

Kinga Kuczyńska

Triterpenoidy lupanowe w syntezie związków biologicznie czynnych



A-21-6
K-C-133
K-C-119
K-d-134
K-C-127
K-C-132

Praca wykonana w Zespole IV
Instytutu Chemii Organicznej PAN
pod kierownictwem
dr. hab. inż. Zbigniewa Pakulskiego

Biblioteka Instytutu Chemii Organicznej PAN

O-B.415/19



10000000105719

Warszawa 2019

Właściwości fizyczne w stosunku do innych związków
biogeno-chemicznych



B. Org. 415/19

Praca doktorska została wykonana w ramach grantu:

OPUS UMO - 2016/21/B/ST5/02141

Dziękuję mojemu Promotorowi,
dr. hab. inż Zbigniewowi Pakulskiemu
za wybór interesującej tematyki badawczej,
przekazaną wiedzę oraz wszechstronną pomoc
podczas realizacji niniejszej rozprawy doktorskiej.

Dziękuję prof. Miroslavowi Strnadowi i dr Lucie Rárovej
za wykonanie badań biologicznych
i umożliwienie mi krótkiego,
ale bardzo interesującego stażu w
Zakładzie Biologii Chemicznej i Genetyki,
Uniwersytetu Palackiego w Ołomuńcu.

Dziękuję dr. Piotrowi Cmochowi za wykonanie
pomiarów NMR i pomoc w ich analizie.

Dziękuję dr. Romanowi Luboradzkiemu
za wykonanie pomiarów X-Ray

Dziękuję moim Rodzicom
za ich bezwarunkową miłość, nieustanne wsparcie
i za to, że byli moimi pierwszymi nauczycielami.

Całej mojej Rodzinie i Przyjaciołom dziękuję za życzliwość
i podtrzymywanie na duchu.

Streszczenie rozprawy doktorskiej

Celem pracy było zbadanie reaktywności łańcucha bocznego i pierścienia E betuliny oraz możliwości wykorzystania otrzymanych pochodnych do syntezy związków o wysokiej cytotoksyczności. Przeprowadzone badania pozwoliły na opracowanie wygodnych metod manipulacji grupami funkcyjnymi oraz funkcjonalizacji układu lupanowego w obrębie pierścienia E. Określiły również zakres stosowalności wykorzystywanych przekształceń chemicznych. Otrzymane pochodne użyto do syntezy szeregu saponin typu lupanowego.

Praca została podzielona na trzy główne rozdziały – Przegląd literaturowy, Badania własne i Część eksperymentalną.

Przegląd literaturowy obejmuje cztery zasadnicze części. W pierwszej z nich omówiono budowę i biosyntezę triterpenów oraz triterpenoidów. Część druga poświęcona została cząsteczce betuliny i jej półsyntetycznym pochodnym. Część ta zawiera ogólną charakterystykę cząsteczki betuliny oraz jej chemiczne modyfikacje w obrębie pierścienia E oraz grupy izopropenylowej. W części trzeciej opisano właściwości chemiczne oraz metody syntezy saponin typu lupanu. Ostatnia część poświęcona została aktywności biologicznej pochodnych lupanu. Przedstawiono w niej właściwości przeciwnowotworowe betuliny, jej półsyntetycznych pochodnych oraz saponin typu lupanowego.

W badaniach własnych zaprezentowano rezultaty uzyskane w toku realizacji prac laboratoryjnych. Część ta podzielona jest na trzy główne zagadnienia. W pierwszym omówiono nowe metody modyfikacji szkieletu cząsteczki betuliny w obrębie pierścienia E i grupy izopropenylowej. W drugiej części przedstawiono syntezę saponin z użyciem peracetylowanych donorów Schmidta oraz syntezę saponin zawierających disacharyd OSW-1 i jego analogi strukturalne. Omówiono także wpływ wiązania wodorowego na regioselektywność reakcji glikozydowania. Ostatnim zagadnieniem zaprezentowanym w tej części była synteza saponin zawierających czteropierścieniowy aglikon. Część trzecia została poświęcona omówieniu aktywności biologicznej otrzymanych związków. Zarówno pochodne betuliny, jak i saponiny, poddano badaniom *in vitro* wobec fibroblastów oraz wybranych linii komórek rakowych o różnym pochodzeniu histopatologicznym.

W części eksperymentalnej opisano procedury otrzymywania nowych pochodnych betuliny oraz saponin typu lupanowego.

Summary of Ph.D. Thesis

The main goal of the dissertation was to investigate the reactivity of side chain and E-ring and the possibility of using the derivatives obtained for the synthesis of compounds with high cytotoxicity. The conducted research allowed developing convenient methods of inserting functional groups and functionalization of the lupane system within the E-ring. It also determined the scope of applicability of used chemical transformations. The derivatives obtained were utilised for the synthesis of series of the lupane-type saponins.

The dissertation was divided into three main chapters — the literature review, own research and experimental part.

The literature review includes four main parts. The first one discusses the construction and biosynthesis of triterpenes and triterpenoid. The second part is devoted to the betulin molecule and its semi-synthetic derivatives. This part consists of the general characteristics of the betulin molecule and its chemical modifications within the E-ring and the isopropenyl group. The third part describes the chemical properties of lupane-type saponins and the methods for their synthesis. The last part is devoted to the biological activity of lupane derivatives and describes antitumor properties of betulin, its semi-synthetic derivatives and the lupane-type saponins.

The results obtained through laboratory investigations are presented in a separate part dedicated to own studies. This part is divided into three main issues. The first one discusses new methods for modifying the core of the betulin molecule within the E-ring and the isopropenyl group. the second one presents the synthesis of saponins using Schmidt's peracetylated donors, OSW-1 disaccharide and its structural analogues. The effect of hydrogen bonding on the regioselectivity of the glycosidation reaction is also discussed there. The last issue presented in this part describes the synthesis of saponins containing a four-ring aglycone. The third part is devoted to discussion of the biological activity of the obtained compounds. The betulin derivatives and saponins were tested *in vitro* against fibroblasts and selected cancer cell lines of various histopathological origin.

The experimental section describes procedures for preparation of new betulin derivatives and the lupane-type saponins.

Spis treści

| | | |
|----------|--|------------|
| 1 | CZEŚĆ LITERATUROWA | 17 |
| 1.1 | Wstęp..... | 17 |
| 1.2 | Triterpeny i triterpenoidy..... | 18 |
| 1.2.1 | Budowa..... | 18 |
| 1.2.2 | Triterpenoidy pentacykliczne – biosynteza | 19 |
| 1.3 | Betulina i jej półsyntetyczne pochodne | 23 |
| 1.3.1 | Ogólna charakterystyka cząsteczki betuliny..... | 23 |
| 1.3.2 | Pozyskiwanie betuliny z surowców naturalnych..... | 23 |
| 1.3.3 | Chemiczne modyfikacje cząsteczki betuliny..... | 24 |
| 1.4 | Saponiny..... | 38 |
| 1.4.1 | Saponiny typu lupanu | 40 |
| 1.4.2 | Saponiny zawierające dwie reszty cukrowe | 44 |
| 1.5 | Właściwości biologiczne | 46 |
| 1.5.1 | Betulina | 46 |
| 1.5.2 | Pochodne betuliny | 48 |
| 1.5.3 | Saponiny typu lupanu | 51 |
| 2 | BADANIA WŁASNE..... | 55 |
| 2.1 | Wstęp..... | 55 |
| 2.2 | Synteza pochodnych betuliny | 55 |
| 2.2.1 | Modyfikacje łańcucha bocznego | 55 |
| 2.2.2 | Modyfikacje pierścienia E..... | 64 |
| 2.3 | Synteza saponin | 77 |
| 2.3.1 | Synteza saponin z użyciem peracetylowanych donorów Schmidta..... | 77 |
| 2.3.2 | Synteza saponin zawierających disacharyd OSW-1..... | 82 |
| 2.3.3 | Wpływ wiązania wodorowego na regioselektywność reakcji glikozydowania..... | 90 |
| 2.3.4 | Synteza saponin zawierających czteropierścieniowy aglikon | 92 |
| 2.4 | Badania biologiczne. | 95 |
| 2.4.1 | Pochodne betuliny | 95 |
| 2.4.2 | Saponiny..... | 97 |
| 3 | CZEŚĆ EKSPERYMENTALNA | 101 |
| 3.1 | Uwagi ogólne..... | 101 |
| 3.2 | Przepisy preparatywne..... | 101 |
| 4 | Suplement | 148 |
| 5 | Literatura..... | 149 |



Wykaz skrótów i symboli

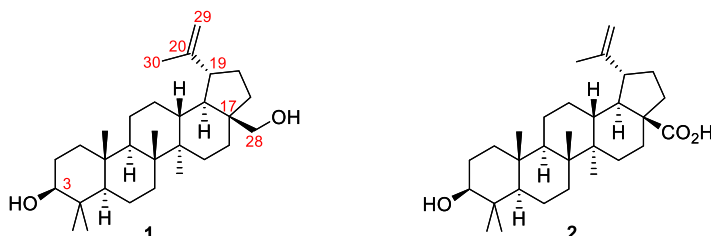
BSA - bezwodnik kwasu benzenoseleninowego
CSA - kwas kamforosulfonowy
DMP - dimetoksypropan
PCC – chlorochromian pirydyny
m-CPBA – kwas m-chloroperoksybenzoesowy
MBz - metoksybenzoil
NMO – N-tlenek N-metylomorfoliny
R-CBS - (R)-2-metylooksazaborolidyna
TBAF – fluorek tetrabutylamoniowy
TBDPS– *tert*-butylodifenylosilil
TCA- trichloroacetoimidan
TES - trietylosilil
TIPS – triizopropylosilil
TMSOTf - trifluorometanosulfonian trimetylosililu

1 CZĘŚĆ LITERATUROWA

1.1 WSTĘP

Betulina **1** jest jedną z pierwszych substancji wyizolowanych z roślin. W 1877 roku wydzielił ją przypadkowo z kory brzozy brodawkowatej *Betula verrucosa* Ehrh. rosyjski naukowiec T.E. Lowits. Występuje w ponad 200 gatunkach roślin, najobficiej w zewnętrznej warstwie kory białych gatunków brzoź, np. rosnących pospolicie w Polsce *Betula verrucosa* czy *Betula pubescens*.

W klasyfikacji chemicznej betulina jest pentacyklicznym triterpenoidem z rodziny lupanu, jednej z najliczniejszych grup triterpenów występujących w przyrodzie. Szkielet betuliny ma budowę zbliżoną do steroidów, co wynika ze zbieżnej biogenezy tych dwóch grup, aż do syntezy 2,3-epoksuskwalenu.



Rysunek 1. Struktura betuliny (**1**) i kwasu betulinowego (**2**).

Betulina i jej półsyntetyczne pochodne wykazują wiele interesujących właściwości biologicznych; do najważniejszych możemy zaliczyć hamujący wpływ na rozwój niektórych komórek nowotworowych, bakterii czy wirusów, działanie przeciwzapalne, przeciwalergiczne, hepatoprotective i inne. Odkrycie w 1995 r. przez E. Pisha i wsp. zdolności selektywnego indukowania samobójczej śmierci komórek nowotworowych przez kwas betulinowy (**2**) oraz jego niskiej toksyczności wobec komórek prawidłowych, wywołało zwiększone zainteresowanie triterpenami typu lupanu.¹ Kwas betulinowy różni się od betuliny tylko jednym ugrupowaniem chemicznym, tj. grupą karboksylową występującą przy atomie węgla C-17, zamiast grupy hydroksymetylenowej.

Niestety, triterpenoidy lupanowe są związkami słabo rozpuszczalnymi w wodzie, a więc i w płynach ustrojowych, co uniemożliwia ich zastosowanie jako potencjalnych leków. Jednym ze sposobów zwiększenia rozpuszczalności jest przyłączenie do cząsteczki triterpenoidu reszty sacharydowej. Związki powstające z połączenia triterpenoidów z cukrami nazywane są saponinami. Stanowią one strukturalnie zróżnicowaną klasę glikozydów, szeroko rozpowszechnioną w przyrodzie. Wykazują szereg interesujących właściwości biologicznych, między innymi działanie hemolityczne, cytotoksyczne, immunomodulujące, przeciwzapalne i przeciwnowotworowe.

W literaturze pojawia się coraz więcej publikacji prezentujących właściwości farmakologiczne pochodnych betuliny oraz saponin opartych na jej szkielecie. Również przemysł farmaceutyczny i kosmetyczny wykazują coraz większe zainteresowanie jej pochodnymi.

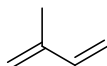
Badania opisane w niniejszej pracy podyktowane były nie tylko chęcią zastosowania betuliny jako prekursora w syntezie nowych leków przeciwnowotworowych, ale również

impulsem natury czysto poznawczej. Złożona budowa przestrzenna i stereochemiczna cząsteczki betuliny oraz jej często nietypowe zachowanie w niektórych reakcjach chemicznych, zachęciły mnie do podjęcia tego wyzwania.

