązania C2–C3 konformację zbliżoną do antyklinalnej (*+ac*) (zw. **13**, **14**) [kąt torsyjny O2–C31...C3–C2 dla zw. **13** i **14**: $106.00(14)$, $102.2(2)^\circ$] oraz pośrednią pomiędzy synklinalną i antyklinalną (*+sc/+ac*) (zw. **15**) [kąt torsyjny O2–C31...C3–C2 dla zw. **15**: $94.81(10)^\circ$], zaś w stosunku do pojedynczego wiązania C3–O1 (zw. **13** - **15**), konformację synperiplanarną [kąt torsyjny C3–O1–C31–O2: $5.6(2)$, $-0.8(4)$, $3.88(16)^\circ$].

Jak wspomniano wcześniej, w tworzenie sieci kryształu triterpenoidu **13** włączony jest rozpuszczalnik krystalizacyjny. Jedna cząsteczka dimetylosulfotlenku krystalizacyjnego bierze udział w tworzeniu trzech wiązań wodorowych, w których uczestniczą atomy tlenu O6 i węgla C35. Pierwszy z nich w wiązaniach wodorowych klasycznym O3–H3...O6 i niekonwencjonalnym C32ⁱ–H32Cⁱ...O6 pełni rolę akceptora protonu, drugi w wiązaniu C35–H35C...O2ⁱ rolę donora protonu (Tabela 28, Rycina 72). Cząsteczki triterpenoidu związane translacją wzdłuż osi krystalograficznej *c* łączą się za pośrednictwem cząsteczek dimetylosulfotlenku krystalizacyjnego w łańcuchy.

W kryształach triterpenoidu **14** cząsteczki związane osią śrubową łączą się niekonwencjonalnymi wiązaniami wodorowymi C1–H1B...O3ⁱ i C16–H16B...O1ⁱⁱ (Tabela 30, Rycina 75) w helikalne łańcuchy, narastające wzdłuż osi krystalograficznej *b*.

W kryształach triterpenoidu **15** międzycząsteczkowych wiązań wodorowych brak.

W obrębie cząsteczek triterpenoidów **13** - **15** występują krótkie kontakty wodór-wodór, w pierwszym z nich trzynaście, w drugim czternaście, w trzecim siedem (Tabele 29,31 i 32; Ryciny 73, 76 i 79).

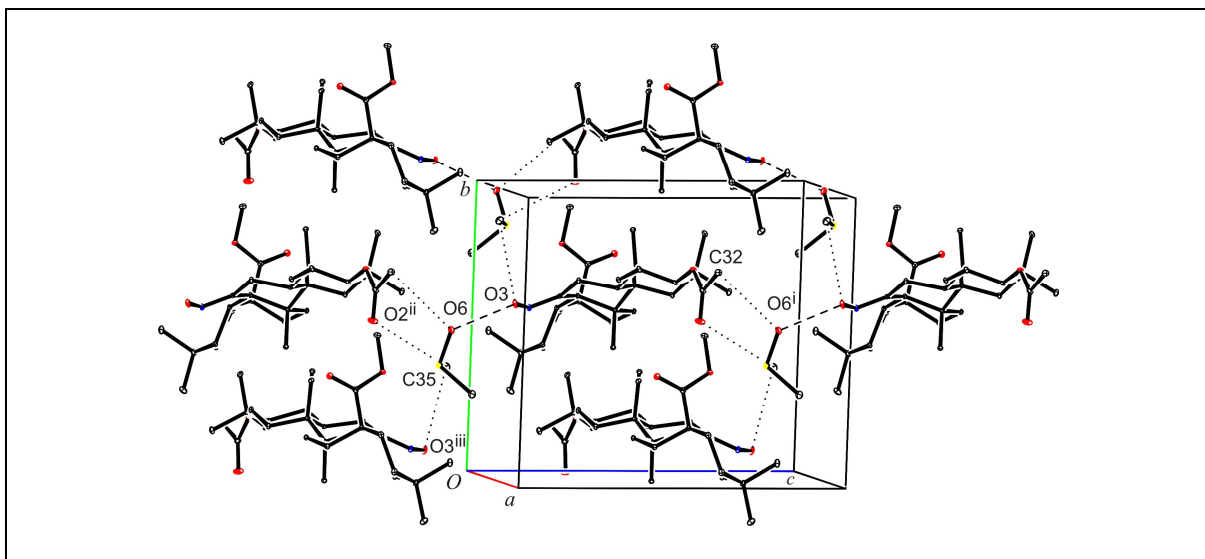


Rycina 71. Obraz przestrzenny cząsteczki triterpenoidu **13**

Tabela 28. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **13**

Wiązanie	Donor–H (Å)	H···Akceptor (Å)	Donor····Akceptor (Å)	Donor–H···Akceptor (°)
C13–H13···O5	0.98	2.54	3.1697(17)	122
C15–H15A···O4	0.97	2.52	3.0931(18)	118
C19–H19B···N1	0.97	2.44	3.0693(19)	122
O3–H3···O6	0.93(2)	1.79(2)	2.7021(16)	171(2)
C32–H32C···O6 ⁱ	0.96	2.42	3.3611(19)	159
C35–H35A···O2 ⁱⁱ	1.007(18)	2.578(18)	3.401(2)	138.8(14)
C35–H35B···O3 ⁱⁱⁱ	0.97(2)	2.49(2)	3.410(3)	159(6)

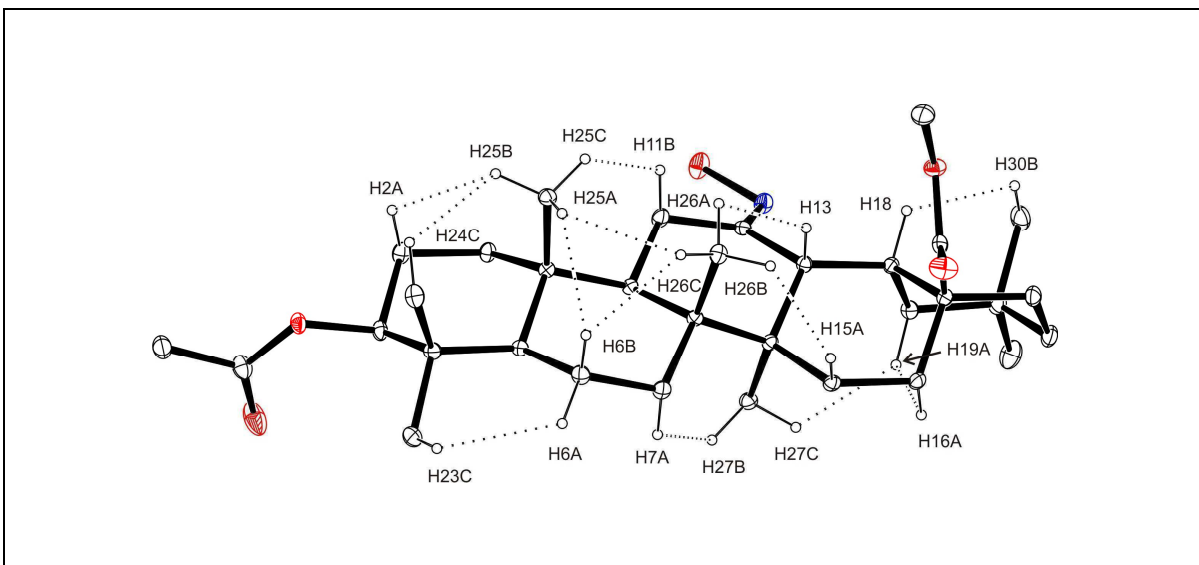
kody symetrii: (i) $x, y, 1+z$; (ii) $x, y, -1+z$; (iii) $2-x, -0.5+y, -z$.



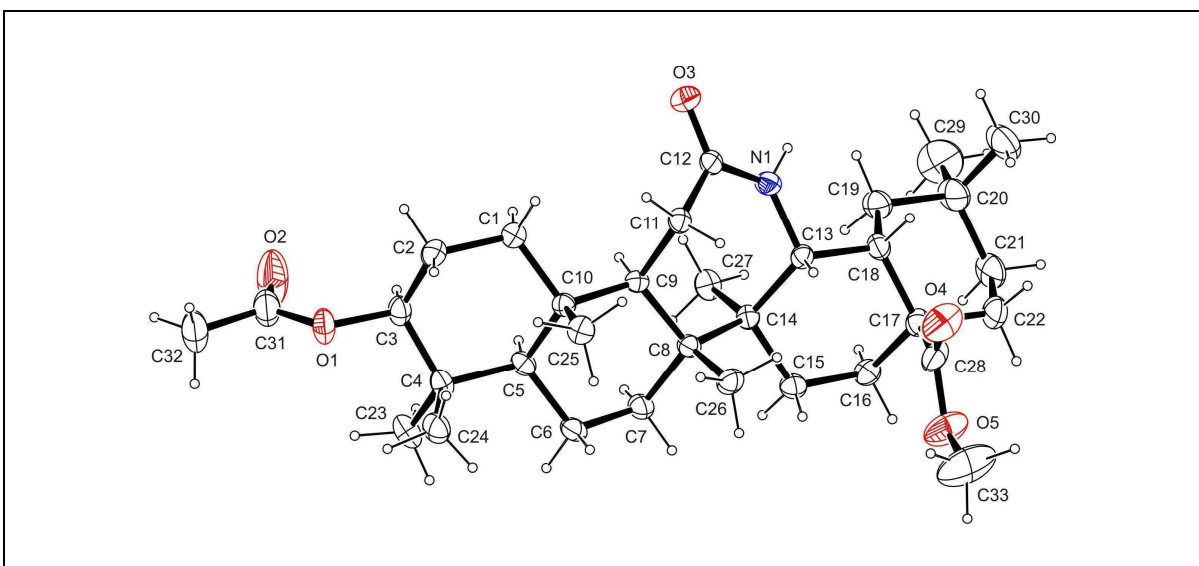
Rycina 72. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **13**

Tabela 29. Krótkie kontakty wodor-wodór w cząsteczce triterpenoidu **13**

Odległości międzyatomowe (Å)	
H2A...H25B	2.11
H6A...H23C	2.18
H6B...H25A	2.18
H6B...H26C	2.12
H7A...H27B	2.04
H11B...H25C	2.02
H13...H26A	2.06
H15A...H26B	1.92
H16A...H19A	2.16
H18...H30B	2.19
H19A...H27C	2.18
H24C...H25B	2.19
H25A...H26C	2.15



