



УДК 547.918:547.914.4.057

СИНТЕЗ И ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ АМИДОВ И КОНЬЮГАТОВ БЕТУЛОНОВОЙ КИСЛОТЫ С АМИНОКИСЛОТАМИ

© 2004 г. О. Б. Флехтер^{*,#}, Е. И. Бореко^{**}, Л. Р. Нигматуллина^{*}, Е. В. Третьякова^{*},
Н. И. Павлова^{**}, Л. А. Балтина^{*}, С. Н. Николаева^{**}, О. В. Савинова^{**},
В. Ф. Еремин^{**}, Ф. З. Галин^{*}, Г. А. Толстикова^{*}

^{*}Институт органической химии УНЦ РАН,
450054, Уфа, просп. Октября, 71;

^{**}Государственное учреждение научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии,
Минск, Беларусь

Поступила в редакцию 09.08.2002 г. Принята к печати 29.09.2002 г.

Амиды бетулоновой кислоты, содержащие остатки алифатических и гетероциклических аминов, а также ее конъюгаты с *L*-аминокислотами синтезированы хлорангидридным методом. Высокими ингибирующими свойствами в отношении вируса гриппа А обладали амид бетулоновой кислоты и пептиды бетулоновой и 3-оксима бетулоновой кислот с *L*-метионином. Активность в отношении вируса герпеса простого типа 1 показал амид бетулоновой кислоты с октадециламином. Пептид 3-оксима бетулоновой кислоты с *L*-метионином был активен также и в отношении ВИЧ-1. Исследованные вещества в основном не подавляли безоболочечный вирус ЕСНО6.

Ключевые слова: амиды; бетулоновая кислота; пептиды, противовирусная активность; лупановые тритерпеноиды.

ВВЕДЕНИЕ

Бетулиновая кислота и ее производные относятся к первой группе тритерпеновых веществ растительного происхождения, перспективных для применения в систематической терапии и профилактике ВИЧ-1-инфекции [1]. Механизм анти-ВИЧ-действия этой группы соединений заключается в ингибировании начальных стадий репродукции вирусов, в частности, слияния [1, 2], что выгодно отличает их от веществ нуклеозидной природы, непосредственно вмешивающихся в репликацию нуклеиновой кислоты вируса. Так, несколько ω -алкиламинопроизводных бетулиновой кислоты проявили анти-ВИЧ-1-активность в клетках МТ-4 и СЕМ-4 при наномолярных концентрациях [3]. Конъюгаты бетулиновой кислоты с аминокислотами были активны в отношении меланомы человека (MEL-2) и фибросаркомы (КВ) [4]. В то же время такого типа производные бетулоновой кислоты в литературе не описаны. Бетулоновая кислота (I) в свою очередь является доступным природным объектом и может быть легко получена из своего биосинтетического предшественника – бетулина [5].

С целью дизайна новых соединений в ряду тритерпеноидов данной группы, обладающих противовирусными свойствами, мы осуществили синтез амидов бетулоновой кислоты хлорангидридным методом (схема 1).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Хлорангидрид бетулоновой кислоты (II) получали ее взаимодействием с оксалилхлоридом в бензоле с выходом 95% и вводили в реакции с алифатическими аминами (гексил-, децил-, гексадецил-, октадецил-, моноэтанол- и дипропиламином) в среде сухого бензола или диоксана. Целевые амиды (III)–(VIII) выделяли с выходами 67–74% после очистки колоночной хроматографией. Гетероциклические амиды (IX)–(XIII), содержащие фрагменты 2-аминопиридина, 3-, 6-, 8-аминохинолинов и имидазола, были получены ацилированием соответствующих аминов хлорангидридом (II) при мольном соотношении 2.6 : 1 в среде сухого хлороформа при комнатной температуре (выход 65–72%).

Строение полученных амидов подтверждено элементным анализом, ИК-, УФ- и ЯМР-спектрами. ИК-спектры всех амидов характеризуются полосами поглощения NH-групп (3035–2900 см⁻¹) и CONH-групп (1560–1520 см⁻¹). Ароматические

[#] Автор для переписки (факс: (3472) 35-60-66; эл. почта: obf@anrb.ru).

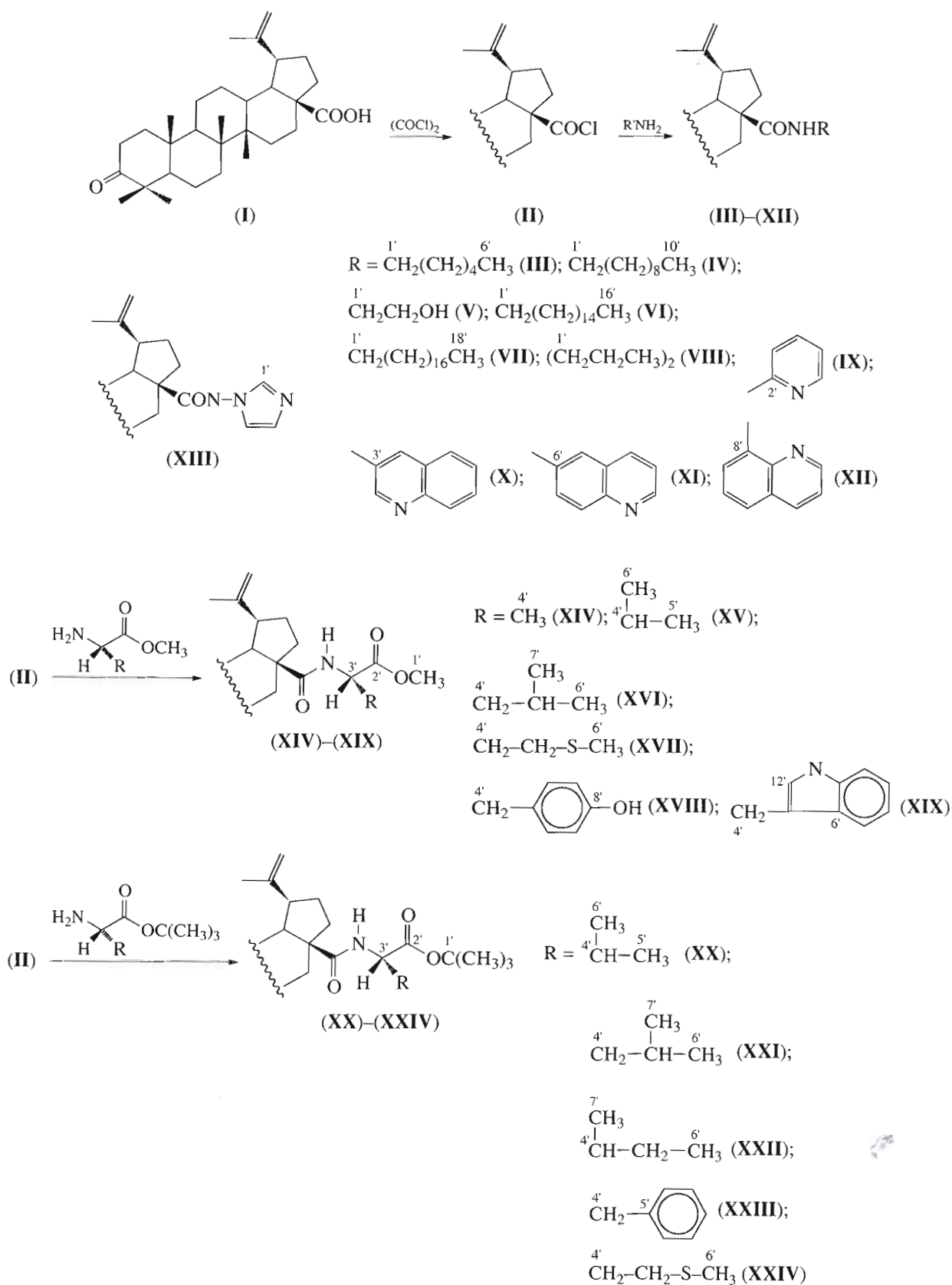
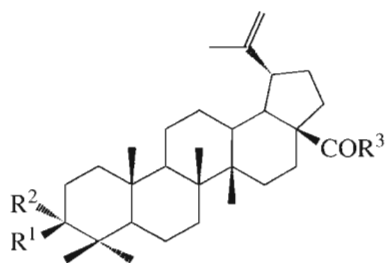


Схема 1.



(XXV) R¹ + R² = NOH, R³ = Cl;

(XXVI) R¹ + R² = O, R³ = NH₂;

(XXVII) R¹ + R² = NOH, R³ = NH₂;

(XXVIII) R¹ + R² = NOH, R³ = $\begin{matrix} 3' \\ \text{NH}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3 \\ | \\ \text{COOCH}_3 \\ 1' \end{matrix}$

(XXIX) R¹ = OH, R² = H, R³ = Cl;

(XXX) R¹ = OH, R² = H, R³ = NH-CH₂-CH₂OH

Схема 2.

хромофорные группы в УФ-спектрах амидов (IX)–(XIII) дают максимумы поглощения при 282–284 или 290–295 нм.

Об образовании амидной связи в соединениях (III)–(XIII) свидетельствовал сильнополюсный сдвиг сигнала атома C28 на 5–6 м. д. и появление сигнала протона CONH-группы в области 5.20–10.20 м. д. [соединения (III)–(VII) и (IX)–(XII)]. Кроме того, в результате введения заместителей в молекулу бетулоновой кислоты появляются интенсивные сигналы ароматических атомов углерода в области 114–148 м. д. [соединения (IX)–(XII)] и ароматических протонов в области 7.00–9.20 м. д.