1.2 TRITERPENY I TRITERPENOIDY.

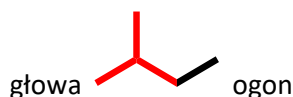
1.2.1 Budowa

Triterpeny są grupą związków należącą do jednej z najliczniejszych klas substancji naturalnych - terpenów. W literaturze znanych jest około 30000 terpenów.² Ich podstawową jednostką budulcową jest 2-metylo-1,3-butadien, znany potocznie jako izopren (Rys. 2). Strukturę terpenów opisuje „zasada izoprenowa” sformułowana w 1910 roku przez Wallacha, który zauważył, że wszystkie znane monoterpene zawierają w swojej strukturze dwie jednostki węglowodorowe zawierające 5 atomów węgla i jedno wiązanie podwójne węgiel-węgiel, na podstawie czego wysnuł hipotezę, że są one otrzymywane przez organizmy żywe z izoprenu.³ W związku z tym, terpeny często znane są również jako izoprenoidy. W latach 50 von Ružička i wsp. udoskonalili tę koncepcję, przedstawiając tzw. biogenetyczną regułę izoprenową, która umożliwiła wyjaśnienie biosyntezy każdego szkieletu terpenowego.⁴



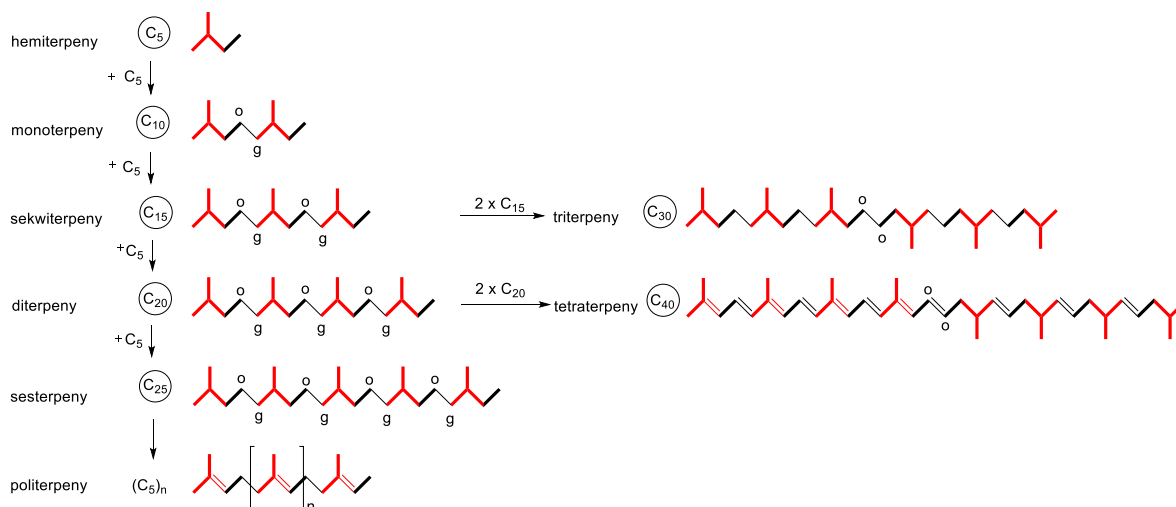
Rysunek 2. Izopren – 2-metylo-1,3-butadien.

Podział terpenów jest obecnie dokonywany ze względu na liczbę jednostek izoprenowych w cząsteczce. Jedna jednostka izoprenu jest prekursorem hemiterpenów (C_5). Kondensacja dwóch cząsteczek izoprenu daje monoterpene (C_{10}), analogicznie powstają seskwiterpene (C_{15}), di- (C_{20}), sester- (C_{25}), tri- (C_{30}), tetra- (C_{40}) i politerpene ($C_5)_n$ ($n > 8$).



Rysunek 3.

Izopropylowa część 2-metylobutanu jest zdefiniowana jako głowa, a reszta etylowa jako ogon (Rys. 3). W mono-, di-, seskwi- i sesterterpenach jednostki izoprenowe są połączone ze sobą głową do ogona; tri- i tetraterpene zawierają jedno połączenie ogon-ogon (Rys. 4).⁵



Rysunek 4. Budowa terpenów (o- ogon, g- głowa).

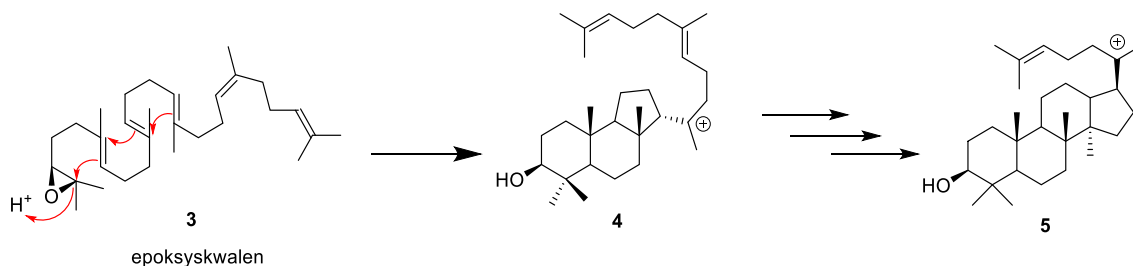
Triterpeny stanowią podgrupę złożoną z sześciu jednostek izoprenowych o wzorze sumarycznym $C_{30}H_{48}$. Triterpeny wytwarzane są przez zwierzęta, grzyby i rośliny. Zdefiniowano prawie 200 różnych szkieletów/struktur triterpenowych, które można podzielić ze względu na liczbę obecnych w jej strukturze pierścieni. Większość triterpenów to związki o budowie cyklicznej: czteropierścieniowe typu 6-6-6-5 (tetracykliczne) oraz pięciopierścieniowe typu 6-6-6-6-5 i 6-6-6-6-6 (pentacykliczne). Znane są ponadto triterpeny acykliczne, jedno-, dwu- i trójpierścieniowe.⁶ Dominującą grupą są związki pentacykliczne.⁷

Z definicji triterpeny są węglowodorami i nie zawierają heteroatomów. Triterpeny zawierające w swojej strukturze heteroatomy (głównie atom tlenu) nazywane są triterpenoidami. Jednakże to zróżnicowanie nie zawsze jest przestrzegane w literaturze. Triterpenoidy stanowią obszerną i strukturalnie zróżnicowaną grupę substancji naturalnych wykazującą ciekawe właściwości farmakologiczne.

1.2.2 Triterpenoidy pentacykliczne – biosynteza

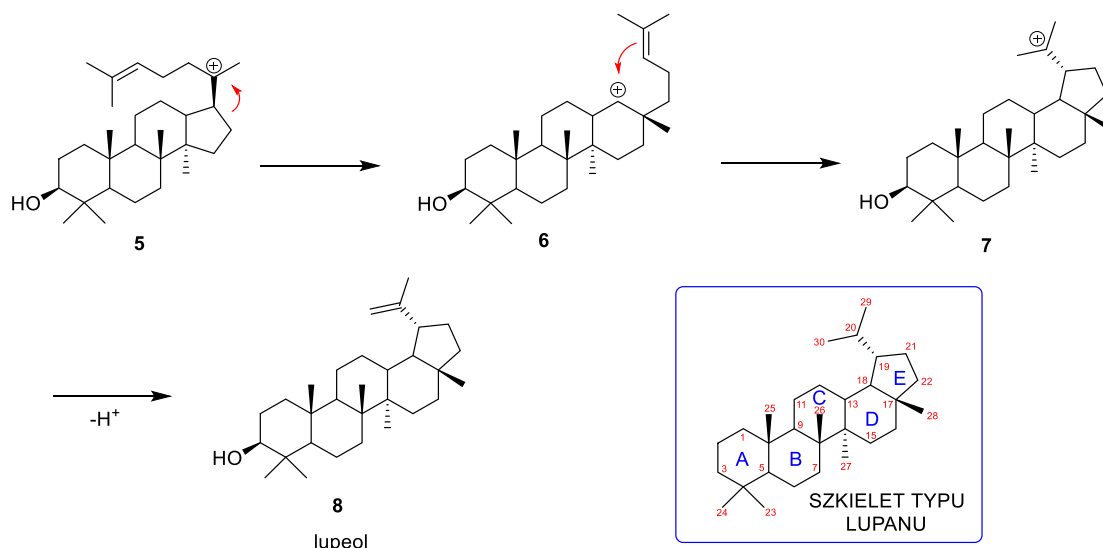
Jak wspomniałam powyżej, biogenetyczna reguła izoprenowa umożliwia wyjaśnienie biosyntezy każdego szkieletu terpenowego na podstawie rozważań mechanistycznych, reakcji cyklizacji, addycji elektrofilowej i różnych przegrupowań. Substratem w syntezie triterpenów jest epoksyskwalen. Jest on stabilny w środowisku obojętnym. Do rozpoczynającej cyklizację aktywacji mostka epoksydowego potrzebny jest kwas Brönsteda.⁸

Jako ogólny mechanizm przyjęto, że epoksyskwalen jest aktywowany przez atak protonu. Wywołuje on kaskadę cyklizacji karbokation - olefina i tworzy się cykliczny karbokation, który następnie ulega przegrupowaniom i dalszym cyklizacjom dając różne typy triterpenów. Enzym katalizujący tę reakcję nazywa się cyklazą epoksyskwalenu (ang. oxidosqualene cyclase - OSC). Aktywność cyklazy epoksyskwalenu poprzedza działanie epoksydazy (monooksydazy) skwalenu (ang. squalene epoxidase - SQE). Rośliny posiadają liczne geny kodujące zarówno ten enzym, jak i cyklazę.⁹ Epoksyskwalen po protonowaniu ulega reakcji cyklizacji katalizowanej przez odpowiedni enzym.

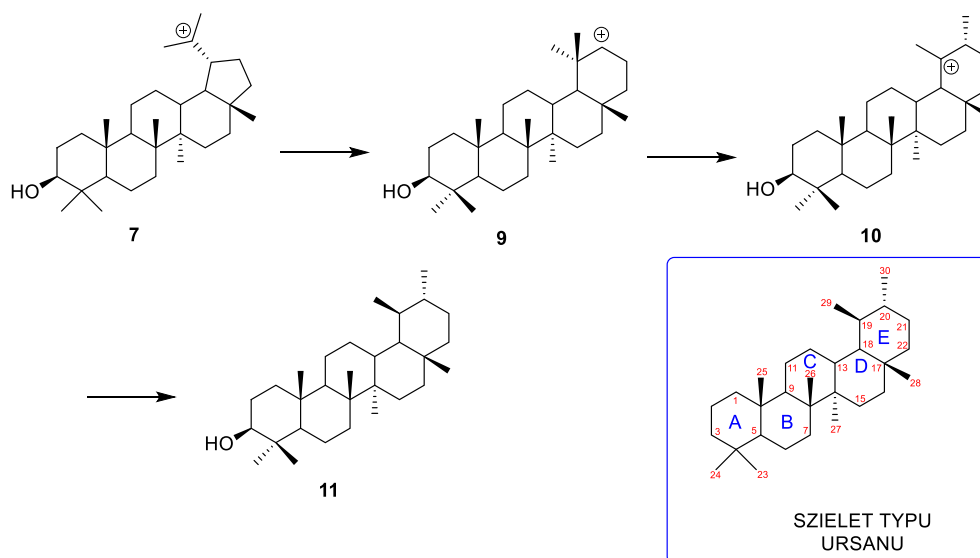


Schemat 1. Powstawanie kationu 3β-dammarenylu (5).

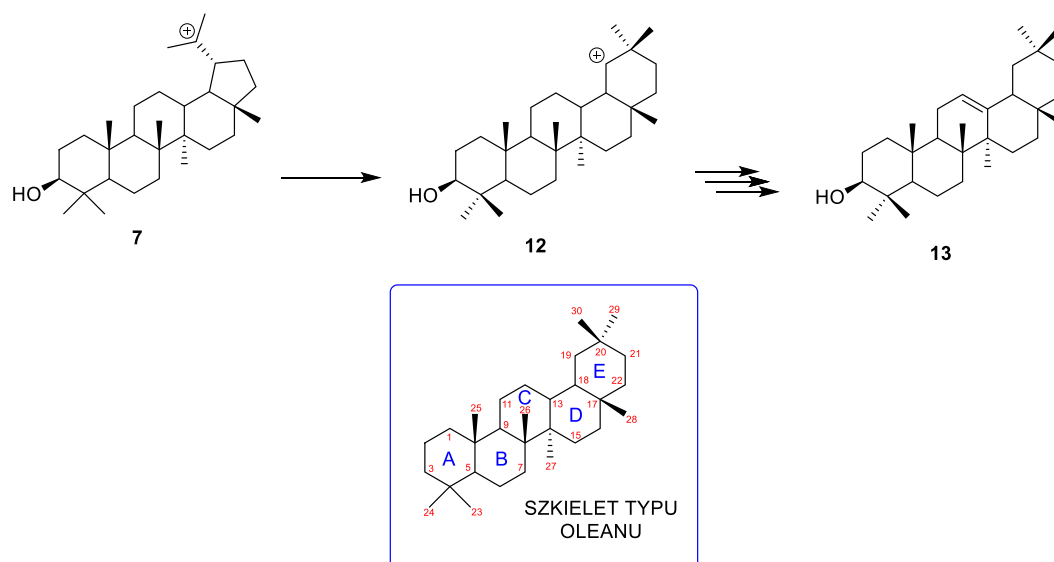
Przyпуска się, że za szybką reakcję cyklizacji odpowiada prefałdowanie substratu i bliskie ułożenie donora protonu do tlenu epoksydowego; proces protonacji i tworzenia pierścienia A są ze sobą sprzężone. W wyniku tych przekształceń powstaje kation 3β-dammarenylu **5**, który ulega dalszym przemianom (Schemat 1).