Rycina 73. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **13**

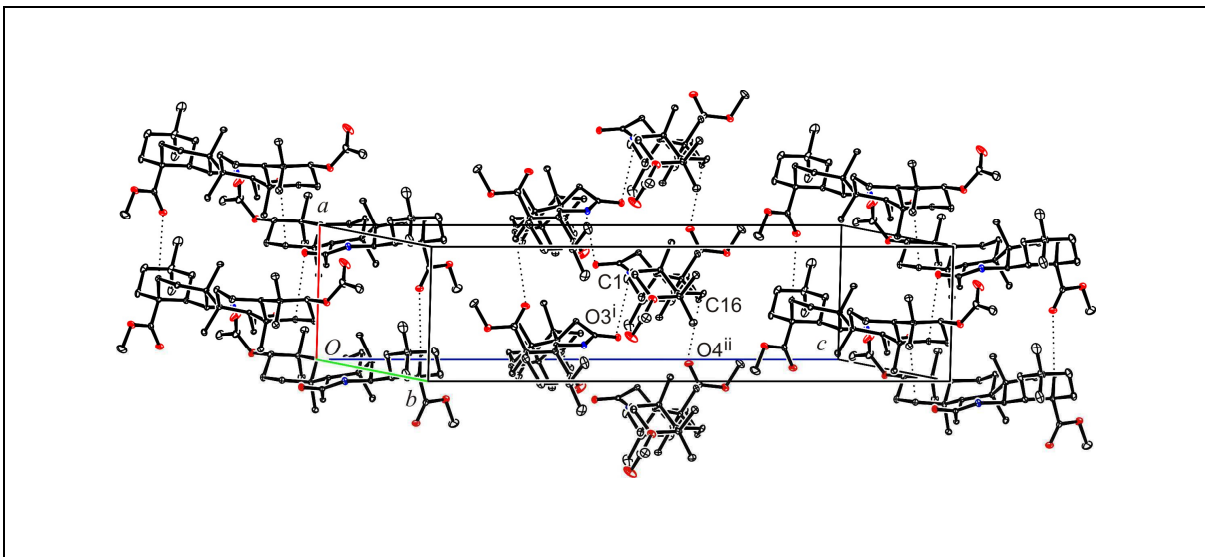


Rycina 74. Obraz przestrzenny cząsteczki triterpenoidu **14**

Tabela 30. Wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **14**

Wiązanie	Donor-H (Å)	H...Akceptor (Å)	Donor...Akceptor (Å)	Donor-H...Akceptor (°)
C1-H1B...O3 ⁱ	0.97	2.59	3.451(2)	148
C16-H16A...O4 ⁱⁱ	0.97	2.55	3.447(3)	154
C13-H13...O4	0.98	2.56	3.162(2)	120

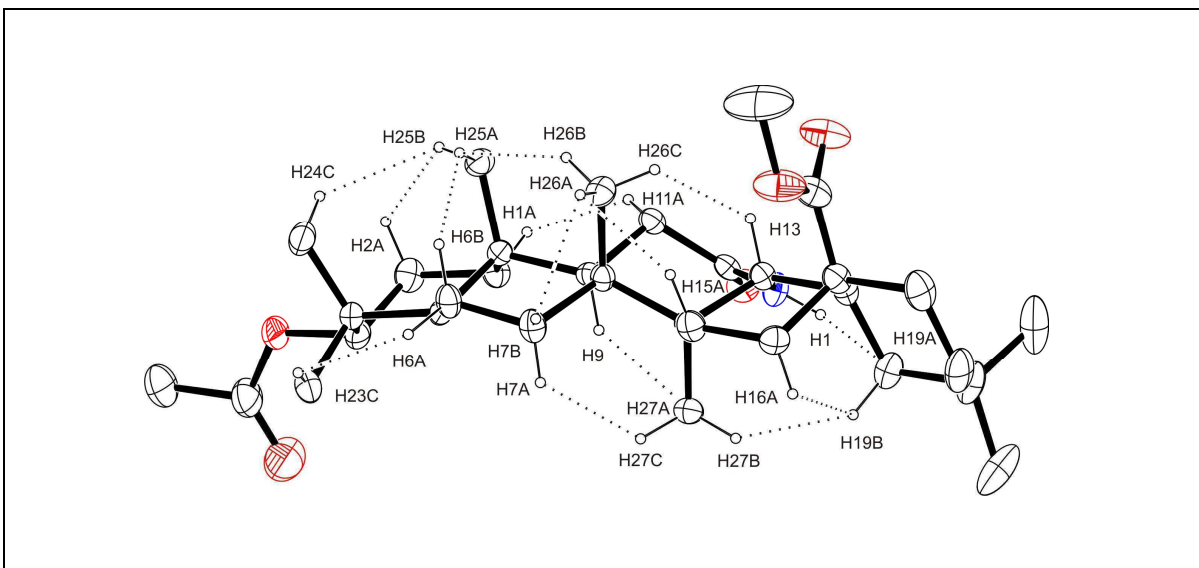
kody symetrii: (i) $-0.5+x, 0.5+y, 1-z$; (ii) $-1+x, y, z$.



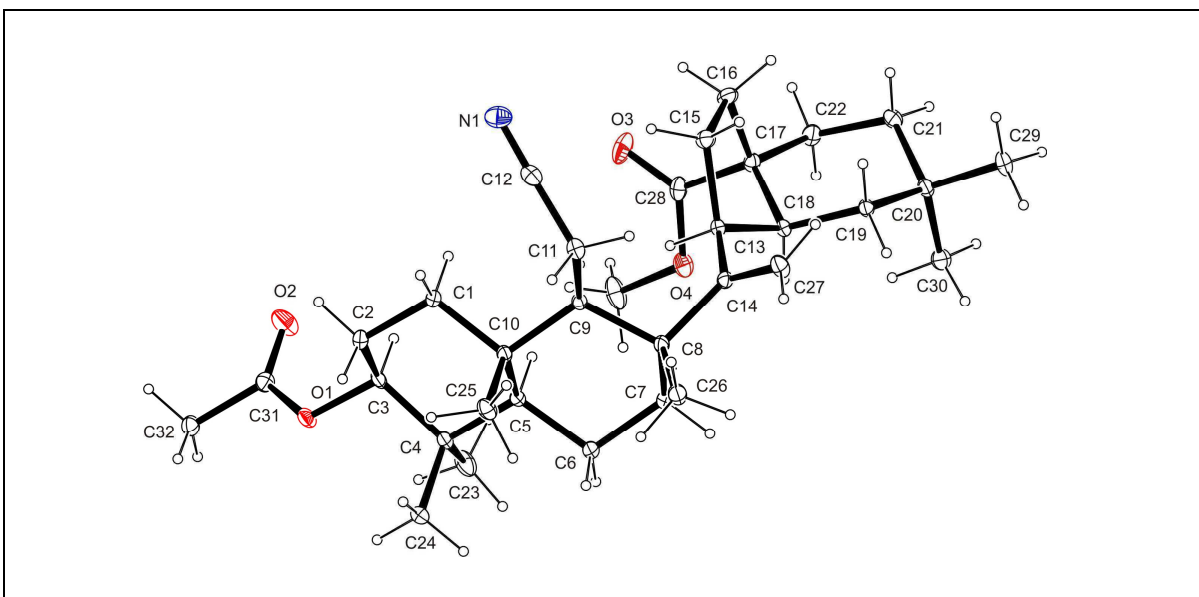
Rycina 75. Międzycząsteczkowe wiązania wodorowe w sieci kryształu triterpenoidu **14**

Tabela 31. Krótkie kontakty wodor-wodór w cząsteczce triterpenoidu **14**

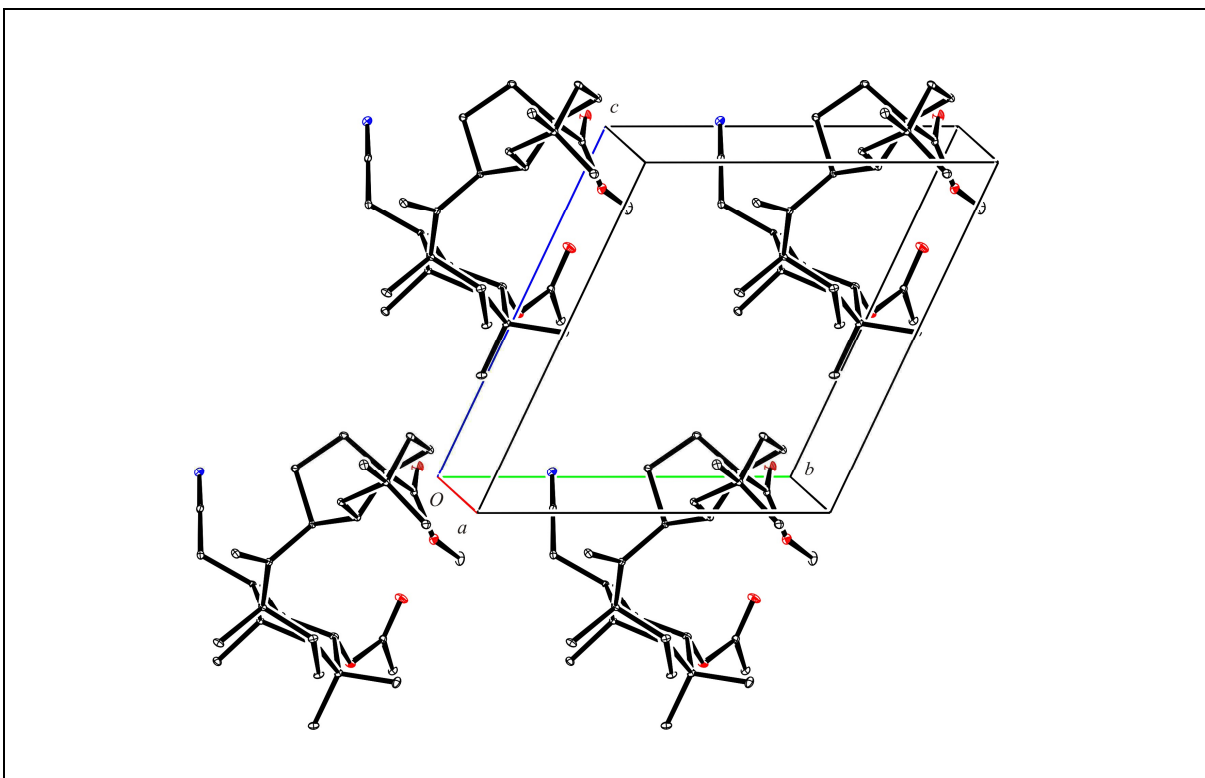
Odległości międzyatomowe (Å)	
H1...H19A	1.94
H1A...H11A	2.00
H2A...H25B	2.15
H6A...H25A	2.11
H6B...H25A	2.09
H7A...H27C	1.92
H7B...H26A	2.17
H9...H27B	2.15
H13...H26C	1.91
H15A...H26A	2.13
H16A...H19B	2.16
H19B...H27A	1.99
H24C...H25B	2.16
H25A...H26B	2.06



