

## ОБЗОР

УДК 615.3:547

## ПРОИЗВОДНЫЕ БЕТУЛЕНОЛА КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ АНТИ-ВИЧ АГЕНТЫ

<sup>1</sup>А. Э. Абышев, <sup>2</sup>Р. А. Абышев, <sup>1</sup>В. Х. Нгуен, <sup>1</sup>В. А. Морозова<sup>1</sup>Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, Санкт-Петербург, Россия<sup>2</sup>Санкт-Петербургский Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, Санкт-Петербург, Россия

## BETULENOL DERIVATIVES AS POTENTIAL ANTI-HIV AGENTS

<sup>1</sup>A. Z. Abyshev, <sup>2</sup>R. A. Abyshev, <sup>1</sup>V. H. Nguyen, <sup>1</sup>V. A. Morozova<sup>1</sup>St.-Petersburg Chemical Pharmaceutical Academy, St.-Petersburg, Russia<sup>2</sup>Center for Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, St.-Petersburg, Russia

© Коллектив авторов, 2013 г.

В обзоре показаны важные достижения в исследовании анти-ВИЧ активности бетуленола, его природных и полусинтетических аналогов с 1993 г. Представлены наиболее перспективные структуры с мощными анти-ВИЧ свойствами. Обсуждены вопросы взаимосвязи «структура-активность» синтезированных производных. Освещены тенденции химической модификации бетуленола за последнее время в поиске анти-ВИЧ агентов на основании бетуленола, обобщены аспекты механизмов действия наиболее важных агентов. Тритерпеноиды — производные бетуленола — могут рассматриваться как ценные, эффективные анти-ВИЧ агенты нового поколения со специфическими механизмами действия.

**Ключевые слова:** бетулин, анти-ВИЧ, лупан, тритерпеноид.

In this review, the important advances in the study of anti-HIV activity of betulenol, its natural and semisynthetic analogues obtained since 1993 are described. The perspective structures with potent anti-HIV activity are demonstrated. The structure-activity relationships of the obtained compounds are discussed. The latest trends in the development of anti-HIV agents based on the chemical modification of betulenol are underlined. The mechanisms of action of the most important agents are summarized in the review. Betulenol derivatives should be considered as a new effective class of specific inhibitors of HIV.

**Key words:** betulin, anti-HIV, lupane, triterpenoid.

**Введение.** Процесс поиска новых эффективных средств против ВИЧ непрерывно развивается, чтобы улучшить анти-ВИЧ терапию и контролировать эпидемию ВИЧ/СПИДа. В течение почти 30 лет поиска на основе растительных ресурсов определены многочисленные активные лидеры, а именно **полициклические дионы, сапонины, алкалоиды, тритерпеноиды, полифенолы, флавоноиды и кумарины** [1, 2]. Среди этих классов тритерпеноиды, как наиболее крупная группа (больше 20 000 выделенных соединений) из всех терпеноидов, занимают особое место в связи с широким распространением и проявлением других ценных биологических свойств [3–5]. Уже в 1987 г., т. е. спустя 4 года после открытия ВИЧ, были сообщены первые сведения об анти-ВИЧ активности природного тритерпеноида олеанового ряда (глицирризина), выделенного из *Glycyrrhiza radix* (*Leguminosae*), и его синтетического аналога — гли-

цирризина сульфата [6]. На представителей лупанового ряда, как на анти-ВИЧ агенты, исследователи обратили внимание позже. Мощным стимулом данного направления считают работы трех групп авторов Научно-исследовательского центра Витри-Алфорда (Франция), Католического университета Левена (Бельгия) и Университета Северной Каролины (США) в 1993–1994 гг., когда впервые ими была обнаружена анти-ВИЧ активность природной бетуленоловой кислоты и ряда ее производных [7–10]. С этого момента и до сих пор многие ученые из разных стран (России, Индии, США, Китая, Японии, Финляндии и т. д.) интенсивно пытаются проводить на основе лупанового скелета различную химическую трансформацию для создания новых ценных лекарств, не только в качестве анти-ВИЧ препаратов, но и как противоопухолевых, противовоспалительных, гепатопротекторных, противовирусных, иммуномодулирую-

щих, антималярийных, антибактериальных, противопротозойных, противогрибковых, гипополипидемических и многих других средств [11–18].

Следует отметить, что ценность тритерпеноидов лупанового ряда заключается и в их доступности в природе, что выгодно для внедрения в фармацевтическую промышленность. Их родоначальником является бетуленол (бетулин, бетулинол, **1**) — основной компонент коры березы разных видов. Содержание бетуленола во внешней коре составляет до 35% от сухой массы, и в настоящее время его можно получить практически в любом количестве из отходной коры деревообработки березы [19, 20]. Бетуленоловая кислота (**2**) присутствует во многих растениях, ее количественно получают либо извлечением из этих природных источников, либо химическим путем из бетуленола [5, 21, 22]. Кроме того, из бетуленола легко получают с достаточно высоким выходом и другие важные производные-платформы (табл. 1), такие как бетуленоловая кислота (**3**), бетуленоловый альдегид (**4**), бетуленоловый альдегид (**5**), а также тритерпеноид олеанового ряда — аллобетуленол (аллобетулин) [23–25].

На сегодняшний день из синтетических производных бетуленола успешно разработан анти-ВИЧ препарат нового механизма действия — **Бевиримат**

ствия заключается в ингибировании расщепления капсидного прекурсора (CA-SP1 или p25) в зрелый капсид (CA или p24) и соединительный пептид 1 (SP1 или p2) [29, 30]. Тем не менее исследования последнего времени показали, что эффективность бевиримата была резко снижена из-за высокой резистентности вариантов ВИЧ-1, имеющих нативный генетический полиморфизм на месте связывания лекарства, которое локализуется около сайта расщепления CA-SP1 [31–34].

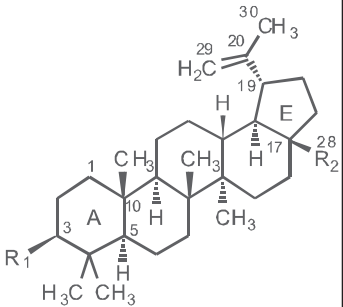
В результате химических превращений бетуленола найдены и другие весьма высокоактивные соединения против ВИЧ. При этом большинство активных соединений действуют на ВИЧ-1, наиболее распространенный тип в клинике, некоторые соединения — на HIV-2. Установлен ряд закономерностей взаимосвязи «структура-активность» полученных веществ. Также освещен механизм их действия, в том числе его зависимость от модифицируемого положения в скелете лупана.

Ведущие направления, отмеченные за последнее время в развитии тритерпеноидов — производных бетуленола, как анти-ВИЧ препаратов нового поколения:

1) дальнейшая химическая модификация структуры бевиримата;

Таблица 1

Структура важных платформ — производных лупана и бевиримата

 <p>пентациклический каркас лупана</p>	-R1	R2	Название соединения	№
		-OH	CH <sub>2</sub> OH	<b>Бетуленол</b> (луп-20(29)-ен-3β, 28-диол)
	-OH	COOH	Бетуленоловая кислота	<b>2</b>
	=O	COOH	Бетуленоловая кислота	<b>3</b>
	-OH	CH=O	Бетуленоловый альдегид	<b>4</b>
	=O	CH=O	Бетуленоловый альдегид	<b>5</b>
		COOH	<b>Бевиримат</b> (DSB, PA-457, MPC-4326, YK-FH312)	<b>6</b>

(DSB, PA-457, MPC-4326, YK-FH312, **6**), который проходит клинические испытания на пороге третьей фазы компанией Myriad Pharmaceuticals в США (а ранее был лицензирован компанией Panacos Pharmaceuticals, Inc.) [26–28]\_ENREF\_31. Бевиримат — первый препарат нового класса, так называемых ингибиторов созревания ВИЧ — эффективен в отношении различных штаммов вирусов, устойчивых к препаратам текущей терапии, в том числе AZT (азидотимидин, зидовудин). Его механизм дей-

2) улучшение растворимости в воде полусинтетических производных или их оральной биодоступности (сочетание с водорастворимыми фрагментами, формирование ионных солевых форм);

3) химическое комбинирование с другими антиретровирусными препаратами (AZT).

В мировой литературе существуют следующие обзорные работы (полностью или частично) по анти-ВИЧ активности производных бетуленола (бетуленоловой кислоты) [5, 11, 35–42].

**Перспективные соединения и направления химической модификации на основе бетуленола в поиске анти-ВИЧ агентов.** Исследования анти-ВИЧ активности тритерпеноидов лупанового ряда начинались в 1993–1994 гг., когда впервые открыли анти-ВИЧ-1 активность бетуленоловой (**2**) и платановой кислот, выделенных из листьев *Syzygium claviflorum*. Сама **2** умеренно подавляет

с  $TI > 200$  в клетках СЕМ-4, и  $EC_{50} = 0,045$  мкМ с  $TI > 200$  в клетках МТ-4) (рис. 1). **7** действует как антифузионный ингибитор [7–9].

Последующее интенсивное исследование модификаций **1** и **2** было ориентировано на функциональные группы при С-3 (гидроксильную), С-19 (изопропенильную) и С-28 (гидроксильную или карбонильную), а также на **кольцо А** лупанового скелета.