Далее мы осуществили синтез конъюгатов бетулоновой кислоты с оптически чистыми L-аминокислотами (схема 1). Реакция конденсации хлорангидрида (II) с аминок компонентами (метиловыми и *трет*-бутиловыми эфирами аминокислот) проводилась в среде сухого хлороформа в присутствии триэтиламина; выходы соединений (XIV)–(XXV) достигали 79–89%.

Строение полученных тритерпеновых пептидов было подтверждено спектральными методами. Амидная связь обнаруживается в ИК-спектрах по интенсивным полосам поглощения в области 1560–1520 см⁻¹, сигналу углерода CONH-группы при 175–176 м. д. и сигналу протона амидной группы при 5.20–6.36 м. д. в спектрах ¹H- и ¹³C-ЯМР. Отнесение резонансных сигналов в спектрах ЯМР амидов бетулоновой кислоты было сделано на основании литературных данных для лупановых тритерпеноидов, производных бетулиновой кислоты и эфиров аминокислот [3, 6, 7].

С целью получения некоторых корреляционных зависимостей структура–активность в ряду полученных соединений мы осуществили также синтез амидов бетулоновой и 3-оксима бетулоновой кислот (XXVI) и (XXVII) реакцией соответствующих хлорангидридов (II) и (XXV) с жидким аммиаком в хлороформе с выходом 83–86%, а также производных (XXVIII) и (XXX), являющихся 3-оксим и 3-гидрокси аналогами соединений (XVII) и (V) (схема 2).

При исследовании противовирусных свойств ряда полученных соединений установлено, что высокая активность против вируса гриппа обладает амид бетулоновой кислоты (XXVI), в то время как его 3-оксим (XXVII) практически неактивен (табл. 1). Высокоактивны также конъюгаты бетулоновой кислоты (XVII) и, особенно, 3-оксима бетулоновой кислоты (XXVIII) с L-метионином. В то же время сама бетулоновая кислота (I) проявила только слабую активность и только в максимальной концентрации, которую переносят культуры клеток. Соединения (V), (VII), (XVI) и (XXX) оказались неактивными. Полученные данные свидетельствуют о позитивной роли амидной связи в проявлении противогриппозной активности и о важности ее сочетания с заместителем в положении 3.

В экспериментах с вирусом простого герпеса типа 1 подтверждена выраженная противовирусная активность бетулоновой кислоты (I) [8] и впервые обнаружена активность ее производных – амида (VII) и пептида (XXVIII). Менее активным оказалось соединение (XXX).

Исследованные вещества в основном не обладали противовирусными свойствами в отношении безоболочечного вируса ЕСНО6, слабую активность проявил амид (XXVIII). Наиболее активным в экспериментах с ВИЧ-1 оказался пептид (XXVIII), тогда как соединения (XVII) и (XXX) проявили меньшую активность (табл. 2).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ТСХ-анализ проводили на пластинках Silufol (Chemapol, Чехия), используя систему растворителей хлороформ–метанол, 20 : 1. Вещества обнаруживали 20% раствором фосфорно-вольфрамовой кислоты в этаноле с последующим нагреванием при 100–120°С в течение 2–3 мин.

Спектры ¹³C- и ¹H-ЯМР регистрировали в дейтерохлороформе на спектрометре Bruker AM-300 при 75.5 и 300 МГц соответственно; внутренний стандарт – SiMe₄. ИК-спектры снимали на спектрометрах Specord M80 и UR-20 в пасте с вазелино-

Таблица 1. Противовирусная активность производных бетулоновой кислоты

| Соединение | Вирус гриппа | | Вирус герпеса простого | | Вирус ЕСНО6 | |
|------------|--|----------------------|--|----------------------|--|----------------------|
| | EC ₅₀ (I ₉₅), мкМ | МПК/EC ₅₀ | EC ₅₀ (I ₉₅), мкМ | МПК/EC ₅₀ | EC ₅₀ (I ₉₅), мкМ | МПК/EC ₅₀ |
| (I) | 5.73 (122.2–2.68) | 9.58 | 2.50 (2.76–2.28) | 43.86 | 0.39 (0.56–2.46) | 56.82 |
| (V) | >754.72 | <1 | >377.36 | <1 | >377.36 | <1 |
| (VII) | 55.46 (142.39–21.61) | 4.56 | 1.43 (3.91–0.52) | 176.99 | >126.42 | <1 |
| (XVI) | 72.28 (125.99–41.47) | 1.19 | >1373.15 | <1 | 499.21 (964.62–258.36) | 1.37 |
| (XVII) | >166.49 | >33.3 | >665.96 | <1 | 16.68 (21.43–12.99) | 4.90 |
| (XXVI) | 0.66 (6.30–0.07) | 1333.33 | >220.40 | <1 | >881.62 | <1 |
| (XXVII) | 30.10 (104.22–9.22) | 27.53 | >426.69 | <1 | 12.29 (75.59–2.00) | 8.68 |
| (XXVIII) | 2.30 (2.53–2.09) | 35.21 | 0.60 (0.97–0.37) | 67.57 | н. и. | н. и. |
| (XXX) | >100.03 | <1 | 2.16 (2.38–1.96) | 11.57 | н. и. | н. и. |

Обозначения: н. и. – не исследовали; МПК – максимальная переносимая концентрация; EC₅₀ – среднеэффективная концентрация; I₉₅ – доверительный интервал для 95% вероятности.

вым маслом. УФ-спектры записывали на спектрофотометре Specord M-40. Температуры плавления определяли на микронагревательном столике Voetius. Бетулин выделяли по методике [9], бетулоновую кислоту, ее 3-оксим и бетулиновую кислоту получали согласно методикам [10, 11]. Метилловые эфиры L-аминокислот в виде гидрохлоридов синтезировали как описано в работе [12]. Использовали *трет*-бутиловые эфиры L-аминокислот (гидрохлориды) фирмы Reanal (Венгрия).

Хлорангидриды (II), (XXV), (XXIX). К 1 ммоль бетулоновой кислоты, ее 3-оксима или бетулиновой кислоты в 10 мл безводного бензола при перемешивании прибавляли по каплям 0.3 мл окса-

лилхлорида и перемешивали в атмосфере азота при комнатной температуре в течение 2 ч. Растворитель удаляли в вакууме. Выход 93–95%.

А. Общая методика синтеза амидов (III)–(V).

Хлорангидрид бетулоновой кислоты (II) (1 ммоль, 0.47 г) в 10 мл сухого бензола и 1.6 ммоль амина кипятили 2 ч. Реакционную смесь промывали 15 мл 5% раствора бикарбоната натрия и водой (2 × 10 мл), сушили над MgSO₄ и упаривали в вакууме, остаток хроматографировали на колонке с окисью алюминия, элюируя хлороформом.

3-Оксо-28-гексиламинокарбонил-28-луп-20(29)-ен (III);

белый порошок; выход 0.44 г (71%); R_f 0.52; т. пл. 172–175°C; ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3050–2840, 1744, 1712, 1696, 1652, 1632, 1540, 1470, 1448, 1390, 1356, 1330, 1260, 1230, 1136, 1045, 1008, 968, 912, 888, 824, 760; спектр ¹H-ЯМР (δ , м. д.): 0.87, 0.90, 0.95, 1.00, 1.04 (15 H, с, 5 CH₃), 1.10–2.00 (29 H, м, CH₂, CH), 1.28 (3 H, с, H6'), 1.66 (3 H, с, CH₃), 2.43–2.56 (3 H, м, H13, H16), 3.06–3.18 (1 H, м, H19), 3.22–3.32 (2 H, м, H1'), 4.57 и 4.72 (два уш. с по 1 H, H29), 5.62–5.70 (1 H, м, CONH); спектр ¹³C-ЯМР (δ , м. д.): 14.0 (C6'), 14.5, 15.9, 15.9, 19.5, 19.6, 21.0, 21.4, 22.6 (C5'), 25.6, 26.5, 26.6 (C2'), 29.4 (C3'), 29.8, 30.8, 31.5 (C4'), 33.7, 33.8, 34.1, 36.9, 37.7, 38.4, 39.2 (C1'), 39.6, 40.6, 42.5, 46.7, 47.3, 50.0, 50.1, 55.0, 55.5, 109.3 (C29), 150.9 (C20), 175.9 (CONH), 218.2

Таблица 2. Противовирусные свойства производных бетулоновой кислоты в отношении ВИЧ-1

| Соединение | EC ₅₀ (I ₉₅), мкМ | МПК/EC ₅₀ |
|------------|--|----------------------|
| (XVII) | 60.25 (76.13–47.70) | 27.63 |
| (XXVIII) | 0.013 (0.02–0.006) | 70 |
| (XXX) | 0.26 (0.50–0.14) | 18.46 |

Обозначения см. табл. 1.

(С3). Найдено, %: С 79.83, Н 11.59, N 2.42. $C_{36}H_{59}O_2N$. Вычислено, %: С 80.22, Н 11.24, N 2.60.