Rycina 76. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **14**



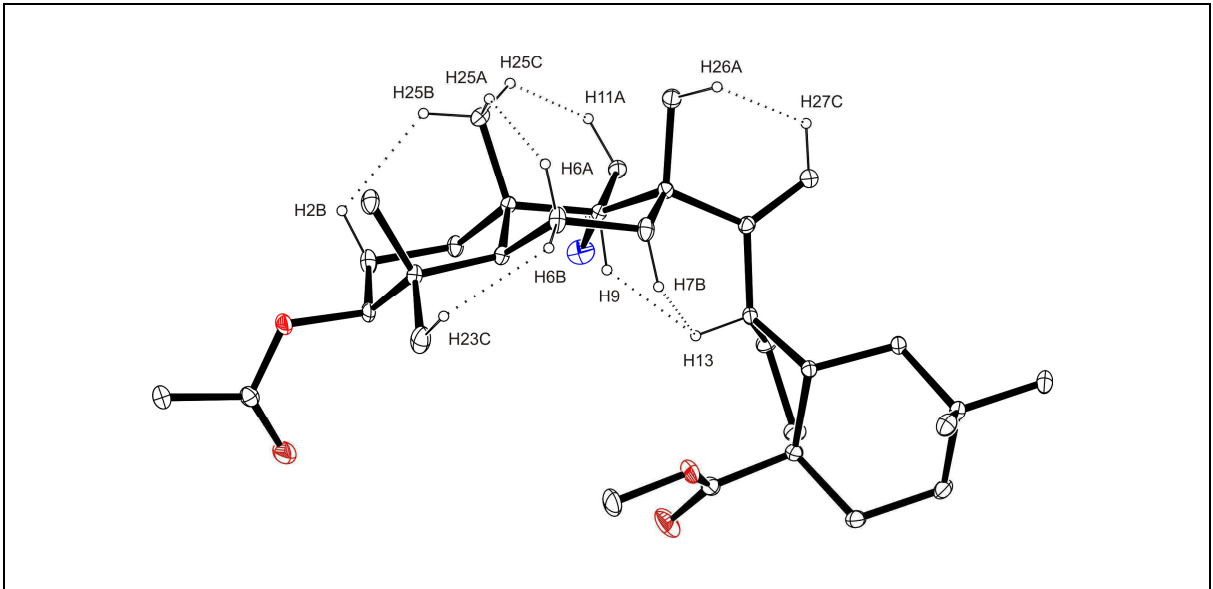
Rycina 77. Obraz przestrzenny cząsteczki triterpenoidu **15**



Rycina 78. Sposób upakowania cząsteczek triterpenoidu **15** w kryształach

Tabela 32. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu **15**

Odległości międzyatomowe (Å)	
H2B...H25B	2.14
H6A...H25A	2.04
H6B...H23C	2.14
H7B...H13	2.08
H9...H13	1.98
H11A...H25C	1.97
H26A...H27A	2.19



Rycina 79. Krótkie kontakty wodór-wodór w cząsteczce triterpenoidu 15

4. WNIOSKI

Analiza rentgenograficzna struktury triterpenoidów **1 - 15**, to jest substratów i produktów reakcji przegrupowania Beckmanna w obrębie pierścienia *A* i/lub *C* triterpenoidu, pozwoliła na wyciągnięcie następujących wniosków:

- Badane triterpenoidy należą do trzech układów krystalograficznych, to jest trójskośnego, jednoskośnego i rombowego. W pierwszym wymienionym układzie krystalizują związki **12** i **15** utworzone w wyniku daleko idących zmian strukturalnych, w drugim związki **1 - 6, 8, 10** i **13**, w trzecim natomiast związki **7, 9, 11** i **14**.
- Analizowane triterpenoidy krystalizują głównie w grupie przestrzennej $P2_1$ i $P2_12_12_1$, rzadko w $P1$ lub $C2$.
- Badania struktury triterpenoidów **2, 4, 7, 10** i **13**, substratów reakcji przegrupowania Beckmanna, wykazały, iż grupa hydroksyiminowa obecna w pozycji 3 pierścienia *A* lub 12 pierścienia *C* przyjmuje tylko jedną konfigurację, to jest *E*. Szczególnie mało prawdopodobna jest konfiguracja *Z* grupy hydroksymetylowej w pierścieniu *A* z uwagi na zawadę przestrzenną, jaką stanowią dla niej geminalne duże grupy metylowe C23 i C24 w pozycji C4.
- W utworzonych w reakcji przegrupowania Beckmanna triterpenoidach o charakterze laktamu pierwotny sześcioczłonowy pierścień *A* substratu zastępuje siedmioczłonowy układ 3,4-laktamowy, w którym atom azotu N1 łączy atomy węgla karbonylowy C3 i czwartorzędowy C4 (zw. **3, 5** i **8**). Pierścień *C* zastępuje natomiast układ 12,13 α -laktamowy (z atomem azotu N1, łączącym atomy węgla C12 i C13) (zw. **1, 11, 14**). Na uwagę zasługuje fakt, iż związki **1, 11** i **14** to pierwsze w literaturze triterpenoidy pochodne kwasu oleanolowego z układem laktamowym utworzonym z atomów węgla pierwotnego sześcioczłonowego pierścienia *C*.
- W badanych triterpenoidach **1, 6** i **9**, otrzymanych w reakcji przegrupowania Beckmanna II rzędu (inaczej r. fragmentacji Beckmanna), pierścień *A* uległ rozerwaniu i z jego elementów utworzyły się grupa 2-cyanoetylowa o orientacji α , lokalizująca się w pozycji C10 pierścienia *B* oraz grupa izopropenyłowa w pozycji C5 o orientacji β .
- W reakcji fragmentacji Beckmanna w obrębie pierścienia *C* triterpenoidów **12** i **15** stwierdzono zmiany strukturalne w obrębie pierścieni *C* i *D* (zw. **12** i **15**).

- W obydwu produktach reakcji fragmentacji Beckmanna **12** i **15** pierścień *C* uległ otwarciu w wyniku rozerwania wiązania C12–C13. Z jego elementów utworzyły się grupa cyjanometylowa o orientacji β , lokalizująca się w pozycji C9 pierścienia *B* oraz wiązanie podwójne C14=C27. Na uwagę zasługuje fakt, iż w obydwu otrzymanych produktach reakcji fragmentacji Beckmanna **12** i **15** wiązanie podwójne utworzyło się pomiędzy atomem węgla pierwotnie o charakterze czwartorzędowym (C14) oraz charakterze grupy metylowej (C27).
- W triterpenoidach **1**, **6**, **9**, **12** i **15** lokalizacja wiązań podwójnych, powstałych w reakcji fragmentacji Beckmanna, wskazuje na przebieg tej reakcji niezgodny z regułą Zajcewa, w myśl której w wyniku reakcji eliminacji powstaje węglowodór, posiadający najmniej atomów wodoru przy nienasyconych atomach węgla.
- Utworzenie wiązania podwójnego C14=C27 warunkuje reakcja przegrupowania 1,2, w wyniku której doszło do eliminacji atomu węgla C14 z pierwotnego sześcioczłonowego pierścienia *D*.
- Przekształcenia prowadzące do otwarcia pierścienia *C* oraz równoległe kontrakcji pierścienia *D* z sześć- do pięcioczłonowego zasługują na szczególne podkreślenie, bowiem nie stwierdzono dotąd u triterpenoidów pentacyklicznych podgrupy oleananu tego rodzaju zmian strukturalnych w obrębie pierścieni *C* i *D*.
- Siedmioczłonowe układy laktamowe
 - zastępujące pierwotny izocykliczny pierścień *A* posiadają w triterpenoidach **3** (częst. A), **5** (częst. A) konformację zniekształconego krzesła, w triterpenoidach **5** (częst. B) i **7** konformację zniekształconej łodzi, zaś w triterpenoidzie **3** (częst. B) konformację skręconej łodzi;
 - zastępujące pierścień *C* wykazują w triterpenoidach **1**, **11** i **14** jedną tylko konformację, to jest krzesła.
- W przypadku triterpenoidów z grupą acetoksyłową w pozycji C3 sześcioczłonowego pierścienia *A* (zw. **10** - **15**) o charakterze nasyconym zachowana jest konformacja krzesła tego pierścienia, podobnie jak w kwasie oleanolowym i jego acetoksyłowej pochodnej [6,172,173].
- Obecność grupy hydroksyiminowej w pozycji 3 pierścienia *A* w przypadku związku **2** (częst. B) i **4** nie zmienia konformacji krzesłowej tego pierścienia, podczas gdy w związkach **2** (częst. A) i **7** zmienia konformację krzesłową na konformację skręconej

łodzi. Z danych literaturowych [53,54,136,166,171,174-188] wynika, iż wpływ egzocyklicznego wiązania podwójnego w pozycji 3 na konformację pierścienia *A* w triterpenoidach pochodnych oleananu może być różny, najczęściej jednak pierścień ten zachowuje konformację krzesła [136,171,174-178,180-183,186].

- W triterpenoidach **1 - 15** nasycony pierścień *B* posiada konformację krzesła mniej lub bardziej zniekształconego. Największy stopień deformacji krzesłowej pierścienia *B* stwierdzono u triterpenoidu **12**, otrzymanego w wyniku daleko idących zmian strukturalnych substratu **10**.
- Nienasycony pierścień *C* posiada w triterpenoidach **2** i **3** konformację półłodzi w niewielkim stopniu zdeformowaną. Dodatkowa obecność grupy karbonylowej w pozycji 11 (zw. **4 - 6**) nie wywiera godnego uwagi wpływu na konformację półłodziową pierścienia *C*. W triterpenoidach **10** i **13** pierścienie *C* z jednym atomem węgla w stanie hybrydyzacji sp^2 (C12) przyjmują konformację krzesła, wyraźnie spłaszczonego od strony tego atomu węgla (deformacja ukierunkowana na konformację półłodzi). Dodatkowa obecność pierścieniu *C* atomu bromu w pozycji 12 przy jednoczesnym braku wiązania podwójnego C12=C13 sprawiają, iż pierścień *C* przyjmuje zdeformowaną konformację krzesłową.
- Sześciocłonowe pierścienie *D* o charakterze nasyconym (zw. **1, 7 - 10, 13** i **14**) oraz z jednym atomem węgla w stanie hybrydyzacji sp^2 (C13) (zw. **2, 3** i **4 - 6**) posiadają w badanych triterpenoidach konformację krzesłową zniekształconą w znacznym i jednocześnie porównywalnym stopniu. W przypadku triterpenoidów **11, 12** i **15** z pierścieniem *D* sześciocłonowym z dwoma atomami węgla w stanie hybrydyzacji sp^2 (zw. **11**) oraz pięciocłonowym (zw. **12** i **15**) pierścień ten przyjmuje w triterpenoidzie **11** konformację zbliżoną do półłodzi, zaś w triterpenoidach **12** i **15** konformację koperty.
- Skrajny pierścień *E* posiada w większości badanych triterpenoidów konformację krzesłową w niewielkim tylko stopniu zniekształconą. Dotyczy to również triterpenoidu **11** z jednym atomem węgla w stanie hybrydyzacji sp^2 w tym pierścieniu.
- Układ γ -laktonowy obecny w triterpenoidach **7 - 10** i **12** posiada tylko jedną konformację, to jest koperty.