Schemat 2. Biosynteza lupeolu (**8**).

Kolejno, w kationie dammarenylu **5** następuje migracja wiązania C16(C17), która powoduje powiększenie pierścienia D (przegrupowanie Wagnera–Meerweina) z utworzeniem kationu tetracyklicznego 3 β -hydroksybakar-21-enu **6**, który ostatecznie cyklizuje do pentacyklicznego jonu 3 β -hydroksylupanowego **7**. Odszczerpienie protonu od tego kationu, o ile nie zachodzą kolejne przegrupowania, prowadzi do powstania lupeolu **8** (Schemat 2).⁷

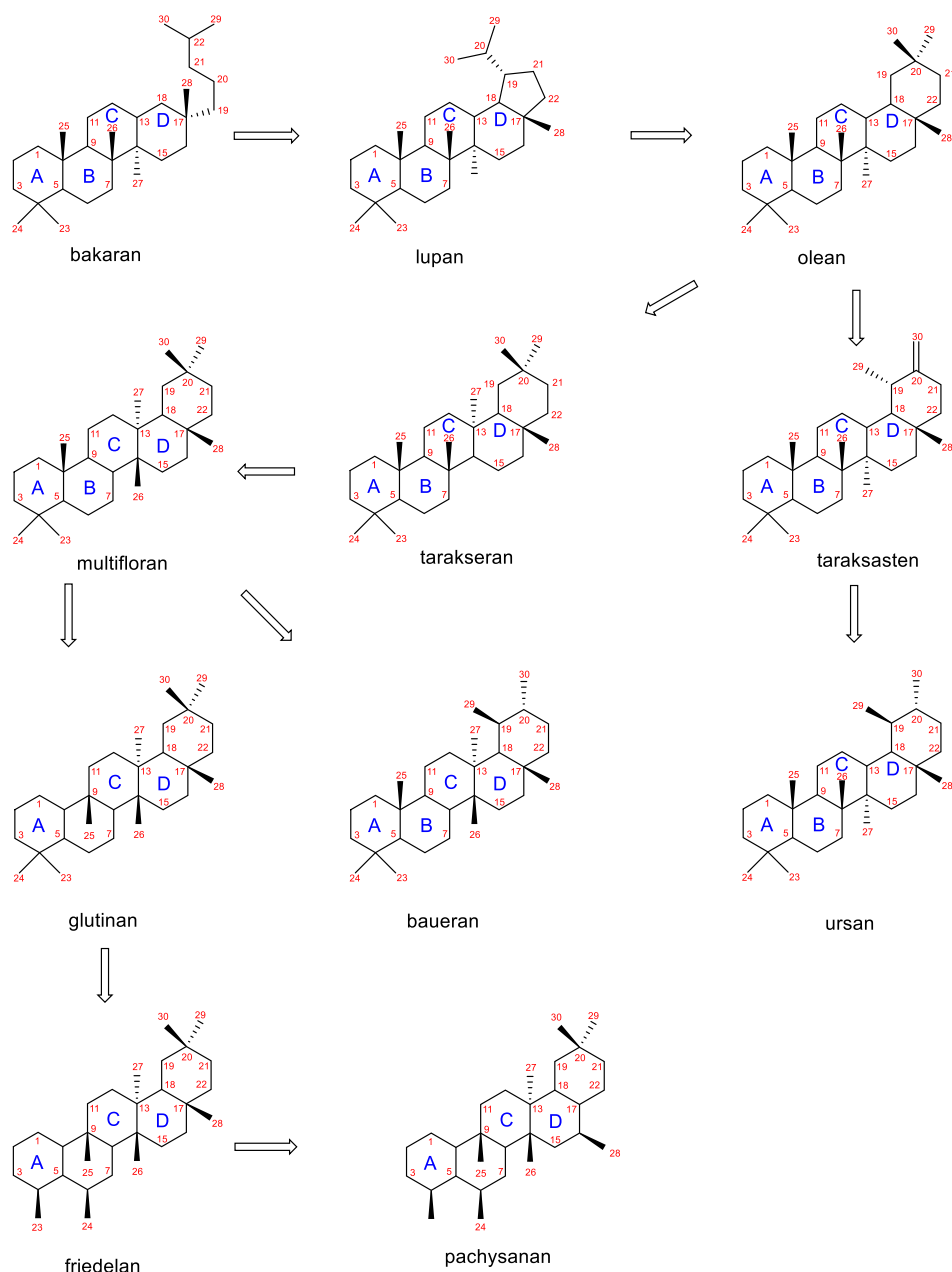
Schemat 3. Biosynteza α -amyryny (**11**).

Kation lupylu **7** może ulegać również innym przegrupowaniom prowadzącym do kolejnych triterpenoidów pentacyklicznych. Jego przegrupowanie może prowadzić do kationu **9**, a następnie, po migracji grupy metylowej, tworzy się kation izoursylu **10**, prekursor triterpenoidów typu ursanu. Jednym z nich jest α -amyryna (**11**, Schemat 3).

Schemat 4. Biosynteza β -amyryny (**13**).

Triterpenoidy typu oleanu, np. β -amyryna **13**, są jedną z liczniejszych grup triterpenoidów występujących w przyrodzie. β -Amyryna powstaje z kationu **7** w wyniku migracji wiązania C19(20) z utworzeniem kationu germanicylu **12**, który następnie ulega podwójnemu przesunięciu 1,2 i reakcji deprotonowania (Schemat 4).^{7,10}

Znane są liczne przemiany kationu lupylu **7** czy kationu bakaranowego **6**, które prowadzą do innych pentacyklicznych szkieletów triterpenowych. Schemat 5 pokazuje w uproszczeniu ważniejsze struktury triterpenowe uzyskane w wyniku tych przemian.



Schemat 5. Szkielety triterpenów pentacyklicznych pochodzących od bakaranu.

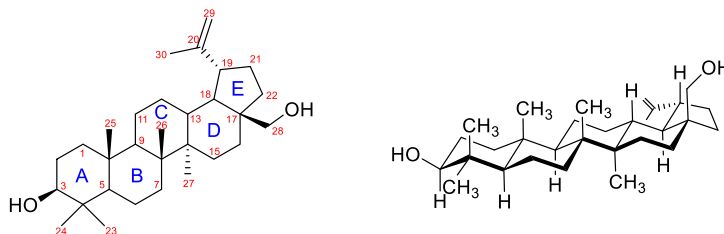
W literaturze znane są 32 roślinne cyklazy epoksykwalenu. Siedem z nich to enzymy wielofunkcyjne - katalizujące syntezę różnych triterpenów.⁶ Znane są co najmniej dwie drogi syntezy lupeolu, które różnią się zarówno mechanizmem przegrupowania kationu lupenyliu, jak i sekwencją aminokwasów w enzymach odpowiedzialnych za cyklizację.^{11,12}

Jak dotąd nie wyizolowano enzymów odpowiedzialnych za syntezę betuliny. Ten pentacykliczny diol typu lupanu tworzy się najprawdopodobniej w wyniku utleniania grupy metylowej lupeolu przy węglu C-17 przez cytochrom P450.¹¹

1.3 BETULINA I JEJ PÓLSYNTETYCZNE POCHODNE

1.3.1 Ogólna charakterystyka cząsteczki betuliny

Betulina jest pentacyklicznym diolem typu lupanu. Jej cząsteczka zbudowana jest z czterech pierścieni sześciocząłowych i jednego pięciocząłowego, połączonych mostkami typu *trans*.



Rysunek 5. Struktura betuliny ($C_{30}H_{50}O_2$)

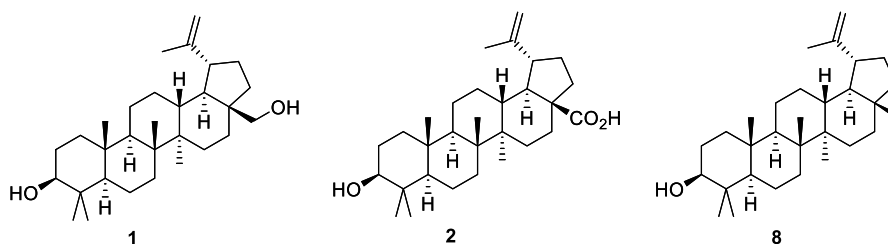
Betulina posiada trzy względnie reaktywne miejsca w cząsteczce:

- grupę hydroksylową przy atomie węgla C-3;
- grupę hydroksylową przy atomie węgla C-28;
- wiązanie podwójne C20(29).

Reaktywność wymienionych grup funkcyjnych betuliny nie jest typowa, co wynika głównie z zatłoczenia sterycznego wokół nich. Grupa izopropenyłowa przyłączona jest do naprężonego pierścienia cyklopentanowego. Grupa hydroksylowa przy atomie węgla C-28 przesłaniana jest przez szkielet węglowodorowy (pozycja neopentyłowa), natomiast grupa hydroksylowa przy atomie węgla C-3 sąsiaduje z czwartorzędowym atomem węgla (C-4), który jest połączony z dwoma grupami metylowymi. Taka struktura cząsteczki powoduje, że betulina trudniej ulega reakcjom chemicznym niż jej strukturalne analogi, np. steroidy. Z drugiej strony grupa izopropenyłowa betuliny, połączona z naprężonym szkieletem węglowym, posiada zwiększoną reaktywność w niektórych przemianach chemicznych.

1.3.2 Pozyskiwanie betuliny z surowców naturalnych

Małe ilości betuliny mogą być izolowane z wielu gatunków roślin, np. występuje ona w korze grabu (*Carpinus betulus*) czy leszczyny (*Corylus avellana*). Na skalę przemysłową jest pozyskiwana z dwóch gatunków brzozy: brodawkowej (*Betula verrucosa*) i omszonej (*Betula pubescens*). Zawartość tego triterpenoidu w zewnętrznej części kory brzozy może się wahać od 10% do 30% suchej masy.



Rysunek 6. 1- betulina, 8- lupeol, 2- kwas betulinowy.

Betulinę wraz z innymi triterpenami (tzw. frakcja triterpenowa) można wyizolować z zewnętrznej warstwy kory brzozy na drodze ekstrakcji rozpuszczalnikami organicznymi (metanol, dichlorometan, chloroform, aceton) i krystalizację. W wyodrębnionej frakcji triterpenowej największy udział ma betulina, w mniejszej ilości występują kwas betulinowy i lupeol (Rys. 6). Przeciętny skład frakcji triterpenowej ekstraktu kory brzozy brodawkowatej *Betula verrucosa* przedstawia Tabela 1.¹³

Tabela 1. Przeciętny skład frakcji triterpenowej ekstraktu kory brzozy brodawkowatej *Betula verrucosa*.

| triterpen | zakres stężeń [%] | średnia [%] |
|---------------------------------------|-------------------|-------------|
| betulina | 55,5-84,1 | 78,1 |
| lupeol | 2,6-14,2 | 7,9 |
| kwas betulinowy i jego ester metylowy | 2,0-13,4 | 4,3 |
| aldehyd betulinowy | 0-2,2 | 1,2 |
| kwas oleanolowy i jego ester metylowy | 0,5-9,7 | 2,0 |
| erytrodiol | 0,5-21,4 | 2,8 |
| inne | 1,9-4,9 | 3,7 |

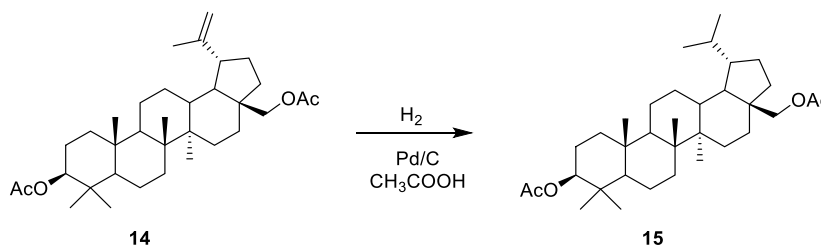
Warto wspomnieć, że kora brzozy jest materiałem odpadowym w przemyśle papierniczym, wykorzystywanym głównie jako paliwo o niskiej wartości energetycznej. Jej ekstrakcja może dostarczyć nawet kilkunastu tysięcy ton frakcji triterpenowej rocznie. W związku z tym, betulina może być uważana za tani i łatwo dostępny w dużych ilościach surowiec naturalny. Jej zastosowanie do wytwarzania cennych produktów o złożonej budowie stereochemicznej jest zatem wysoce pożądane i zachęca do podjęcia szeroko zakrojonych badań nad syntezą analogów o potencjalnie wysokiej aktywności biologicznej i wysokiej wartości dodanej.

1.3.3 Chemiczne modyfikacje cząsteczki betuliny

1.3.3.1 Modyfikacje grupy izopropenylowej i pierścienia E

Redukcja wiązania podwójnego C20(29)

Wiązanie podwójne grupy izopropenylowej jest dość reaktywne i może być w łatwy sposób zredukowane za pomocą bezpośredniej reakcji z cząsteczką wodoru w obecności odpowiedniego katalizatora.