3-Оксо-28-дециламинокарбонил-28-луп-20(29)-ен (IV); белый порошок; выход 0.43 г (72%); R_f 0.53; т. пл. 189–191°C; ИК-спектр (ν , cm^{-1}): 3030–2840, 1750, 1716, 1696, 1680, 1652, 1540, 1470, 1450, 1390, 1358, 1335, 1270, 1232, 1136, 1040, 1008, 968, 920, 888, 824, 760; спектр 1H -ЯМР (δ , м.д.): 0.80, 0.84, 0.90, 0.93, 0.98 (15 Н, 5 с, 5 CH_3), 1.00–2.00 (37 Н, м, CH_2 , СН), 1.18 (3 Н, с, H_{10}'), 1.60 (3 Н, с, CH_3), 2.25–2.50 (3 Н, м, H_{13} , H_{16}), 3.07 (1 Н, дт, J 11.0 и 4.0 Гц, H_{19}), 3.15–3.31 (2 Н, м, H_{11}'), 4.50 и 4.65 (два уш. с по 1 Н, H_{29}), 5.82 (1 Н, уш. с, CONH); спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м.д.): 14.0 (C_{10}'), 14.4, 15.8, 15.8, 19.4, 19.5, 20.8, 21.3, 22.5 (C_9'), 25.5, 26.5, 26.9 (C_2'), 29.2 (C_6'), 29.5 (C_3' , C_4' , C_5' , C_7'), 29.7, 30.7, 31.7 (C_8'), 33.6, 33.6, 34.0, 36.7, 37.6, 38.3, 39.0 (C_1'), 39.5, 40.5, 42.3, 46.5, 47.1, 49.8, 49.9, 54.8, 55.3, 109.2 (C_{29}), 150.8 (C_{20}), 175.8 (CONH), 217.9 (С3). Найдено, %: С 80.45, Н 11.67, N 2.21. $C_{40}H_{67}O_2N$. Вычислено, %: С 80.73, Н 11.54, N 2.35.

3-Оксо-28-(2-этаноламино)карбонил-28-луп-20(29)-ен (V); белый порошок; выход 0.37 г (74%); R_f 0.29; т. пл. 223–225°C; ИК-спектр (ν , cm^{-1}): 3040–2840, 1700, 1664, 1616, 1528, 1480, 1448, 1360, 1320, 1256, 1232, 1192, 1040, 1008, 968, 916, 896, 832, 732; спектр 1H -ЯМР (δ , м.д.): 0.83, 0.89, 0.92, 0.94, 0.97 (15 Н, 5 с, 5 CH_3), 1.00–2.00 (21 Н, м, CH_2 , СН), 1.59 (3 Н, с, CH_3), 2.23–2.47 (3 Н, м, H_{13} , H_{16}), 3.02 (1 Н, дт, J 11.3 и 4.3 Гц, H_{19}), 3.15 (1 Н, уш. с, OH), 3.30 (1 Н, дт, J 12, 5.8 и 4.4 Гц, $H_{1'a}$), 3.40 (1 Н, дт, J 12 и 5.9, 4.4 Гц, $H_{1'b}$), 3.62 (2 Н, т, J 5.8 и 5.9 Гц, H_2'), 4.50 и 4.64 (два уш. с по 1 Н, H_{29}), 6.14 (1 Н, т, J 4.4 Гц, CONH); спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м.д.): 14.5, 15.8, 15.9, 19.4, 19.6, 21.0, 21.4, 25.6, 26.5, 29.4, 30.8, 33.0, 33.6, 34.1, 36.8, 37.7, 38.3, 39.6, 40.6, 42.2, 42.5 (C_1'), 46.6, 47.3, 49.9, 50.0, 54.9, 55.6, 62.9 (C_2'), 109.4 (C_{29}), 150.7 (C_{20}), 177.8 (–CONH–), 218.2 (С3). Найдено, %: С 76.74, Н 10.97, N 2.52. $C_{32}H_{51}O_3N$. Вычислено, %: С 77.04, Н 10.53, N 2.81.

Синтез и очистку амидов (VI) и (VII) осуществляли как описано в методике А. Реакцию проводили в 10 мл сухого диоксана, после охлаждения смесь выливали в 30 мл 5% водного раствора соляной кислоты, осадок фильтровали и промывали водой до нейтральной реакции.

3-Оксо-28-гексадециламинокарбонил-28-луп-20(29)-ен (VI); аморфный желтый порошок; выход 0.47 г (69%); R_f 0.53; ИК-спектр (ν , cm^{-1}): 3030–2850, 1742, 1714, 1694, 1680, 1652, 1502, 1470, 1450, 1388, 1320, 1265, 1234, 1165, 1136, 1040, 1008, 968, 920, 888, 824, 760; спектр 1H -ЯМР (δ , м.д.): 0.83, 0.86, 0.88, 0.92, 0.97 (15 Н, 5 с, 5 CH_3), 1.10–2.00 (49 Н, м, CH_2 , СН), 1.16 (3 Н, с, H_{16}'), 1.59 (3 Н, с, CH_3), 2.28–2.49 (3 Н, м, H_{13} , H_{16}), 3.01–3.11 (1 Н, м, H_{19}), 3.16–3.27 (2 Н, м, H_{11}'), 4.50 и 4.64 (два уш. с по 1 Н, H_{29}), 5.58 (1 Н, уш. с, CONH); спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м.д.): 14.1 (C_{16}'), 14.5, 15.8, 15.9, 19.5,

19.6, 21.0, 21.4, 22.6 (C_{15}'), 25.6, 26.5, 27.0 (C_2'), 29.3 (C_{13}'), 29.6 (C_3' – C_{12}'), 29.8, 30.8, 31.9 (C_{14}'), 33.8, 33.8, 34.1, 36.9, 37.6, 38.3, 39.1 (C_1'), 39.6, 40.6, 42.5, 46.6, 47.2, 50.0, 50.1, 55.0, 56.4, 109.3 (C_{29}), 150.9 (C_{20}), 175.8 (CONH), 218.0 (С3). Найдено, %: С 81.69, Н 12.30, N 2.24. $C_{46}H_{79}O_2N$. Вычислено, %: С 81.33, Н 11.90, N 2.06.

3-Оксо-28-октадециламинокарбонил-28-луп-20(29)-ен (VII); желтый порошок; выход 0.47 г (67%); R_f 0.57; т. пл. 165–167°C; ИК-спектр (ν , cm^{-1}): 3035–2840, 1741, 1716, 1696, 1680, 1662, 1632, 1502, 1474, 1450, 1386, 1316, 1255, 1240, 1221, 1160, 1136, 1040, 1008, 986, 930, 888, 824, 760; спектр 1H -ЯМР (δ , м.д.): 0.83, 0.84, 0.88, 0.94, 0.98 (15 Н, 5 с, 5 CH_3), 1.20–2.00 (53 Н, м, CH_2 , СН), 1.22 (3 Н, с, H_{18}'), 1.64 (3 Н, с, CH_3), 2.27–2.55 (3 Н, м, H_{13} , H_{16}), 3.11 (1 Н, дт, J 11.0 и 4.0 Гц, H_{19}), 3.21–3.36 (2 Н, м, H_{11}'), 4.55 и 4.70 (два уш. с по 1 Н, H_{29}), 5.87 (1 Н, уш. с, CONH); спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м.д.): 14.0 (C_{18}'), 14.4, 15.7, 15.8, 19.4, 19.5, 20.9, 21.3, 22.5 (C_{17}'), 25.5, 26.5, 26.9 (C_2'), 29.2 (C_{15}'), 29.5 (C_3' – C_{14}'), 29.7, 30.7, 31.7 (C_{16}'), 33.6, 33.6, 34.0, 36.7, 37.6, 38.3, 39.0 (C_1'), 39.5, 40.5, 42.3, 46.5, 47.1, 49.9, 50.0, 54.9, 55.4, 109.2 (C_{29}), 150.7 (C_{20}), 175.8 (–CONH–), 217.7 (С3). Найдено, %: С 80.92, Н 11.76, N 1.86. $C_{48}H_{83}O_2N$. Вычислено, %: С 81.50, Н 12.00, N 1.98.

3-Оксо-28-дипропиламинокарбонил-28-луп-20(29)-ен (VIII); белый порошок; выход 0.38 г (71%); R_f 0.54; т. пл. 208–211°C; ИК-спектр (ν , cm^{-1}): 3030–2850, 1804, 1744, 1716, 1700, 1636, 1517, 1472, 1448, 1388, 1352, 1323, 1256, 1220, 1130, 1096, 1040, 1008, 980, 968, 920, 888, 824, 760; спектр 1H -ЯМР (δ , м.д.): 0.90, 0.93, 0.94, 0.98, 0.99, 1.02, 1.07 (21 Н, 7 с, 7 CH_3), 1.10–1.80 (25 Н, м, CH_2 , СН), 1.70 (3 Н, с, CH_3), 2.43–2.57 (3 Н, м, H_{13} , H_{16}), 2.90–3.08 (1 Н, м, H_{19}), 4.57–4.65 и 4.70–4.78 (3 Н, два м, H_{29} , H_{11}'); спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м.д.): 11.3 и 11.3 (C_3'), 14.6, 15.8, 15.9, 19.4, 19.6, 21.0, 21.1 и 21.1 (C_2'), 21.3, 25.5, 26.5, 29.8, 30.3, 33.6, 33.6, 34.1, 36.2, 36.9, 38.3, 39.6, 40.7, 42.5, 45.7 и 49.1 (C_1'), 46.6, 47.3, 49.9, 50.2, 55.0, 57.9, 109.9 (C_{29}), 149.9 (C_{20}), 174.9 (CONH), 217.9 (С3). Найдено, %: С 80.78, Н 11.55, N 2.41. $C_{36}H_{59}O_2N$. Вычислено, %: С 80.22, Н 11.24, N 2.60.

