



УДК 547.918:547.914.4.057

СИНТЕЗ И ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ УРЕИДОВ И КАРБАМАТОВ БЕТУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ ПРОИЗВОДНЫХ

© 2003 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**[#], Ф. З. Галин*, Г. А. Толстикова*

*Институт органической химии Уфимского научного центра 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 08.09.2002 г.

Взаимодействием изоцианатов бетулиновой, бетулоновой и 3-оксима бетулоновой кислоты с аминами, аминокислотами и спиртами получены с хорошими выходами соответствующие уреиды и карбаматы. Уреиды бетулоновой кислоты, содержащие остатки *L*-валина и *L*-метионина, обнаружили выраженные противовирусные свойства в отношении вируса простого герпеса типа 1.

Ключевые слова: бетулиновая кислота; изоцианаты; карбаматы; лупановые тритерпеноиды; противовирусная активность; уреиды.

ВВЕДЕНИЕ

В продолжение наших работ по химическим модификациям лупановых тритерпеноидов [1–4] мы осуществили синтез новой группы азотсодержащих производных – уреидов и карбаматов бетулиновой (I) и бетулоновой кислот (II) и 3-оксима бетулоновой кислоты (III). Ранее в литературе был описан синтез этилкарбамата дигидробетулиновой кислоты [5] и уреида 3-*O*-ацетилбетулиновой кислоты, содержащего остаток 10-аминодекановой кислоты; противовирусные свойства последнего в отношении вируса ВИЧ обнаружены не были [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве исходных соединений для синтеза мы использовали изоцианаты лупановых кислот (VII)–(IX), которые получали из соответствующих ацилхлоридов (IV)–(VI) действием активированного NaN_3 в ацетоне с выходами 80–94% без выделения промежуточных азидопроизводных [7]. Далее изоцианаты (VII)–(IX) вводили в реакции с первичными алифатическими и гетероциклическими аминами и метиловыми эфирами оптически чистых *L*-аминокислот. При кипячении в среде бензола или хлороформа в течение 2 ч с выходами 78–84% образовывались уреиды (X)–(XVIII) (схема 1).

Строение полученных соединений подтверждено данными элементного анализа и спектрами ^1H - и ^{13}C -ЯМР. Так, в спектрах ^{13}C -ЯМР изоцианатов (VII)–(IX) атом углерода NCO-группы имеет значение химического сдвига 121.3–121.6 м.д., а в ИК-спектрах обнаруживается интенсивный максимум валентных колебаний NCO-группы при 2260–2270 см^{-1} . Введение –NHCONH-группы в положение C17 молекулы лупановых кислот приводит к слабому сдвигу сигнала C28 до 154–158 м.д. Сигналы протонов –NHCONH-группы проявляются в виде уширенных синглетов или мультиплетов в области 4.40–9.89 м.д. Ароматические протоны хинолинового и пиридинового фрагментов в спектрах ^1H -ЯМР уреидов (XII) и (XIII) резонируют в слабом поле (6.85–8.81 м.д.). В спектрах ^1H -ЯМР соединений (XIV)–(XVIII), содержащих остатки эфиров аминокислот, наблюдаются интенсивные сигналы трех протонов метоксигруппы при 3.7–3.8 м.д. и сигналы протона H_3' аминокислотного остатка при 4.07–4.74 м.д. Дополнительные сигналы протонов CH_2 -групп уреидов (X) и (XI) обнаруживаются в области 2.2–3.9 м.д.

Далее 17 β -изоцианат бетулоновой кислоты (VIII) вводили в реакцию с метилатом и бензилатом натрия, и в результате кипячения в бензоле получили метил- и бензилкарбаматы (XIX) и (XX) с выходами 91 и 82% соответственно (схема 2). Для взаимодействия изоцианата (VIII) с фенолом потребовалось присутствие триэтиламина. Структуры карбаматов (XIX)–(XXI) были также подтверждены спектрами. Так, атом углерода NHCO₂-группы в соединениях (XIX)–(XXI) резо-