Schemat 6. Uwodornienie dioctanu betuliny.

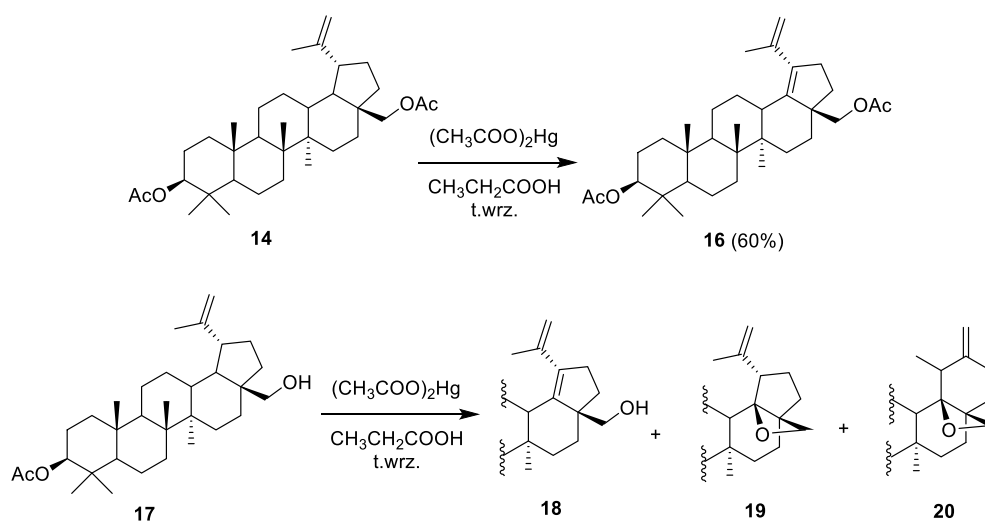
Najczęściej używanym i najbardziej efektywnym katalizatorem reakcji uwodornienia betuliny jest pallad na węglu aktywnym. Autorzy prowadzili reakcję w kwasie octowym, w temperaturze pokojowej.¹⁴ Uwodornienie wiązania podwójnego C20(29) można również

przeprowadzić z dobrymi wydajnościami stosując katalizator Wilkinsona (chlorek *tris*(trifenylfosfina) rodu(I)) w mieszaninie rozpuszczalników benzen/etanol 4:1¹⁵ czy katalizator Adamsa (tlenek platyny (IV), Schemat 6).¹⁶

Na szybkość hydrogenolizy ma wpływ nie tylko rodzaj użytego katalizatora, ale również odpowiedni dobór rozpuszczalnika. Dodatek rozpuszczalnika polarnego, np. etanolu, przyspiesza reakcję.¹⁴

Dehydrogenacja betuliny

Dehydrogenację betuliny octanem rtęci(II) opisano już na początku XX wieku. Warunkiem koniecznym do zajścia tej reakcji jest obecność wiązania podwójnego w cząsteczce; pochodne uwodornione nie ulegają reakcji z octanem rtęci(II).¹⁷

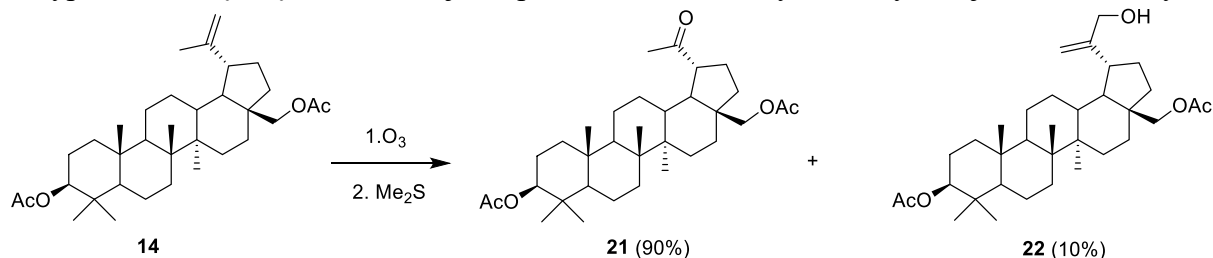


Schemat 7. Synteza sprzężonych dienów **16** i **18**.

Dioctan betuliny tworzy w reakcji dehydrogenacji sprzężony dien **16** (60%). Stwierdzono również, że jeśli grupa hydroksylowa w pozycji C-28 nie jest zabezpieczona, to w warunkach kwaśnych reakcji odwodornienia towarzyszy reakcja eteryfikacji i powstają cykliczne etery **19** i **20** (Schemat 7). Autorzy artykułu nie podali wydajności reakcji.¹⁷

Utlennianie wiązania podwójnego C20(29)

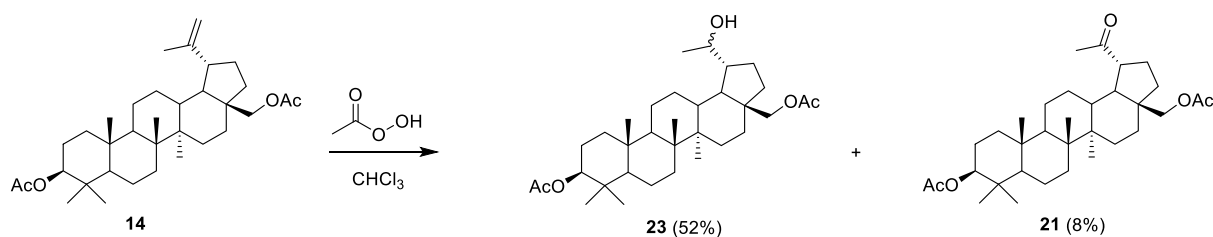
Utlennianie wiązania podwójnego pochodnych betuliny jest jednym z najczęściej stosowanych przekształceń przeprowadzanych w tym fragmencie cząsteczki, a nowo tworzone oksypochodne są często substancjami pośrednimi w dalszych modyfikacjach chemicznych.



Schemat 8. Reakcja ozonolizy dioctanu betuliny (**14**).

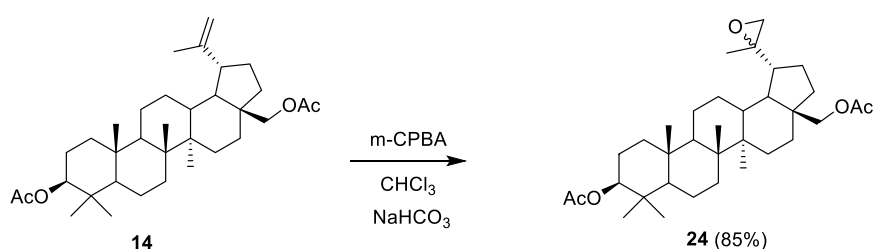
Jedną z metod utlenienia wiązania podwójnego jest reakcja ozonolizy z następującą redukcją

powstałych ozonków siarczkim dimetylu. Produktami reakcji są norketon **21** (90%) i alkohol allilowy **22** (10%, Schemat 8).¹⁸



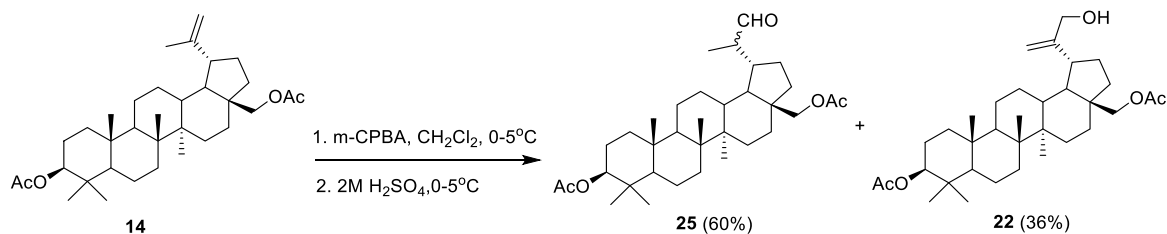
Schemat 9. Utlenianie dioctanu betuliny (**14**) za pomocą kwasu nadoctowego.

Kolejną metodą utleniania są reakcje z udziałem nadkwasów. W wyniku reakcji dioctanu betuliny z kwasem nadoctowym głównymi produktami są izomeryczne noralkohole **23** (52%) i norketon **21** (8%, Schemat 9).¹⁹



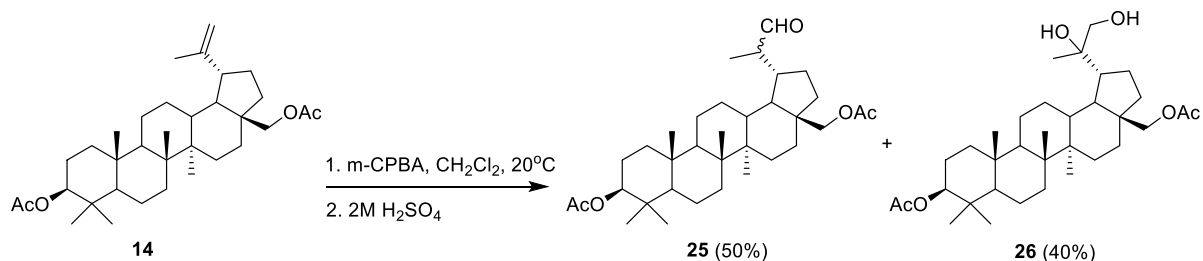
Schemat 10. Utlenianie wiązania podwójnego grupy izopropenylowej za pomocą *m*-CPBA.

Kwas 3-chloronadbenzoesowy użyty w 2-krotnym nadmiarze molowym, w obecności NaHCO_3 w roztworze chloroformowym, utlenia wiązanie podwójne w dioctanie betuliny tworząc epoksyd **24** (85%, Schemat 10).²⁰



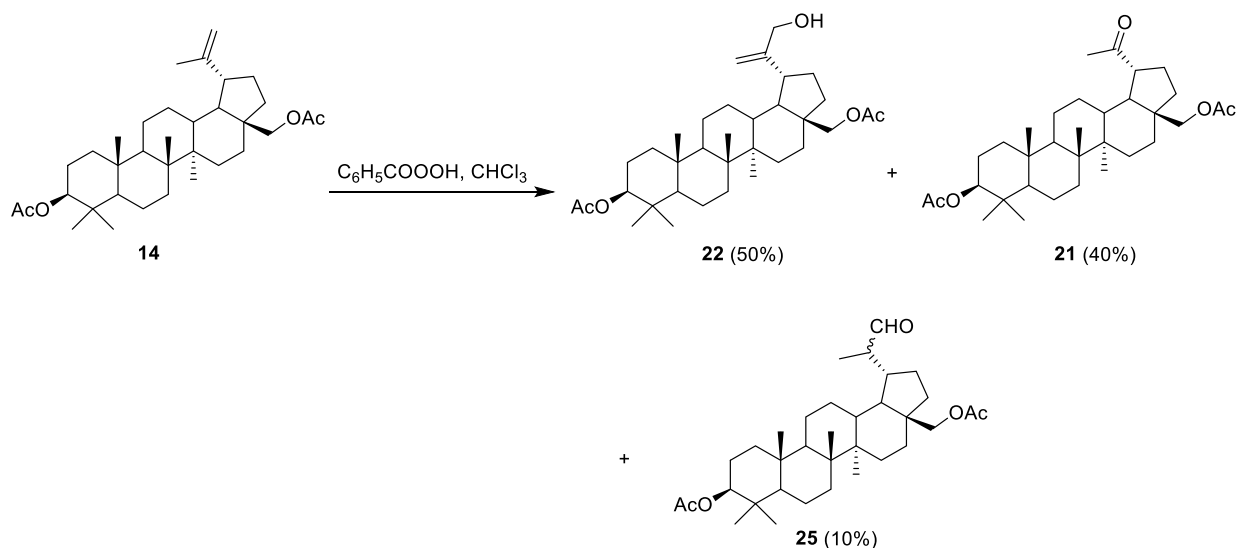
Schemat 11. Utlenianie wiązania podwójnego dioctanu betuliny z następczym otwarciem pierścienia epoksydowego.

Natomiast reakcja z kwasem 3-chloronadbenzoesowym w CH_2Cl_2 w temperaturze $0-5^\circ\text{C}$ z następczym otwarciem pierścienia epoksydu za pomocą $2\text{M H}_2\text{SO}_4$ ($0-5^\circ\text{C}$, 2 h), prowadzi do powstania mieszaniny izomerycznych aldehydów **25** i alkoholu allilowego **22** (Schemat 11).²¹



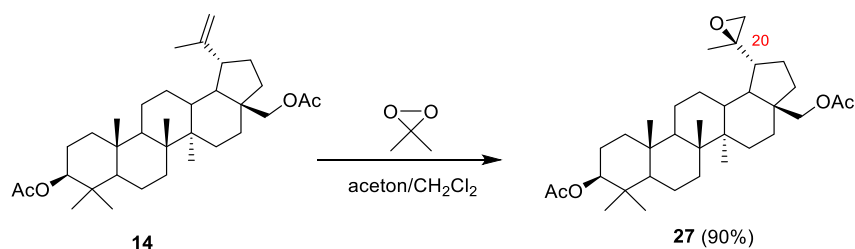
Schemat 12. Utlenianie wiązania podwójnego dioctanu betuliny z następczym otwarciem pierścienia epoksydowego.