Б. Общая методика синтеза амидов (IX)–(XIII). К раствору 1 ммоль (0.47 г) хлорангирида бетулоновой кислоты (II) в 5 мл сухого хлороформа прибавляли 1.3 ммоль амина, смесь перемешивали 8 ч при 20–22°C и упаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на колонке с окисью алюминия, элюируя хлороформом и смесями хлороформ–метанол 50 : 1, 25 : 1 и 10 : 1. Однородные по ТСХ вещества выделяли при элюировании системой хлороформ–метанол 25 : 1.

3-Оксо-28-(2-пиридиламино)карбонил-28-луп-20(29)-ен (IX); белый порошок; выход 0.37 г (70%); R_f 0.33; т. пл. 176–178°C; УФ-спектр

(MeOH–CHCl₃): λ_{\max} 292 нм (lg ϵ 4.34); ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3025–2860, 1800, 1740, 1712, 1694, 1665, 1626, 1590, 1521, 1472, 1390, 1318, 1262, 1224, 1170, 1136, 1008, 967, 910, 832, 807, 750; спектр ¹H-ЯМР (δ , м. д.): 0.89, 0.94, 0.97, 0.97, 1.03 (15 H, 5 с, 5 CH₃), 1.10–2.00 (21 H, м, CH₂, CH), 1.67 (3 H, с, CH₃), 2.31–2.69 (3 H, м, H13, H16), 3.07–3.18 (1 H, м, H19), 4.59 и 4.74 (два уш. с по 1 H, H29), 7.00 (1 H, т, J 8.2 Гц, H3'), 7.67 (1 H, т, J 8.2 Гц, H4'), 8.17 (1 H, д, J 8.2 Гц, H2'), 8.22 (1 H, уш. с, CONH), 8.28 (1 H, д, J 8.2 Гц, H5'); спектр ¹³C-ЯМР (δ , м. д.): 14.5, 15.9, 15.9, 19.4, 19.6, 21.0, 21.4, 25.5, 26.5, 29.5, 30.6, 33.3, 33.6, 34.1, 36.9, 37.8, 38.4, 39.6, 40.6, 42.5, 46.3, 47.3, 49.9, 50.0, 54.9, 56.7, 109.6 (C29), 114.0, 119.4, 138.3, 147.6, 150.5 (C20), 151.9, 175.1 (CONH), 218.0 (C3). Найдено, %: С 78.84, Н 9.87, N 5.11. C₃₅H₅₀O₂N₂. Вычислено, %: С 79.03, Н 9.69, N 5.26.

3-Оксо-28-(3-хинолиламино)карбонил-28-луп-20(29)-ен (X); желтый порошок; выход 0.40 г (68%); R_f 0.37; т. пл. 173–175°C; УФ-спектр (MeOH–CHCl₃), λ_{\max} 280 нм (lg ϵ 4.07); ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3040–2870, 1750, 1694, 1664, 1625, 1526, 1472, 1448, 1390, 1356, 1310, 1262, 1226, 1207, 1170, 1138, 1046, 1016, 992, 956, 903, 807, 772; спектр ¹H-ЯМР (δ , м. д.): 0.94, 1.00, 1.01, 1.05, 1.07 (15 H, 5 с, 5 CH₃), 1.20–1.90 (21 H, м, CH₂, CH), 1.74 (3 H, с, CH₃), 2.14–2.27 (3 H, м, H13, H16), 3.15–3.24 (1 H, м, H19), 4.65 и 4.80 (два уш. с по 1 H, H29), 7.51 (1 H, т, J 8 Гц, H6'), 7.60 (1 H, т, J 8 Гц, H5'), 7.77 (1 H, д, J 8 Гц, H7'), 7.90 (1 H, уш. с, CONH), 8.02 (1 H, д, J 8 Гц, H4'), 8.70 (1 H, д, J 2.4 Гц, H9'), 8.80 (1 H, д, J 2.4 Гц, H2'); спектр ¹³C-ЯМР (δ , м. д.): 14.7, 16.0, 16.1, 19.6, 19.7, 21.1, 21.6, 25.7, 26.6, 29.8, 30.9, 33.8, 33.9, 34.2, 37.0, 37.8, 38.2, 39.7, 40.8, 42.7, 46.6, 47.4, 50.1, 50.4, 55.2, 57.0, 109.9 (C29), 124.5, 127.6, 127.8, 128.5, 128.5, 128.6, 132.1, 143.7, 144.5, 150.5 (C20), 175.5 (–CONH–), 218.2 (C3). Найдено, %: С 80.32, Н 9.00, N 4.93. C₃₉H₅₂O₂N₂. Вычислено, %: С 80.49, Н 9.20, N 4.81.

3-Оксо-28-(6-хинолиламино)карбонил-28-луп-20(29)-ен (XI); белый порошок; выход 0.38 г (65%); R_f 0.53; т. пл. 288–290°C; УФ-спектр (MeOH–CHCl₃): λ_{\max} 284 нм (lg ϵ 4.12); ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3010–2860, 1750, 1700, 1625, 1522, 1476, 1448, 1390, 1356, 1320, 1262, 1228, 1204, 1176, 1133, 1050, 1012, 992, 902, 809, 772, 750; спектр ¹H-ЯМР (δ , м. д.): 0.92, 0.98, 1.00, 1.02, 1.06 (15 H, 5 с, 5 CH₃), 1.10–2.00 (21 H, м, CH₂, CH), 1.82 (3 H, с, CH₃), 2.34–2.55 (3 H, м, H13, H16), 2.67 (1 H, дт, J 3.6 и 11.5 Гц, H19), 4.64 и 4.78 (два уш. с по 1 H, H29), 7.65 (1 H, д, J 7.4 Гц, H7'), 7.72 (1 H, т, J 7.1 Гц, H3'), 7.90 (1 H, д, J 8 Гц, H4'), 8.22 (1 H, д, J 8 Гц, H8'), 9.02 (1 H, д, J 7.1 Гц, H2'), 9.20 (1 H, с, H5'), 9.33 (1 H, уш. с, CONH); спектр ¹³C-ЯМР (δ , м. д.): 14.6, 16.0, 16.0, 19.6, 19.7, 21.1, 21.5, 25.7,

26.6, 29.7, 30.8, 33.7, 33.9, 34.2, 37.0, 37.7, 38.1, 39.7, 40.7, 42.7, 46.5, 47.4, 50.1, 50.3, 55.1, 56.9, 109.8 (C29), 124.1, 127.2, 127.7, 128.2, 128.4, 128.9, 132.0, 144.3, 145.0, 150.5 (C20), 175.5 (CONH), 218.3 (C3). Найдено, %: С 80.27, Н 9.46, N 4.72. C₃₉H₅₂O₂N₂. Вычислено, %: С 80.49, Н 9.20, N 4.81.

3-Оксо-28-(8-хинолиламино)карбонил-28-луп-20(29)-ен (XII); белый порошок; выход 0.42 г (72%); R_f 0.72; т. пл. 138–141°C; УФ-спектр (MeOH–CHCl₃): λ_{\max} 295 нм (lg ϵ 4.44); ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3030–2850, 1740, 1715, 1696, 1664, 1615, 1543, 1472, 1448, 1395, 1341, 1270, 1180, 1158, 1102, 1006, 992, 936, 907, 847, 818, 790, 770; спектр ¹H-ЯМР (δ , м. д.): 0.92, 0.97, 1.00, 1.05, 1.06 (15 H, 5 с, 5 CH₃), 1.10–2.00 (21 H, м, CH₂, CH), 1.75 (3 H, с, CH₃), 2.35–2.50 (3 H, м, H13, H16), 3.25 (1 H, дт, J 5.9 и 10.6 Гц, H19), 4.65 и 4.81 (два уш. с по 1 H, H29), 7.42–7.58 (3 H, м, H4', H7', H8'), 8.15 (1 H, дд, J 8.2 и 1.5 Гц, H3'), 8.77 (1 H, дд, J 7.5 и 1.5 Гц, H5'), 8.85 (1 H, дд, J 4.2, 1.5 Гц, H9'), 10.20 (1 H, уш. с, CONH); спектр ¹³C-ЯМР (δ , м. д.): 14.5, 15.8, 15.9, 19.5, 19.6, 20.9, 21.4, 25.7, 26.5, 29.6, 30.8, 33.6, 33.9, 34.1, 36.9, 37.7, 38.4, 39.6, 40.7, 42.6, 46.6, 47.2, 50.0, 50.1, 55.0, 57.3, 109.4 (C29), 116.0, 120.8, 121.4, 127.4, 127.9, 134.9, 136.2, 138.6, 148.1, 150.8 (C20), 175.0 (CONH), 218.0 (C3). Найдено, %: С 80.55, Н 9.34, N 4.65. C₃₉H₅₂O₂N₂. Вычислено, %: С 80.49, Н 9.20, N 4.81.