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

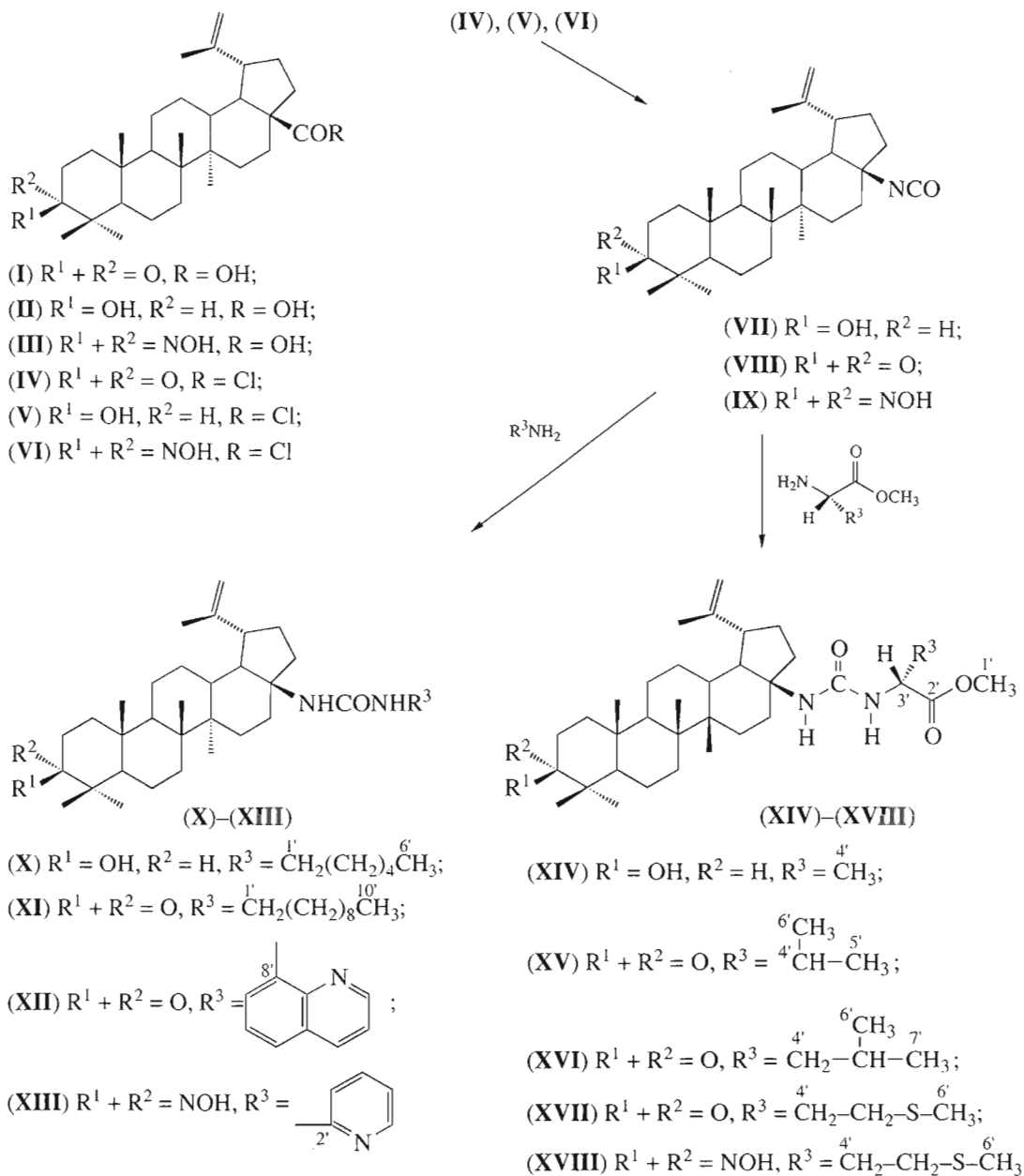


Схема 1.

нирует при 155–156 м.д. В ИК-спектрах присутствуют полосы поглощения валентных колебаний NH-групп ($3250\text{--}3350\text{ см}^{-1}$) и C=O-групп ($1520\text{--}1540\text{ см}^{-1}$).

Отнесение резонансных сигналов в спектрах ЯМР уреидов и карбаматов лупановых кислот было сделано на основании литературных данных для лупановых тритерпеноидов, тритерпеновых производных и эфиров аминокислот [6, 8, 9].

Противовирусная активность ряда синтезированных соединений исследована в экспериментах на культурах клеток в отношении вирусов гриппа А,

герпеса простого типа 1 и энтеровируса ЕСНО6. Ранее было показано, что бетулин, бетулиновая и бетулоновая кислоты ингибируют вирус герпеса простого [10–12], а бетулин не подавляет вирусы гриппа [13]. Среди исследованных соединений наиболее выраженные ингибиторные свойства найдены у уреидов бетулиновой кислоты (XV) и (XVII) в отношении вируса герпеса (таблица).

Уреидное производное (XVI) проявило выраженную ингибирующую активность в отношении вируса гриппа. Однако, несмотря на значительный диапазон активных концентраций, снижение титра вируса в присутствии этого соединения не

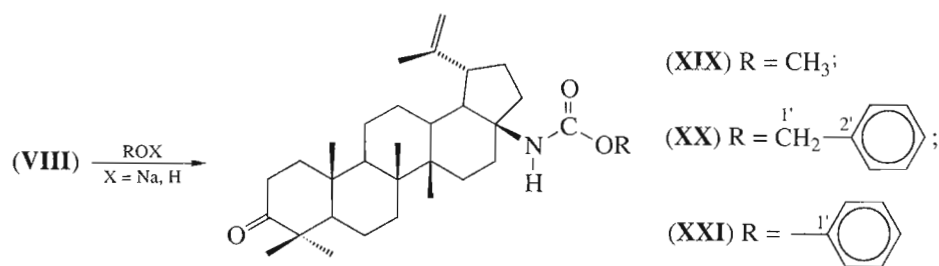


Схема 2.

превышало 0.9 lg БОЕ^{*}/мл. В то же время снижение титра вируса герпеса в присутствии соединений (VIII) и (XVII) составило от >3 до 1.72 lg ТЦД₅₀/мл в диапазоне концентраций от МПК до 1/32 МПК для (XVII) или 1/8 МПК для (XV). В наших экспериментах с вирусом ЕСНО6 противовирусные свойства исследованных соединений не установлены.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ТСХ-анализ проводили на пластинках Silufol (Chemapol, Чехия), используя систему растворителей хлороформ–метанол, 20 : 1. Вещества обнаруживали 20% раствором фосфорновольфрамовой кислоты в этаноле с последующим нагреванием при 100–120°C в течение 2–3 мин. Спектры ¹³C- и ¹H-ЯМР регистрировали в дейтерохлороформе на спектрометре Bruker AM-300 при рабочих радиочастотах 75.5 и 300 МГц соответственно, внутренний стандарт – SiMe₄. ИК-спектры снимали на спектрометре Spexord M80 в пасте с вазелиновым маслом. Температуры плавления определяли на микронагревательном столике Voetius. Бетулиновую (I), бетулоновую кислоты (II) и 3-оксим (III) получали по методикам [14, 15]. Азид натрия активировали перед реакцией согласно [16]. Абсолютные растворители готовили как описано в [17]. Метилвые эфиры L-аминокислот в виде гидрохлоридов получали по стандартной методике [18].

Общая методика получения хлорангидридов (IV)–(VI). К 1 ммоль кислоты (I)–(III) в 10 мл абсолютного бензола при перемешивании прибавляли по каплям 0.3 мл оксалилхлорида, и смесь перемешивали в атмосфере азота при 20–22°C в течение 2 ч. Растворитель упаривали в вакууме, выход 93–95%. Полученные соединения использовали в синтезах без дальнейшей очистки. ИК-спектр (ν, см⁻¹): 1820–1810 (СОСl).

Общая методика синтеза изоцианатов (VII)–(IX). К раствору 1 ммоль хлорангидрида кислоты (IV)–(VI) в 100 мл сухого ацетона при перемешивании прибавляли 0.125 г активированного NaN₃.