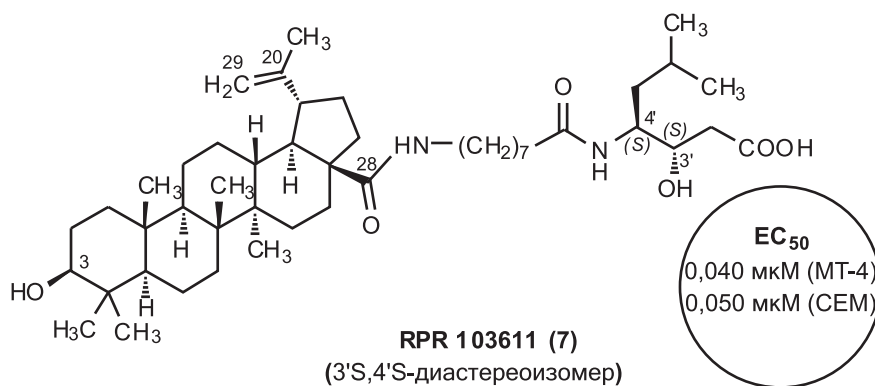


Рис. 1. Структура и анти-ВИЧ активность дипептида RPR 103611.

репродукцию ВИЧ-1 штаммов ПИВ в культуре клеток Н9-лимфоцитов с  $EC_{50} = 1,4$  мкМ и  $TI = 9,3$  ( $EC_{50}$ : полумаксимальная эффективная концентрация,  $TI$ : терапевтический индекс или индекс селективности ( $SI$ ), равный соотношению  $IC_{50}/EC_{50}$ ). Бетуленол (**1**) показывает слабую анти-ВИЧ активность с  $EC_{50} = 23$  мкМ и  $TI = 1,9$ , т. е. **1** в 16 раз менее активен, чем **2**. Это подтверждает важность наличия С-28 карбоксильной группы. Гидрирование несколько повышает активность, например, дигидробетуленоловая кислота имеет  $EC_{50} = 0,9$  мкМ

Группа авторов из Университета Северной Каролины [43] проводила эксперименты синтеза 3-О-ацильных производных **2** и их 20,29-гидрированных производных и открыла в 1996 г. соединение **6** (3β-О-(3',3'-диметилгемисукцинил)-бетуленоловая кислота, бевиримат), которое обладает чрезвычайно мощной анти-ВИЧ активностью: с  $EC_{50} < 3,5 \times 10^{-4}$  мкМ и  $TI > 20\,000$ , что можно сравнить с азидотимидином (см. рис. 2).

Ими установлено, что гидрирование двойной связи в большинстве случаев повышает токсичность

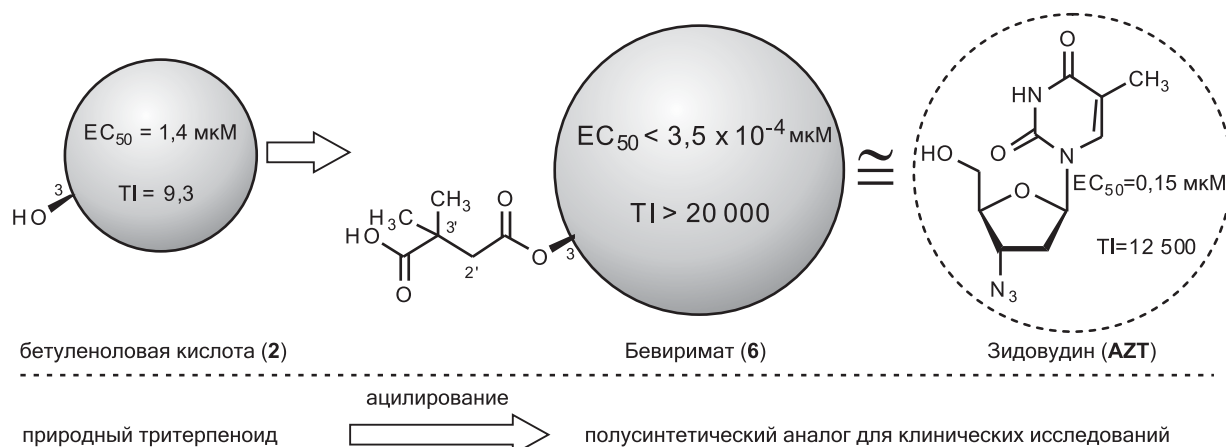


Рис. 2. Схематическое сравнение анти-ВИЧ активности бетуленоловой кислоты, бевиримата и AZT.

и  $TI = 14$  [17]. В это время также обнаружен дипептид **2** с ω-аминокислотой и статином (**RPR 103611**, **7**), проявляющий лучшую активность против ВИЧ-1 штаммов ПИВ/LAI ( $EC_{50} = 0,058$  мкМ

(дигидро-DSB (**8**)) имеет  $EC_{50} < 3,5 \times 10^{-4}$  мкМ и  $TI > 14\,000$ ) [10, 43]. Замещение гидроксильной группы в 3 положении ацил-группой с дополнительным кислотным остатком цепи 4–5 атомов повышает

ет активность и уменьшает токсичность (**6**, **8–13**). И наоборот, замещение ацил-группой с короткой цепью или без кислотной группы (ацетилом, кротонил, сульфонил и т. д.) приводит к уменьшению активности и увеличению токсичности (табл. 2).

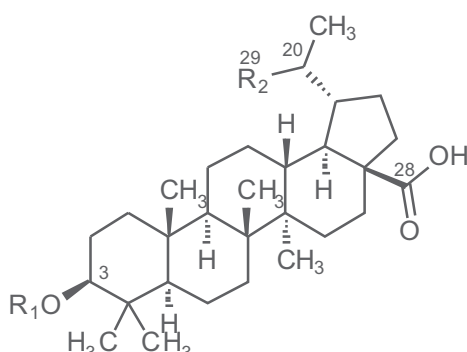
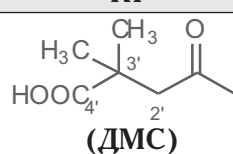
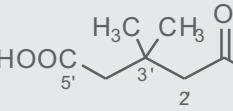
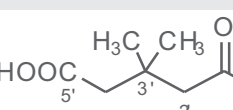
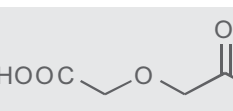
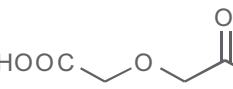
В 1996 г. двумя совместными группами авторов Научно-исследовательского центра Витри-Алфорда (компания Rhone-Poulenc Rorer S. A.— Франция) и Католического университета Левена (Бельгия) [44, 45] было выполнено систематическое изучение модификации кольца А,  $-C^{17}-COOH$  и  $-C^{30}H_3$

дию приводит к уменьшению анти-ВИЧ активности в 10 раз. 3-кето производная дает среднюю активность, а 3 $\beta$ -амино- 3 $\beta$ -метокси-, 3-дезоксид-, или 2-гидроксид- С-28 амидные производные совсем не активны. Другими словами, эти изменения кольца А не выгодны для анти-ВИЧ активности.

Кроме того, введение разных групп (гидроксил-, амино-, 2'-гидроксиэтилтио-, 1'-пирролидинил- и т. д.) в  $C^{30}$  положение не увеличивает активность. Следовательно, изопропенильный фрагмент оказывается оптимальным для анти-ВИЧ активности.

Таблица 2

Структура и анти-ВИЧ активность 3-О-ацильных производных **2**

		Анти-ВИЧ активность			№
R1-	-R2	EC <sub>50</sub> (мкМ)	IC <sub>50</sub> (мкМ)	TI	
 (ДМС)	-CH <sub>3</sub>	$<3,5 \times 10^{-4}$	4,9	>14 000	<b>8</b>
	=CH <sub>2</sub>	0,0023	4,5	1974	<b>9</b>
	-CH <sub>3</sub>	0,0057	5,8	1017	<b>10</b>
	=CH <sub>2</sub>	0,01	11,7	1172	<b>11</b>
	-CH <sub>3</sub>	0,0056	13,1	2344	<b>12</b>

Примечание: IC<sub>50</sub> — концентрация полумаксимального ингибирования, TI=IC<sub>50</sub>/ EC<sub>50</sub>.

групп. Был синтезирован ряд амидных (монопептидных) и дипептидных производных соединений **2** и **3**. Их результаты показывают важность присутствия гидроксильной группы у  $C^3$ , а именно с  $\beta$ -конфигурацией в проявлении анти-ВИЧ активности этих соединений. Так, эпитеризация в  $\alpha$ -конфигура-

Наконец, важную роль для сохранения анти-ВИЧ активности этих дипептидов играет амидная (пептидная) группа  $-C^{28}(NH-)=O$ . Превращение ее в образцовую амидную связь, сложноэфирную, метиламидо- или метиленамино-группу приводит к потере активности. Все полученные соединения не ингибиру-

ют ВИЧ-2. При поиске наилучшей длины С-28-амидной боковой цепи (с сохранением гидроксильной группы в С-3 положении, изопропенильной группы в положении С-19) авторы [44, 45] обнаружили, что оптимальным является 10 метилен-групп равно 10 для монопептидов, или 7+1 для дипептидов (соединения **13**) (см. рис. 3).

Авторы [44, 45] также изучали влияние объема второго (терминального) аминокислотного звена ди-

в -С<sup>28</sup>ООН группе на бензил-, 4-морфолилкарбок-си- или N,N-диметилкарбамил-групп приводит к уменьшению активности и увеличению токсичности.

На основании результатов предыдущих работ для 3β-О-(3',3'-диметилгемисукцинил)- и 3β-О-(2',2'-диметилгемисукцинил)-ловых эфиров **2** и дигидробетуленоловой кислоты, группа авторов Университета Северной Каролины [46, 47] синтезировали в 1998 г. ряд диацильных производных бетуленола.