3-Оксо-28-(1-имидазолиламино)карбонил-28-луп-20(29)-ен (XIII). Суспензию 0.47 г (1 ммоль) хлорангидрида бетулоновой кислоты (II) и 0.09 г имидазола в 50 мл сухого бензола перемешивали при комнатной температуре в течение 15 ч. Выпавший гидрохлорид имидазола отфильтровывали, фильтрат упаривали в вакууме, и остаток хроматографировали на колонке с окисью алюминия, элюируя хлороформом. Выход 0.35 г (72%) в виде белого порошка; R_f 0.31; т. пл. 144–147°C; УФ-спектр (MeOH–CHCl₃): λ_{\max} 290 нм (lg ϵ 4.38); ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3020–2840, 1740, 1712, 1696, 1664, 1632, 1522, 1470, 1448, 1380, 1335, 1278, 1240, 1212, 1136, 1087, 1040, 1008, 968, 930, 900, 888, 824, 760; спектр ¹H-ЯМР (δ , м. д.): 0.90, 0.92, 0.95, 0.97, 1.01 (15 H, 5 с, 5 CH₃), 1.10–1.90 (21 H, м, CH₂, CH), 1.72 (3 H, с, CH₃), 2.23–2.52 (3 H, м, H13, H16), 2.93 (1 H, дт, J 4.7 и 11.0 Гц, H19), 4.54 и 4.73 (два уш. с по 1 H, H29), 7.01 (1 H, с, H1'), 7.50 (1 H, с, H3'). 8.25 (1 H, с, H2'); спектр ¹³C-ЯМР (δ , м. д.): 14.5, 15.6, 15.9, 19.3, 19.5, 20.9, 21.4, 25.4, 26.5, 29.6, 30.5, 33.0, 33.4, 34.0, 36.8, 36.9, 37.2, 39.5, 40.5, 42.1, 45.1, 47.2, 49.9, 51.3, 54.8, 57.5, 110.1 (C29), 117.5 (C3'), 129.4 (C2'), 137.1 (C1'), 149.6 (C20), 172.8 (CON), 217.7 (C3). Найдено, %: С 76.98, Н 10.12, N 5.75. C₃₃H₄₈O₂N₂. Вычислено, %: С 77.26, Н 10.28, N 5.80.

В. Общая методика получения конъюгатов бетулоновой кислоты (XIV)–(XXIV). К суспензии 1.3 ммоль гидрохлорида метилового или трет-

бутилового эфира аминокислоты в 5 мл сухого хлороформа при перемешивании приливали по каплям 0.23 мл триэтиламина, прибавляли раствор 1 ммоль (0.47 г) хлорангидрида бетулоновой кислоты (II) в 5 мл хлороформа и кипятили 1 ч. Реакционную смесь оставляли на ночь, фильтрат промывали 10 мл 10% соляной кислоты, водой (2 × 10 мл), сушили над MgSO₄, упаривали в вакууме, и остаток очищали как описано в методике А.

3-Оксо-28-(O'-метил-L-аланино)карбонил-28-луп-20(29)-ен (XIV); белый порошок; выход 0.43 г (79%); R_f 0.69; т. пл. 225–226°C; ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3065–2860, 1712, 1696, 1632, 1512, 1444, 1368, 1320, 1260, 1224, 1144, 1008, 976, 920, 888, 824, 760; спектр ¹H-ЯМР (δ , м. д.): 0.91, 0.94, 0.96, 1.01, 1.05 (15 H, 5 с, 5 CH₃), 1.20–2.00 (21 H, м, CH₂, CH), 1.40 (3 H, с, H^{4'}), 1.67 (3 H, с, CH₃), 2.38–2.49 (3 H, м, H13, H16), 2.94–3.07 (1 H, м, H19), 3.66 (3 H, с, H1'), 4.09–4.19 (1 H, м, H3'), 4.59 и 4.73 (два уш. с по 1 H, H29), 5.15–5.20 (1 H, м, CONH); спектр ¹³C-ЯМР (δ , м. д.): 14.3 (C^{4'}), 14.6, 15.7, 15.9, 19.3, 19.6, 21.0, 21.4, 25.5, 26.6, 29.6, 30.6, 32.0, 33.6, 34.1, 36.9, 37.7, 38.3, 39.6, 40.6, 42.4, 46.9, 47.3, 49.3, 49.9, 51.2 (C1'), 54.9, 56.5, 59.7 (C3'), 109.6 (C29), 150.4 (C20), 172.3 (C2'), 176.6 (CONH), 218.1 (C3). Найдено, %: C 75.66, H 10.36, N 2.78. C₃₄H₅₃O₄N. Вычислено, %: C 75.48, H 10.09, N 2.59.

3-Оксо-28-(O'-метил-L-валино)карбонил-28-луп-20(29)-ен (XV); желтый порошок; выход 0.47 г (83%); R_f 0.73; т. пл. 193–194°C; ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3035–2860, 1741, 1712, 1690, 1672, 1632, 1523, 1474, 1450, 1386, 1312, 1255, 1221, 1160, 1046, 1008, 985, 920, 888, 824, 760; спектр ¹H-ЯМР (δ , м. д.): 0.88, 0.91, 0.94, 0.95, 0.97, 1.00, 1.05 (21 H, 7 с, 7 CH₃), 1.10–2.00 (23 H, м, CH₂, CH), 1.66 (3 H, с, CH₃), 2.45–2.55 (3 H, м, H13, H16), 3.10 (1 H, дт, J 11.0 и 4.1 Гц, H19), 3.73 (3 H, с, H1'), 4.52–4.56 (1 H, м, H3'), 4.58 и 4.72 (по 1 H, два д, J 1.6 Гц, H29), 6.06 (1 H, д, J 8.3 Гц, CONH); спектр ¹³C-ЯМР (δ , м. д.): 14.6, 16.0, 16.0, 17.9 (C5'), 19.2 (C6'), 19.5, 19.7, 21.0, 21.5, 25.7, 26.7, 29.5, 30.8, 31.3 (C4'), 33.8, 33.9, 34.1, 37.0, 37.9, 38.1, 39.7, 40.8, 42.6, 46.6, 47.3, 50.0, 50.1, 52.1 (C1'), 55.0, 56.0 (C3'), 56.7, 109.4 (C29), 150.8 (C20), 172.9 (C2'), 176.1 (CONH), 218.0 (C3). Найдено, %: C 75.64, H 10.01, N 2.20. C₃₆H₅₈O₄N. Вычислено, %: C 75.98, H 10.30, N 2.46.

3-Оксо-28-(O'-метил-L-лейцино)карбонил-28-луп-20(29)-ен (XVI); белый порошок; выход 0.51 г (88%); R_f 0.74; т. пл. 200–205°C; ИК-спектр (ν , см⁻¹): 2960–2840, 1744, 1716, 1696, 1672, 1648, 1632, 1512, 1480, 1452, 1364, 1325, 1256, 1236, 1184, 1136, 1044, 1008, 976, 920, 888, 824, 760; спектр ¹H-ЯМР (δ , м. д.): 0.88, 0.89, 0.91, 0.92, 0.94, 1.00, 1.03 (21 H, 7 с, 7 CH₃), 1.10–2.00 (24 H, м, CH₂, CH), 1.64 (3 H, с, CH₃), 2.35–2.52 (3 H, м, H13, H16), 3.04–3.15 (1 H, м, H19), 3.69 (3 H, с, H1'), 4.52–4.65 (2 H, м, H29, H3'), 4.69 (1 H, уш. с, H29), 5.95 (1 H, д, J 8.4 Гц, CONH); спектр ¹³C-ЯМР (δ , м. д.): 14.5, 15.7, 15.8,

15.9, 19.4, 19.5, 20.9, 21.5, 22.9 (C6'), 24.9 (C7'), 25.5, 26.4 (C5'), 26.5, 29.3, 30.7, 33.5, 33.6, 34.0, 36.8, 37.6, 39.5, 40.6, 41.3 (C4'), 42.4, 46.4, 47.2, 49.8, 49.9, 52.1 (C1'), 54.8, 55.6 (C3'), 57.8, 109.2 (C29), 150.7 (C20), 173.8 (C2'), 175.9 (CONH), 218.0 (C3). Найдено, %: C 76.49, H 10.02, N 2.54. C₃₇H₅₉O₄N. Вычислено, %: C 76.21, H 10.40, N 2.40.

3-Оксо-28-(O'-метил-L-метиовино)карбонил-28-луп-20(29)-ен (XVII); аморфный порошок; выход 0.55 г (91%); R_f 0.75; ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3040–2840, 1724, 1704, 1688, 1672, 1652, 1633, 1504, 1472, 1448, 1364, 1312, 1256, 1236, 1184, 1135, 1112, 1040, 1004, 976, 940, 888, 828, 760; спектр ¹H-ЯМР (δ , м. д.): 0.80, 0.85, 0.91, 0.94, 0.99 (15 H, 5 с, 5 CH₃), 1.10–2.00 (25 H, м, CH₂, CH), 1.60 (3 H, с, CH₃), 2.04 (3 H, уш. с, H6'), 2.27–2.40 (3 H, м, H13, H16), 2.95–3.08 (1 H, м, H19), 3.68 (3 H, с, H1'), 4.51 (1 H, уш. с, H29), 4.57–4.66 (2 H, м, H29, H3'), 6.36 (1 H, д, J 7.7 Гц, CONH); спектр ¹³C-ЯМР (δ , м. д.): 14.3, 15.2 (C6'), 15.7, 15.7, 19.3, 19.4, 20.8, 21.3, 25.4, 26.4, 29.3, 30.1 (C4'), 30.5, 31.3 (C5'), 33.3, 33.5, 33.9, 36.7, 37.5, 37.8, 39.4, 40.5, 42.3, 46.2, 47.0, 49.7, 49.8, 51.0 (C3'), 52.1 (C1'), 54.7, 55.5, 109.1 (C29), 150.5 (C20), 172.5 (C2'), 176.0 (CONH), 217.7 (C3). Найдено, %: C 71.51, H 9.80, N 2.12, S 5.08. C₃₆H₅₇O₄NS. Вычислено, %: C 71.92, H 9.75, N 2.33, S 5.34.