Реакционную массу перемешивали при комнатной температуре 6 ч. Избыток NaN₃ отфильтровывали, растворитель упаривали в вакууме, а остаток хроматографировали на силикагеле, элюируя бензолом.

3β-Гидрокси-17β-изоцианато-28-норлуп-20(29)-ен (VII). Из 0.47 г (1 ммоль) хлорангидрида бетулиновой кислоты (IV) получили 0.38 г (84%) вещества в виде белого порошка; R_f 0.30; т. пл. 244–246°C; ИК-спектр (ν, см⁻¹): 710, 850, 890, 910, 990, 1050, 1100, 1120, 1150, 1190, 1220, 1280, 1380, 1430, 1490, 1510, 1600, 1620, 1700, 2260; спектр ¹H-ЯМР (δ, м.д.): 0.81, 0.85, 0.88, 0.91, 1.00 (15 H, 5 с, 5 CH₃), 1.20–2.00 (21 H, м, CH₂, CH), 1.65 (3 H, с, CH₃), 2.38–2.52 (3 H, м, H13, H16), 2.66–2.75 (1 H, м, H19), 3.05–3.11 (1 H, м, H3), 4.62 и 4.73 (два уш. сигнала по 1 H, H29); спектр ¹³C-ЯМР (δ, м.д.): 14.8, 15.6, 15.8, 18.3, 19.4, 20.8, 21.2, 24.7, 26.4, 27.5, 29.1, 33.3, 33.4, 33.9, 36.7, 38.9, 39.0, 39.4, 40.5, 41.9, 47.1, 47.9, 49.0, 49.6, 54.8, 71.3 (C17), 78.8 (C3), 110.3 (C29), 121.5 (–NCO), 148.6 (C20). Найдено, %: С 79.53, Н 10.56, N 3.01. C₃₀H₄₇O₂N. Вычислено, %: С 79.40, Н 10.46, N 3.09.

3-Оксо-17β-изоцианато-28-норлуп-20(29)-ен (VIII). Из 0.47 г (1 ммоль) хлорангидрида бетулоновой кислоты (V) получили 0.45 г (94%) вещества в виде белого порошка; R_f 0.76; т. пл. 178–180°C; ИК-спектр (ν, см⁻¹): 720, 860, 870, 910, 980, 1060, 1100, 1120, 1160, 1190, 1230, 1290, 1380, 1430, 1490, 1510, 1600, 1620, 1700, 1780, 2270; спектр ¹H-ЯМР (δ, м.д.): 0.87, 0.93, 1.01, 1.06, 1.08 (15 H, 5 с, 5 CH₃), 1.20–2.00 (21 H, м, CH₂, CH), 1.67 (3 H, с, CH₃), 2.33–2.57 (4 H, м, H13, H16, H19), 4.62 и 4.73 (два уш. сигнала по 1 H, H29); спектр ¹³C-ЯМР (δ, м.д.): 14.9, 15.6, 15.7, 19.2, 19.5, 20.8, 21.2, 24.9, 26.4, 27.3, 29.1, 33.4, 33.6, 33.9, 36.7, 38.8, 39.0, 39.2, 40.5, 42.0, 47.2, 47.6, 49.0, 49.5, 54.8, 71.2 (C17), 110.3 (C29), 121.6 (–NCO), 149.6 (C20), 217.5 (C3). Найдено, %: С 79.83, Н 9.98, N 3.07. C₃₀H₄₅O₂N. Вычислено, %: С 79.76, Н 10.06, N 3.10.

3-Оксим-17β-изоцианато-28-норлуп-20(29)-ен (IX). Из 0.48 г (1 ммоль) хлорангидрида 3-оксима бетулоновой кислоты (VI) получили 0.37 г (80%) вещества в виде кремового порошка; R_f 0.21; т. пл. 212–214°C; ИК-спектр (ν, см⁻¹): 710, 860, 890, 920,

* БОЕ – бляшкообразующая единица.

Противовирусная активность производных бетулоновой кислоты

Соединение	Вирус гриппа		Вирус герпеса простого типа 1		Вирус ЕСНОВ	
	EC ₅₀ (I ₉₅), мкМ	МПК/EC ₅₀	EC ₅₀ (I ₉₅), мкМ	МПК/EC ₅₀	EC ₅₀ (I ₉₅), мкМ	МПК/EC ₅₀
(VIII)	н. и.	н. и.	>221.36	<1	н. и.	н. и.
(XV)	>85.68	<1	0.17 (1.92–0.02)	500.00	4.21(7.14–2.50)	1.22
(XVI)	≤5.02	≥67	н. и.	н. и.	н. и.	н. и.
(XVII)	27.08 (39.54–18.53)	3.0	1.46 (2.21–0.96)	444.44	н. и.	н. и.

Обозначения: н.и. – не исследовали; МПК – максимальная переносимая концентрация; ТЦИД₅₀ – 50% тканевая цитопатогенная инфицирующая доза (вируса); EC₅₀ – среднееффективная концентрация; I₉₅ – доверительный интервал для 95% вероятности.

990, 1050, 1110, 1130, 1150, 1200, 1250, 1270, 1380, 1410, 1500, 1610, 1630, 1710, 1780, 2260; спектр ¹H-ЯМР (δ, м.д.): 0.81, 0.85, 0.88, 0.91, 1.00 (15 H, 5 с, 5 CH₃), 1.20–2.00 (21 H, м, CH₂, CH), 1.65 (3 H, с, CH₃), 2.40–2.53 (3 H, м, H13, H16), 2.65–2.73 (1 H, м, H19), 4.62 и 4.73 (два уш. сигнала по 1 H, H29), 9.48 (1 H, уш. сигнал, 3-NOH); спектр ¹³C-ЯМР (δ, м.д.): 14.6, 15.8, 15.9, 16.1, 17.1, 19.0, 21.1, 25.2, 27.2, 29.6, 30.6, 32.1, 33.9, 36.9, 37.2, 38.3, 38.7, 40.3, 40.7, 42.4, 46.9, 49.4, 50.1, 51.2, 55.6, 71.3 (C17), 110.1 (C29), 121.5 (–NCO), 149.6 (C20), 167.3 (C3). Найдено, %: C 77.32, H 9.84, N 5.92. C₃₀H₄₆O₂N₂. Вычислено, %: C 77.19, H 9.95, N 6.00.