- Bliskie sąsiedztwo aksjalnych grup metylowych C24, C25 i C26 o orientacji β prowadzi do znacznego zniekształcenia kątów walencyjnych C4-C5-C10 (zw. **2 - 7, 8, 10 - 15**) i C8-C9-C10 (zw. **1 - 15**).
- Obecna w triterpenoidach **1 - 6** oraz **13 - 15** płaska grupa metoksykarbonylowa ustawia się aksjalnie do pierścienia *D* oraz ekwatorialnie do pierścienia *E*. Z kolei występująca w niej grupa karbonylowa przyjmuje względem wiązania C17-C18 następujące konformacje:
 - synperiplanarną (zw. **1**) lub zbliżoną do synpriplanarnej (zw. **4 - 6**);
 - pośrednią pomiędzy synperiplanarną i synklinalną w triterpenoidach **2, 3 i 15** oraz
 - pośrednią pomiędzy antyklinalną i antyperiplanarną w triterpenoidach **13 i 14**, w ostatnim przypadku konformacja stabilizowana jest przez międzycząsteczkowe wiązanie wodorowe.
- Grupa acetoksylowa o orientacji β w pozycji C3 triterpenoidów **10 - 15** również posiada strukturę płaską. Jej grupa karbonylowa C31=O2 przyjmuje względem wiązania C2-C3 konformację pośrednią pomiędzy synklinalną i antyklinalną (zw. **10 - 12, 15**) lub zbliżoną do antyklinalnej (zw. **13, 14**), zaś w odniesieniu do wiązania C3-O1 konformację synperiplanarną (zw. **11 - 15**) względnie zbliżoną do synperiplanarnej (zw. **10**).
- Obecność rozpuszczalnika krystalizacyjnego stwierdzono w sieci kryształu tylko dwóch triterpenoidów, to jest **7** {dimetyloformamid (DMF)} i **13** {dimetylosulfotlenek DMSO}. W obydwu kryształach cząsteczki rozpuszczalnika krystalizacyjnego uczestniczą w tworzeniu międzycząsteczkowych wiązań wodorowych.
- Kryształy trzech triterpenoidów, to jest **2, 3 i 5** wykazują podobieństwo strukturalne.
- Wyniki analizy rentgenograficznej triterpenoidów **1, 2, 4, 7, 10 - 15** pozwoliły skorygować ich struktury, określone wcześniej w oparciu o wyniki analiz spektralnych.

5. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

5.1. PRZYGOTOWANIE KRYSZTAŁU DO BADAŃ DYFRAKTOMETRYCZNYCH

Kryształy triterpenoidów **1 - 15**, odpowiednie do badań dyfraktometrycznych, otrzymano przez krystalizację metodą powolnego odparowania rozpuszczalnika. Związki **1 - 6**, **10 - 12**, **14** i **15** krystalizowano z etanolu, związki **7** i **8** z dimetyloformamidu (DMF), związek **9** z acetonitrylu, zaś związek **13** z dimetylosulfotlenku (DMSO).

5.2. DYFRAKTOMETRYCZNE POMIARY INTENSYWNOŚCI REFLEKSÓW

Dyfraktometryczne pomiary intensywności promieniowania rentgenowskiego rozproszonego na kryształach badanych triterpenoidów zostały wykonane w Katedrze i Zakładzie Chemii Organicznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu na czterokołowym dyfraktometrze do badań monokryształu KM-4 firmy Kuma Diffraction Sp. z o.o. w temperaturze pokojowej z użyciem promieniowania miedziowego [$\lambda(\text{Cu } K\alpha) = 1.54178 \text{ \AA}$] (zw. **1**, **2**, **4**, **6**) oraz na dyfraktometrze Xcalibur A z kamerą CCD firmy Oxford Diffraction (Varian, Inc.) (zw. **9**, **11 - 15** w temp. 130(2) K, zw. **8** w temp. 293(2) K) z użyciem promieniowania molibdenowego [$\lambda(\text{Mo } K\alpha) = 0.71073 \text{ \AA}$]. Pomiary na kryształach czterech pozostałych triterpenoidów zostały wykonane w Laboratorium Badań strukturalnych Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego (zw. **5** w temp 130 K), Zakładzie Krystalografii Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego (zw. **10** w temp. 100 K) oraz w laboratorium firmy BRUKER AXS GmbH w Karlsruhe* (zw. **3** i **7** w temp. 100 K).

5.3. ROZWIĄZYWANIE I UDOKŁADNIANIE STRUKTURY

Otrzymane zbiory danych (refleksów) dla badanych triterpenoidów poddano redukcji na bazie wybranych komórek elementarnych za pomocą pakietu programów DATAPROC [189], CrysAlis CCD [190] i APEXII [191]. W korekcji danych dyfraktometrycznych obok poprawki na czynniki Lorentza i polaryzacyjny każdorazowo uwzględniano poprawkę na absorpcję.

* Autor pragnie serdecznie podziękować dr Marianie Biadene i dr. Danielowi Stern z firmy Bruker AXS (Karlsruhe) za wykonanie pomiarów dyfraktometrycznych.

Problem fazowy dla wszystkich analizowanych struktur rozwiązano metodami bezpośrednimi za pomocą programu komputerowego *SHELXS97* [192]. Otrzymane modele próbne cząsteczek udokładniano metodą najmniejszych kwadratów programem *SHELXL97* [192]. Atomy niewodorowe udokładniano stosując początkowo izotropowe, a następnie anizotropowe czynniki temperaturowe. Pozycje atomów wodoru, związanych z atomami azotu (zw. **1, 3, 5, 8, 11, 14**) i tlenu (zw. **2, 4, 7, 10, 13**) wyznaczano z mapy różnicowej Fouriera, położenia pozostałych atomów wodoru wyliczano z geometrii cząsteczki (zw. **1 - 15**). Pozycje atomów wodoru, znalezione z różnicowej mapy Fouriera udokładniano z izotropowymi czynnikami temperaturowymi. Wyliczone z geometrii cząsteczki i nieudokładniane położenia atomów wodoru wykorzystano przy obliczaniu czynników struktury. Po każdym cyklu udokładniania atomów niewodorowych pozycje atomów wodoru ponownie wyliczano.

Rozbieżność pomiędzy wyliczonym modelem a strukturą rzeczywistą oceniano na podstawie konwencjonalnego i ważonego czynnika rozbieżności R i wR , wyrażonych wzorami:

$$R1 = \frac{\sum ||F_o| + |F_c||}{\sum |F_o|}$$

$$wR2 = \sqrt{\left\{ \frac{\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2]}{\sum [w(F_o^2)^2]} \right\}}$$

gdzie w oznacza czynnik wagowy.

Stosowano wagi o wzorze ogólnym $w=1/[\sigma^2(F_o^2)+(aP)^2+bP]$, gdzie $P=(F_o^2+2F_c^2)/3$.

W końcowym etapie udokładniania wprowadzano poprawkę na wtórną ekstynkcję

$$F_c' = F_c(1 - 0.0001xF_c^2 / \sin \theta)$$

oraz parametru S :

$$S = \sqrt{\left\{ \frac{\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2}{(m - n)} \right\}}$$

gdzie

m – liczba refleksów o intensywności $I \geq 2\sigma(I)$

n – liczba udokładnianych parametrów

5.4. OPRACOWANIE WYNIKÓW BADAŃ STRUKTURALNYCH

Wyniki badań strukturalnych opracowano z wykorzystaniem programów komputerowych *SHELXL97*, *PLATON* [160], *ORTEP-3 for Windows* [193] i *MERCURY* [194]. W obliczeniach długości wiązań, kątów walencyjnych i torsyjnych korzystano z programu komputerowego *SHELXL97*. Do wyznaczenia płaszczyzn najmniejszych kwadratów niepłaskich układów pierścieniowych i wybranych grup atomów, kątów dwuściennych pomiędzy płaszczyznami, odległości wybranych atomów od najlepszych płaszczyzn oraz konformacji pierścieni stosowano programy *SHELXL97* i *PLATON*. Rysunki przedstawiające obraz przestrzenny cząsteczki, sposób upakowania cząsteczek w komórce elementarnej wykonano programem *ORTEP-3 for Windows.*, zaś nakładanie symetrycznie niezależnych cząsteczek w kryształ programem *MERCURY*.

W statystyce parametrów geometrycznych korzystano z wzoru na średnią arytmetyczną

$$\bar{x} = 1/n \sum_{i=1}^n x_i$$

oraz wzoru na odchylenie standardowe (σ_m) średniej \bar{x}

$$\sigma_m = \sqrt{\sum (\bar{x} - x)^2 / n(n - 1)}$$

Podobieństwo struktury kryształów określano w sposób ilościowy za pomocą ilościowego indeksu izostrukturalności I_d programem *SimMK* [159]. Wspomniany indeks wyraża wzór:

$$I_d = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^k \max \left(0, \frac{r_i^2 - d_i^2}{r_i^2} \right) \times 100\%$$

6. STRESZCZENIE

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki analizy rentgenograficznej struktury substratów i produktów reakcji przegrupowania Beckmanna w obrębie pierścienia A i/lub C triterpenoidów pochodnych kwasu oleanolowego **1 - 15**.

Przedmiotem zainteresowania były niewyjaśniona konfiguracja grupy hydroksyiminowej w triterpenoidach **2, 4, 7, 10 i 13**, nierozwiązana do końca struktura układów laktamowych, szczególnie u triterpenoidów **11 i 14**, niewyjaśniona struktura otrzymanych w reakcji przegrupowania Beckmanna II rzędu (r. fragmentacji Beckmanna) triterpenoidów o charakterze nitrylu oraz niewyjaśniona struktura przestrzenna triterpenoidów **1 - 15**.

W ramach przeprowadzonych badań strukturalnych wykazano, iż grupa hydroksyiminowa, obecna w triterpenoidach **2, 4, 7, 10 i 13** w pozycji 3 pierścienia A względnie 12 pierścienia C, posiada tylko jedną konfigurację, to jest *E*.

Dokonano ostatecznego rozstrzygnięcia w odniesieniu do struktury układów laktamowych, obecnych w triterpenoidów **3, 5, 8, 11 i 14**. Stwierdzono, iż są one układami 3,4- (zw. **3, 5, 8**) oraz 12,13 α -laktamowymi (zw. **11 i 14**).

Za pomocą analizy rentgenograficznej wykazano, iż w triterpenoidach **1, 6 i 9**, otrzymanych w reakcji fragmentacji Beckmanna, z elementów pierścienia A utworzyły się grupa 2-cyjanoetylowa o orientacji α , lokalizująca się w pozycji C10 pierścienia B oraz grupa izopropenylova w pozycji C5 o orientacji β .