3-Оксо-28-(O'-метил-L-тирозино)карбонил-28-луп-20(29)-ен (XVIII); белый порошок; выход 0.35 г (56%); R_f 0.81; т. пл. 182–185°C; УФ-спектр (MeOH–CHCl₃): λ_{\max} 292 нм (lg ϵ 3.97); ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3040–2850, 1750, 1716, 1696, 1672, 1652, 1534, 1470, 1448, 1390, 1256, 1240, 1136, 1112, 1040, 1008, 968, 920, 888, 824, 760; спектр ¹H-ЯМР (δ , м. д.): 0.85, 0.89, 0.92, 1.01, 1.06 (15 H, 5 с, 5 CH₃), 1.10–2.00 (21 H, м, CH₂, CH), 1.64 (3 H, с, CH₃), 2.40–2.57 (3 H, м, H13, H16), 2.90–3.12 (3 H, м, H19, H4'), 3.70 (3 H, с, H1'), 4.56 (1 H, уш. с, H29), 4.65–4.80 (2 H, м, H29, H3'), 6.03 (1 H, т, J 6.0 Гц, CONH), 6.78 (2 H, д, J 8.3 Гц, H6', H10'), 6.98 (2 H, д, J 8.3 Гц, H7', H9'), 7.35 (1 H, с, OH); спектр ¹³C-ЯМР (δ , м. д.): 14.4, 15.7, 15.8, 19.3, 19.5, 20.9, 21.3, 25.4, 26.6, 29.1, 30.6, 33.4, 33.4, 34.0, 36.8, 37.0, 37.6, 37.9 (C4'), 39.5, 40.5, 42.4, 46.4, 47.2, 49.7, 49.8, 52.2 (C1'), 54.9, 55.6 (C3'), 56.2, 109.4 (C29), 115.6, 115.6, 128.2, 128.2, 129.9, 150.4, 150.6 (C20), 172.6 (C2'), 176.1 (CONH), 218.9 (C3). Найдено, %: C 75.34, H 9.05, N 1.97. C₄₀H₅₇O₅N. Вычислено, %: C 75.88, H 9.26, N 2.21.

3-Оксо-28-(O'-метил-L-триптофано)карбонил-28-луп-20(29)-ен (XIX); белый порошок; выход 0.39 г (59%); R_f 0.78; т. пл. 216–218°C; УФ-спектр (MeOH–CHCl₃): λ_{\max} 296 нм (lg ϵ 4.22); ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3040–2860, 1744, 1708, 1690, 1672, 1652, 1534, 1472, 1448, 1390, 1335, 1266, 1240, 1136, 1040, 1008, 968, 920, 888, 824, 760; спектр ¹H-ЯМР (δ , м. д.): 0.79, 0.88, 0.93, 0.94, 0.98 (15 H, 5 с, 5 CH₃), 1.00–2.00 (21 H, м, CH₂, CH), 1.55 (3 H, с, CH₃),

2.37–2.49 (3 Н, м, Н13, Н16), 2.94 (1 Н, дт, J 3.7 и 11.0 Гц, Н19), 3.12 (1 Н, дд, J 11.2 и 7.5 Гц, Н4а'), 3.22 (1 Н, дд, J 11.2 и 7.5 Гц, Н4б'), 3.61 (3 Н, с, Н1'), 4.47 и 4.59 (два уш. с по 1 Н, Н29), 4.79 (1 Н, кв, J 7.5 и 7.6 Гц, Н3'), 5.90 (1 Н, д, J 7.6 Гц, CONH), 6.95 (1 Н, д, J 2 Гц, Н12'), 7.01–7.19 (2 Н, м, Н8', Н9'), 7.28 (1 Н, дд, J 2 и 5.5 Гц, Н10'), 7.49 (1 Н, д, J 7.7 Гц, Н7'), 8.28 (1 Н, уш. с, NH); спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м. д.): 14.5, 15.7, 16.0, 19.5, 19.6, 21.1, 21.5, 25.6, 26.7, 27.6 (C4'), 29.2, 30.8, 33.5, 33.5, 34.2, 36.9, 37.7, 37.9, 39.7, 40.6, 42.4, 46.6, 47.4, 49.9, 50.4, 52.3 (C1'), 52.5 (C3'), 55.1, 55.7, 109.4 (C29), 111.4, 118.5, 119.8, 122.4, 122.6, 125.4, 129.1, 136.3, 150.9 (C20), 173.0 (C2'), 176.1 (CONH), 218.3 (C3). Найдено, %: С 76.50, Н 9.42, N 4.05. $\text{C}_{42}\text{H}_{58}\text{O}_4\text{N}_2$. Вычислено, %: С 76.89, Н 9.08, N 4.27.

3-Оксо-28-(*O'*-трет-бутил-*L*-валино)карбонил-28-луп-20(29)-ен (XX); белый порошок; выход 0.52 г (85%); R_f 0.84; т. пл. 184–186°C; ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3060–2850, 1744, 1716, 1696, 1672, 1664, 1564, 1470, 1448, 1390, 1256, 1240, 1136, 1040, 1008, 968, 920, 888, 824, 760; спектр ^1H -ЯМР (δ , м. д.): 0.78, 0.79, 0.83, 0.84, 0.86, 0.87, 0.93 (21 Н, 7 с, 7 CH_3), 1.10–2.00 (22 Н, м, CH_2 , CH), 1.34 [9 Н, с, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1.55 (3 Н, с, CH_3), 2.30–2.44 (3 Н, м, Н13, Н16), 2.96–3.06 (1 Н, м, Н19), 4.29 (1 Н, дд, J 4.0, 8.1 Гц, Н1'), 4.45 и 4.60 (два уш. с по 1 Н, Н29), 6.02 (1 Н, д, J 8.2 Гц, CONH); спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м. д.): 14.4, 15.7, 15.7, 17.6 (C5'), 18.9 (C6'), 19.3, 19.4, 20.7, 21.3, 25.5, 26.5, 27.8, 27.8, 27.8 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 29.3, 30.6, 31.1 (C4'), 33.5, 33.6, 33.8, 36.7, 37.6, 37.8, 39.4, 40.5, 42.3, 46.4, 47.0, 49.7, 49.8, 54.7, 55.7 (C3'), 56.8, 81.5 (C1'), 109.2 (C29), 150.5 (C20), 171.2 (C2'), 175.6 (CONH), 217.4 (C3). Найдено, %: С 76.47, Н 10.52, N 2.34. $\text{C}_{39}\text{H}_{63}\text{O}_4\text{N}$. Вычислено, %: С 76.66, Н 10.58, N 2.29.

3-Оксо-28-(*O'*-трет-бутил-*L*-лейцино)карбонил-28-луп-20(29)-ен (XXI); белый порошок; выход 0.54 г (87%); R_f 0.77; т. пл. 92–94°C; ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3060–2840, 1750, 1716, 1696, 1680, 1664, 1564, 1470, 1448, 1356, 1335, 1256, 1240, 1136, 1040, 1008, 968, 920, 888, 824, 760; спектр ^1H -ЯМР (δ , м. д.): 0.84, 0.88, 0.89, 0.90, 0.94, 0.99, 1.04 (21 Н, 7 с, 7 CH_3), 1.10–2.00 (24 Н, м, CH_2 , CH), 1.38 [9 Н, с, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1.60 (3 Н, с, CH_3), 2.39–2.50 (3 Н, м, Н13, Н16), 3.02–3.14 (1 Н, м, Н19), 4.40–4.46 (1 Н, м, Н2'), 4.50 и 4.66 (два уш. с по 1 Н, Н29), 5.92 (1 Н, д, J 8.3 Гц, CONH); спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м. д.): 14.5, 15.7, 15.9, 19.4, 19.6, 20.9, 21.7, 22.9 (C6'), 24.9 (C7'), 25.6, 26.6, 27.9, 27.9, 27.9 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 29.4, 30.8, 33.6, 33.7, 34.0, 34.9 (C5'), 36.8, 37.7, 37.9, 39.6, 40.6, 41.7 (C4'), 42.4, 46.5, 47.2, 49.9, 49.9, 50.7, 54.9 (C3'), 55.6, 81.5 (C1'), 109.2 (C29), 150.8 (C20), 172.5 (C2'), 175.7 (–CONH–), 217.8 (C3). Найдено, %: С 76.98, Н 10.53, N 2.31. $\text{C}_{40}\text{H}_{65}\text{O}_4\text{N}$. Вычислено, %: С 76.86, Н 10.67, N 2.24.