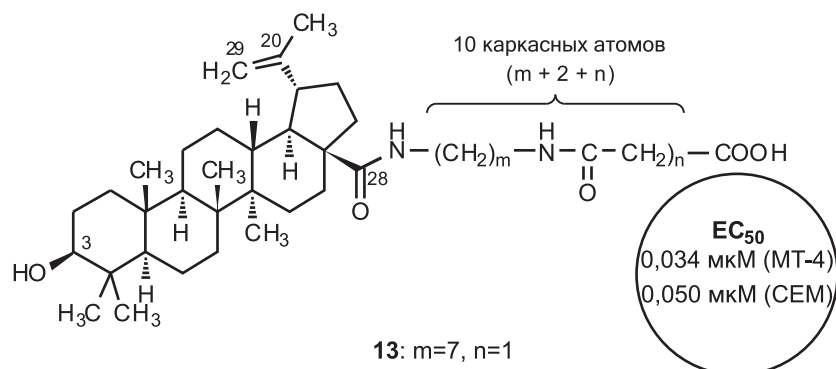


Рис. 3. Структура и активность обращенного дипептида бетуленоловой кислоты с оптимальной длиной С-28 боковой цепи (**13**).

пептидов на анти-ВИЧ активность. Показано, что, с одной стороны, присутствие фенильной группы во втором звене дипептида еще дает высокую анти-ВИЧ активность, а с другой — содержащиеся в нем объемные группы α-аминокислотного остатка уменьшают активность. Выявлено, что R-диастереоизомер соединения **7** — IC9564 (**14**) (второе аминокислотное звено имеет R-конфигурацию) — проявляет аналогичную мощную противовирусную активность как **7** (см. рис. 4).

Исходя из полученных результатов модификации ацилированием С<sup>3</sup>-ОН группы бетуленоловой и ди-

Показано, что 3,28-ди-О-ацильные производные оказались более активными, чем С<sup>3</sup>-моно- и С<sup>28</sup>-моноэфиры. Авторы нашли 5 перспективных соединений: **15**, **16**, **17**, **18** и **19**, которые обладают наилучшей активностью с наномолярным значением EC<sub>50</sub> и относительно низкой токсичностью (табл. 3). Результаты также подтверждают, что дигидро-производные более токсичны, а 3-кето-, 3,28-дигидроксиламино-, также 2,3-ен-производные являются неактивными соединениями против ВИЧ. Замещение С-3 и С-28 сложноэфирных групп **16** и **18** на аминогруппы значительно уменьшает активность.

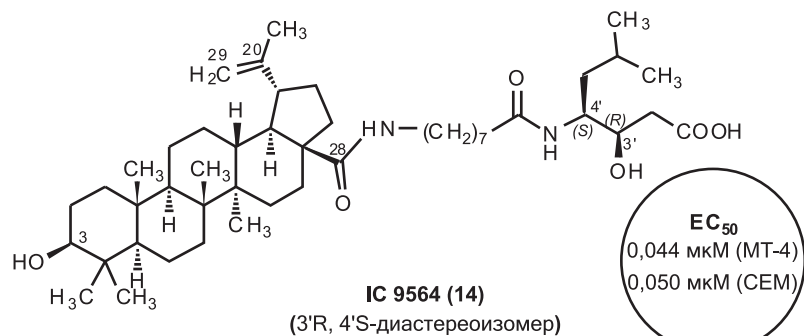


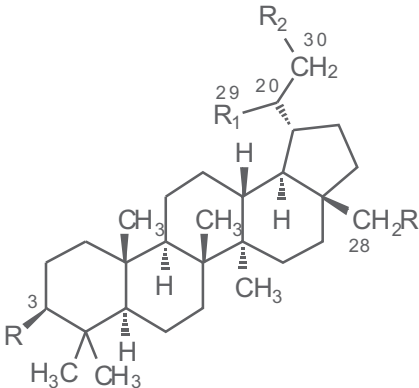
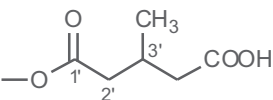
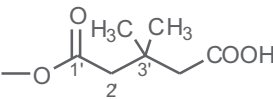
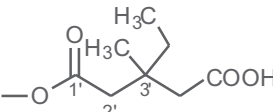
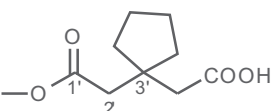
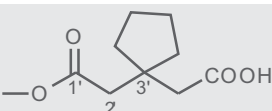
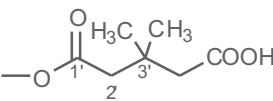
Рис. 4. Структура и активность R-диастереоизомера соединения **7** (IC9564, **14**).

гидробетуленоловой кислот, в 1997 г. авторы из Университета Северной Каролины [46] провели дополнительные изменения в -С<sup>28</sup>ООН. Также синтезировали некоторые их 3-кето-производные. Результаты исследования анти-ВИЧ активности на культуре клеток Н9 показали, что 3-кето-производные токсичны для клеток, замещение атома Н

В 2000 г. продолжали синтезировать ряд производных 3-алкиламида-3-дезоксид-бетуленоловой кислоты с использованием трех отобранных С-3 боковых цепей, как фармакофоров против ВИЧ, а именно, 3',3'-диметилгемисукцинил, 3',3'-диметилгемиглутарил и дигемигликолил. Полученные соединения показали весьма низкую анти-ВИЧ актив-

Таблица 3

Структура и анти-ВИЧ активность 3,28-ди-*O*-ацильных производных 1

			Анти-ВИЧ активность			№
-R	-R1	-R2	EC <sub>50</sub> (мкМ)	IC <sub>50</sub> (мкМ)	TI	
	=CH <sub>2</sub>	-H	0,0039	20,7	5308	<b>15</b>
	=CH <sub>2</sub>	-H	0,00066	14,2	21515	<b>16</b>
	=CH <sub>2</sub>	-H	0,0053	18,4	3476	<b>17</b>
	=CH <sub>2</sub>		0,0054	6,99	1190	<b>18</b>
	-CH <sub>3</sub>	-H	0,0047	10,6	2253	<b>19</b>

ность [49]. На основании этих фармакофорных групп также синтезировали ряд *C*-3 сложноэфирных производных других тритерпеновых кислот, кольцо *E* которых шестичленное (олеаноловой и урсоловой), и сравнили результаты исследования их активности с таковыми для аналогов бетуленоловой кислоты. Выяснили, что пятичленное кольцо *E* тритерпеновых каркасов и *C*-3 сложноэфирный фрагмент играют важную роль в проявлении анти-ВИЧ активности [50].

Позже, в 2001 г., авторы [51] синтезировали и успешно выделили методом ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография) четыре чистых продукта из легко изомер-образующей реакции бетуленола с 2,2-диметилгемисукциниловым ангидридом. Один из полученных изомеров — 3β-*O*-(3',3'-диметилгемисукцинат)-28-*O*-(2',2'-диметилгемисукцинат)-бетуленола (**20**) — обладал анти-ВИЧ

активностью с EC<sub>50</sub>=0,00087 мкМ, TI=42 400, сравнимой с активностью AZT (рис. 5).

В 2001 г. также отмечена работа группы российских ученых Института органической химии Уфимского научного центра РАН [52], в которой проведен анализ анти-ВИЧ активности 3,28-ди-*O*-никотинат бетуленола. Это диацильное производное бетуленола показывает средневыраженную анти-ВИЧ-1 активность по подавлению накопления вирусспецифического белка p24 (EC<sub>50</sub>=0,02 мкг/мл, TI>1000), но не оказывает при этом защитного действия на клетки.

Исходя из результатов, полученных группой авторов центра Витри-Алфорда (**6** и **14**), в 2002 г. авторы из Университета Северной Каролины [53] провели модификацию на двойной связи соединения **14** и попытались заменить статин-остаток этого соединения. Показано, что гидрирование двойной связи изопропенильной группы приводит к незначительному повышению анти-ВИЧ активности,

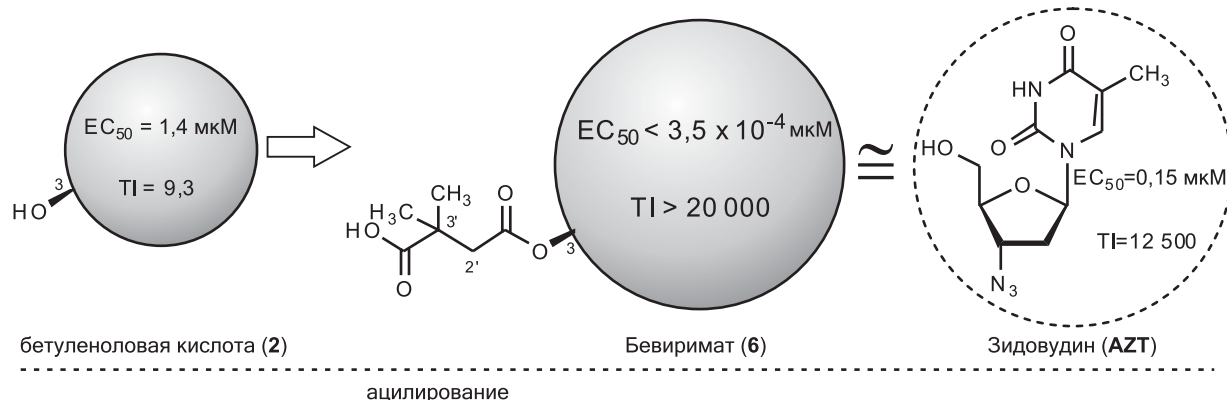


Рис. 5. Схематическое сравнение анти-ВИЧ активности 1, 20 и AZT.

дипептидные производные оказываются более активными, чем монопептидные. Можно заменить статин-остаток на *L*-лейцин, сохраняя эффекты, причем важную роль для проявления активности играет число метиленовых групп в *C*-28 боковой цепи.