Wydłużenie czasu reakcji do 5h oraz wyższa temperatura sprzyjają tworzeniu dioli **26** (40%), które powstają razem z nasyconymi aldehydami **25** (50%, Schemat 12).²²



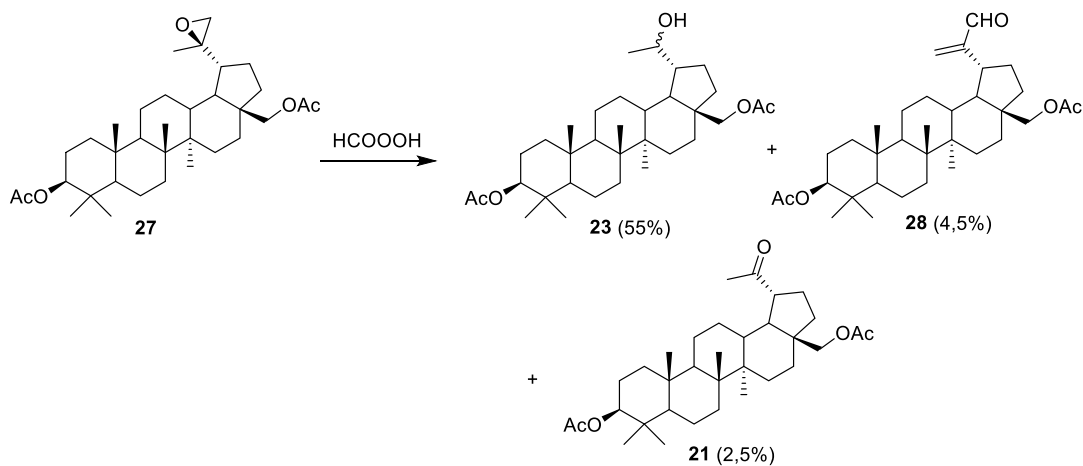
Schemat 13. Utlenianie wiązania podwójnego grupy izopropenylowej kwasem nadbenzoesowym.

W wyniku utleniania dioctanu betuliny kwasem nadbenzoesowym w chloroformie tworzy się jako główny produkt związek **22**. W mniejszej ilości powstają: norketon **21** oraz izomeryczne nasycone aldehydy **25** (Schemat 13).¹⁹



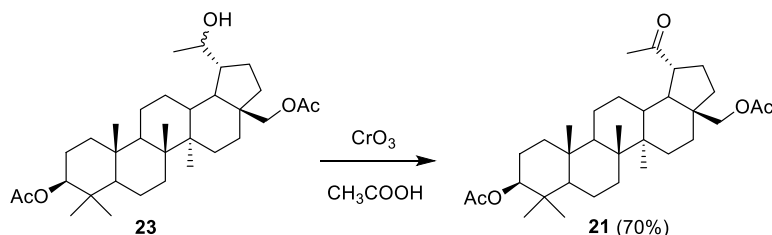
Schemat 14. Epoksydowanie dioctanu betuliny.

Wydajną metodą otrzymywania epoksydu **27** jest reakcja dioctanu betuliny **14** z dimetyldioksyranem (DMD) w mieszaninie rozpuszczalników aceton/ CH_2Cl_2 . Reakcja przebiega stereoselektywnie, jedynym produktem jest związek o konfiguracji 20R (90%, Schemat 14).²³

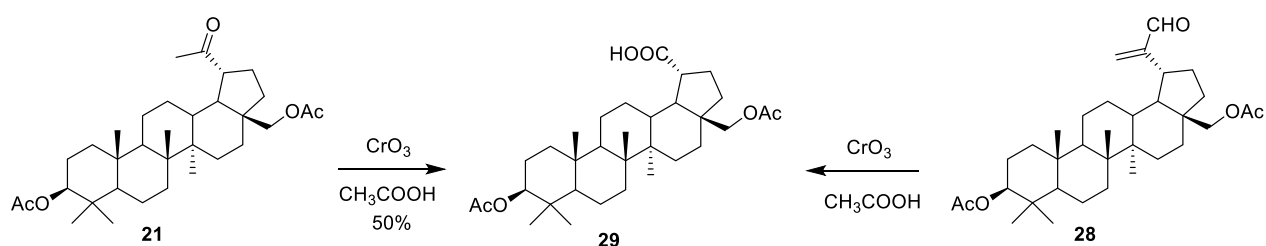


Schemat 15. Dalsze utlenianie epoksydu.

Epoksyd **27** może być poddany dalszemu utlenianiu kwasem nadmanganowym z utworzeniem mieszaniny noralkoholi **23** (55%), α,β -nienasyconego aldehydu **28** (4,5%) i norketonu **21** (2,5%, Schemat 15).¹⁹

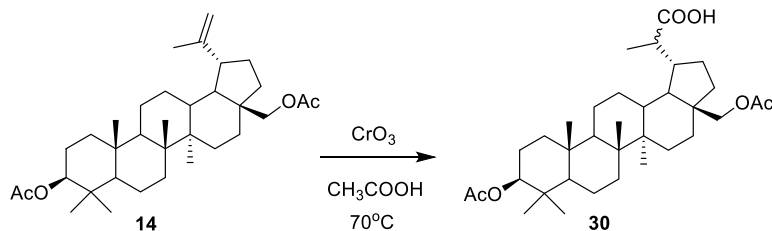
Schemat 16. Synteza norketonu **21**.

Noralkohole **23** można utlenić za pomocą CrO_3 w kwasie octowym do norketonu **21** z dobrą wydajnością (ok. 70%, Schemat 16).¹⁹



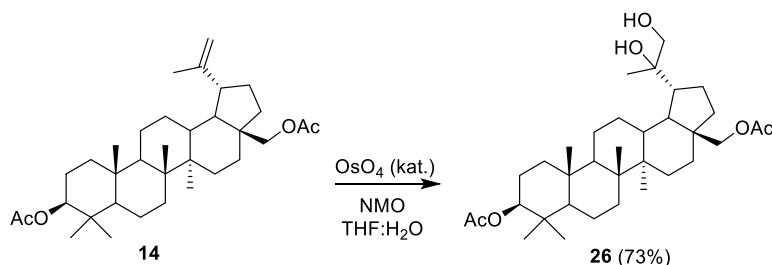
Schemat 17. Synteza kwasowych pochodnych dioctanu betuliny.

Dalsze utlenianie norketonu **21** prowadzi do utworzenia dinorkwasu **29**. Substratem w tej reakcji może być również α,β -nienasycony aldehyd **28** (Schemat 17).



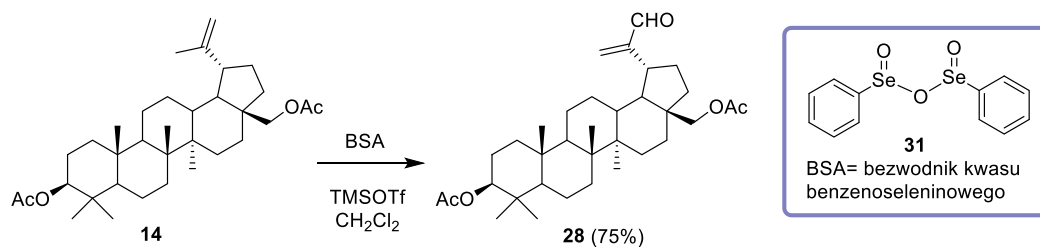
Schemat 18. Utlenianie wiązania podwójnego dioctanu betuliny trójtlenkiem chromu.

Utlenianie wiązania podwójnego w dioctanie betuliny można przeprowadzić również w obecności CrO_3 . Reakcję prowadzi się w kwasie octowym w temperaturze 70 °C. Produktami reakcji są epimeryczne kwasy karboksylowe **30** (Schemat 18). Autorzy nie podali wydajności reakcji.¹⁹



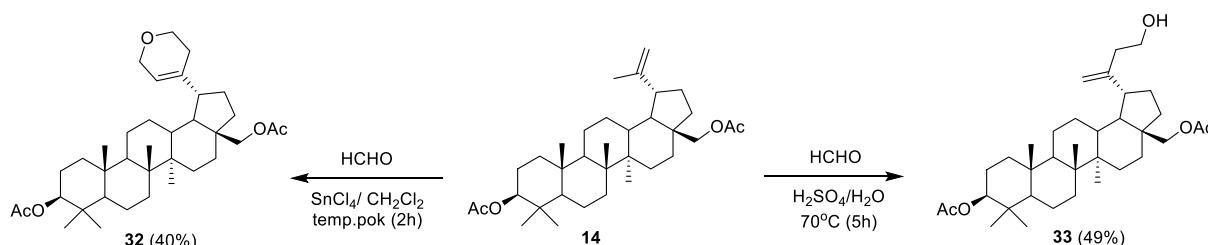
Schemat 19. Synteza doili za pomocą czterotlenku osmu.

Utlenianie wiązania podwójnego C20(29) za pomocą czterotlenku osmu w obecności N-tlenku N-metylomorfoliny w mieszaninie rozpuszczalników THF/H₂O prowadzi do utworzenia dioli **26** (73%, Schemat 19).²⁴



Schemat 20. Utlenianie wiązania podwójnego za pomocą BSA.

Bardzo dobrą metodą utleniania wiązań podwójnych jest reakcja olefin z bezwodnikiem kwasu benzenoseleninowego (BSA) w obecności triflanu trimetylosililu (TMSOTf). W tych warunkach z diacetanu betuliny powstaje z bardzo dobrą wydajnością α,β -nienasycony aldehyd **28** (75%, Schemat 20).²⁵

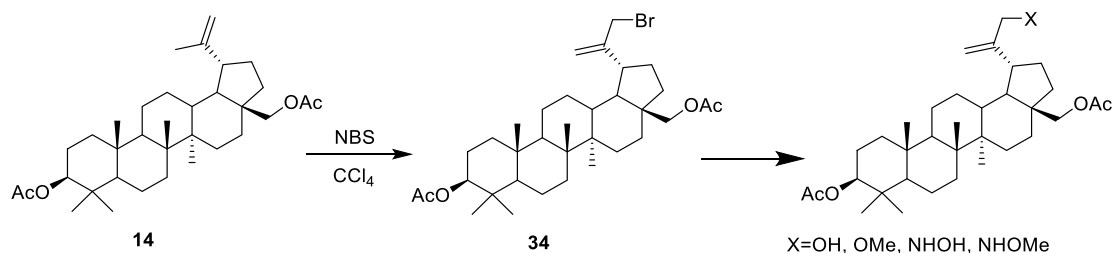


Schemat 21. Reakcja Prinsa.

Diocetan betuliny może również reagować z formaldehydem w warunkach reakcji Prinsa. W standardowych warunkach (kwas siarkowy/H₂O, 70°C, 5h) produktem jest alkohol **33** (49%). Natomiast w obecności kwasów Lewisa (SnCl₄, AlCl₃ i ZnCl₂) jako jedyny produkt powstaje związek **32**. Najlepszą wydajność reakcji otrzymano stosując SnCl₄ w dichlorometanie (Schemat 21).²⁶

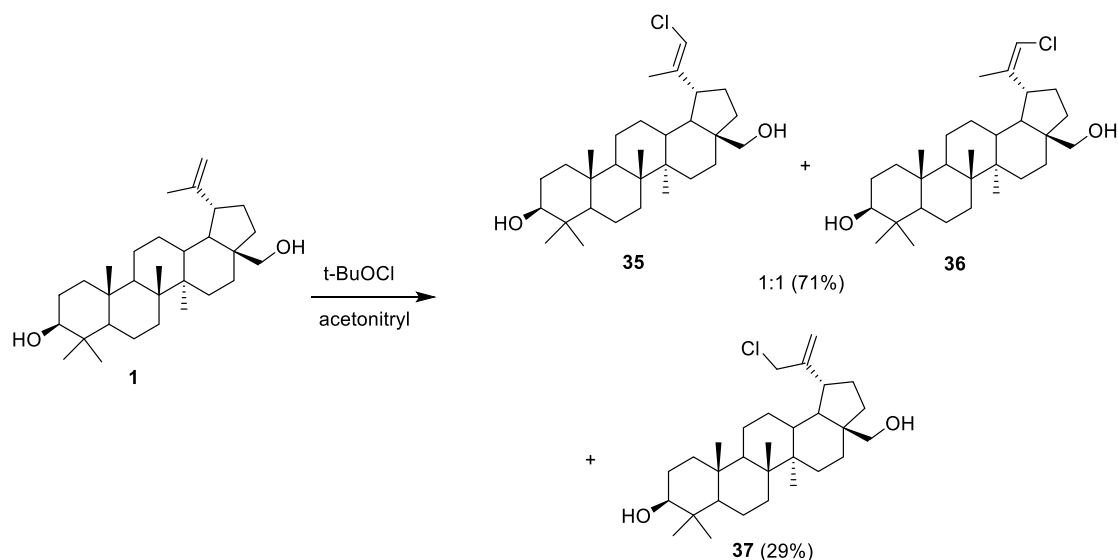
Halogenopochodne

Bromowanie w pozycji allilowej wykorzystywane jest do syntezy pochodnych betuliny podstawionych w pozycji C-30.