Общая методика синтеза соединений (X)–(XIII). Изоцианат (VIII)–(IX) (1 ммоль) и 1.6 ммоль амина кипятили 2 ч в 10 мл безводного бензола. Реакционную смесь промывали 15 мл 5% раствора соляной кислоты, водой (2 × 10 мл), сушили MgSO₄ и упаривали в вакууме досуха. Остаток хроматографировали на колонке с окисью алюминия, элюируя хлороформом.

3β-Гидроксис-17β-(N-гексилуреидо)-28-норлуп-20(29)-ен (X). Из 0.45 г (1 ммоль) изоцианата (VII) и 0.18 г гексилamina получили 0.44 г (79%) вещества в виде белого порошка; R_f 0.34; т. пл. 194–197°C; ИК-спектр (ν, см⁻¹): 740, 780, 850, 910, 1100, 1120, 1170, 1220, 1260, 1350, 1420, 1480, 1540, 1650, 1690, 1750, 3260–3340; спектр ¹H-ЯМР (δ, м.д.): 0.80, 0.84, 0.86, 0.88, 0.98 (15 H, 5 с, 5 CH₃), 1.10–2.00 (29 H, м, CH₂, CH), 1.26 (3 H, с, H6'), 1.66 (3 H, с, CH₃), 2.40–2.55 (3 H, м, H13, H16), 2.65–2.73 (1 H, м, H19), 3.04–3.11 (1 H, м, H3), 3.17–3.25 (2 H, м, H1'), 4.57 и 4.72 (два уш. сигнала по 1 H, H29), 5.00–5.10 (1 H, м, NHCONH), 5.20 (1 H, уш. сигнал, NHCONH); спектр ¹³C-ЯМР (δ, м.д.): 13.9 (C6'), 14.4, 15.3, 16.0, 18.2, 19.2, 20.9, 22.5 (C5'), 25.0, 26.6 (C2'), 27.2, 27.9, 29.8, 29.8 (C3'), 30.3, 31.5 (C4'), 34.1, 35.7, 37.1, 37.5, 38.7, 38.8, 38.8 (C1'), 40.6, 41.9, 47.5, 49.5, 49.7, 50.3, 55.2, 63.3 (C17), 78.8 (C3), 109.7 (C29), 149.8 (C20), 157.8 (NHCONH). Найдено, %: C 77.85, H 11.27, N 4.92. C₃₆H₆₂O₂N₂. Вычислено, %: C 78.04, H 11.12, N 5.06.

3-Оксо-17β-(N-децилуридо)-28-норлуп-20(29)-ен (XI). Из 0.47 г (1 ммоль) изоцианата (VIII) и 0.26 мл дециламина получили 0.56 г (83%) веществ-

ва в виде белого порошка; R_f 0.53; т. пл. 198–200°C; ИК-спектр (ν, см⁻¹): 770, 840, 910, 1100, 1140, 1190, 1250, 1330, 1440, 1480, 1530, 1650, 1680, 1770, 3240–3350; спектр ¹H-ЯМР (δ, м.д.): 0.86, 0.90, 0.95, 1.02, 1.07 (15 H, 5 с, 5 CH₃), 1.20–2.00 (37 H, м, CH₂, CH), 1.24 (3 H, с, H10'), 1.67 (3 H, с, CH₃), 2.41–2.54 (3 H, м, H13, H16), 2.63–2.72 (1 H, м, H19), 3.06–3.17 (2 H, м, H1'), 4.59 и 4.67 (два уш. сигнала по 1 H, H29), 4.85–4.95 (1 H, м, NHCONH), 5.17 (1 H, уш. сигнал, NHCONH); спектр ¹³C-ЯМР (δ, м.д.): 14.0, 14.3 (C10'), 15.7, 15.9, 19.2, 19.6, 20.9, 21.4, 22.6 (C9'), 25.0, 26.6, 26.9 (C2'), 27.2, 29.3 (C6'), 29.4 (C3'), 29.5 (C4'), 29.6 (C5'), 29.7 (C7'), 29.7, 30.3, 31.8 (C8'), 33.3, 34.0, 35.6, 36.8, 37.7, 39.5 (C1'), 40.4, 40.6, 42.0, 47.2, 47.6, 49.4, 49.6, 54.7, 63.3 (C17), 109.8 (C29), 149.7 (C20), 157.6 (NHCONH), 217.5 (C3). Найдено, %: C 82.47, H 9.68, N 3.72. C₄₀H₆₈O₂N₂. Вычислено, %: C 82.23, H 9.55, N 3.84.

3-Оксо-17β-(N-8-аминохинолинуридо)-28-норлуп-20(29)-ен (XII). Из 0.47 г (1 ммоль) соединения (VIII) и 0.19 г 8-аминохинолина получили 0.48 г (81%) вещества в виде желтого порошка; R_f 0.70, т. пл. 252–254°C; ИК-спектр (ν, см⁻¹): 760, 850, 900, 1200, 1130, 1240, 1320, 1450, 1530, 1640, 1670, 1780, 3250–3360; спектр ¹H-ЯМР (δ, м.д.): 0.88, 0.92, 0.96, 1.01, 1.04 (15 H, 5 с, 5 CH₃), 1.10–2.00 (21 H, м, CH₂, CH), 1.59 (3 H, с, CH₃), 2.44–2.58 (3 H, м, H13, H16), 2.75–2.84 (1 H, м, H19), 4.52 и 4.79 (два уш. сигнала по 1 H, H29), 5.13 (1 H, уш. сигнал, NHCONH), 7.46–7.61 (3 H, м, H4', H7', H8'), 8.19 (1 H, дд, J 7.1 и 1.2 Гц, H3'), 8.72 (1 H, дд, J 4.1 и 1.2 Гц, H5'), 8.81 (1 H, дд, J 1.2 и 7.7 Гц, H9'), 9.89 (1 H, уш. сигнал, NHCONH); спектр ¹³C-ЯМР (δ, м.д.): 14.1, 15.8, 15.9, 19.4, 19.5, 21.0, 21.2, 24.9, 26.4, 27.3, 29.5, 29.9, 33.5, 34.1, 35.5, 36.7, 37.5, 39.5, 40.3, 41.9, 46.4, 47.3, 49.2, 49.6, 54.9, 63.9 (C17), 109.7 (C29), 115.5, 119.2, 121.4, 127.9, 128.2, 136.7, 136.8, 138.2, 147.4, 149.5 (C20), 154.3 (NHCONH), 218.0 (C3). Найдено, %: C 78.64, H 8.67, N 7.19. C₃₉H₅₃O₂N₃. Вычислено, %: C 78.40, H 8.88, N 7.04.