Предполагая необходимость добавления ацильной группы к 3-*O*-положению молекулы бетуленола для проявления анти-ВИЧ активности, в 2004 г. авторы из Университета Северной Каролины [53] продолжили синтезировать еще некоторые 3-*O*-моноациль-

ные производные бетуленола и дигидробетуленола (23–27) (табл. 4). Показано, что гидрирование двойной связи изопропенильной группы 3-*O*-моноацильных производных бетуленола приводит к значительному повышению как анти-ВИЧ активности, так и терапевтического индекса. Наиболее активным среди полученных соединений является 3β-*O*-глутарат дигидробетуленола (27), который превышает AZT по потенциалу активности (в более 300 раз) и по TI (в 3,7 раза).

Таблица 4

Структура и анти-ВИЧ активность 3-*O*-моноацильных производных 1

			Анти-ВИЧ активность			№
R-	R1-	-R2	EC <sub>50</sub> (мкМ)	IC <sub>50</sub> (мкМ)	TI	
 (ДМС)	-H	=CH <sub>2</sub>	0,0056	33,46	5974	23
	-H	=CH <sub>2</sub>	0,0044	28,9	6568	24
 ДМС	-H	-CH <sub>3</sub>	0,0017	26,99	16 160	25
	-H	-CH <sub>3</sub>	0,0013	25,69	19 530	26
	-H	-CH <sub>3</sub>	2×10 <sup>-5</sup>	23,59	1,12×10 <sup>6</sup>	27
			0,0062	1873	302 096	AZT

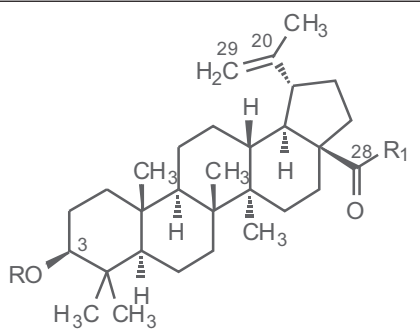
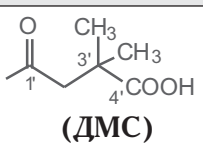
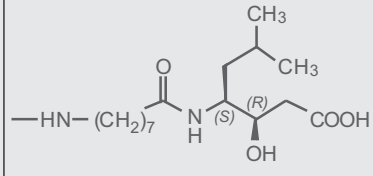
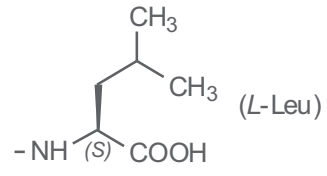
Примечание: исследовано на культуре клеток Н9.

Полученные результаты по механизму действия позволяют предложить, что производные **2** с С-28 боковой цепью (например, **IC 9564**) эффективно предотвращают вхождение ВИЧ-1 внутрь клетки человека, а модифицированные при С-3-положении соединения (например, **DSB**) действуют как ингибиторы созревания ВИЧ-1 на поздней стадии репликации. В 2004 г. авторы медицинского центра Университета Дьюка (США) и медицинского института Университета Вандербильта (Теннесси) [55] синтезировали и исследовали анти-ВИЧ активность двух соединений, так называемых бифункциональных ингибиторов ВИЧ, содержащих в своей структуре одновременно два фармакофорных фраг-

ментными производными (табл. 5). Наличие параллельных двух боковых цепей в положении 3 и положении 28 лупанового скелета позволяет им обладать двойным механизмом действия. Кроме того, **28** и **29** подавляют не только ИП-, ИОТ-устойчивые ВИЧ-1, но и штаммы, устойчивые к С-3 или С-28 монозамещенным производным (данные не представлены авторами). Данная биологическая особенность производных **2** является мощным потенциалом для синтеза новых бифункциональных молекул при борьбе с мультилекарственной резистентностью ВИЧ, которая часто развивается в практической анти-ВИЧ терапии.

Таблица 5

Структура и анти-ВИЧ активность моно- и бифункциональных производных **2**

		Анти-ВИЧ активность EC50 (мкМ)			№
R-	R <sub>1</sub>	NL4-3	ИП-Р	ИОТ-Р	
 <b>ДМС</b>	-OH	0,096	1,71	0,085	<b>6</b> <b>DSB</b>
-H		0,11	0,12	0,093	<b>14</b> <b>IC 9564</b>
<b>ДМС</b>	 (L-Leu)	0,016	0,049	0,019	<b>28</b> <b>LH 15</b>
<b>ДМС</b>	-HN-(CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> -COOH	0,0065	0,032	0,01	<b>29</b> <b>LH 55</b>

Примечание: ИП-Р — штаммы ВИЧ-1, резистентные к ингибиторам протеазы, ИОТ-Р — штаммы ВИЧ-1, резистентные к ингибиторам обратной транскриптазы.

мента (диметилгемисукцинил и амидная боковая цепь) на скелете **2**. В результате получили **LH15** (**28**) и **LH55** (**29**) с превосходящей анти-ВИЧ активностью по сравнению с исходными монозаме-

Клинические испытания **6** (Бевиримата) начались с 2006 г. компанией Myriad Pharmaceuticals в США [56]. Тем не менее исследования последнего времени показали, что эффективность



бевиримата была резко снижена из-за высокой резистентности вариантов ВИЧ-1, имеющих нативный генетический полиморфизм на месте связывания лекарства, которое локализуется около сайта расщепления SA-SP1 [33, 34]. Ведущие направления, отмеченные за последнее время в развитии три-терпеноидов — производных бетуленолола, как анти-ВИЧ препаратов нового поколения, включают следующие:

- дальнейшая химическая модификация на основании структуры бевиримата;
- химическое комбинирование с другими антиретровирусными препаратами;
- улучшение растворимости в воде полусинтетических производных или их оральной биодоступности.

#### **Дальнейшая химическая модификация на основании структуры бевиримата**

В продолжение направления по получению бифункциональных производных бетуленоловой кислоты, в 2006 г. авторы [57, 58] систематически синтезировали еще ряд С-28-амидных производных бевиримата и оценивали их анти-ВИЧ (штаммы NL4-3) активность на культуре клеток MT4. Авторы получили оптимальное число метиленовых групп для первого аминокислотного звена обращенных пептидов —  $n = 7$  или  $8$ . Также нашли соединение **30** (регистрированное под названием **A43-D**), не содержащее ацильного остатка в 3 положении, но имеющее потенциальную активность против ВИЧ-1, сравниваемую с активностью его родоначальников **IC 9564** и **DSB**. **30** не проявляет анти-ВИЧ-2 активность. Другие активные С-28-амидные производные бевиримата синтезированы в работах [59, 60] (см. табл. 6).

Изучая взаимосвязь структураактивность (SAR) бевиримата и других 3-О-ацил-бетуленоловых кислот, авторы [61] предположили, что правильная длина, терминальная карбоновая кислота и 3',3'-диметилзамещение в боковой цепи при С-3 участвуют в расширении анти-ВИЧ активности. Чтобы определить, какая стереохимическая 3'-метиленная группа более способствует анти-ВИЧ активности, авторы синтезировали ряд производных 3β-О-(3'-монометилгемисукцинил)-бетуленоловой кислоты и исследовали влияние этих метиленных групп на анти-ВИЧ активность. 3-О-3'S-метилсукцинил-бетуленоловая кислота (**36**) проявляет мощную анти-ВИЧ активность с  $EC_{50} = 0,0087$  мкМ и  $TI = 6,3 \times 10^3$ , что сопоставимо с данными для бевиримата (**6**). Анти-ВИЧ активность **36** была немного лучше, чем активность AZT. Его 3'R-изомер (**37**) и рацемат показывают гораздо более низкие значения активности (табл. 6). Эти результаты показывают, что 3'S-метил группа

С-3 боковой цепи является основным вкладом в анти-ВИЧ активность **6**, в то время как 3'R-метил группа играет незначительную роль, хотя и нужна для активности.

Для преодоления лекарственной резистентности в работе [62] были синтезированы 28 новых производных **6** и испытаны на устойчивость по отношению к 7-резистентным (BVM-R) ВИЧ-1 вариантам. Среди них соединение **38** обладало более высокой активностью против нескольких штаммов ВИЧ-1 при проведении BVM-R полиморфизмов (табл. 7). Соединение **38** было по крайней мере в 20 раз более мощным, чем **6**, против репликации NL4-3/V370A, которая осуществляет наиболее распространенные клинические BVM-R полиморфизмы ВИЧ-1 Gag-SP1. Таким образом, соединение **38** заслуживает дальнейшего развития в качестве потенциального анти-ВИЧ препарата.

#### **Химическое комбинирование с другими антиретровирусными препаратами**

Данное направление также дает перспективы для улучшения анти-ВИЧ активности. Например, был получен ряд соединений с анти-ВИЧ активностью, превышающей таковую **6** [63, 64]. Конъюгаты проявляют мощную анти-ВИЧ активность в субмикромольном уровне, их  $EC_{50}$  значения в диапазоне от 0,040 до 0,098 мкМ в ВИЧ-1 NL4-3 инфицированных клетках MT4 (табл. 8).