3-Оксо-28-(*O'*-трет-бутил-*L*-изолейцино)карбонил-28-луп-20(29)-ен (XXII); белый порошок;

выход 0.56 г (90%); R_f 0.80; т. пл. 95–96°C; ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3050–2860, 1750, 1712, 1694, 1672, 1632, 1520, 1472, 1448, 1390, 1356, 1320, 1256, 1240, 1184, 1136, 1040, 1008, 968, 920, 888, 828, 760; спектр ^1H -ЯМР (δ , м. д.): 0.82, 0.84, 0.86, 0.88, 0.89, 0.91, 0.97 (21 Н, 7 с, 7 CH_3), 1.00–2.00 (24 Н, м, CH_2 , CH), 1.38 [9 Н, с, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1.64 (3 Н, с, CH_3), 2.38–2.52 (3 Н, м, Н13, Н16), 3.10 (1 Н, дт, J 11.0 и 4.0 Гц, Н19), 4.38 (1 Н, дд, J 4.2 и 8.0 Гц, Н3'), 4.48 и 4.64 (два уш. с по 1 Н, Н29), 6.09 (1 Н, д, J 8.0 Гц, CONH); спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м. д.): 11.8 (C6'), 14.6, 15.6, 15.9, 16.0 (C7'), 19.4, 19.5, 21.0, 21.5, 25.6, 26.7, 28.1, 28.1, 28.1 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 29.4, 29.7 (C5'), 30.9, 33.7, 33.9, 34.1, 36.9, 37.7, 37.9, 38.0 (C4'), 39.7, 40.7, 42.5, 46.7, 47.3, 50.0, 50.0, 55.0, 55.9 (C3'), 56.2, 81.9 (C1'), 109.4 (C29), 150.8 (C20), 171.4 (C2'), 175.7 (CONH), 218.0 (C3). Найдено, %: С 77.04, Н 10.56, N 2.14. $\text{C}_{40}\text{H}_{65}\text{O}_4\text{N}$. Вычислено, %: С 76.86, Н 10.76, N 2.24.

3-Оксо-28-(*O'*-трет-бутил- β -фенилаланино)карбонил-28-луп-20(29)-ен (XXIII); белый порошок; выход 56 г (84%); R_f 0.65; т. пл. 177–179°C; УФ-спектр ($\text{MeOH}-\text{CHCl}_3$): λ_{max} 282 нм ($\lg \epsilon$ 4.36); ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3050–2850, 1740, 1712, 1696, 1672, 1632, 1526, 1480, 1456, 1390, 1356, 1320, 1256, 1240, 1184, 1136, 1040, 1008, 988, 920, 888, 828, 760; спектр ^1H -ЯМР (δ , м. д.): 0.84, 0.91, 0.93, 1.07, 1.12 (15 Н, 5 с, 5 CH_3), 1.10–2.00 (23 Н, м, CH_2 , CH), 1.40 [9 Н, с, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1.66 (3 Н, с, CH_3), 2.36–2.50 (3 Н, м, Н13, Н16), 3.03–3.10 (1 Н, м, Н19), 4.57 (1 Н, уш. с, Н29), 4.68–4.74 (2 Н, м, Н29, Н2'), 5.96 (1 Н, д, J 7.4 Гц, CONH), 7.18–7.32 (5 Н, м, Н аром.); спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м. д.): 14.5, 15.9, 16.0, 19.4, 19.5, 21.1, 21.6, 25.7, 26.8, 28.1, 28.1, 28.1 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 29.4, 31.0, 33.8, 33.8, 34.4, 37.1, 37.8, 38.2 (C4'), 38.6, 39.8, 40.8, 42.6, 46.8, 47.6, 50.1, 50.1, 53.4, 55.2 (C3'), 55.9, 82.3 (C1'), 109.6 (C29), 127.1, 128.7, 128.7, 129.4, 129.4, 137.0, 151.1 (C20), 171.5 (C2'), 175.9 (CONH), 218.5 (C3). Найдено, %: С 78.44, Н 9.79, N 2.33. $\text{C}_{43}\text{H}_{63}\text{O}_4\text{N}$. Вычислено, %: С 78.75, Н 9.63, N 2.08.

3-Оксо-28-(*O'*-трет-бутил-*L*-метионино)карбонил-28-луп-20(29)-ен (XXIV); белый порошок; выход 0.57 г (89%); R_f 0.76; т. пл. 88–90°C; ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3030–2850, 1740, 1716, 1696, 1672, 1632, 1536, 1472, 1456, 1390, 1324, 1254, 1220, 1178, 1136, 1040, 1008, 968, 910, 888, 828, 760; спектр ^1H -ЯМР (δ , м. д.): 0.80, 0.84, 0.90, 0.93, 0.98 (15 Н, 5 с, 5 CH_3), 1.10–2.00 (25 Н, м, CH_2 , CH), 1.40 [9 Н, с, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1.60 (3 Н, с, CH_3), 2.03 (3 Н уш. с, Н6'), 2.36–2.48 (3 Н, м, Н13, Н16), 2.99–3.08 (1 Н, м, Н19), 4.46–4.54 (2 Н, м, Н29, Н3'), 4.65 (1 Н, уш. с, Н29), 6.24 (1 Н, д, J 7.5 Гц, CONH); спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м. д.): 14.5, 15.4, 15.4 (C6'), 15.9, 19.4, 19.6, 20.9, 21.4, 25.5, 26.5, 27.9, 27.9, 27.9 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 29.6, 30.2 (C4'), 30.7, 32.2 (C5'), 33.5, 33.7, 34.0, 36.8, 37.6, 38.0, 39.6, 40.6, 42.4, 46.5, 47.2, 49.8, 49.8, 54.9 (C3'), 55.6, 55.7, 82.2 (C1'), 109.4 (C29), 150.7 (C20), 171.4 (C2'), 175.9 (CONH), 218.0 (C3). Найдено, %: С

72.58, Н 10.27, N 2.03, S 4.67. $C_{39}H_{63}O_4NS$. Вычислено, %: С 72.84, Н 9.98, N 2.24, S 4.76.

3-Оксо-17 β -карбамоил-28-луп-20(29)-ен (XXVI). К раствору 1 ммоль (0.47 г) хлорангидрида бетулоновой кислоты (II) в 5 мл сухого хлороформа прибавляли 3 мл жидкого аммиака, смесь перемешивали 20 мин при 20–22°C и упаривали в вакууме. Остаток кристаллизовали из этанола, выход 0.41 г (83%); белый порошок; R_f 0.34; т. пл. 156–157°C; ИК-спектр (ν , cm^{-1}): 3250, 3020–2840, 1756, 1712, 1696, 1632, 1545, 1472, 1466, 1374, 1312, 1241, 1212, 1168, 1140, 1036, 1006, 988, 912, 888, 812, 744; спектр 1H -ЯМР (δ , м. д.): 0.80, 0.84, 0.90, 0.93, 0.98 (15 Н, 5 с, 5 CH_3), 1.00–2.00 (21 Н, м, CH_2 , CH), 1.59 (3 Н, с, CH_3), 2.25–2.37 (3 Н, м, Н13, Н16), 3.12 (1 Н, дт, J 11.3 и 4.3 Гц, Н19), 4.50 и 4.64 (два уш. с по 1 Н, Н29), 5.65 (2 Н, уш. с, $CONH_2$); спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м. д.): 14.5, 15.9, 15.9, 19.4, 19.5, 20.8, 21.3, 25.5, 26.5, 29.7, 30.7, 33.3, 33.6, 34.0, 36.7, 37.6, 38.3, 39.5, 40.5, 42.2, 46.5, 47.1, 49.9, 50.0, 55.0, 55.7, 109.2 (C29), 150.8 (C20), 179.0 ($CONH_2$), 217.9 (C3). Найдено, %: С 79.27, Н 10.61, N 3.08. $C_{30}H_{47}O_2N$. Вычислено, %: С 79.40, Н 10.46, N 3.09.

3-Оксимино-17 β -карбамоил-28-луп-20(29)-ен (XXVII) получали аналогично соединению (XXVI) из хлорангидрида 3-оксима бетулоновой кислоты (XXV), выход 0.32 г (86%); порошок кремового цвета; R_f 0.32; т. пл. 159–161°C; ИК-спектр (ν , cm^{-1}): 3265, 3010–2780, 1766, 1724, 1696, 1650, 1632, 1545, 1472, 1466, 1380, 1326, 1238, 1207, 1158, 1140, 1032, 1008, 988, 920, 888, 812, 766; спектр 1H -ЯМР (δ , м. д.): 0.78, 0.81, 0.93, 0.94, 0.98 (15 Н, 5 с, 5 CH_3), 1.00–2.00 (21 Н, м, CH_2 , CH), 1.60 (3 Н, с, CH_3), 2.31–2.43 (3 Н, м, Н13, Н16), 3.10 (1 Н, дт, J 11.3 и 4.3 Гц, Н19), 4.54 и 4.67 (два уш. с по 1 Н, Н29), 5.55 (2 Н, уш. с, $CONH_2$), 9.08 (1 Н, уш. с, 3- NOH); спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м. д.): 14.6, 15.1, 15.9, 19.2, 20.1, 20.8, 21.4, 25.6, 26.4, 29.9, 30.1, 33.3, 33.6, 34.0, 36.6, 37.9, 38.1, 40.0, 40.6, 42.4, 46.5, 47.4, 49.5, 50.1, 55.0, 55.4, 110.4 (C29), 150.5 (C20), 167.2 (C3), 178.5 ($CONH_2$). Найдено, %: С 77.02, Н 10.86, N 6.18. $C_{30}H_{48}O_2N_2$. Вычислено, %: С 76.86, Н 10.34, N 5.98.