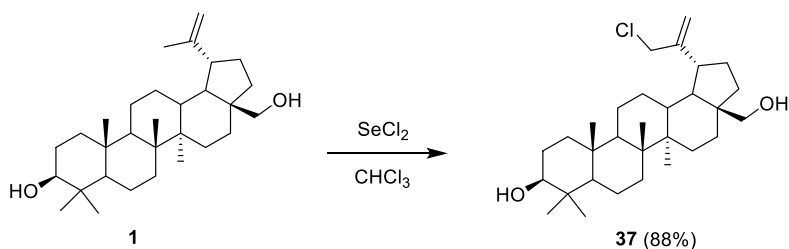
Schemat 22. Funkcjonalizacja betuliny w pozycji allilowej.

Diocetan betuliny w reakcji z NBS w czterochlorowku węgla ulega bromowaniu w pozycji allilowej z utworzeniem pochodnej **34** (73%). Związek ten może łatwo ulegać dalszym reakcjom podstawienia nukleofilowego, dając nowe pochodne zawierające inne grupy funkcyjne (Schemat 22).²⁷

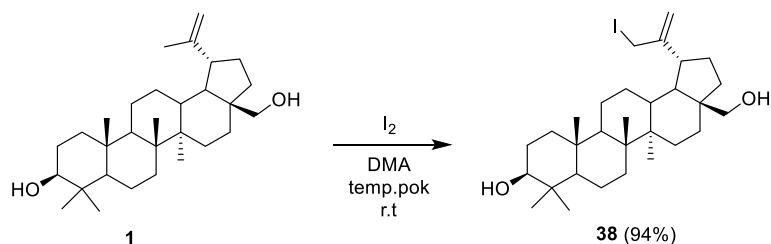


Schemat 23. Reakcja chlorowania grupy izopropenylowej w betulinie.

Natomiast chlorowanie łańcucha bocznego betuliny w pozycji C19 za pomocą podchlorynu *tert*-butyłu w acetonitrylu, w obniżonej temperaturze (7-10°C), nie jest selektywne. Obok produktu chlorowania w pozycji allilowej **37** (29%) tworzą się w znacznej ilości produkty chlorowania wiązania podwójnego grupy izopropenylowej **35** i **36** (71%, Schemat 23).²⁸

Schemat 24. Chlorowanie pozycji allilowej za pomocą SeCl_2 .

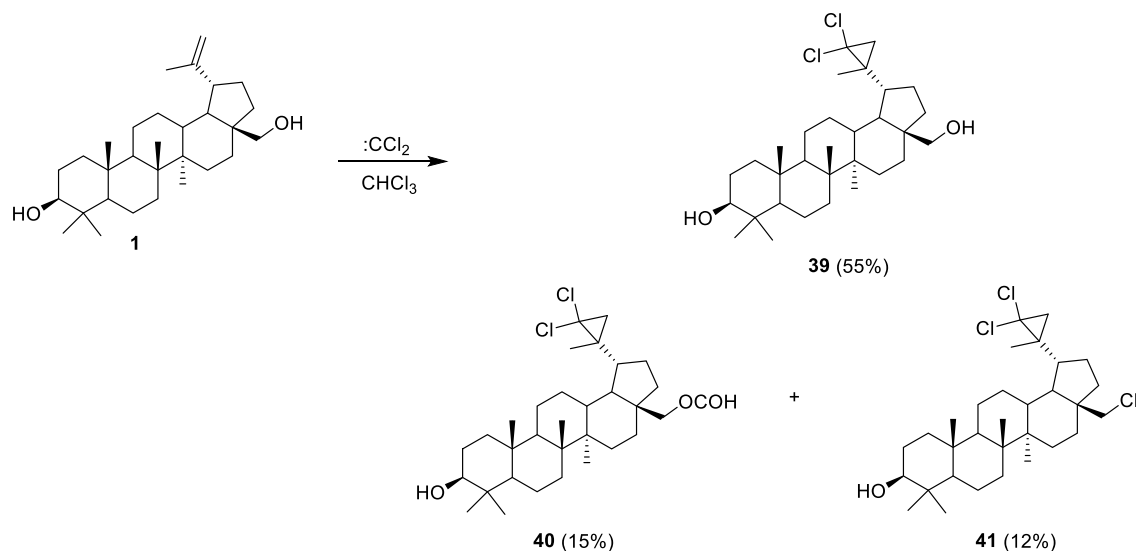
Produkt chlorowania w pozycji allilowej można otrzymać z bardzo dobrą wydajnością (88%) w wyniku reakcji z SeCl_2 w chloroformie (20h, temp. pokojowa). Jako jedyny produkt tworzy się oczekiwana chloropochodna betuliny **37** (Schemat 24).²⁹



Schemat 25. Jodowanie pozycji allilowej za pomocą cząsteczkowego jodu.

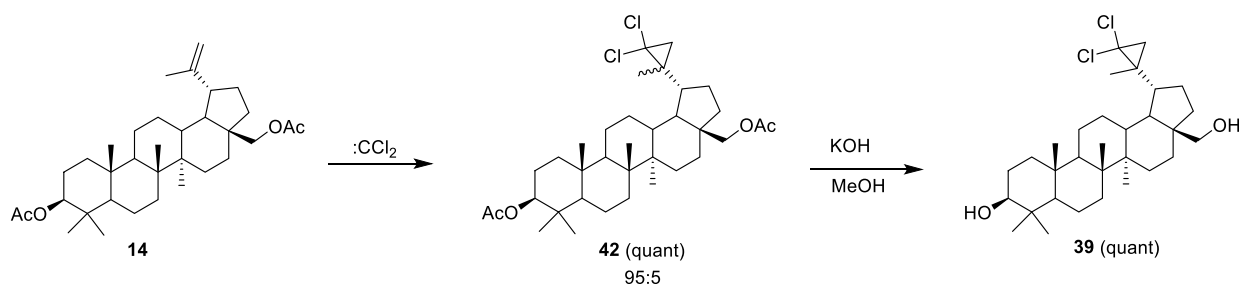
Anion jodkowy jest grupą dobrze odchodzącą, wprowadzenie atomu jodu do cząsteczki otwiera (tak jak w przypadku bromu czy chloru) łatwą drogę do kolejnych przekształceń. Skuteczną metodą wprowadzenia jodu do cząsteczki jest użycie nadmiaru krystalicznego jodu w *N,N*-dimetyloacetamidzie; betulina reaguje w tych warunkach z utworzeniem jodopochodnej **38** (94%, Schemat 25).³⁰

Obecność grupy izopropenylowej w cząsteczkach triterpenoidów umożliwia również otrzymanie pochodnych cyklopropanu w łańcuchu bocznym, otwierając w ten sposób szerokie perspektywy modyfikacji szkieletu lupanowego w pozycji C-20.



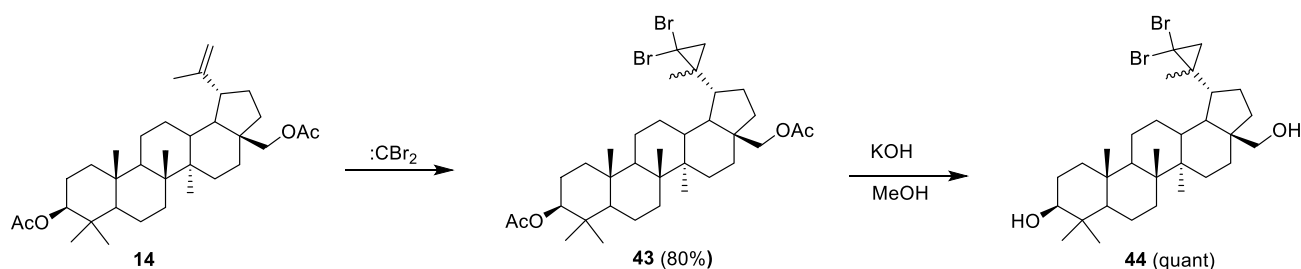
Schemat 26. Chlorocyklopropanowanie betuliny.

Reakcja betuliny z dichlorokarbenem wytworzonym z $CHCl_3$ przez działanie 50% roztworem wodorotlenku sodu w obecności chlorku benzylotrietyloamoniowego, w temperaturze pokojowej, daje pochodną dichlorocyklopropanową **39** (55%) oraz mieszaninę jej mrówczanu **40** i chlorku **41** w stosunku 5:4 (27%, Schemat 26).³¹



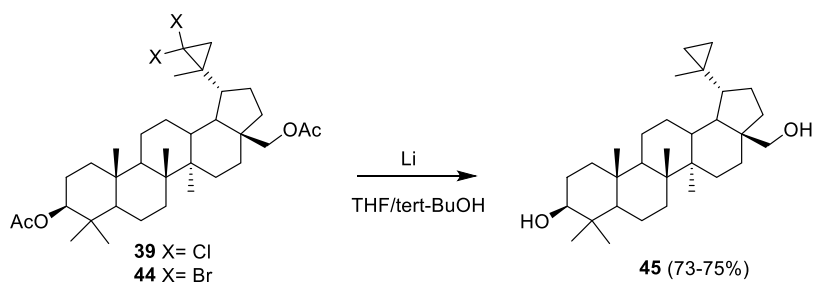
Schemat 27. Chlorocyklopropanowanie dioctanu betuliny.

Aby uniknąć tworzenia się niepożądanych produktów **40** i **41**, reakcję przeprowadzono z dioctanem betuliny **14**. W wyniku reakcji z dichlorokarbenem powstawał ilościowo związek **42** jako mieszanina dwóch diastereoizomerów w stosunku 95:5. Główny diastereoizomer wyodrębnilo przez rekryystalizację. Hydroliza grup acetylowych pod działaniem 5% roztworu KOH w MeOH dostarczyła diol **39** z wydajnością ilościową (Schemat 27).³¹



Schemat 28. Bromocyklopropanowanie dioctanu betuliny.

Zastąpienie dichlorokarbenu mniej elektrofilowym dibromokarbenu prowadzi do wydłużenia czasu reakcji. Pochodna **43** powstaje z wydajnością 80%. Hydroliza grup octanowych dostarczyła diol **44** z wydajnością ilościową (Schemat 28).³¹

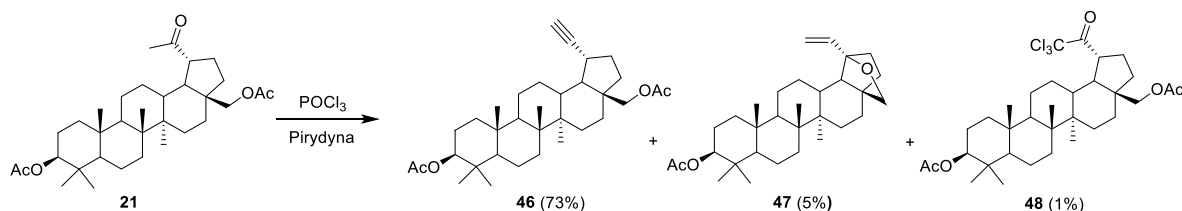


Schemat 29. Synteza cyklopropanowej pochodnej betuliny.

Zarówno dibromo jak i dichloropochodną można poddać redukcji litem w mieszaninie rozpuszczalników THF/*tert*-butanol. Produktem reakcji jest związek **45** (73-75%, Schemat 29).³¹

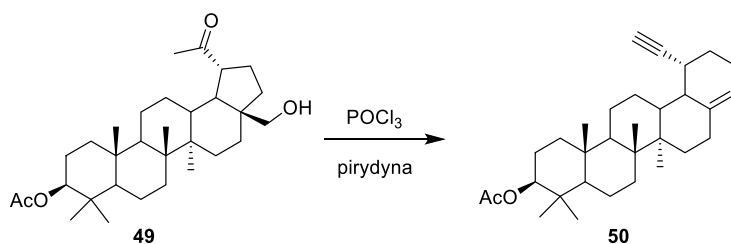
Pochodne alkinowe

Znany powszechnie sposób otrzymywania pochodnych acetylenu oparty jest na reakcji ketonów z tlenochlorkiem fosforu.



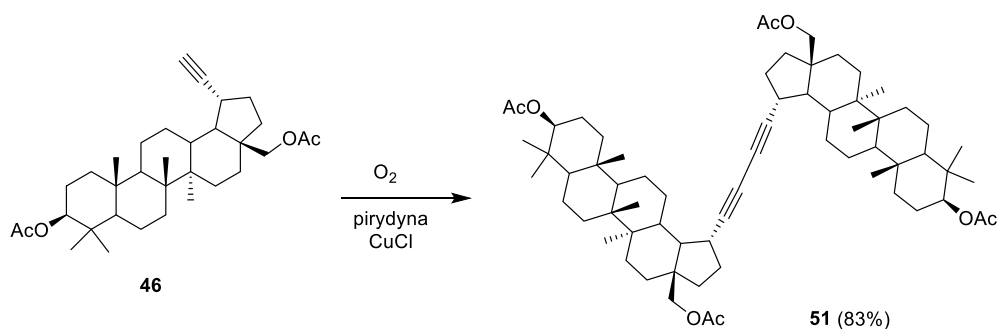
Schemat 30. Otrzymywanie pochodnych zawierających ugrupowanie acetylenowe.