3-Оксим 17β-(N-2-аминопиридинуридо)-28-норлуп-20(29)-ена (XIII). Из 0.47 г (1 ммоль) изоцианата (IX) и 0.14 г 2-аминопиридина получили 0.44 г (78%) вещества в виде кремового порошка; R_f 0.28; т. пл. 201–203°C; ИК-спектр (ν, см⁻¹): 770,

850, 920, 1130, 1180, 1240, 1230, 1340, 1470, 1540, 1660, 1680, 1780, 3250–3350; спектр ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 0.83, 0.90, 0.95, 1.01, 1.12 (15 H, 5 с, 5 CH_3), 1.10–2.00 (22 H, м, CH_2 , CH), 1.70 (3 H, с, CH_3), 2.57–2.72 (3 H, м, H13, H16), 2.93–3.04 (1 H, м, H19), 4.61 и 4.73 (два уш. сигнала по 1 H, H29), 5.16 (1 H, уш. сигнал, NHCONH), 6.85 (1 H, уш. сигнал, H3'), 6.97 (1 H, уш. сигнал, H4'), 7.55 (1 H, уш. сигнал, H2'), 8.16 (1 H, уш. сигнал, H5'), 9.55 (1 H, уш. сигнал, 3-NOH), 9.85 (1 H, уш. сигнал, NHCONH); спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м.д.): 14.5, 15.8, 17.0, 18.9, 19.3, 21.2, 21.6, 22.9, 25.2, 27.4, 29.6, 30.7, 33.8, 35.2, 37.1, 37.7, 38.1, 38.7, 40.1, 40.7, 42.1, 47.9, 49.6, 50.1, 55.4, 64.3 (C17), 109.7 (C29), 112.1, 116.2, 138.0, 145.4, 154.0, 149.9 (C20), 155.2 (NHCONH), 166.6 (C3). Найдено, %: C 74.97, H 9.34, N 10.05. $\text{C}_{35}\text{H}_{53}\text{O}_2\text{N}_4$. Вычислено, %: C 74.81, H 9.53, N 9.97.

Общая методика синтеза соединений (XIV)–(XVIII). К суспензии 1.3 ммоль гидрохлорида метилового эфира аминокислоты в 5 мл сухого хлороформа при перемешивании приливали по каплям 0.23 мл триэтиламина, прибавляли раствор 1 ммоль изоцианата (VII)–(IX) в 5 мл хлороформа и кипятили 1 ч. Реакционную массу оставляли на ночь, промывали 10 мл 10% раствора соляной кислоты, водой (2 \times 10 мл), сушили над MgSO_4 и упаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на окиси алюминия, элюируя хлороформом.

3 β -Гидрокси-17 β -N-(O¹-метил-L-аланиноуреидо)-28-норлуп-20(29)-ен (XIV). Из 0.45 г (1 ммоль) изоцианата (VII) и 0.20 г метилового эфира L-аланина получили 0.46 г (83%) вещества в виде белого порошка; R_f 0.42; т. пл. 217–219°C; ИК-спектр (ν , см^{-1}): 750, 770, 850, 900, 910, 1000, 1100, 1120, 1180, 1210, 1250, 1350, 1400, 1450, 1480, 1540, 1650, 1690, 1760, 3250–3350; спектр ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 0.76, 0.82, 0.95, 0.96, 1.01 (15 H, 5 с, 5 CH_3), 1.10–2.00 (22 H, м, CH_2 , CH), 1.25 (3 H, с, H4'), 1.67 (3 H, с, CH_3), 2.39–2.50 (3 H, м, H13, H16), 2.53–3.61 (1 H, м, H19), 3.14–3.22 (1 H, м, H3), 3.73 (3 H, с, OCH_3), 4.09–4.19 (1 H, м, H3'), 4.60 и 4.69 (два уш. сигнала по 1 H, H29), 5.03 (1 H, м, NHCONH), 5.15 (1 H, уш. сигнал, NHCONH); спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м.д.): 14.4, 15.3, 16.0, 16.1 (C4'), 18.2, 19.0, 19.2, 20.9, 21.6, 21.7, 25.0, 27.2, 28.0, 29.8, 34.1, 35.5, 37.1, 37.6, 38.7, 38.8, 40.7, 42.0, 47.5, 49.0, 49.6, 50.4 (C1'), 55.3, 63.6 (C17), 68.7 (C3'), 78.9 (C3), 109.8 (C29), 149.7 (C20), 156.6 (NHCONH), 173.8 (C2'). Найдено, %: C 73.19, H 10.04, N 4.97. $\text{C}_{34}\text{H}_{56}\text{O}_4\text{N}_2$. Вычислено, %: C 73.32, H 10.16, N 5.03.