3-Оксимино-28-(O' -метил- L -метионино)карбонил-28-луп-20(29)-ен (XXVIII) получали аналогично соединению (XVII) из хлорангидрида 3-оксима бетулоновой кислоты (XXV), выход 0.50 г (83%); аморфный порошок; R_f 0.54; ИК-спектр (ν , cm^{-1}): 3020–2784, 1764, 1714, 1698, 1668, 1636, 1532, 1478, 1452, 1314, 1267, 1240, 1144, 1112, 1036, 1014, 988, 936, 888, 828, 744; спектр 1H -ЯМР (δ , м. д.): 0.78, 0.81, 0.85, 0.89, 0.96 (15 Н, 5 с, 5 CH_3), 1.10–2.00 (26 Н, м, CH_2 , CH), 1.63 (3 Н, с, CH_3), 2.12 (3 Н, уш. с, Н6'), 2.37–2.51 (3 Н, м, Н13, Н16), 2.90–3.05 (1 Н, м, Н19), 3.74 (3 Н, с, Н1'), 4.54 (1 Н, уш. с, Н29), 4.59–4.70 (2 Н, м, Н29, Н3'), 6.43 (1 Н, д, J 7.6 Гц, $CONH$), 9.00 (1 Н, уш. с, 3- NOH); спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м. д.): 14.2, 15.1 (C6'), 15.7, 16.2, 19.1, 19.2, 20.8, 21.4, 25.4, 27.2, 28.9, 29.7 (C4'), 30.4, 31.5

(C5'), 33.0, 33.6, 33.7, 36.6, 37.0, 38.2, 39.9, 40.0, 42.4, 46.6, 46.9, 49.1, 50.1, 50.7 (C3'), 52.2 (C1'), 54.4, 55.0, 109.7 (C29), 149.9 (C20), 167.4 (C3), 169.8 (C2'), 175.8 ($CONH$). Найдено, %: С 72.07, Н 10.00, N 2.46, S 5.17. $C_{36}H_{50}O_4NS$. Вычислено, %: С 71.82, Н 9.90, N 2.33, S 5.32.

3 β -Гидрокси-28-(2-этаноламино)карбонил-28-луп-20(29)-ен (XXX) получали аналогично соединению (V) из хлорангидрида бетулиновой кислоты (XXIX), выход 0.34 г (69%); белый порошок; R_f 0.24; т. пл. 223–225°C; ИК-спектр (ν , cm^{-1}): 3010–2790, 1696, 1666, 1632, 1532, 1472, 1450, 1352, 1312, 1255, 1240, 1192, 1046, 1018, 966, 912, 898, 832, 744; спектр 1H -ЯМР (δ , м. д.): 0.79, 0.82, 0.88, 0.90, 0.99 (15 Н, 5 с, 5 CH_3), 1.00–2.00 (21 Н, м, CH_2 , CH), 1.62 (3 Н, с, CH_3), 2.35–2.46 (3 Н, м, Н13, Н16), 2.90–3.10 (2 Н, м, Н19, Н3), 3.14 (1 Н, уш. с, OH), 3.33 (1 Н, дт, J 12, 5.7, 4.5 Гц, Н1'a), 3.42 (1 Н, дт, J 12, 5.8, 4.5 Гц, Н1'b), 3.60 (2 Н, т, J 5.7 и 5.8 Гц, Н2'), 4.54 и 4.69 (два уш. с по 1 Н, Н29), 6.54 (1 Н, т, J 4.5 Гц, $CONH$); спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м. д.): 14.4, 15.0, 15.9, 19.2, 20.0, 21.1, 21.4, 25.5, 26.5, 29.0, 30.5, 33.3, 33.3, 34.4, 36.7, 37.9, 38.0, 40.0, 41.6, 42.2, 43.0 (C31), 47.2, 47.4, 49.9, 50.3, 55.0, 55.5, 63.3 (C32), 75.9 (C3), 110.4 (C29), 150.5 (C20), 175.2 ($CONH$). Найдено, %: С 76.56, Н 11.04, N 2.72. $C_{32}H_{53}O_3N$. Вычислено, %: С 76.89, Н 10.71, N 2.80.

Противовирусные свойства определяли в экспериментах на культурах клеток с вирусами герпеса простого типа 1 (ВГП-1), гриппа А/FPV/Rostock/34 (H7N1), энтеровируса ЕСНО6 и вирусом иммунодефицита человека типа 1 (ВИЧ-1, штамм zmb). Исследования выполняли методом редукции бляшек на культуре первичных фибробластов эмбрионов кур (ФЭК) с FPV и методом оценки цитопатического эффекта на культуре клеток рабдомиосаркомы человека (RD) с ВГП-1 и вирусом ЕСНО6 по методике [13]. Изучаемые соединения предварительно растворяли в 10% этаноле и затем – в среде поддержки до получения требуемых концентраций. Критерием противовирусного действия считали снижение титра вируса в присутствии испытуемых соединений в сравнении с контролем. Вычисляли также концентрацию 50% подавления размножения вируса (среднеэффективная концентрация, EC_{50}) и отношение максимальной переносимой концентрации (МПК) к EC_{50} . МПК соединений для неинфицированных культур клеток определяли после 72 ч инкубации. Эксперименты с ВИЧ-1 выполняли на культуре клеток Molt4/8 (МТТ-тест и определение инфекционности – с регистрацией антигенсодержащих клеток методом непрямой иммунофлюоресценции [14]).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и БРФФИ (проекты № 00-03-81174, 01-03-33131, 02-03-81007, Б99Р-031, Б02Р-016).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *De Clercq E.* // *Drugs R & D*. 1999. V. 2(5). P. 321–331.
2. *Holz-Smith S.L., Sun I.C., Jin L., Matthews T.J., Lee K.H., Chen C.H.* // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001. V. 45(1). P. 60–66.
3. *Evers M., Poujade C., Soler F., Ribeill Y., James C., Lelievre Y., Gueguen J.C., Reisdorf D., Morize I., Pauwels R., De Clercq E., Henin Y., Bousseau A., Mayaux J.F., Le Pecq J.B., Dereu N.* // *J. Med. Chem.* 1996. V. 39(5). P. 1056–1068.
4. *Jeong H.-J., Chai H.B., Park S.-Y., Kim D.S.H.L.* // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1999. V. 9. P. 1201–1204.
5. *Kim D.S.H.L., Chen Z., van Tuyen N., Pezzuto J.M., Qiu S., Lu Z.-Z.* // *Synth. Commun.* 1997. V. 27(9). P. 1607–1612.
6. *Peng C., Bodenhausen G., Qiu S., Fong H.H.S., Farnsworth N.R., Yuan S., Zheng C.* // *Magn. Res. Chem.* 1998. V. 36. P. 267–278.
7. *Балтина Л.А., Рьжова С.А., Васильева Е.В., Толстиков Г.А.* // *Биоорганическая химия*. 1994. Т. 20. С. 55–62.
8. *Kurokawa M., Basnet P., Ohsugi M., Hozumi T., Kadota S., Namba T., Kawana T., Shiraki K.* // *J. Pharm. Exp. Ther.* 1999. V. 289. P. 72–78.
9. *Флехтер О.Б., Карачурина Л.Т., Нигматуллина Л.Р., Сапожникова Т.А., Балтина Л.А., Зарудий Ф.С., Галин Ф.З., Спирихин Л.В., Толстиков Г.А., Плясунова О.А., Покровский А.Г.* // *Биоорганическая химия*. 2002. Т. 28. С. 543–550.
10. *Pezzuto J.M., Kim D.S.H.L.* US Patent 5.804,575 from Sep. 8, 1998.
11. *Valterova E., Klinot J., Vystrcil A.* // *Collect. Czech. Chem. Commun.* 1983. V. 48. P. 649–661.
12. *Балтина Л.А., Толстиков Г.А.* // *Журн. общей химии*. 1991. Т. 61. С. 1227–1233.
13. *Бореко Е.И., Павлова Н.И., Зайцева Г.В., Михайлопуло И.А.* // *Вопр. вирусол.* 2001. № 5. С. 40–42.
14. *Pauwels R.* *Development of New Agents Against the Human Immunodeficiency Virus (Evaluation Methods, Structure-activity Relationships and Mechanism of Action)*. Leuven: Katolieke Universitat, 1990. 158 p.

Synthesis and Antiviral Activity of Betulonic Acid Amides and Conjugates with Amino Acids

O. B. Flekhter*[#], E. I. Boreko**[#], L. R. Nigmatullina*, E. V. Tret'yakova*,
N. I. Pavlova**[#], L. A. Baltina*, S. N. Nikolaeva**[#], O. V. Savinova**[#],
V. F. Eremin**[#], F. Z. Galin*, and G. A. Tolstikov*

[#] Fax: (3472)-35-6066; e-mail: obf@anrb.ru

*Institute of Organic Chemistry, Ufa Scientific Center, Russian Academy of Sciences, pr. Oktyabrya 71,
Ufa, Bashkortostan, 450054 Russia

**State Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus

Betulonic acid amides with aliphatic and heterocyclic amines and with *L*-amino acids were synthesized by the acid chloride method. Betulonic acid amide and *L*-methionine derivatives of betulonic acid and its 3-oxime effectively inhibit the influenza A virus. Betulonic acid octadecylamide is active against the herpes simplex type 1 virus. The conjugate of betulonic acid 3-oxime with *L*-methionine is also active toward HIV-1. The tested compounds mainly show no activity toward the ECHO6 virus, which is devoid of a coat. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2004, vol. 30, no. 1; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: amides, antiviral activity, betulonic acid, lupane triterpenoids, peptides