Keton **21** otrzymany w wyniku reakcji ozonolizy dioctanu betuliny, ogrzewano z POCl_3 w pirydynie w 115 °C. Uzyskano acetylenopochodną **46** z wydajnością 73% oraz śladowe ilości związków **47** i **48** (Schemat. 30).³²



Rys 31. Otrzymywanie pochodnych zawierających ugrupowanie acetylenowe.

W przypadku, gdy substratem jest selektywnie zabezpieczony keton **49** (grupa acetylowa w pozycji C-3), produktem reakcji jest pochodna **50** zawierająca sześcioczłonowy pierścień E. Ekspansja pierścienia jest wynikiem udziału w reakcji wolnej grupy hydroksylowej w pozycji C-28. Autorzy pracy nie podali wydajności reakcji (Schemat 31).³³

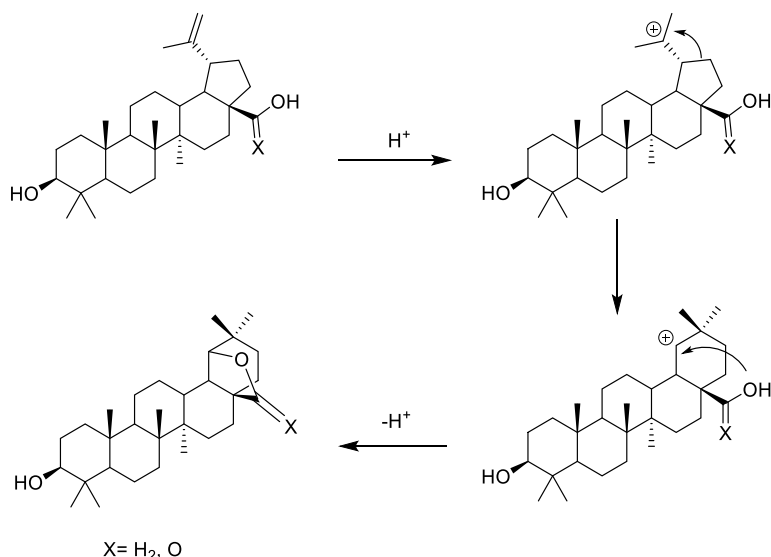


Schemat 32. Reakcja sprzęgania związków z terminalnym wiązaniem potrójnym.

Otrzymaną powyżej pochodną z wiązaniem potrójnym wykorzystano w reakcji oksydacyjnego sprzęgania. Bis-acetylenową pochodną betuliny **51** zsyntetyzowano z wydajnością 83% poprzez oksydacyjną dimeryzację związku **46** w pirydynie w obecności chlorku miedzi(I) (Schemat 32).³²

Przegrupowanie Wagnera-Meerweina

Przegrupowania obejmujące tworzenie się karbokationu i migrację 1,2-wodoru lub grup alkilowych są określane mianem przegrupowania Wagnera-Meerweina. Ta grupa transformacji jest szczególnie ważną i szeroko opisywaną w chemii terpenoidów.^{34,35}



Schemat 33. Przegrupowanie Wagnera-Meerweina pierścienia E betuliny do allobetuliny.

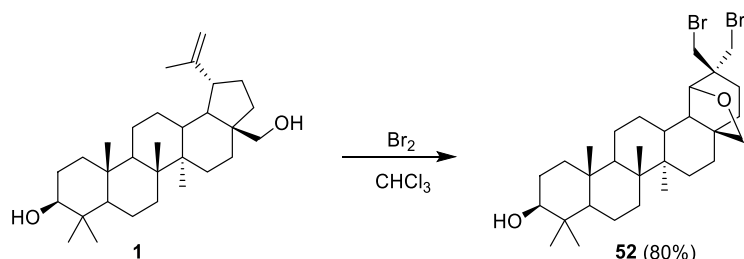
Duże znaczenie preparatywne ma katalizowane kwasem przegrupowanie pierścienia E betuliny i jej pochodnych do oleanu z pierścieniem 19 β ,28-piranowym lub 28,19 β -laktonowym i jest powszechnie określana jako „przegrupowanie betuliny-allobetuliny” (Schemat 33).³⁵

Przegrupowanie Wagnera-Meerweina może być katalizowane różnymi kwasami, np. bromowodorem w chloroformie,³⁶ kwasem siarkowym w kwasie octowym,³⁷ czy stężonym kwasem solnym w etanolu.³⁸ Konwersja betuliny zachodzi również z dobrą wydajnością (80-90%) pod wpływem siarczanu dimetylu.³⁹

Wydajność przegrupowania można znacznie poprawić stosując odczynniki kwasowe zaadsorbowane na nośnikach stałych, tzw. „kwasy stałe”, takie jak kwas siarkowy lub kwas *p*-toluenosulfonowy zaabsorbowane na krzemionce, czy Montmorylonity K10 i KSF. W tych warunkach allobetulina otrzymywana jest z wydajnością zbliżoną do ilościowej.⁴⁰

W celu przekształcenia betuliny (**1**) w allobetulinę (**2**) stosowano również azotan żelaza(III) lub chlorek żelaza(III) zaabsorbowany na żelu krzemionkowym lub tlenku glinu, uzyskując produkt przegrupowania z doskonałą wydajnością.⁴¹ Kwas trifluoroctowy⁴² lub triflan bizmutu⁴³ również dają doskonałe wyniki.

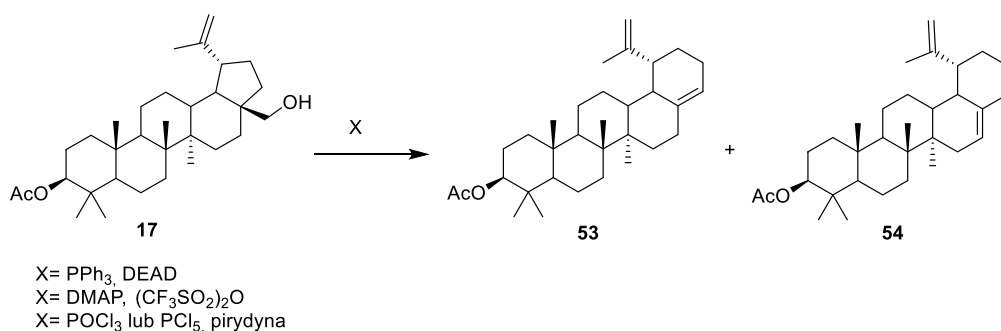
Inne prace, w tym również literatura patentowa, wspominają o stosowaniu rozcieńczonego kwasu siarkowego⁴⁴ i kwasu ortofosforowego⁴⁵ w celu połączenia procesu ekstrakcji betuliny z kory brzozonej i jej przegrupowania do allobetuliny.



Schemat 34. Synteza dibromoallobetuliny.

Addycja bromu do wiązania podwójnego betuliny również przebiega z jednoczesnym przegrupowaniem Wagnera-Meerweina w pierścieniu E. W wyniku reakcji w CHCl_3 tworzy się 29,30-dibromoallobetulina **52** z wydajnością 80% (Schemat 34).⁴⁶

W warunkach reakcji może następować również ekspansja pierścienia E betuliny poprzez dehydratację grupy hydroksylowej w pozycji C-28 i przegrupowanie tworzącego się karbokationu. W wyniku tej reakcji powstają z dobrą wydajnością pochodne 22(17→28)abeolupenu.



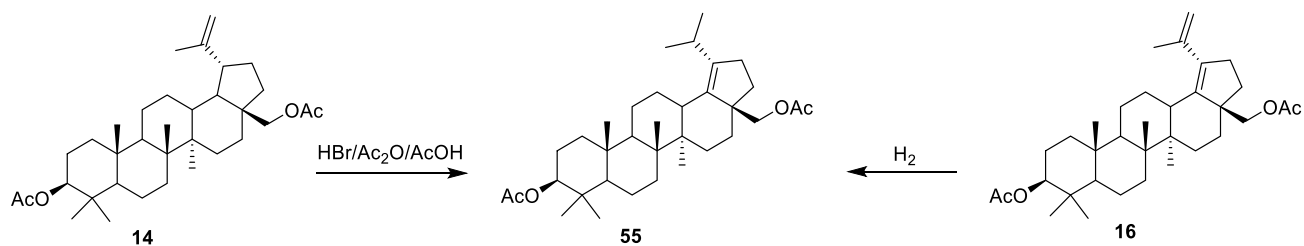
Schemat 35. Ekspansja pierścienia E w środowisku kwaśnym.

Przykładem takiego przegrupowania jest reakcja monodioctanu betuliny w warunkach reakcji Mitsunobu (DEAD, PPh_3). Produktem jest mieszanina dwóch homolupanów **53** i **54** (42%) w stosunku 4:1 (Schemat 35).⁴⁷

W celu zwiększenia wydajności można zastosować inne podejście polegające na aktywacji pozycji C-28 triterpenoidu przy użyciu bezwodnika trifluorometanosulfonowego w obecności DMAP. W tych warunkach olefiny **53** i **54** powstają z doskonałą wydajnością (87%).⁴⁷ Stosunek produktów nie ulega zmianie (4:1). Związek **53** można również otrzymać z bardzo dobrą wydajnością w reakcji octanu **17** z POCl_3 (73%)⁴⁸ lub PCl_5 (55%) w pirydynie.⁴⁹

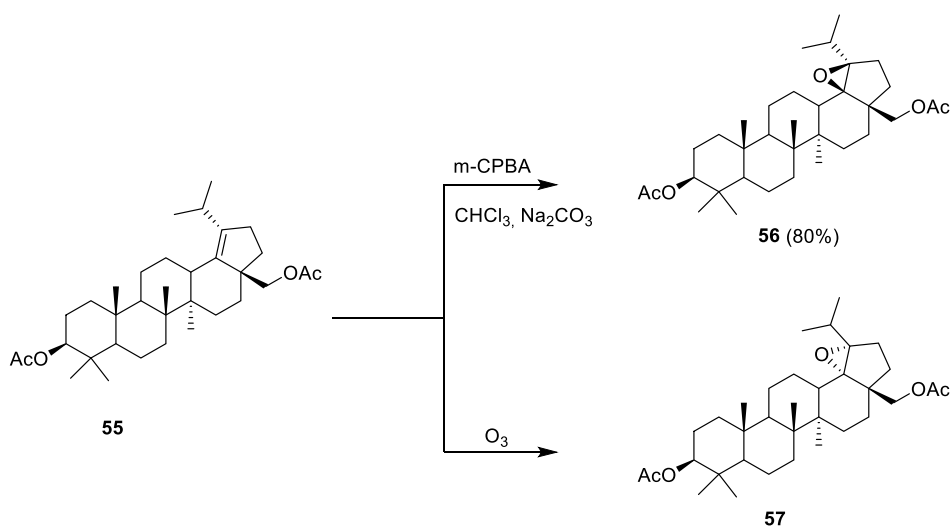
1.3.3.2 Reakcje z udziałem wiązania podwójnego w pierścieniu E

Zarówno bromowodór w środowisku kwas octowy/bezwodnik octowy/benzen, jak i kwas 4-toluenosulfonowy, katalizują migrację wiązania podwójnego w dioctanie betuliny.



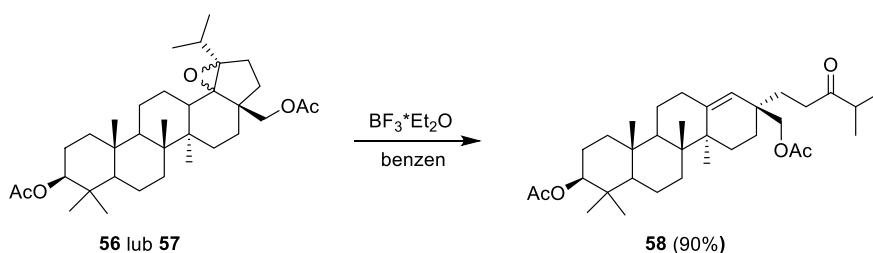
Schemat 36. Katalizowana kwasem migracja wiązania podwójnego.

Pod wpływem HBr, tworzy się olefina **55**.⁵⁰ Identyczny związek powstaje w wyniku częściowego uwodornienia produktu dehydrogenacji dioctanu betuliny octanem rtęci (**16**, Schemat 36). Autorzy tej publikacji nie podali wydajności reakcji.⁵¹

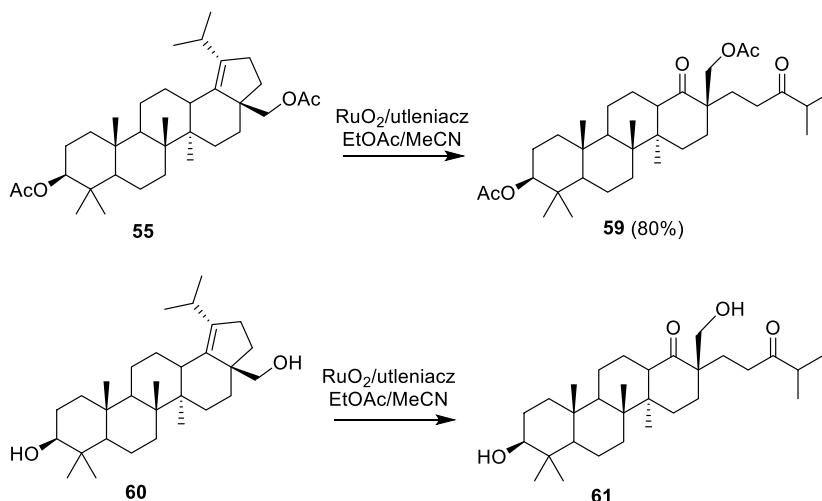


Schemat 37. Synteza epoksydów.