3-Оксо-17 β -N-(O¹-метил-L-валиноуреидо)-28-норлуп-20(29)-ен (XV). Из 0.47 г (1 ммоль) изоцианата (VIII) и 0.22 г метилового эфира L-валина получили 0.49 г (84%) вещества в виде белого порошка; R_f 0.40; т. пл. 182–184°C; ИК-спектр (ν , см^{-1}): 740, 780, 850, 910, 1100, 1120, 1180, 1200, 1250, 1340, 1410, 1460, 1480, 1530, 1650, 1690, 1750, 3240–3350; спектр ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 0.83, 0.84,

0.91, 0.93, 1.00, 1.04, 1.05 (21 H, 7 с, 7 CH_3), 1.20–2.00 (23 H, м, CH_2 , CH), 1.66 (3 H, с, CH_3), 2.36–2.51 (3 H, м, H13, H16), 2.52–2.63 (1 H, м, H19), 3.73 (3 H, с, OCH_3), 4.40 (1 H, м, NHCONH), 4.57 и 4.64 (два уш. сигнала по 1 H, H29), 4.74 (1 H, уш. сигнал, H3'), 5.53 (1 H, д, J 7.3 Гц, NHCONH); спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м.д.): 14.3, 15.7, 15.8, 17.7, 19.0 и 19.0 (C5', C6'), 19.2, 20.9, 21.2, 24.9, 26.5, 27.3, 29.7, 29.8, 31.5 (C4'), 33.3, 34.0, 35.4, 36.8, 37.4, 39.5, 40.5, 42.0, 47.3, 47.4, 49.4, 49.7, 51.8 (C1'), 54.9, 57.7 (C3'), 63.4 (C17), 109.7 (C29), 149.7 (C20), 156.8 (NHCONH), 174.3 (C2'), 218.2 (C3). Найдено, %: C 74.31, H 9.98, N 4.72. $\text{C}_{36}\text{H}_{59}\text{O}_4\text{N}_2$. Вычислено, %: C 74.17, H 10.05, N 4.81.

3-Оксо-17 β -N-(O¹-метил-L-лейциноуреидо)-28-норлуп-20(29)-ен (XVI). Из 0.47 г (1 ммоль) изоцианата (VIII) и 0.24 г метилового эфира L-лейцина получили 0.49 г (82%) вещества в виде белого порошка; R_f 0.41; т. пл. 172–174°C; ИК-спектр (ν , см^{-1}): 770, 840, 900, 920, 1100, 1130, 1190, 1220, 1250, 1370, 1410, 1450, 1470, 1520, 1650, 1670, 1760, 3256–3350; спектр ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 0.94, 0.95, 0.96, 0.98, 1.03, 1.07, 1.08 (7с, 21H, 7 CH_3), 1.20–2.00 (24 H, м, CH_2 , CH), 1.70 (3 H, с, CH_3), 2.40–2.53 (3 H, м, H13, H16), 2.57–2.64 (1 H, м, H19), 3.74 (3 H, с, OCH_3), 4.63 и 4.73 (два уш. сигнала по 1 H, H29), 4.68 (1 H, уш. сигнал, H3'), 5.10 (1 H, уш. сигнал, NHCONH), 5.22 (1 H, м, NHCONH); спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м.д.): 14.4, 15.8, 16.0, 19.3, 19.6, 21.0, 21.5, 22.8, 24.9 и 24.9 (C6', C7'), 25.0, 26.7 (C5'), 27.1, 29.7, 29.8, 33.4, 34.1, 35.5, 36.9, 37.9, 39.6, 40.7, 40.8 (C4'), 42.1, 47.3, 47.7, 49.5, 49.8, 51.8 (C3'), 52.1 (C1'), 54.9, 63.8 (C17), 110.1 (C29), 149.5 (C20), 156.6 (NHCONH), 174.8 (C2'), 218.0 (C3). Найдено, %: C 74.32, H 10.02, N 4.53. $\text{C}_{37}\text{H}_{60}\text{O}_4\text{N}_2$. Вычислено, %: C 74.34, H 10.15, N 4.69.

3-Оксо-17 β -N-(O¹-метил-L-метиониноуреидо)-28-норлуп-20(29)-ен (XVII). Из 0.47 г (1 ммоль) изоцианата (VIII) и 0.26 г метилового эфира L-метионина получили 0.52 г (84%) вещества в виде белого порошка; R_f 0.38; т. пл. 137–140°C; ИК-спектр (ν , см^{-1}): 780, 840, 910, 1000, 1200, 1130, 1190, 1210, 1260, 1340, 1410, 1450, 1470, 1540, 1660, 1690, 1750, 3250–3350; спектр ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 0.85, 0.93, 0.96, 1.03, 1.07 (15 H, 5 с, 5 CH_3), 1.20–2.00 (25 H, м, CH_2 , CH), 1.68 (3 H, с, CH_3), 2.13 (3 H, уш. сигнал, H6'), 2.41–2.53 (3 H, м, H13, H16), 2.55–2.66 (1 H, м, H19), 3.76 (3 H, с, OCH_3), 4.51–4.62 (2 H, м, H29, H3'), 4.68 (1 H, уш. сигнал, H29), 5.15–5.25 (1 H, м, NHCONH), 5.40 (1 H, уш. сигнал, NHCONH); спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м.д.): 14.3, 15.4 (C6'), 15.7, 15.9, 19.2, 19.5, 20.9, 21.3, 25.0, 26.6, 27.2, 29.6, 29.7, 30.1 (C5'), 32.3 (C4'), 33.3, 34.0, 35.5, 36.8, 37.6, 39.5, 40.6, 42.0, 47.3, 47.5, 49.4, 49.6, 49.7 (C3'), 52.2 (C1'), 54.8, 63.6 (C17), 109.9 (C29), 149.6 (C20), 156.7 (NHCONH), 173.8 (C2'), 217.5 (C3). Найдено, %: C 70.23, H 9.68, N 4.41, S 4.98. $\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{O}_4\text{N}_2\text{S}$. Вычислено, %: C 70.30, H 9.53, N 4.56, S 5.21.