#### **Улучшение растворимости в воде полусинтетических производных или их оральной биодоступности (сочетание с водорастворимыми фрагментами, формирование ионных солевых форм)**

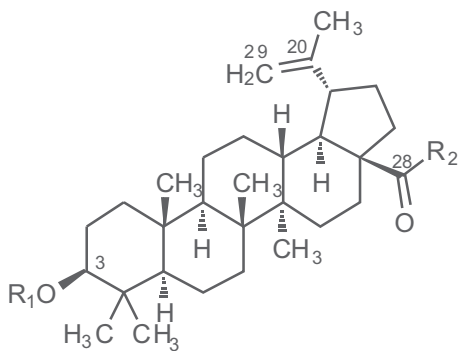
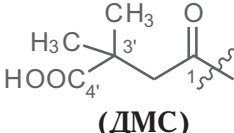
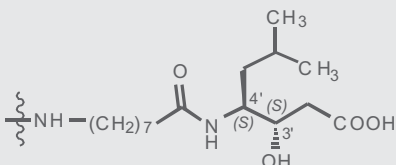
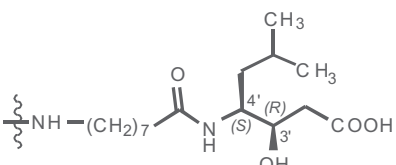
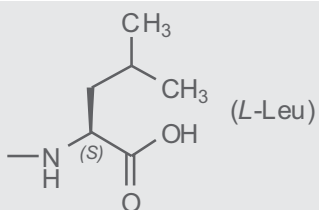
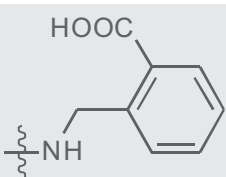
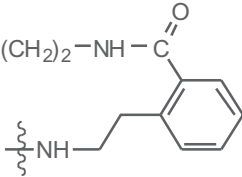
В направлении улучшения водорастворимости исследователи фарм. компании Murexix, Inc. [65] успешно приготовили солевые формы бевиримата, а именно ди-N-метил-D-глюкамина (NmG), динатриевую и дикалиевую. Ими также разработаны разные лекарственные формы этих фармацевтически доступных солей и изучены фармакокинетические параметры на крысах (табл. 9).

Данные показали, что водорастворимость всех трех солей DSB значительно выше, чем свободной кислоты (около 100 мкг/мл), причем в 10% растворе гидроксид-β-циклодекстрина и воды соль DSB-(NmG)<sub>2</sub> явно более растворима, чем динатриевая и дикалиевая формы. Соль NmG имеет наиболее высокую биодоступность (49,3–71,7%), и, следовательно, является мощным ингибитором репликации ВИЧ-1 *in vivo*.

По улучшению водорастворимости также отмечена работа [66], в которой подготовили три новых ионных производных бетуленоловой кислоты и ее амида на основе иных органических оснований — холина и бензалкония. Водорастворимость холино-

Таблица 6

**С-3-сложноэфирные производные бетуленовой кислоты и ее амида  
с высокой активностью против ВИЧ [2, 18]**

		Анти-ВИЧ активность		№
R <sub>1</sub> -	-R <sub>2</sub>	EC <sub>50</sub> (мкМ)	TI	
 (ДМС)	-OH	0,00035 0,0013 0,011	>20 000	<b>6</b>
H		0,05–2,0		<b>7</b> (RPR103611)
H		0,053		<b>14</b> (IC9564)
ДМС	 (L-Leu)	0,0065		<b>28</b> (LH15)
ДМС	-HN-(CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> -COOH	0,016	667	<b>29</b> (LH55)
H	-HN-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -NH-COCH <sub>3</sub>	0,047		<b>30</b> (A43-D)
ДМС	-HN-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -NH-COCH <sub>3</sub>	0,0026		<b>31</b>
ДМС		0,006		<b>32</b>
ДМС		0,003		<b>33</b>

Окончание таблицы 6

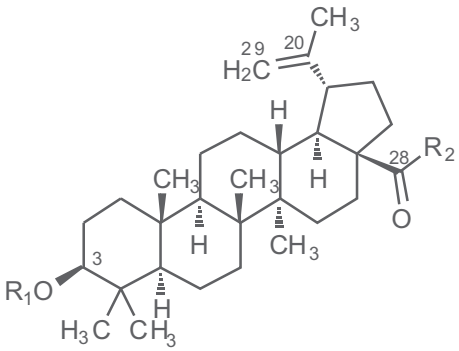
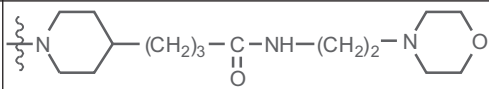
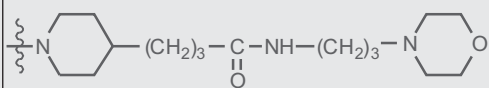
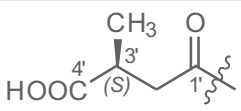
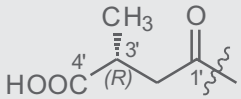
		Анти-ВИЧ активность		№
R1-	-R2	EC <sub>50</sub> (мкМ)	TI	
ДМС		0,007		34
ДМС		0,006		35
	-OH	0,0087		36
	-OH	0,12		37

Таблица 7

## Сравнение активности 6 и 38 против ВИЧ-1 штаммов, устойчивых к 6

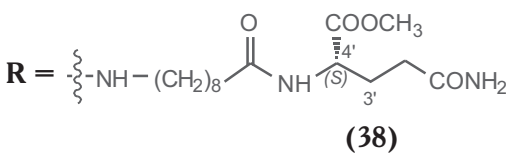
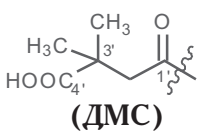
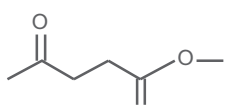
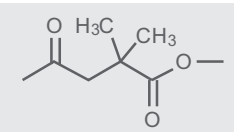
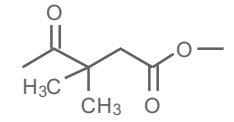
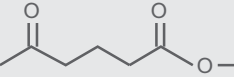
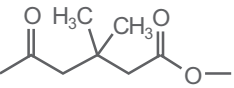
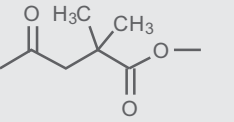
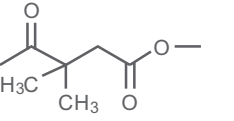
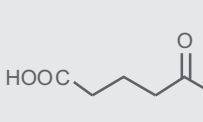
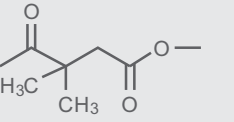
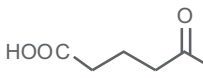
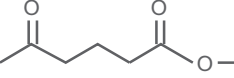
Штаммы ВИЧ	Активность (EC <sub>50</sub> , мкМ)	
	R= OH (6, бевиримат)	R =  (38)
NL4-3	0,076	0,008
NL4-3/V370Δ	>6,8	0,32
NL4-3/V370A	>6,8	0,158
NL4-3/T371Δ	>6,8	0,067
NL4-3/V362I	>6,8	0,016

Таблица 8

## Активные конъюгаты производных бетуленолола с AZT

R-	R <sub>1</sub> -	-R <sub>2</sub>	Активность			№
			EC <sub>50</sub> (мкМ)	IC <sub>50</sub> (мкМ)	TI	
 (ДМС)		=CH <sub>2</sub>	0,045	7,1	158	<b>39</b>
ДМС		=CH <sub>2</sub>	0,098	7,0	71	<b>40</b>
ДМС		=CH <sub>2</sub>	0,040	5,4	135	<b>41</b>
ДМС		=CH <sub>2</sub>	0,060	8,7	145	<b>42</b>
ДМС		=CH <sub>2</sub>	0,063	8,1	129	<b>43</b>
ДМС		-CH <sub>3</sub>	0,087	9,0	103	<b>44</b>
ДМС		-CH <sub>3</sub>	0,056	7,7	138	<b>45</b>
		-CH <sub>3</sub>	0,073	8,0	110	<b>46</b>
		-CH <sub>3</sub>	0,093	9,0	97	<b>47</b>
			0,096	>5	>52	<b>6</b>
			0,027	>37,4	>1385	<b>AZT</b>

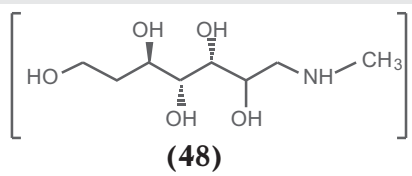
вой соли бетуленоловой кислоты (**51**) выше более чем в 100 раз по сравнению с этим значением исходной бетуленоловой кислоты (**2**). Стоит обратить внимание на то, что наблюдалось линейное увеличение анти-ВИЧ активности полученных соединений в зависимости от их водорастворимости, например, **51** (EC<sub>50</sub>=40 мкМ) лучше ингибирует обратную транскриптазу, чем **2** (EC<sub>50</sub>=130 мкМ), в три раза. Эти предварительные данные свидетельствуют о высоком потенциал ионных производных бетуленоловой кислоты при поиске препаратов с мультимеханизмами действия для терапии ВИЧ-инфекции.

**Механизм действия.** Любое звено цикла репликации ВИЧ может быть мишенью лекарственной терапии (рис. 6): обратная транскриптаза, протеаза и интегразы, а также белки оболочки и рецепторы на поверхности Т-лимфоцитов.

По механизму действия производные бетуленоловой кислоты относятся к классу специфических ингибиторов ВИЧ-1: мишени действия данных соединений заметно зависят от модифицируемого положения в нативном скелете лупана, а также структур добавляемой боковой цепи соединений (табл. 10) [36, 45].