W przypadku triterpenoidów **12 i 15** stwierdzono zmiany strukturalne w obrębie pierścieni C i D substratów, polegające na otwarciu pierścienia C i kontrakcji pierścienia D z sześć- do pięcioczłonowego. W obydwu związkach z atomów węgla C11 i C12 pierścienia C utworzyły się grupa cyjanometylova o orientacji β , lokalizująca się w pozycji C9 pierścienia B oraz wiązanie podwójne C14=C27.

Lokalizacja wiązań podwójnych C24(C23)=C4 w triterpenoidach **1, 6, 9** lub C14=C27 w triterpenoidach **12 i 15** wskazuje na orientację reakcji eliminacji niezgodną z regułą Zajcewa, co pozwala domniemywać, iż reakcja eliminacji w grupie triterpenoidów pentacyklicznych pochodnych oleananu nie zachodzi według mechanizmu *E1*.

Odnotowano następujące konformacje poszczególnych układów cyklicznych:

- Sześcioczłonowe pierścienie A – krzesłową w triterpenoidach **2** (czast. B), **4, 10 - 15**;
– skróconej łodzi w triterpenoidach **2** (czast. A) i **7**.

Pierścienie *B* – zdeformowanego krzesła w triterpenoidach **1 - 15**.

Pierścienie *C* – półłodziową w triterpenoidach **2** (częst. A i B), **3** (częst. A i B), **4 - 6**.
– krzesła mniej lub bardziej zniekształconego w triterpenoidach **7 - 10, 13**.

Pierścienie *D* – krzesła w różnym stopniu zdeformowanego w triterpenoidach **1 - 14**;
– zniekształconego półkrzesła w triterpenoidzie **11**;
– koperty w triterpenoidzie **15**.

Pierścienie *E* – krzesłową w triterpenoidach **1 - 15**.

Układy laktamowe (zastępujące pierwotne sześcioczłonowe pierścienie *A* lub *C*)
– krzesłową w triterpenoidach **1, 3** (częst. B), **5** (częst. B), **11, 14**;
– skrzyżowanej łodzi w triterpenoidzie **3** (częst. A);
– zniekształconej łodzi w triterpenoidach **5** (częst. A), **8**.

Układy γ -laktonowe – koperty w triterpenoidach **7 - 10, 12**.

W analizowanych triterpenoidach **2 - 5, 7, 8, 10 - 15** odnotowuje się znaczne rozwarście kątów walencyjnych C4–C5–C10 i C8–C9–C10 na skutek wzajemnego odpychania się aksjalnych grup metylowych C24, C25 i C26 o orientacji β . W niewiele mniejszym stopniu ulegają rozwarciu kąty C4–C5–C10 w triterpenoidach **1, 6 i 9** z otwartym pierścieniem *A*, czemu sprzyja zawada przestrzenna, jaką dla grupy izopropenyłowej tworzy grupa metylenowa (C1) o orientacji α .

Stwierdzono, iż obecna w analizowanych triterpenoidach **1 - 6** oraz **13 - 15** płaska grupa metoksykarbonyłowa w pozycji C17 przyjmuje względem wiązania C17–C18 następujące konformacje:

- synperiplanarną lub zbliżoną do synperiplanarnej w triterpenoidach **1, 4 - 6**;
- pośrednią pomiędzy synperiplanarną i synklinalną w triterpenoidach **2, 3 i 15**;
- pośrednią pomiędzy antyklinalną i antyperiplanarną w triterpenoidach **13 i 14**.

Grupy karbonyłowe C31=O2 płaskich grup acetoksyłowych o orientacji β w pozycji C3 triterpenoidów **10 - 15** wykazują względem wiązania C2–C3 konformację pośrednią pomiędzy synklinalną i antyklinalną (zw. **10 - 12, 15**) lub zbliżoną do antyklinalnej (zw. **13, 14**), natomiast w odniesieniu do wiązania C3–O1 konformację synperiplanarną (zw. **11 - 15**) względnie zbliżoną do synperiplanarnej (zw. **10**).

Za pomocą badań rentgenograficznych określono struktury substratów i produktów reakcji przegrupowania Beckmanna jako:

ester metylowy kwasu 3-nitrylo-11-okso-3,4-seko-12a-azahomoolean-4(23)-en-28-owego (**1**),

ester metylowy kwasu 3-hydroksyimino-18 β -olean-12-en-28-owego (**2**),
ester metylowy kwasu 3-okso-3a-aza-A-homoolean-12-en-28-owego (**3**),
ester metylowy kwasu 3-hydroksyimino-11-okso-18 β -olean-12-en-28-owego (**4**),
ester metylowy kwasu 3,11-diokso-3a-aza-A-homoolean-12-en-28-owego (**5**),
ester metylowy kwasu 3-nitrylo-11-okso-3,4-sekoolean-4(23),12-dien-28-owego (**6**),
solwat dimetyloformamidowy 12 α -bromo-3-hydroksyimino-18 β -oleanano-28,
13 β -laktonu (**7**),
12 α -bromo-3-okso-3a-aza-A-homooleanano-28,13 β -lakton (**8**),
3-nitrylo- 12 α -bromo-3,4-sekoolean-4(24)-eno-28,13 β -lakton (**9**),
3 β -acetoksy-12-hydroksyimino-18 β -oleanano-28,13 β -lakton (**10**),
kwas 3 β -acetoksy- 12-okso-12a-aza-C-homoolean-13(18)-en-28-owy (**11**),
3 β -acetoksy-12-nitrylo-12,13-seko-15(14 \rightarrow 13)-abeoolean-14(27)-eno-28,13 β -lakton (**12**),
solwat dimetylosulfotlenkowy estru metylowego kwasu 3 β -acetoksy-12-hydroksyimino-18 β -
oleanan-28-owego (**13**),
ester metylowy kwasu 3 β -acetoksy-12-okso-12a-aza-C-homooleanan-28-owego (**14**),
ester metylowy kwasu 3 β -acetoksy-12-nitrylo-12,13-seko-15(14 \rightarrow 13)-abeoolean-14(27)-en-
28-owego (**15**).

Kryształy analizowanych triterpenoidów **1** - **15** należą do trzech układów krystalograficznych, to jest trójskośnego, jednoskośnego i rombowego. W pierwszym układzie i grupie przestrzennej $P1$ krystalizują triterpenoidy **12** i **15**, otrzymane w wyniku daleko idących zmian strukturalnych, w układzie drugim i głównie w grupie przestrzennej $P2_1$ (rzadko w $C2$) krystalizują triterpenoidy **1** - **6**, **8**, **10** i **13**, w układzie ostatnim i grupie przestrzennej $P2_12_12_1$ triterpenoidy **7**, **9**, **11** i **14**.

Rozpuszczalnik krystalizacyjny zaangażowany jest w tworzenie sieci kryształu dwóch triterpenoidów, to jest **7** {dimetyloformamid (DMF)} i **13** {dimetylosulfotlenek DMSO}. W obydwu kryształach cząsteczki rozpuszczalnika krystalizacyjnego uczestniczą w tworzeniu międzycząsteczkowych wiązań wodorowych.

Stwierdzono, iż triterpenoidy **2**, **3** i **5** wykazują podobieństwo struktury kryształów.

Uzupełniono i skorygowano struktury związków **1**, **2**, **4**, **7**, **10** - **15**, to jest dziesięć z piętnastu poddanych analizie rentgenograficznej triterpenoidów.

SUMMARY

X-ray analysis of oleanane triterpenoids

In the thesis the results of X-ray analysis of substrates and products of Beckmann rearrangement reaction within *A* and/or *C* ring of oleanolic acid derivatives (**1 - 15**) are presented.

The object of scientific study were unexplained configurations of hydroximino groups in triterpenoids **2, 4, 7, 10** and **13**, incompletely solved structures of lactam rings, especially in triterpenoids **11** and **14**, unexplained structures of nitriles obtained from second-order Beckmann rearrangement (*i.e.* Beckmann fragmentation) and unsolved spatial structure of triterpenoids **1 - 15**.

In the course of structural investigations it was shown that hydroximino function present in triterpenoids **2, 4, 7, 10** and **13** in C-3 position of ring *A*, alternatively C-12 position of ring *C*, reveals only *E* configuration.

The structures of lactam rings present in triterpenoids **3, 5, 8, 11** and **14** were determined unambiguously. It was shown that they are 3,4- (compounds **3, 5** and **8**) and 12,13 α -lactams (compounds **11** and **14**).

With the use of X-ray analysis it was shown that in triterpenoids **1, 6** and **9** obtained from Beckmann fragmentation reaction, α -oriented 2-cyanoethyl group localized in C-10 position of ring *B* and β -oriented isopropenyl group in C-5 were found.

In triterpenoids **12** and **15** major structural modifications within rings *C* and *D* were observed. The changes included ring *C* cleavage and ring *D* contraction from six-membered to five-membered one. In both mentioned compounds atoms C11 and C12 formed β -oriented cyanomethyl group in C9 and C14=C27 double bond.

Localization of double bonds C23(C24)=C4 in triterpenoids **1, 6** and **9** or C14=C27 in triterpenoids **12** and **15** points to the fact that elimination reaction does not follow Zaitsev rule. This observation allows to make the presumption that the elimination reaction follows *E2* mechanism instead of *E1*.

The following conformations of particular rings were observed:

Six-membered rings *A* – chair conformation in triterpenoids **2** (molecule B), **4, 10 - 15**;
– twist-boat in triterpenoids **2** (molecule A) and **7**;

- Rings *B* – distorted chair in triterpenoids **1 - 15**;
- Rings *C* – half-boat in triterpenoids **2** (molecules A and B), **3** (molecules A and B), **4 - 6**;
 – chair distorted to a different extent in triterpenoids **7 - 10, 13**.
- Rings *D* – chair distorted to a different extent in triterpenoids 1 - 14;
 – distorted chair in triterpenoid **11**;
 – half-boat in triterpenoid **15**;
- Rings *E* – chair conformation in triterpenoids **1 - 15**.
- Lactam rings replacing original six-membered rings *A* or *C*
 – chair in triterpenoids **1, 3** (molecule B), **5** (molecule B), **11, 14**;
 – twist-boat in triterpenoid **3** (molecule A);
 – distorted boat in triterpenoids **5** (molecule A), **8**.
- γ -lactone rings – envelope in triterpenoids **7 - 10, 12**.

In investigated compounds **2 - 5, 7, 8, 10 - 15** considerable enlargement of valence angles C4–C5–C10 and C8–C9–C10 was observed as a result of repulsive interactions between β -oriented axial methyl groups C24, C25 and C26. Angles C4–C5–C10 in triterpenoids **1, 6** and **9** with opened ring *A* are enlarged to a little slighter extent which is supported by steric hindrance between isopropenyl group and α -oriented C1-methylene group.

It was noticed that planar methoxycarbonyl group present in investigated triterpenoids **1 - 6** and **13 - 15** in C17 adopts the following conformations with respect to C17-C18 bond:

- synperiplanar or similar to synperiplanar in triterpenoids **1, 4 - 6**;
- halfway between synperiplanar and synclinal in triterpenoids **2, 3** and **15**;
- halfway between synclinal and antiperiplanar in triterpenoids **13** and **14**.