3-Оксим 17 β -*N*-(*O*¹-метил-*L*-метиониноуреидо)-28-норлуп-20(29)-ена (XVIII). Из 0.47 г (1 ммоль) изоцианата (IX) и 0.26 г метилового эфира *L*-метионина получили 0.50 г (79%) вещества в виде белого порошка; R_f 0.27; т. пл. 189–191°C; ИК-спектр (ν , см⁻¹): 710, 770, 860, 900, 920, 1100, 1130, 1190, 1210, 1340, 1410, 1460, 1470, 1530, 1660, 1690, 1750, 3250–3350; спектр ¹H-ЯМР (δ , м.д.): 0.85, 0.91, 0.96, 1.02, 1.14 (15 H, 5 с, 5 CH₃), 1.10–2.00 (26 H, м, CH₂, CH), 1.66 (3 H, с, CH₃), 2.07 (3 H, уш. сигнал, H6'), 2.38–2.54 (3 H, м, H13, H16), 2.95–3.06 (1 H, м, H19), 3.75 (3 H, с, OCH₃), 4.47–4.61 (2 H, м, H29, H3'), 4.66 (1 H, уш. сигнал, H29), 5.10 (1 H, уш. сигнал, NHCONH), 5.70–5.80 (1 H, м, NHCONH), 9.50 (1 H, уш. сигнал, 3-NOH); спектр ¹³C-ЯМР (δ , м.д.): 14.3, 15.4 (C6'), 15.8, 17.1, 18.9, 19.1, 21.2, 21.5, 22.8, 24.9, 27.3, 29.6, 30.1 (C5'), 30.5, 32.1 (C4'), 33.6, 35.4, 37.1, 37.5, 38.2, 38.7, 40.2, 40.6, 41.9, 47.5, 49.4, 49.7, 49.9 (C3'), 52.2 (C1'), 55.5, 63.6 (C17), 109.9 (C29), 149.5 (C20), 156.8 (NHCONH), 166.8 (C3), 174.3 (C2'). Найдено, %: С 68.61, Н 9.39, N 6.58, S 5.16. C₃₆H₆₀O₄N₃S. Вычислено, %: С 68.50, Н 9.51, N 6.66, S 5.08.

Общая методика синтеза соединений (XIX), (XX). Изоцианат бетулоновой кислоты (VIII) (0.47 г, 1 ммоль) и 2 ммоль метилата или бензилата натрия в 20 мл безводного бензола кипятили с обратным холодильником, контролируя ход реакции по ТСХ. Реакционную смесь промывали 15 мл 5% раствора соляной кислоты, водой (2 × 10 мл), сушили MgSO₄ и упаривали в вакууме.

3-Оксо-17 β -метилкарбамато-28-норлуп-20(29)-ен (XIX). После кипячения в течение 25 ч получили 0.44 г (91%) вещества в виде белого порошка; R_f 0.71; т. пл. 175–176°C; ИК-спектр (ν , см⁻¹): 770, 840, 900, 1100, 1140, 1180, 1250, 1340, 1440, 1480, 1540, 1660, 1690, 1770, 3250–3350; спектр ¹H-ЯМР (δ , м.д.): 0.92, 0.95, 1.01, 1.03, 1.06 (15 H, 5 с, 5 CH₃), 1.10–2.00 (21 H, м, CH₂, CH), 1.67 (3 H, с, CH₃), 2.37–2.52 (4 H, м, H13, H16, H19), 3.62 (3 H, с, OCH₃), 4.52 (1 H, уш. сигнал, NHCO), 4.60 и 4.70 (два уш. сигнала по 1 H, H29); спектр ¹³C-ЯМР (δ , м.д.): 14.3, 15.8, 15.9, 19.2, 19.6, 21.0, 21.4, 24.9, 26.6, 27.1, 29.1, 29.5, 33.4, 34.1, 35.0, 36.9, 37.8, 38.5, 39.5, 40.6, 42.1, 47.6, 49.0, 49.7, 51.5 (OCH₃), 54.9, 63.6 (C17), 110.2 (C29), 149.2 (C20), 155.2 (NHCO₂), 217.8 (C3). Найдено, %: С 77.07, Н 10.45, N 2.78. C₃₁H₄₉O₃N. Вычислено, %: С 76.95, Н 10.23, N 2.90.

3-Оксо-17 β -бензилкарбамато-28-норлуп-20(29)-ен (XX). После кипячения в течение 10 ч и очистки колоночной хроматографией на окиси алюминия (элюент – бензол) получили 0.46 г (82%) вещества в виде желтого порошка; R_f 0.43; т. пл. 225–226°C; ИК-спектр (ν , см⁻¹): 700, 830, 910, 1120, 1140, 1250, 1350, 1440, 1490, 1540, 1660, 1690, 1770, 3250–3340; спектр ¹H-ЯМР (δ , м.д.): 0.76, 0.78, 0.85, 0.91, 0.96 (15 H, 5 с, 5 CH₃), 1.10–2.00 (21 H, м, CH₂, CH), 1.70 (3 H, с, CH₃), 2.35–2.50

(4 H, м, H13, H16, H19), 4.52 и 4.63 (два уш. сигнала по 1 H, H29), 4.68 (2 H, уш. сигнал, H1'), 4.70 (1 H, уш. сигнал, NHCO), 7.15 (1 H, м, H5'), 7.32–7.46 (4 H, м, H3', H4', H6', H7'); спектр ¹³C-ЯМР (δ , м.д.): 14.2, 15.5, 16.2, 18.5, 19.5, 21.1, 21.7, 25.1, 26.9, 27.2, 29.0, 29.7, 31.8, 33.5, 34.2, 36.5, 37.8, 39.2, 40.3, 42.2, 46.9, 48.4, 49.0, 49.6, 51.5, 52.9, 63.7 (C17), 110.2 (C29), 127.9 и 128.1 (C3', C7'), 128.8 и 128.9 (C4', C6'), 130.2 (C5'), 140.4 (C2'), 150.5 (C20), 156.5 (NHCO₂), 218.3 (C3). Найдено, %: С 79.64, Н 9.52, N 2.35. C₃₇H₅₃O₃N. Вычислено, %: С 79.36, Н 9.56, N 2.50.