Таблица 9

**Фармакокинетические показатели в плазме крови крыс при пероральном введении различных форм бевиримата в однократной дозе 25 мг/кг**

Формы	Доза, мг/кг	Смакс, мкг/мл	AUC, мкг·ч/мл	F	
DSB (Бевиримат)	24,54	1,32	6,05 (0–12 ч)	6,07	а
DSB ·  (48)	18,15	11,4	54,3 (0–12 ч)	49,3	б
	20,48	13,7	88,9 (0–12 ч)	71,7	в
DSB · K <sub>2</sub> (49)	19,87	7,28	44,1 (0–24 ч)	37,0	г
DSB · Na <sub>2</sub> (50)	20,22	11,0	39,1 (0–12 ч)	31,9	д

Примечания: а — 25 мг/мл свободной формы бевиримата в 96% Captex 200, 4% витамина Е ТPGS; б — 41,7 мг/мл соли DSB-(NmG)<sub>2</sub> в 84% воды, 4% этанола, 10% PEG 400, 2% витамина Е ТPGS (эквивалентно 25 мг/мл свободной формы бевиримата); в — 41,7 мг/мл соли DSB-(NmG)<sub>2</sub> в 10% гидрокси-в-циклодекстрине и воде (эквивалентно 25 мг/мл свободной формы бевиримата); г — 28,3 мг/мл соли DSB-K<sub>2</sub> в 10% гидрокси-в-циклодекстрине и воде (эквивалентно 25 мг/мл свободной формы бевиримата); д — 13,5 мг/мл соли DSB-Na<sub>2</sub> в 10% гидрокси-в-циклодекстрине и воде (эквивалентно 25 мг/мл свободной формы бевиримата).

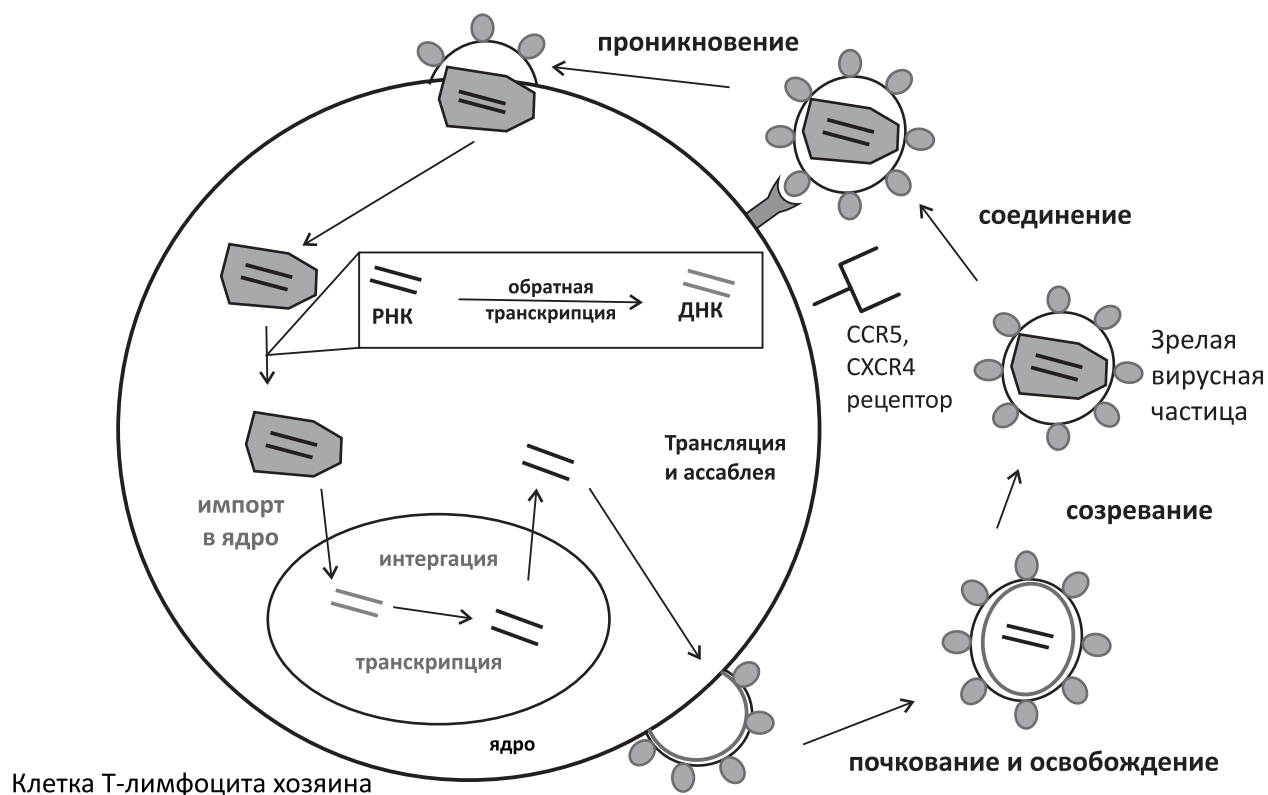


Рис. 6. Цикл репликации ВИЧ-1.

**Производные бетуленолола как ингибиторы входа (проникновения) ВИЧ.** Механизм анти-ВИЧ действия бетуленоловой кислоты и ее производных связан с блокированием стадии слияния внешней оболочки вируса с клеточной мембраной, т. е. они активны на ранних стадиях репликационного цикла ВИЧ, и это обстоятельство выгодно отличает их от веществ нуклеозидной природы, непо-

средственно влияющих на репликационные процессы нуклеиновой кислоты вируса [9, 40].

Изучение механизма действия эфиров бетуленоловой кислоты показало, что соединения ингибируют стадию проникновения вируса в клетку, но не ингибируют обратную транскриптазу и интегразу ВИЧ-1 [40].

Модифицированные при С-28 производные бетуленоловой кислоты (соединения RPR103611,

Таблица 10

**Зависимость механизма действия тритерпеноидов от типа химической модификации нативного скелета лупана**

Тип модификации лупанового скелета	Представитель	Класс	Мишень действия
C-28	RPR103611 (7), IC9564 (14)	Ингибиторы проникновения ВИЧ	gp120
C-3	Бевиримат (6)	Ингибиторы созреваения ВИЧ	CA-SP1
C-3 и C-28	LN15 (28), LN55 (29)	Двойные ингибиторы	gp120 и CA-SP1
Солеобразование	51 (холиновая соль 2)	Ингибиторы протеазы	Протеаза

IC9564 и A43D) действуют как ингибиторы проникновения ВИЧ-1. Механизм данных веществ заключается в изменении конформации комплекса гликопротеинов gp120/gp41, тем самым происходит ингибирование слияния вирусных частиц с клетками хозяина на стадии проникновения [36].

В работе [67] отмечены некоторые активные соединения в отношении ВИЧ-2 в наномолярной концентрации. Данные соединения блокируют ВИЧ-2 репликации путем воздействия на петли V3 поверхностного гликопротеина gp120.

#### **Ингибиторы обратной транскриптазы**

По данному механизму большинство тритерпеноидов лупанового ряда являются неактивными. Недавно отмечена работа авторов [68], в которой 4 лупановых тритерпеноида (в том числе 1 и 2) проявляют себя в качестве слабых ингибиторов обратной транскриптазы ВИЧ с EC<sub>50</sub>=16,3–116,9 мкг/мл.

**Производные бетуленолола как ингибиторы ВИЧ-1 протеазы.** Протеаза ВИЧ-1 — необходимый фермент для жизненного цикла ВИЧ — состоит из двух идентичных полумолекул, а при их слиянии образуется активная молекула. По данным [69] 3-О-(3',3'-диметил)-гемиглутарат бетуленоловой кислоты ингибирует протеазу ВИЧ-1 (IC<sub>50</sub>=4 мкМ).

Как сказано выше, в работе [66] сообщается о способности к ингибированию ВИЧ-1 протеазы ионных производных бетуленоловой кислоты.

**Производные бетуленолола как ингибиторы созреваения ВИЧ.** Созревание (или матурация) вирусных частиц происходит непосредственно после их освобождения от инфицированных клеток. Модифицированные при C-3 вместо C-28 производные бетуленоловой кислоты являются ингибиторами созреваения, которые отличаются от ингибиторов, применяемых в современной анти-ВИЧ терапии. Типичным примером является препарат бевиримат — первое средство из класса ингибиторов созреваения ВИЧ.

Бевиримат — ингибитор созреваения ВИЧ, механизм которого заключается в предотвращении расщепления прекурсора капсида CA-SP1 (p25) Gag на зрелый капсидный белок (CA, p24) и спейсерный

пептид 1 (SP1, p2). Это препятствует образованию вирусных частиц, способных заражать другие клетки (рис. 7). Бевиримат также ингибирует вирусную ассамблею при отсутствии ВИЧ-протеазы [36].

По данным [70, 71] соединения, полученные при дополнительном аминировании положения C-3 модифицированных производных бетуленолола, рассматриваются как ингибиторы созреваения ВИЧ-инфекции.

**Бифункциональные производные бетуленоловой кислоты с удвоенным механизмом действия.** C-3 боковая цепь производных бетуленоловой кислоты (2) — фармакофор для ингибирования созреваения ВИЧ, в то время как боковая цепь C-28 — фармакофор для ингибирования проникновения вируса. Соединения LN15 и LN55 являются серией производных 2, которая включает оба фармакофора в одну молекулу. DSB и IC9564 — мощные монофункциональные производные 2, а соединение LN15 с бифункциональными группами имеет идентичные соединениям IC9564 и DSB боковые цепи в C-28 и в C-3 соответственно, и обладает более мощным анти-ВИЧ действием, чем любое моносоединение, содержащее функциональную группу (см. табл. 5).