The C31=O2 carbonyl groups in planar β -oriented acetoxy functions in C3 in triterpenoids **10 - 15** reveal conformation halfway between synclinal and anticlinal (compounds **10 - 12, 15**) or similar to anticlinal (compounds **13** and **14**) with respect to C2–C3 bond and synperiplanar (compounds **11 - 15**) or similar to synperiplanar (compound **10**) with respect to C3–O1 bond.

With the use of X-ray analysis structures of substrates and products of Beckmann rearrangement reaction were identified as:

- 3-cyano-11-oxo-3,4-seco-12a-aza-C-homoolean-4(23)-en-28-oic acid methyl ester (**1**),
 3-hydroximino-18 β -olean-12-en-28-oic acid methyl ester (**2**)
 3-oxo-3a-aza-A-homoolean-12-en-28-oic acid methyl ester (**3**)
 3-hydroximino-11-oxo-18 β -olean-12-en-28-oic acid methyl ester (**4**)
 3,11-dioxo-3a-aza-A-homoolean-12-en-28-oic acid methyl ester (**5**)
 3-cyano-11-oxo-3,4-secoolean-4(23),12-dien-28-oic acid methyl ester (**6**)
 12 α -bromo-3-hydroximino-18 β -olean-28,13 β -olide dimethylformamide monosolvate (**7**)
 12 α -bromo-3-oxo-3a-aza-A-homoolean-28,13 β -olide (**8**)
 3-cyano-12 α -bromo-3,4-secoolean-4(23)-en-28,13 β -olide (**9**)
 3 β -acetoxy-12-hydroximino-18 β -olean-28,13 β -olide (**10**)
 3 β -acetoxy-12-oxo-12a-aza-C-homoolean-13(18)-en-28-oic acid (**11**)
 3 β -acetoxy-12-cyano-12,13-seco-15(14 \rightarrow 13)-abeoolean-14(27)-en-28,13 β -olide (**12**)
 3 β -acetoxy-12-hydroximino-18 β -olean-28-oic acid methyl ester dimethylsulfoxide (**13**)
 monosolvate
 3 β -acetoxy-12-oxo-12a-aza-C-homoolean-28-oic acid methyl ester (**14**)
 3 β -acetoxy-12-cyano-12,13-seco-15(14 \rightarrow 13)abeoolean-14(27)-en-28-oic acid methyl ester (**15**)

Crystals of investigated triterpenoids **1** - **15** belong to three crystallographic systems, *i.e.* triclinic, monoclinic and orthorhombic. Triterpenoids **12** and **15** obtained as a result of significant structural modifications crystallize in the first of them in *P1* group. Triterpenoids **1** - **6**, **8**, **10** and **13** crystallize in monoclinic system in *P2₁* group, less often in *C2*. Triterpenoids **7**, **9**, **11** and **14** crystallize in the last system in group *P2₁2₁2₁*.

Crystallization solvent is included in crystal lattice in two triterpenoids, *i.e.* **7** {dimethylformamide (DMF)} and **13** {dimethylsulfoxide (DMSO)}. In both crystals solvent molecules are engaged in formation of intermolecular hydrogen bonds network.

It was noticed that triterpenoids **2**, **3** and **5** display isostructurality of the crystal lattices. The structures of ten of fifteen analysed compounds (*i.e.* **1**, **2**, **4**, **7**, **10** - **15**) were completed and corrected.

8. PIŚMIENNICTWO

1. Connolly J. D. i Hill R. A., Dictionary of Terpenoids, Chapman & Hall, London (1991) oraz prace tam cytowane.
2. Viqar Uddin Ahmad i Atta-ur-Rahman, Handbook of Natural Products Data, Vol. 2, Pentacyclic Triterpenoids, Elsevier, Amsterdam (1994) oraz prace tam cytowane.
3. Chołuj A., Janiszowska W., *Herba polonica*, **51**, 66-76 (2005).
4. Wrzeciono U., Zaprutko L., Budzianowski J. i Jambor J., Patent PRL nr 141399 (26.05.1984).
5. Power F. B., Tutin F., *J. Chem. Soc.*, **93**, 891 (1908).
6. Froelich A., Gzella A. K., *Acta Cryst.*, **E66**, o2790 (2010).
7. Simonsen J., Ross W. C. J., *The Terpenes*, Vol. IV, Cambridge University Press 1957 oraz prace tam cytowane.
8. Bednarczyk-Cwynar B., *Monografia doktorska*, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (2006) oraz prace tam cytowane.
9. Wyrzykiewicz E., Wrzeciono U., Zaprutko L., *Org. Mass Spectrom.* **24**, 105 (1989).
10. Gzella A., Zaprutko L., Wrzeciono U. i Gdaniec M., *Acta Cryst.*, **C42**, 1859 (1986).
11. Gzella A., Zaprutko L., Wrzeciono U. i Jaskólski M., *Acta Cryst.*, **C43**, 759 (1987).
12. Honda T., Finlay H. J., Gribble G. W., Suh N. i Sporn M. B., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **7**, 1623 (1997).
13. Prelog, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **2**, 414, 420 (1930).
14. Jacobs i Fleck, *J. Biol. Chem.*, **96**, 341, 348 (1932).
15. Kitasato, *Acta Phytochim.*, **7**, 169, 182 (1933).
16. Schicke i Wedekind, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **215**, 199, 205 (1933).
17. Ruzicka i Hofmann, *Helv. Chim. Acta*, **19**, 114 (1936).
18. Kuwada i Matsukawa, *Yakugaku Zasshi*, **54**, 461, 471 (1934); *Chem. Abstr.*, 107 (1937).
19. Kuwada i Takeda, *Yakugaku Zasshi*, **59**, 398, 403 (1939); *Chem. Abstr.*, 5452 (1940).
20. Drefahl G. i Huneck S., *Chem. Ber.*, **93**, 1967 (1960).
21. Huneck S., *Tetrahedron*, **19**, 479 (1963).
22. Savoir R., Ottinger R., Tursch B. i Chiurdoglu G., *Bull. Soc. Chim. Belg.*, **76**, 335 (1967).
23. Monaco P., Caputo R., Palumbo G. i Mangoni L., *Phytochemistry*, **12**, 939 (1973).

24. Brieskorn C. H. i Krause W., *Arch. Pharm. (Weinheim Ger.)*, **307**, 603 (1974).
25. Brieskorn C. H. i Seifert M., *Arch. Pharm. (Weinheim Ger.)*, **315**, 846 (1982).
26. Agarwal S. K. i Rastogi R. P., *Phytochemistry*, **13**, 666 (1874).
27. Nasini G. i Piozzi F., *Phytochemistry*, **20**, 514 (1981).
28. Konishi T. i Shoji J., *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 2807 (1981).
29. Seo S., Tomita Y. i Tori K., *J. Amer. Chem. Soc.*, **103**, 2075 (1981).
30. Konoike T., Takahashi K., Kitaura Y. i Kanda Y., *Tetrahedron*, **55**, 14901 (1999).
31. Caglioti i Cainelli, *Chim. Ind. (Milan)*, **48**, 362 (1966).
32. Djerassi C., Thomas D. B., Livingston A. L. i Thompson C. R., *J. Amer. Chem. Soc.*, **79**, 5292 (1957).
33. Sudhakar B., Rajaram P., Ramaiah T. S., Rao K. L. i Ramraj S. K., *J. Indian Chem. Soc.*, **64**, 712 (1987).
34. Honda T., Rounds B.–A. V., Bore L., Favalaro F. G., Gribble G. W., Suh N., Wang Y. i Sporn M. B., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **9**, 3429 (1999).
35. Kitasato, *Acta Phytochim.*, **11**, 5, 20 (1939).
36. Kuwada i Takeda, *Yakugaku Zasshi*, **60**, 636, 642 (1940); *Chem. Abstr.*, 2878 (1941).
37. Farina C. i Pinza M., *Gazz. Chim. Ital.*, **117**, 561 (1987).
38. Kuwada i Takeda, *Yakugaku Zasshi*, **60**, 398, 403, 405 (1940); *Chem. Abstr.*, 461 (1941).
39. Majumder P. L. i Bagchi A., *Tetrahedron*, **39**, 649 (1983).
40. Ruzicka i Cohen, *Helv. Chim. Acta*, **20**, 804, 807 (1937).
41. Ruzicka, Grob i van der Sluys Veer, *Helv. Chim. Acta*, **22**, 788, 791 (1939).
42. Ruzicka, Jeger i Winter, *Helv. Chim. Acta*, **26**, 265, 273 (1943).
43. Barton D. H. R., Holness N. J., Overton, K. H. i Rosenfelder W. J., *J. Chem. Soc.*, 3751, 3759 (1952).
44. Kon i Ross, *J. Chem. Soc.*, 742, 743 (1942).
45. Zaprutko L., Gzella A. i Wrzeciono U., *Liebigs Ann. Chem.*, **4**, 373 (1990); refcode: SEVLEK.
46. Zaprutko L., *Polish J. Chem.*, **68**, 1753 (1994).
47. Zaprutko L., *Polish J. Chem.*, **69**, 1003 (1995).
48. Gzella A., Wrzeciono U. i Zaprutko L., *Acta Cryst.*, **C51**, 908 (1995); refcodes: YOWSOS, YOWSUY.

49. Gzella A., Zaprutko L. i Wrzeciono U., *Acta Cryst.*, **C53**, 261 (1997); refcodes: TIQJAE, TIQJEI, TIQJIM.
50. Gzella A., Zaprutko L. i Wrzeciono U., *Acta Cryst.*, **C54**, 1309 (1998); refcodes: PEMZUC, PENBIT.
51. Gzella A., *Acta Cryst.*, **C55**, 1730 (1999); refcode: CAWLOB.
52. Gzella A., *Acta Cryst.*, **C55**, 2151 (1999); refcode: COBQIT.
53. Gzella A., *Acta Cryst.*, **C55**, 2153 (1999); refcodes: COBQOZ, COBQUF.
54. Gzella A., *Acta Cryst.*, **C56**, 505 (2000); refcode: KIYQAK.
55. Gzella A., *Acta Cryst.*, **C56**, 983 (2000); refcodes: WOBKIH, WOBKON.
56. Zaprutko L., *Polish J. Chem.*, **73**, 333 (1999).
57. Zaprutko L., Zjazd Naukowy PTCh i SITPCh, Poznań 23-26 września 1996, poster S-5 H-17.
58. Govardhan Ch., Reddy R. P., Ramaiah T. S. i Rao T. V., *J. Indian Chem. Soc.*, **60**, 858 (1983).
59. Rappaport Z., Liebman J. F., *The Chemistry of Hydroxylamines, Oximes and Hydroxamic Acids, Patai Series: The Chemistry of Functional Groups*, John Wiley & Sons, Ltd. (2009) oraz prace tam cytowane.
60. Smith M. B., March J., *March's Advanced Organic Chemistry. Reactions, Mechanisms and Structure, Sixth Edition*, John Wiley & Sons Inc., Hoboken, New Jersey (2007).
61. Candeias N., Afonso C. A. M., *J. Mol. Catal. A: Chemical*, **242**, 195-217 (2005).
62. Wang B., Gu Y. L., Luo C., Yang T., Yang L. M., Suo J. S., *Tetrahedron Lett.*, **45**, 3369 (2004).
63. L. D., Giacomelli G., Porcheddu A., *J. Org. Chem.*, **67**, 6272 (2002).
64. Chandrasekhar S., Gopalaiah K., *Tetrahedron Lett.*, **44**, 755 (2003).
65. Yoo K. H., Choi E. B., Lee H. K., Yeon G. H., Yang H. C., Pak C. S., *Synthesis*, **10**, 1559 (2006).
66. Yan P., Batamck P., Prakash G. K. S., Olah G., *Catal. Lett.*, **103**, 165 (2005).
67. Chandrasekhar S., Gopalaiah K., *Tetrahedron Lett.*, **43**, 2455 (2002).
68. Torisawa Y., Nishi T., Minimikawa J., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **12**, 387 (2002).
69. Gawley R. E., *The Beckmann reactions: Rearrangements, elimination-additions, fragmentations, and rearrangement-cyclizations*, rozdział w *Organic Reactions*, Vol. 35, Wiley-Interscience, London (1988).