3-Оксо-17 β -фенилкарбамато-28-норлуп-20(29)-ен (XXI). К раствору 0.47 г (1 ммоль) изоцианата (VIII) в 50 мл безводного бензола прибавили 2 ммоль (0.18 г) фенола, несколько капель триэтиламина, смесь кипятили 25 ч, промывали водой (3 × 15 мл), сушили MgSO₄ и упаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле, элюируя хлороформом. Выделили 0.27 г (50%) вещества в виде желтого порошка; R_f 0.38; т. пл. 204–206°C; ИК-спектр (ν , см⁻¹): 770, 850, 920, 1100, 1160, 1260, 1330, 1440, 1470, 1520, 1670, 1690, 1780, 3250–3340; спектр ¹H-ЯМР (δ , м.д.): 0.88, 0.92, 0.95, 0.99, 1.01 (15 H, 5 с, 5 CH₃), 1.10–2.00 (21 H, м, CH₂, CH), 1.70 (3 H, с, CH₃), 2.33–2.45 (4 H, м, H13, H16, H19), 4.58 и 4.66 (два уш. сигнала по 1 H, H29), 4.76 (1 H, уш. сигнал, NHCO), 7.48–7.62 (5 H, м, H аром.); спектр ¹³C-ЯМР (δ , м.д.): 14.8, 15.3, 16.2, 18.9, 19.3, 20.9, 21.4, 25.0, 26.5, 27.0, 29.2, 29.9, 33.3, 34.0, 35.3, 36.9, 38.0, 39.2, 40.3, 42.0, 47.4, 47.6, 49.4, 49.6, 54.5, 63.6 (C17), 110.2 (C29), 123.4 и 123.4 (C2', C6'), 128.9 (C4'), 131.3 и 131.4 (C3', C5'), 148.0 (C1'), 149.7 (C20), 156.4 (NHCO₂), 218.0 (C3). Найдено, %: С 79.33, Н 9.31, N 2.63. C₃₆H₅₁O₃N. Вычислено, %: С 79.20, Н 9.44, N 2.57.

Противовирусные свойства определяли в экспериментах на культурах клеток с вирусами герпеса простого типа 1 (ВГП-1), гриппа А/FPV/Rostock/34 (H7N1) и энтеровируса ЕСНО6. 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 [19]. Изучаемые соединения предварительно растворяли в 10% водном 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, ЕС₅₀) и отношение максимальной переносимой концентрации (МПК) к ЕС₅₀. МПК соединений для неинфицированных культур клеток определяли после 72 ч инкубации.

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. Флехтер О.Б., Карачурина Л.Т., Поройков В.В., Нигматуллина Л.Р., Балтина Л.А., Зарудий Ф.С., Давыдова В.А., Спирихин Л.В., Байкова И.П., Галин Ф.З., Толстиков Г.А. // Биоорганич. химия. 2000. Т. 26. С. 215–223.
2. Флехтер О.Б., Карачурина Л.Т., Нигматуллина Л.Р., Балтина Л.А., Зарудий Ф.С., Давыдова В.А., Спирихин Л.В., Байкова И.П., Галин Ф.З., Толстиков Г.А. // Хим.-фарм. журн. 2000. Т. 34. С. 3–5.
3. Флехтер О.Б., Нигматуллина Л.Р., Карачурина Л.Т., Балтина Л.А., Зарудий Ф.С., Давыдова В.А., Галин Ф.З., Толстиков Г.А. // Хим.-фарм. журн. 2000. Т. 34. С. 17–20.
4. Флехтер О.Б., Карачурина Л.Т., Плясунова О.А., Нигматуллина Л.Р., Балтина Л.А., Покровский А.Г., Давыдова В.А., Зарудий Ф.С., Галин Ф.З., Шульц Э.Э., Толстиков Г.А. Пат. 2174982 РФ от 20.10.2001.
5. Protiva J., Vystrcil A. // Coll. Czech. Chem. Commun. 1976. V. 41(4). P. 1200–1207.
6. 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., Pecq J.-B.L., Dereu N. // J. Med. Chem. 1996. V. 39. P. 1056–1068.
7. Drefahl G., Huneck S. // Chem. Ber. 1961. № 8. P. 193–196.
8. 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.
9. Балтина Л.А., Кондратенко Р.М., Толстиков Г.А. // Журн. общей химии. 1984. Т. 54(11). С. 2573–2579.
10. Carlson R.M., Krasutsky P.A., Karim M.R.U. US Patent 5.750,578 from May 12, 1998.
11. 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.
12. Ryu S.Y., Lee C.-K., Lee C.O., Ki H.S., Zee O.P. // Arch. Pharm. Res. (Seoul). 1992. V. 15. P. 242–245.
13. Платонов В.Г., Зорина А.Д., Гордон М.А., Чижев Н.П., Балыкина Л.В., Михайлов Ю.Д., Иванен Д.Р., Тран Ким Кви, Шавва А.Г. // Хим.-фарм. журн. 1995. Т. 29. С. 42–46.
14. Pezzuto J.M., Kim D.S.H.L. US Patent 5.804,575 from Sep. 8, 1998.
15. Valterova E., Klinot J., Vystrcil A. // Collect. Czech. Chem. Comm. 1983. V. 48. P. 649–661.
16. Nelles J. // Ber. 1933. V. 66. P. 1345–1347.
17. Гордон А., Форд Р. Спутник химика. М.: Мир, 1976. С. 437–444.
18. Балтина Л.А., Толстиков Г.А. // Журн. общей химии. 1991. Т. 61(5). С. 1227–1233.
19. Бореко Е.И., Павлова Н.И., Зайцева Г.В., Михайлопуло И.А. // Вопр. вирусол. 2001. № 5. С. 40–42.

Synthesis and Antiviral Activity of Ureides and Carbamates of Betulinic Acid and Its Derivatives

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^{**}, 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, 450054 Russia

^{**}State Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus

Ureides and carbamates of betulinic acid and its derivatives were prepared in good yields by interaction of betulinic acid, betulonic acid, and betulonic acid 3-oxime with amines, amino acids, and alcohols. Ureides of betulonic acid containing *L*-Val and *L*-Met residues were found to be effective against herpes simplex type 1 virus. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2003, vol. 29, no. 6; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: antiviral activity; betulinic acid, isocyanates, carbamates, ureides; lupane triterpenoids