Антифузионная активность LN15 или LN55 позволяет блокировать ВИЧ-1, прежде чем вирусы попадают в клетку, а вирусам, которые переживают эту блокаду, придется столкнуться с антисозревающей активностью этих соединений. Так как молекулярные мишени этих бифункциональных производных бетуленоловой кислоты отличаются от применяемых в клинике анти-ВИЧ-1 лекарств, вполне возможно, что LN15, LN55 или их подобные производные могут иметь потенциал, чтобы стать полезным дополнением к текущей терапии ВИЧ-инфекции [36].

**Заключение.** Таким образом, исходя из исходных природных соединений бетуленолола (1) и бетуленоловой кислоты (2) с относительно низкой анти-ВИЧ активностью, путем их химической модификации обнаружили ряд высокоактивных соединений. К наиболее перспективным полусинтетическим производным ряда лупана относятся амиды, дипептиды и сложные эфиры бетуленоловой, бетуленоловой кислот.

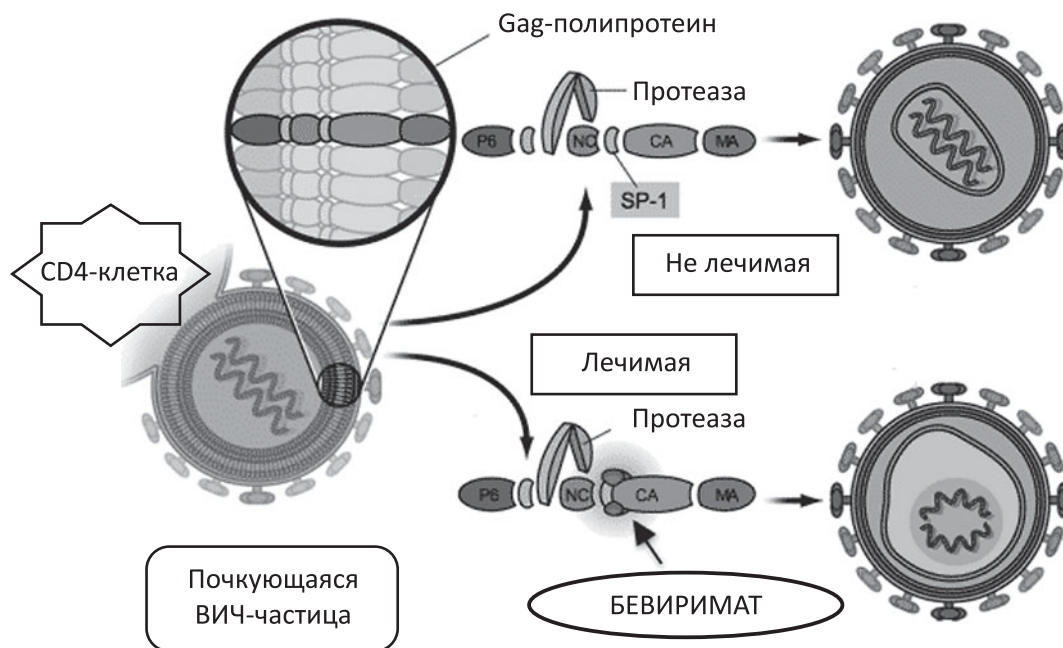


Рис. 7. Молекулярные механизмы действия бевиримата [18].

Установлены следующие важные закономерности по взаимосвязи «структураанти-ВИЧ активность».

1. Нативное кольцо А скелета бетуленола (циклогексан с  $3\beta$ -гидроксильной группой) является необходимым, модификация этого кольца А ( $3\alpha$ -гидрокси-,  $3$ -кето-,  $3$ -алкиламидо- $3$ -дезоксид-,  $3$ -амино-,  $2,3$ -ен-,  $2,3$ -дикето,  $2$ -гидрокси-) не выгодна для получения высокоактивных агентов. При этом  $C-3$  сложноэфирные боковые цепи, содержащие 4–5 каркасных атома с  $3'$ -метил-группой, значительно повышают активность.

2. Нативная изопропенильная группа, соединенная к пятичленному кольцу Е бетуленола и бетуленоловой кислоты, также оптимальна для проявления анти-ВИЧ активности. Ее дигидрирование приводит к повышению токсичности. Присоединение к  $C-30$  разных групп не повышает активности.

3. Все высокоактивные соединения имеют в своей структуре как минимум одну свободную терминальную карбоксильную группу.

Многие полусинтетические аналоги являются весьма мощными ингибиторами ВИЧ со специфическими механизмами действия. При этом большинство активных соединений действуют на ВИЧ-1, наиболее распространенный тип в клинике, некоторые соединения — на ВИЧ-2. **Бевиримат** был выбран для дальнейшего клинического испытания.

С учетом того, что лупановые тритерпеноиды представляют большой интерес и для доклинических и клинических исследований в отношении широкого спектра злокачественных новообразований [72–75], родоначальные структуры природного происхождения лупана (**1**, **2**, **3**) являются уникальными объектами для медицины и фармации. Продолжение синтеза и испытаний биоактивности тритерпеноидов лупанового ряда является весьма перспективным для создания новых высокоэффективных лекарственных средств, в том числе анти-ВИЧ. Дальнейшее развитие исследований тритерпеноидов — производных бетуленола, несомненно, актуально не только в России, но и за рубежом.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Buss A. D., Butler M. S. Natural Product Chemistry for Drug Discovery (RSC Biomolecular Sciences).— Cambridge (UK): The Royal Society of Chemistry, 2010.— 458 p.
2. Абышев А. Э., Абышев Р. А., Гадзиковский С. В. и др. Противовирусная активность соединений кумаринового ряда (Часть 1) // Вич-инфекция и иммуносупрессия.— 2013.— Т. 5, № 1.— С. 34–41.
3. Dzubak P., Hajdich M., Vydra D. et al. Pharmacological activities of natural triterpenoids and their therapeutic implications // Nat. Prod. Rep.— 2006.— Vol. 23, № 3.— P. 394–411.
4. Jager S., Trojan H., Kopp T. et al. Pentacyclic triterpene distribution in various plants — rich sources for a new group of multi-potent plant extracts // Molecules.— 2009.— Vol. 14, № 6.— P. 2016–2031.

5. Kuo R. Y., Qian K., Morris-Natschke S. L. *et al.* Plant-derived triterpenoids and analogues as antitumor and anti-HIV agents // *Nat. Prod. Rep.*— 2009.— Vol. 26, № 10.— P. 1321–1344.
6. Sun I. C., Kashiwada Y., Morris-Natschke S. L. *et al.* Plant-derived terpenoids and analogues as anti-HIV agents // *Curr. Top Med. Chem.*— 2003.— Vol. 3, № 2.— P. 155–169.
7. Dereu N., Evers M., Soler F. *et al.* Structure — activity relationships of novel triterpene derivatives: a new class of potent anti-HIV 1 agents with an original mode of action // IX<sup>th</sup> International Conference on AIDS.— Berlin, 1993.— abstract № PO-A13–0568.— P. 229.
8. Mayaux J. F., Bousseau A., Pauwels R. *et al.* Biological activity and novel mechanism of original triterpene derivatives, a new class of potent anti-HIV1 agents // IX<sup>th</sup> International Conference on AIDS, 1993.— abstract № WS- A17–3.— P. 33.
9. Mayaux J. F., Bousseau A., Pauwels R. *et al.* Triterpene derivatives that block entry of human immunodeficiency virus type 1 into cells // *Proc Natl Acad Sci USA.*— 1994.— Vol. 91, № 9.— P. 3564–3568.
10. Fujioka T., Kashiwada Y., Kilkuskie R. E. *et al.* Anti-AIDS agents, 11. Betulinic acid and platanic acid as anti-HIV principles from *Syzgium claviflorum*, and the anti-HIV activity of structurally related triterpenoids // *J. Nat Prod.*— 1994.— Vol. 57, № 2.— P. 243–247.
11. Cichewicz R. H., Kouzi S. A. Chemistry, biological activity, and chemotherapeutic potential of betulinic acid for the prevention and treatment of cancer and HIV infection // *Medicinal Research Reviews.*— 2004.— Vol. 24, № 1.— P. 90–114.
12. Mukherjee R., Kumar V., Srivastava S. K. *et al.* Betulinic acid derivatives as anticancer agents: structure activity relationship // *Anticancer Agents Med. Chem.*— 2006.— Vol. 6, № 3.— P. 271–279.
13. Yli-Kauhaluoma J., Alakurtti S., Vuorela P. *et al.* Betulin derived compounds useful as antiviral agents // Finnish Patent № WO/2007/141390, 2007.
14. Yli-Kauhaluoma J., Alakurtti S., Minkkinen J. *et al.* Betulin derived compounds useful as antiprotozoal agents // US Patent Application № 2010190795A1, 2010.
15. Yi J. E., Obminska-Mrukowicz B., Yuan L. Y. *et al.* Immunomodulatory effects of betulinic acid from the bark of white birch on mice // *J. Vet Sci.*— 2010.— Vol. 11, № 4.— P. 305–313.
16. Alakurtti S., Bergstrom P., Sacerdoti-Sierra N. *et al.* Anti-leishmanial activity of betulin derivatives // *J. Antibiot (Tokyo).*— 2010.— Vol. 63, № 3.— P. 123–126.
17. Saxena B. B., Rathnam P. Betulinol derivatives as anti-hiv agents // US Patent № 8008280, 2011.
18. Saxena B. B., Rathnam P. Betulinol derivatives as anti-cancer agents // US Patent № 8088757, 2012.
19. Krasutsky P. A. Birch bark research and development // *Nat. Prod. Rep.*— 2006.— Vol. 23, № 6.— P. 919–942.
20. Sarek J., Svoboda M., Hajduch M. Method of preparation and isolation of betulin diacetate from birch bark from paper mills and its optical processing to betulin // US Patent № 8093413B2, 2012.
21. Абышев А. Э., Агаев Э. М., Гусейнов А. Б. Исследование химического состава экстракта коры березы *Cortex betula* сем. *Betulaceae* // *Химико-фармацевтический журнал.*— 2007.— Т. 41, № 8.— С. 22–26.
22. Козай Т. И., Кузнецов Б. Н. Способ получения бетулиновой кислоты // Патент РФ № 2305106, Бюл. № 24, 27.08.2007.
23. Курбатов Е. С., Коструб В. В., Курбатов С. В. Синтез производных бетулонового альдегида // *Химия растительного сырья.*— 2011.— № 3.— С. 81–83.
24. Melnikova N., Burlova I., Kiseleva T. *et al.* A practical synthesis of betulonic acid using selective oxidation of betulin on aluminium solid support // *Molecules.*— 2012.— Vol. 17, № 10.— P. 11849–11863.
25. Dehaen W., Mashentseva A. A., Seitembetov T. S. Allobetulin and its derivatives: synthesis and biological activity // *Molecules.*— 2011.— Vol. 16, № 3.— P. 2443–2466.
26. Martin D. E., Blum R., Wilton J. *et al.* Safety and pharmacokinetics of Bevirimat (PA–457), a novel inhibitor of human immunodeficiency virus maturation, in healthy volunteers // *Antimicrob Agents Chemother.*— 2007.— Vol. 51, № 9.— P. 3063–3066.
27. Safety and efficacy study of MPC-4326 for treatment of patients with HIV-1 infection, 2010. [<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00967187>].
28. A phase 2 study to assess the pharmacokinetics of bevirimat 100 mg tablets given to HIV-1 positive patient for 15 days, 2010 [<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01097070>].
29. Qian K., Kuo R. Y., Chen C. H. *et al.* Anti-AIDS agents 81. Design, synthesis, and structure-activity relationship study of betulinic acid and moronic acid derivatives as potent HIV maturation inhibitors // *J. Med. Chem.*— 2010.— Vol. 53.— № 8.— P. 3133–3141.
30. Nguyen A. T. F., Jackson C. L., Nitz K. W. *et al.* The prototype HIV-1 maturation inhibitor, bevirimat, binds to the CA-SP1 cleavage site in immature Gag particles // *Retrovirology.*— 2011.— Vol. 8, № 1.— P. 101.
31. Adamson C. S., Waki K., Ablan S. D. *et al.* Impact of human immunodeficiency virus type 1 resistance to protease inhibitors on evolution of resistance to the maturation inhibitor bevirimat (PA–457) // *J. Virol.*— 2009.— Vol. 83, № 10.— P. 4884–4894.
32. Van Baelen K., Salzwedel K., Rondelez E. *et al.* Susceptibility of human immunodeficiency virus type 1 to the maturation inhibitor bevirimat is modulated by baseline polymorphisms in Gag spacer peptide 1 // *Antimicrob Agents Chemother.*— 2009.— Vol. 53, № 5.— P. 2185–2188.