70. Lee B. S., Chu S., Lee I. Y., Lee B. S., Song C. E., Chi D. Y., *Bull. Korean Chem. Soc.*, **21**, 860 (2000).
71. Wrzeciono U., Turowska W., Kuśnierkiewicz G., *Ann. Soc. Chim. Polonorum*, **45**, 1233 (1971).
72. Yasue M., Sakakibara J., Kaiya T., *Yakugaku Zasshi*, **94**, 1468 (1974).
73. Laxman – Rao K., Ramraj S. K., Sundararamaiah T., *J. Indian Chem. Soc.*, **57**, 833 (1980).
74. Sundararamaiah T., Ramraj S. K., Lakshman Rao K., Vimala Bai V., *J. Indian Chem. Soc.*, **53**, 664 (1976).
75. Whitman G. H., *J. Chem. Soc.*, 2016 (1960).
76. Klinot J., Vystrcil A., *Coll. Czech. Chem. Comm.*, **27**, 377 (1962).
77. McFarlane W. A. D., British Patent Nr. 12273/64 (1966).
78. Puri S. C., Dhar K. L., Atal C. K., *Indian J. Chem.*, **15B**, 917 (1977).
79. Gaware R., Khunt R., Czollner L., Stanetty C., Da Cunha T., Kratschmar D. V., Odermatt A., Kosma P., Jordis U., Claßen-Houben D., *Bioorg. Med. Chem.*, **19**, 1866 (2011).
80. Yasue M., Sakakibara J., Kaiya T., *Yakugaku Zasshi*, **93**, 296 (1973).
81. Gnoatto S. C. B., Dassonville-Klimpt A., Da Nascimento S., Galérac P., Boumediene K., Gosmann G., Sonnet P., Moslemi S., *Eur. J. Med. Chem.*, **43**, 1865 (2008).
82. Liu J., *J. Ethnopharmacol.*, **49**, 57 (1995).
83. Liu J., *J. Ethnopharmacol.*, **100**, 92 (2005).
84. Kennedy D. O., Scholey A. B., *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **75**, 687 (2003).
85. Kim K. A., Lee J. S., Park H. J., Kim J. W., Kim C. J., Shim I. S., Han S. M., Lim S., *Life Sci.*, **74**, 2769 (2004).
86. Tong H. H. Y., Wu H. B., Zheng Y., Xi J., Chow A. H. L., Chan C. K., *Int. J. Pharm.*, **355**, 195 (2008).
87. Sun Z. L., Gao G. L., Xia Y. F., Feng J., Qiao Z. Y., *Fitoterapia*, **82**, 591 (2011).
88. Honda T., Rounds B. A. V., Gribble G. W., Suh N., Wang Y., Sporn M. B., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **8**, 2711 (1998).
89. Honda T., Honda Y., Favalaro F. G., Gribble G. W., Suh N., Place A. E., Rendi M. H., Sporn M. B., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **12**, 1027 (2002).
90. Ikeda T., Sporn M., Honda, Gribble G. W., Kufe D., *Cancer Res.*, **63**, 5551 (2003).
91. Koschmieder S., D'Alo, Radomska H., Schöneich C., Chang J. S., Konopleva M., Kobayashi S., Levantini E., Suh N., Di Ruscio A., Voso M. T., Watt J. C., Santhanam

- R., Sargin B., Kantarijan H., Andreef M., Sporn M. B., Perrotti D., Berdel W. E., Müller-Tidow C., Serve H., Tenen D. G., *Blood*, **110**, 3695 (2007).
92. Wang Y., Porter W. W., Suh N., Honda T., Gribble G. W., Leesnitzer L. A., Plunket K. D., Mangelsdorf D. J., Blanchard S. G., Willson T. M., Sporn M. B., *Mol. Endocrinol.*, **14**, 1550 (2000).
 93. Sporn M. B., Liby K. T., Yore M. M., Fu L., Lopchuk J. M., Gribble G. W., *J. Nat. Prod.*, **74**, 537 (2011).
 94. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00811889?term=bardoxolone&rank=1>
 95. Cipak L., Grausova L., Miadokova E., *Arch. Toxicol.*, **80**, 429 (2006).
 96. Setzer W. N., Setzer M. C., *Mini Rev. Med. Chem.*, **3**, 540 (2003).
 97. Cheng M. S., Yan M. C., Liu Y., Zheng L. G., Liu J., *Carbohydr. Res.*, **341**, 60 (2006).
 98. Somova L. O., Nadar A., Rammanan P., Shode O., *Phytomedicine*, **10**, 115 (2003).
 99. Rodriguez J. A., Astudillo L., Schmeda-Hirschmann G., *Pharmacol. Res.*, **48**, 291 (2003).
 100. Wrzeciono U., Zaprutko L., Budzianowski J., Małeck I., Kieryłowicz H., Patent PRL Nr 142581 (01.06.1984).
 101. Wrzeciono U., Zaprutko L., Budzianowski J., Małeck I., Kieryłowicz H., Patent PRL Nr 142429 (18.06.1984).
 102. Farina C., Pinza M., Pifferi G., *Il Farmaco*, **53**, 22 (1998).
 103. Horiuchi K., Shiota S., Hatano T., Yoshida T., Kuroda T., Tsuchiya T., *Biol. Pharm. Bull.*, **30**, 1147 (2007).
 104. Wolska K. I., Grudniak A. M., Fiecek B., Kraczkiewicz-Dowjat A., Kurek A., *Centr. Eur. J. Biol.*, **5**, 543 (2010).
 105. Tanachatchairatana T., Bremner J. B., Chokchaisiri R., Suksamrarn A., *Chem. Pharm. Bull.*, **56**, 194 (2008).
 106. De Leo M., De Tomassi N., Sanogo R., D'Angelo V., Germano M. P., Bisignano G., Braca A., *Phytochemistry*, **67**, 2623 (2006).
 107. Abe F., Yamauchi T., Nagao T., Kinjo J., Okabe H., Higo H., Akahane H., *Biol. Pharm. Bull.*, **25**, 1485 (2002).
 108. Torres-Santos E. C., Lopes D., Rodrigues Oliceira R., Caranta J. P. P., Bandeira Falcao C. A., Kaplan M. A. C., Rossi-Bergman B., *Phytomedicine*, **11**, 114 (2004).
 109. Mengoni F., Lichtner M., Battinelli L., Marzi M., Mastroianni C. M., Vullo V., Mazzanti G., *Planta Med.*, **68**, 111 (2002).

110. Zhu Y.-M., Shen J.-K., Wang H.-K., Cosentino M. L., Lee K.-H., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **11**, 3115 (2001).
111. Ali H., Houghton P. J., Soumyanath A., *J. Ethnopharmacol.*, **107**, 449 (2006).
112. Ali M. S., Jahongir M., Shazal ul Hussan S., Choudhary M. I., *Phytochemistry*, **60**, 295 (2002).
113. Yoshikawa M., Matsuda H., *BioFactors*, **13**, 231 (2000).
114. Matsuda H., Li Y., Murakami T., Yamahara J., Yoshikawa M., *Bioorg. Med. Chem.*, **7**, 323 (1999).
115. Yin M.-C., Chan K.-C., *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 7177 (2007).
116. Wang Z., Cheng-chin H., Huang C, Yin M., *Eur. J. Pharmacol.*, **628**, 255 (2010).
117. Hsu J.-H., Wu Y.-C., Liu I.-M., Chen J.-T., *Neurosci. Lett.*, **404**, 112 (2006).
118. Chen J., Liu J., Zhong L., Wu G., Hua W., Wu X., Sun H., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**, 2915 (2006).
119. Boduła A., Wdowczyk M., Adamiec R., *Postepy Hig. Med. Dosw.*, **59**, 203 (2005).
120. Ramirez Espinosa J. J., Rios M. Y., Lopez-Martinez S., Lopez-Vallejo F., Medina-Franco J., Paoli P., Camici G., Navarete-Vazquez G., Ortiz-Andrade R., Estrada-Soto S., *Eur. J. Med. Chem.* (2011); artykuł przyjęty do druku, doi: 10.1016/j.ejmech.2011.03.005.
121. Cal K., Stefanowska J., *Farm. Pol.*, **66**, 514 (2010).
122. Morrow D. I. J., McCarron P. A., Woolfson A. D., Donnelly R. F., *Open Drug Deliv. J.*, **1**, 36 (2007).
123. Janicki S., Fiebig A., Sznitowska M., *Farmacja stosowana. Podręcznik dla studentów farmacji.*, Wydanie IV, Warszawa, Wydawnictwo Lekarskie PZWL (2008).
124. Hunter J., Savin J., Dahl M., *Clinical Dermatology*, Wyd. III, Wiley-Blackwell (2002).
125. Walters K. A., *Drugs and The Pharmaceutical Sciences, Vol. 119. Dermatological and Transdermal Formulations*, Informa-Healthcare USA Inc. (2007).
126. Benson H. A. E., *Curr. Drug Deliv.*, **2**, 23 (2005).
127. Arora A., Prausnitz M. R., Mitragori S., *Int. J. Pharm.*, **364**, 227 (2008).
128. Hu M., Konoki K., Tachibana K., *Biochim. Biophys. Acta*, **1299**, 252 (1996).
129. Gauthier C., Legault J., Girard-Lancalette K., Mshvildadze V., Pichette A., *Bioorg. Med. Chem.*, **17**, 2002 (2009).
130. Sultana N., Ata A., *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.*, **23**, 739 (2008).