33. Waki K., Durell S. R., Soheilian F. et al. Structural and functional insights into the HIV-1 maturation inhibitor binding pocket // *PLoS Pathog.*— 2012.— Vol. 8, № 11.— P. e1002997.
34. Lu W., Salzwedel K., Wang D. et al. A single polymorphism in HIV-1 subtype C SP1 is sufficient to confer natural resistance to the maturation inhibitor bevirimat // *Antimicrob Agents Chemother.*— 2011.— Vol. 55, № 7.— P. 3324–3329.
35. Yu D., Morris-Natschke S. L., Lee K. H. New developments in natural products-based anti-AIDS research // *Med. Res Rev.*— 2007.— Vol. 27, № 1.— P. 108–132.
36. Yu D., Lee K-H. 9. Recent progress and prospects on plant-derived anti-HIV agents and analogs // *Medicinal Chemistry of Bioactive Natural Products.*— New Jersey (Canada): John Wiley & Sons, Inc., 2006.— P. 357–397.
37. Chen C. H., Huang L., Lee K-H. Betulinic acid derivatives as anti-hiv agents // US Patent № 2011152229A1, 2011.
38. Aiken C., Chen C. H. Betulinic acid derivatives as HIV-1 antivirals // *Trends Mol Med.*— 2005.— Vol. 11, № 1.— P. 31–36.
39. Yogeeswari P., Sriram D. Betulinic acid and its derivatives: a review on their biological properties // *Curr Med. Chem.*— 2005.— Vol. 12, № 6.— P. 657–666.
40. Толстиков Г. А., Флехтер О. Б. Шульц Э. Э. и др. Бетулин и его производные. Химия и биологическая активность // *Химия в интересах устойчивого развития.*— 2005.— Т. 13, № 1.— С. 1–30.
41. Baglin I., Mitaine-Offer A. C., Nour M. et al. A review of natural and modified betulinic, ursolic and echinocystic acid derivatives as potential antitumor and anti-HIV agents // *Mini Rev Med. Chem.*— 2003.— Vol. 3, № 6.— P. 525–539.
42. Cassels B., Asencio M. Anti-HIV activity of natural triterpenoids and hemisynthetic derivatives 2004–2009. *Phytochemistry Reviews.*— 2011.— Vol. 10, № 4.— P. 545–564.
43. Kashiwada Y., Hashimoto F., Cosentino L. M. et al. Betulinic acid and dihydrobetulinic acid derivatives as potent anti-HIV agents // *J. Med. Chem.*— 1996.— Vol. 39, № 5.— P. 1016–1017.
44. Soler F., Poujade C., Evers M. et al. Betulinic acid derivatives: a new class of specific inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 entry // *J. Med. Chem.* 1996.— Vol. 39, № 5.— P. 1069–1083.
45. Evers M., Poujade C., Soler F. et al. Betulinic acid derivatives: a new class of human immunodeficiency virus type 1 specific inhibitors with a new mode of action // *J. Med. Chem.*— 1996.— Vol. 39, № 5.— P. 1056–1068.
46. Hashimoto F., Kashiwada Y., Cosentino L. M. et al. Anti-AIDS agents XXVII. Synthesis and anti-HIV activity of betulinic acid and dihydrobetulinic acid derivatives // *Bioorg Med. Chem.*— 1997.— Vol. 5, № 12.— P. 2133–2143.
47. Sun I. C., Shen J. K., Wang H. K. et al. Anti-AIDS agents. 32. Synthesis and anti-HIV activity of betulin derivatives // *Bioorg Med. Chem Lett.*— 1998.— Vol. 8, № 10.— P. 1267–1272.
48. Sun I. C., Wang H. K., Kashiwada Y. et al. Anti-AIDS agents. 34. Synthesis and structure-activity relationships of betulin derivatives as anti-HIV agents // *J. Med. Chem.*— 1998.— Vol. 41, № 23.— P. 4648–4657.
49. Kashiwada Y., Chiyo J., Ikeshiro Y. et al. Synthesis and anti-HIV activity of 3-alkylamido-3-deoxy-betulinic acid derivatives // *Chem Pharm Bull (Tokyo).*— 2000.— Vol. 48.— № 9.— P. 1387–1390.
50. Kashiwada Y., Nagao T., Hashimoto A. et al. Anti-AIDS agents 38. Anti-HIV activity of 3-O-acyl ursolic acid derivatives // *J. Nat Prod.*— 2000.— Vol. 63, № 12.— P. 1619–1622.
51. Kashiwada Y., Chiyo J., Ikeshiro Y. et al. 3,28-Di-O-(dimethylsuccinyl)-betulin isomers as anti-HIV agents. *Bioorg Med. Chem Lett.*— 2001.— Vol. 11, № 2.— P. 183–185.
52. Флехтер О. Б., Карачурина Л. Т., Плясунова О. А. и др. 3,28-ди-О-никотинат бетулина, проявляющий гепатопротекторную и анти-ВИЧ активность // Патент РФ № 2174982, 2001.
53. Sun I. C., Chen C. H., Kashiwada Y. et al. Anti-AIDS agents 49. Synthesis, anti-HIV, and anti-fusion activities of IC9564 analogues based on betulinic acid // *J. Med. Chem.*— 2002.— Vol. 45, № 19.— P. 4271–4275.
54. Kashiwada Y., Sekiya M., Ikeshiro Y. et al. 3-O-Glutaryl-dihydrobetulin and related monoacyl derivatives as potent anti-HIV agents // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.*— 2004.— Vol. 14, № 23.— P. 5851–5853.
55. Huang L., Yuan X., Aiken C. et al. Bifunctional anti-human immunodeficiency virus type 1 small molecules with two novel mechanisms of action // *Antimicrob Agents Chemother.*— 2004.— Vol. 48, № 2.— P. 663–665.
56. Phase 2 Safety and Efficacy Study of Bevirimat functional monotherapy in HIV treatment-experienced patients for 2 weeks (<http://clinicaltrials.gov>, Study ID: NCT00511368).
57. Huang L., Ho P., Lee K. H. et al. Synthesis and anti-HIV activity of bi-functional betulinic acid derivatives // *Bioorg Med. Chem.*— 2006.— Vol. 14, № 7.— P. 2279–2289.
58. Huang L., Yu D., Ho P. et al. Synthesis and Anti-HIV Activity of bi-functional triterpene derivatives // *Letters in Drug Design Discovery.*— 2007.— Vol. 4, № 7.— P. 471–478.
59. Gerrish D., Kim I. C., Kumar D. V. et al. Triterpene based compounds with potent anti-maturation activity against HIV-1 // *Bioorg Med. Chem Lett.*— 2008.— Vol. 18, № 24.— P. 6377–80.