131. Zaprutko L., Partyka D., Bednarczyk-Cwynar B., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14**, 4723 (2004).
132. Allen F. H., Kennard O., Watson D. G., Brammer L., Orpen A. G., Taylor R., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, pp. S1–19 (1987).
133. Boessenkool I. K., Boeyens J. C. A., *J. Cryst. Mol. Struct.*, **10**, 11 (1980).
134. Cremer, D. & Pople, J. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 1354 (1975).
135. Nozaki H., Suzuki H., Lee K.-H., McPhail A. T., *Chem. Commun.*, 1048 (1982); refcode: BITSIG.
136. Eggleston D. S., *Acta Cryst.*, **C43**, 1229 (1987); refcode: FITVOT.
137. Maartmann-Moe K., Bicknell W., Francis G.W., *Acta Cryst.*, **C43**, 2362 (1987); refcode: FUGWEJ.
138. Kutney J. P., Hewitt G. M., Lee G., Piotrowska K., Roberts M., Rettig S. J., *Can. J. Chem.*, **70**, 1455 (1992); refcodes: PAPGIW, PAPGOC.
139. Hambley T. W., Lewis K. G., Tucker D. J., Turner P., *Aust. J. Chem.*, **49**, 775 (1996); refcode: TOKNIQ.
140. Yang J., Quail J.W., Jia Z., *Acta Cryst.*, **C53**, 349 (1997); refcode: TOHFAX.
141. Bhattacharyya K., Kar T., Dutta P. K., Achari B., Bocelli G., Righi L., *Acta Cryst.*, **C56**, e60 (2000); refcode: CAQSIW.
142. Li L.-X., Liu J.-D., Yin Y.-G., Shen L.-R., Su H.-Y., *Chem. J. Chin. Univ.*, **22**, 573 (2001); refcode: BITSEC02.
143. Smetanina O. F., Kuznetsova T. A., Denisenko V. A., Pivkin M. V., Khudyakova Y. V., Gerasimenko A. V., Popov D. Y., Il'in S. G., Elyakov G. B., *Russ. Chem. Bull.*, 2352 (2001); refcode: MUFXUG.
144. Silva G. D. F., Duarte L. P., Filho S. A. V., Doriguetto A. C., Mascarenhas Y. P., Ellena J., Castellano E. E., Cota A. B., *Magn. Reson. Chem.*, **40**, 366 (2002); refcode: DABWUZ.
145. Flekhter O. B., Medvedeva N. I., Suponitsky K. Y., *Acta Cryst.*, **E63**, o2289 (2007); refcode: XICPAB.
146. Perold G.W., Black R.S., Lemmerer A., Michael J.P., van Otterlo W.A.L. *Acta Cryst.*, **E63**, o3032 (2007); refcode: EDEWIU.
147. Hu J.-Y., Xu Y.-Q., Ju Y., *Acta Cryst.*, **E63**, o4882 (2007); refcode: CIQQUP.
148. Alvarez-Larena A., Brianso J. L., Capparelli M. V., Farran J., Piniella J. F., *Afinidad*, **64**, 278 (2007); refcode: LIWPIR.
149. Beseda I., Jordis U., Mereiter K., *Private Communication* (2008); refcode: KONJEC01.

150. Santos R. C., Pinto R. M. A., Beja A. M., Salvador J. A. R., Paixao J. A. *Acta Cryst.*, **E65**, o2088 (2009); refcode: HUCTAB.
151. Salvador J. A. R., Pinto R. M. A., Santos R. C., Le Roux C., Beja A. M., Paixao J. A., *Org. Biomol. Chem.*, **7**, 508 (2009); refcode: DOVGAX.
152. Beseda I., Czollner L., Shah P.S., Khunt R., Gaware R., Kosma P., Stanetty C., del Ruiz-Ruiz M.C., Amer H., Mereiter K., Da Cunha T., Odermatt A., Classen-Houben D., Jordis U., *Bioorg. Med. Chem.*, **18**, 433 (2010); refcodes: FULJIG, FULJUS, FULKAZ, FULKIH.
153. Allen, F. H., *Acta Cryst.*, **B58**, 380 (2002).
154. Spirlet M. R., Dupont L., Dideberg O., Kapundu M., *Acta Cryst.*, **B36**, 1593 (1980).
155. Tsuda Y. i Kiuchi F., *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 4806 (1984).
156. Etter M. C., *Acc. Chem. Res.*, **23**, 120 (1990).
157. Etter M. C., MacDonald J. C., Bernstein J., *Acta Crystallogr.*, **B46**, 256 (1990).
158. Bernstein J., Davis R. E., Shimoni I., Chang N.-L., *Angew. Chem.*, **107**, 1689 (1995); *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **34**, 1555 (1995).
159. Kowiel M., 53rd Polish Crystallographic Meetin, Wrocław 30.06–1.07.2011, poster.
160. Spek A. L., *Acta Cryst.*, **D65**, 148 (2009).
161. Akiyama T., Tanaka O. i Iitaka Y., *Acta Crystallogr.*, **B26**, 163 (1970); refcode: PLAGBL10.
162. Van Schalkwyk T. G. D. i Kruger G. J., *Acta Cryst.*, **B30**, 2261 (1974). refcode: OLDABL.
163. Carlisle C. H., Lindley P. F. i Perales A., *Acta Cryst.*, **B32**, 3053 (1976). refcode: ECHABL10.
164. Roques R., Comeau L., Fourme R., Kahn R., Andre D., *Acta Cryst.*, **B33**, 1682 (1977). refcode: MOLOLD.
165. Chang H.-M., Chiang T.-C. i Mak T. C. W., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1197 (1982), refcode: BITSEC.
166. Sanduja R., Weinheimer A. J., Alam M., Hossain M. B., van der Helm D., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1091 (1984). refcode: BOPNID10, BOPNID11.
167. De Silva G. D. F., Duarte L. P., Da S. Paes H. C., De Sousa J. R., Nonato M. C., Portezani P. J., Sousa Y., Nonato M. C., Portezani P. J., Mascarenhas Y. P., *J. Braz. Chem. Soc.*, **9**, 461 (1998). refcode: KABTUC.
168. Wang F., Hua H., Pei Y., Chen D., Jing Y., *J. Nat. Prod.*, **69**, 807 (2006); MIZGAE.
169. Bag B. G., Dey P. P., Dinda S. K., Sheldrick W. S., Oppel I. M., *Beilstein J. Org. Chem.*, **4**, 24 (2008); BORYAJ.

170. Flekhter O. B., Medvedeva N. I., Tolstikov G. A., Galin F. Z., Yunusov M. S., Mai N. N. T., Tien L. V., Savinova O. V., Boreko E. I., Titov L. P., Glukhov I. V., *Bioorg. Chem. (Russ.)*, **35**, 253 (2009); refcode: RUKCOQ.
171. Santos R. C., Pinto R. M. A, Matos Beja A., Salvador., J. A. R., Paixao J. A., *Acta Cryst.*, **E66**, o2139 (2010); refcode: DUTXUM.
172. Roques R., Declerq J. P., Germain G., *Acta Crystallogr.*, **B34**, 2367 (1978); refcode: AXOLAC.
173. Gnoatto S., Guillon J., Pires V. S., Dassonville-Klimpt A., Da Nascimento S., Massip S., Jarry C., Gossmann G., Sonnet P., *Anal. Sci.: X-Ray Struct. Anal. Online*, **24**, x239 (2008); refcode: BOJDUA.
174. Brunskill A. P. J., Thompson H. W., Lalancette R. A., *Acta Cryst.*, **C55**, 1902 (1999); refcode: BOQFOC.
175. Ping Bai S., Dong L., An He Z., Yang L., *Chin. Chem. Lett.*, **15**, 1303 (2004); GAWVAC
176. Doriguetto A. C., Duarte L. P., Ellena J. A., Silva G. D. F., Mascarenhas Y. P., Cota A. B., *Acta Crystallogr.*, **E59**, o164 (2003); refcode: HURZAV.
177. Yan X. Z., Kuo Y. H., Lee T. J., Shih T. S., Chen C. H., McPhail D. R., McPhail A. T., Lee K. H., *Phytochemistry*, **28**, 1541 (1989); refcode: KAZPAC.
178. Diniz R., Vidigal M. C. S., Raslan D. S., Fernandes N. G., *Acta Crystallogr.*, **E62**, o4891 (2006); refcode: KERROP.
179. Pattabhi V., Sukumar N., Sharma O. P., *Acta Crystallogr.*, **C47**, 810 (1991); refcode: KINKIB.
180. Chen W. H., Qi H. Y., Shi Y. P., *J.Nat.Prod.*, **72**, 1410 (2009); refcodes: LUDYEP, LUDYIT.
181. Tolmachev I. A., Shelepen'kina L. N., Shashkov A. S., Grishko V. V., Glushkov V. A., Tolstikov A. G., *Khim.Prir.Soedin(Russ.)(Chem.Nat.Compnd.)*, 127 (2007); refcode: MIRMOQ.
182. Kabaleeswaran V., Rajan S. S., Pattabhi V., Sharma O. P., *Z. Kristallogr.* **211**, 411 (1996); refcode: NAGHEI.
183. Amagaya S., Takai M., Ogihara Y., Iitaka Y., *Acta Crystallogr.*, **B33**, 261 (1977) refcode: PAPYRI10.
184. Novotny J., Podlaha J., Klinot J., *Collect.Czech.Chem.Commun.*, **58**, 2737 (1993); refcode: PIKMAX.
185. Wang K. W., Sun C. R., Cao X. J., Pan Y. J., *Acta Crystallogr.*, **E61**, o2022 (2005); refcode: RAPQOP.

186. Awang K., Yusoff M., Mohamad K., Chong S. L., Ng S. W., *Acta Crystallogr.*, **E65**, o1166 (2009); refcode: SOXHUI.
187. Thompson H. W., Lalancette R. A., Kikolski E. M. *Acta Crystallogr.*, **E62**, o5482 (2006); refcode: TEVYAV.
188. Klinot J., Podlaha J., Podlahova J., Hilgard S., Klinotova E., *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **54**, 737 (1989); refcode: VEPBEX.
189. Kuma (1996). KM-4 User's Guide. Version 8.0.1. Kuma Diffraction, Wrocław, Poland.
190. Oxford Diffraction (2009). CrysAlis PRO. Oxford Diffraction Ltd, Yarnton, England.
191. Bruker, (2009). APEX2 and SAINT. Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA.
192. Sheldrick, G. M. (1997). SHELXS97 and SHELXL97. Release 97-2. University of Göttingen, Germany
193. Farrugia L. J., *J. Appl. Cryst.*, **30**, 565 (1997).
194. Macrae C. F., Bruno I. J., Chisholm J. A., Edgington P. R., McCabe P., Pidcock E., Rodriguez-Monge L., Taylor R., van de Streek J., Wood P. A., *J. Appl. Cryst.*, **41**, 466-470 (2008)