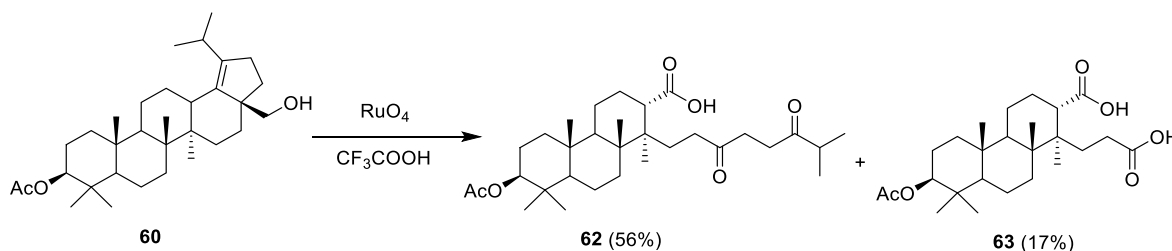
W wyniku działania na związek **55** kwasem nadmrowkowym lub 3-chloronadbenzoesowym w chloroformie, tworzy się 18β,19β-epoksyd **56** (80%). Natomiast w wyniku reakcji z ozonem powstaje 18α,19α-epoksyd **57** (Schemat 37). Autorzy publikacji nie podali wydajności reakcji.⁵²

Schemat 38. Przegrupowanie epoksydu w obecności $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$.

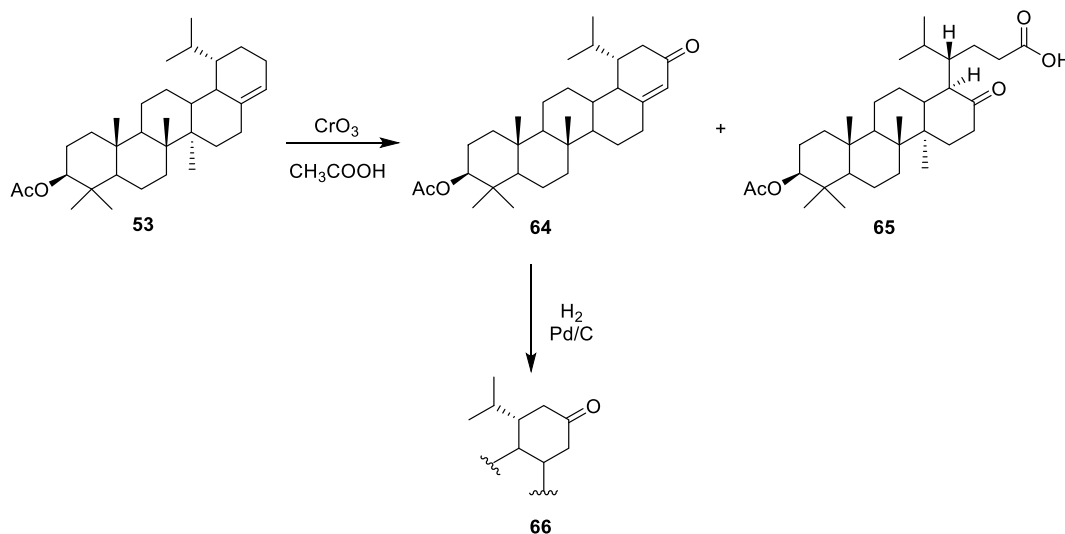
Zarówno epoksyd **56**, jak i **57** mogą reagować w obecności katalitycznej ilości $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ w benzenie z utworzeniem czteropierścieniowego związku **58**, zaliczanego do typu bakaranu (Schemat 38).

Schemat 39. Otwieranie pierścienia E betuliny za pomocą RuO₄.

Otwarcie pięciocłonowego pierścienia E można uzyskać również przez utlenianie pochodnych betuliny zawierających w pierścieniu E wiązanie podwójne.⁵³ Diacetylowana pochodna betuliny **55** pod działaniem RuO₄ tworzy diketon **59** (80%). W tych samych warunkach 18,19-izobetulina **60**, daje diketon **61** (Schemat 39).^{54,55}

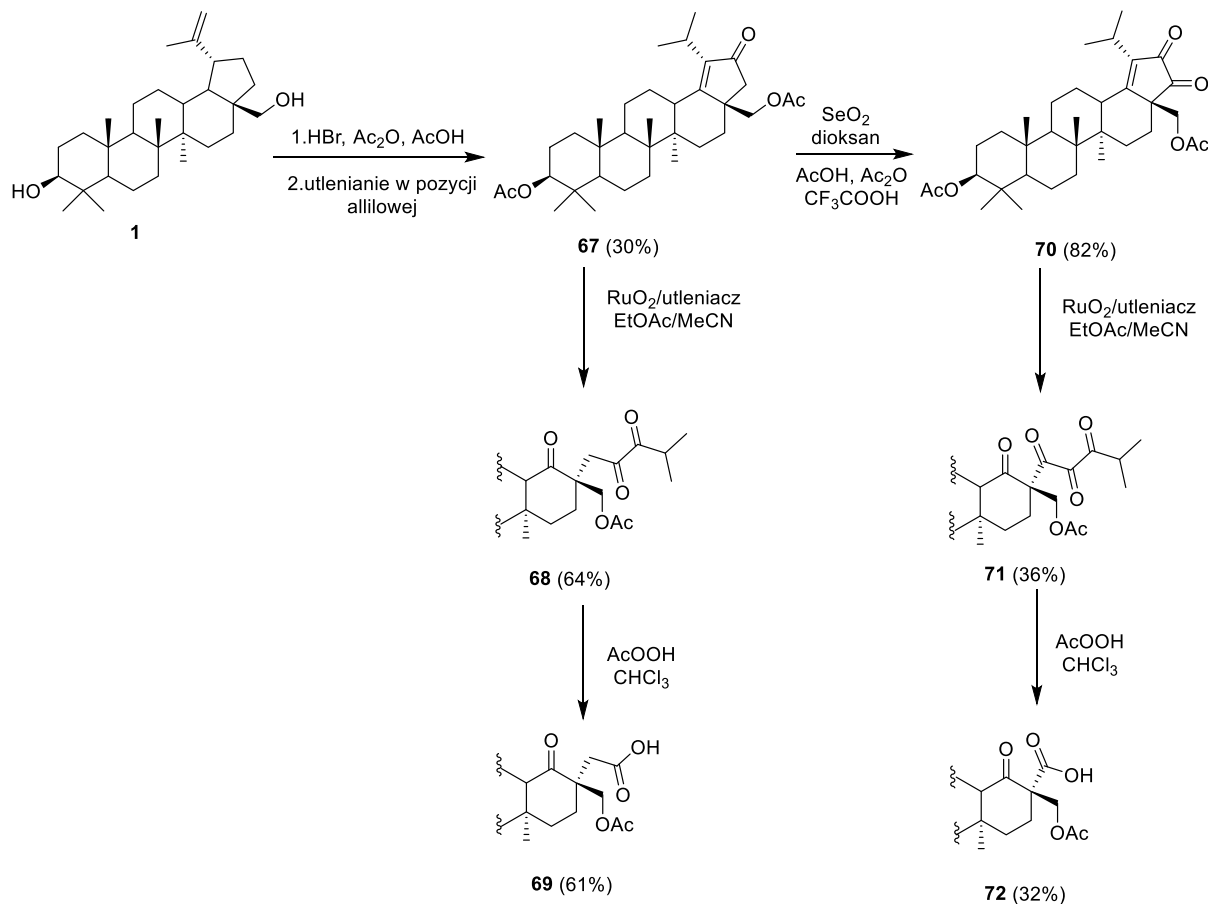
Schemat 40. Otwieranie pierścienia selektywnie zabezpieczonej betuliny E za pomocą RuO₄.

Jeśli utlenianie za pomocą RuO₄ prowadzi się w obecności CF₃CO₂H, następuje degradacja pierścieni D i E. Przykładowo, monoacetylowana pochodna betuliny **60** przekształca się w warunkach reakcji w diketokwas **62** (56%) i kwas dikarboksylowy **63** (17%, Schemat 40).⁵³



Schemat 41. Reakcje z udziałem sześciocłonowego pierścienia E.

W wyniku utleniania wiązania podwójnego w sześcioczłonowym pierścieniu E (**53**) trójtlenkiem chromu w kwasie octowym powstaje α,β -nienasycony keton **64** oraz czteropierścieniowy ketokwas **65**. Autorzy publikacji nie podali wydajności reakcji.⁵⁶ Możliwe są też dalsze przekształcenia otrzymanych związków. Wiązanie podwójne w związku **64** może być w łatwy sposób zredukowane wodorem w obecności katalizatora palladowego (Schemat 41).⁵⁶



Schemat 42. Synteza pochodnych betuliny zawierających zmodyfikowany pierścień E.

Manipulacja odczynnikami utleniającymi pozwala na otrzymanie szeregu tetracyklicznych analogów. α,β -Nienasycony keton **67**, łatwo dostępny z dioctanu betuliny przez katalizowaną kwasem izomeryzację wiązania podwójnego i utlenianie w pozycji allilowej utleniono dwutlenkiem selenu do diketonu **70** (82%, Schemat 42).^{57,58}

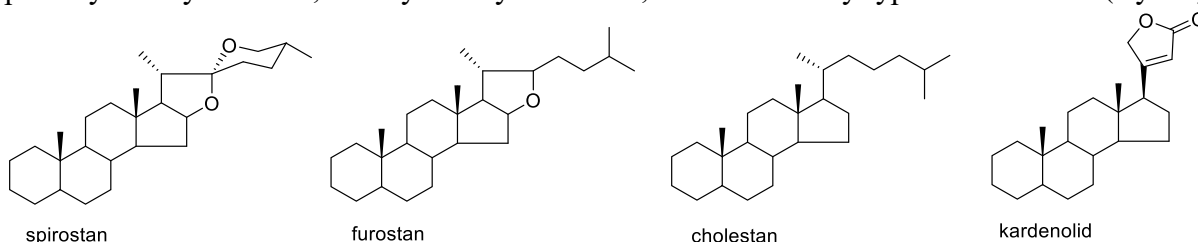
W celu rozcięcia wiązania podwójnego w pochodnych **67** i **70** zastosowano analogiczną metodę jak w przypadku otrzymywania związków **55** i **60** (Schemat 39 i 40). Reakcję prowadzono w obecności katalitycznej ilości tlenku rutenu(IV). Tlenek rutenu(VIII) wytwarzany jest in situ z tlenku rutenu(IV) i nadjodanu sodu, w dwufazowym układzie octan etylu/woda. Produktami rozszczepienia wiązania podwójnego są czteropierścieniowe związki **68** i **71**, które są wygodnymi materiałami do dalszych modyfikacji. Autorzy pracy poddali je reakcji z kwasem nadoctowym otrzymując kwasy **69** i **72** będące produktami przegrupowania Baeyera-Villigera.^{57,58}

1.4 SAPONINY

Naturalnie występujące saponiny stanowią strukturalnie zróżnicowaną klasę glikozydów, które składają się z triterpenowego lub steroidowego aglikonu połączonego z łańcuchem cukrowym.⁵⁹ Jako metabolity wtórne, te naturalne produkty są szeroko rozpowszechnione w roślinach lądowych, jak również w niektórych gatunkach morskich.^{60,61} Nazwa saponina pochodzi od łacińskiego słowa *sapo* oznaczającego mydło. Rzeczywiście, ze względu na amfifilowy charakter, który wynika z połączenia hydrofilowych łańcuchów cukrowych z lipofilowym aglikonem, saponiny mogą działać jako środki powierzchniowo czynne.⁶²

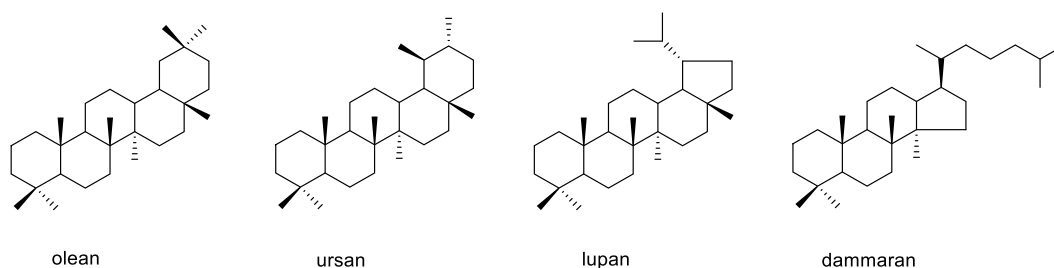
Saponiny wykazują również szereg właściwości biologicznych i farmakologicznych, w tym działanie hemolityczne, cytotoksyczne, immunomodulujące, przeciwzapalne i przeciwnowotworowe.⁶³ Wiele saponin stanowi kluczowe składniki w lekach pochodzenia roślinnego stosowanych w medycynie ludowej, a w szczególności w tradycyjnej medycynie chińskiej. Ponadto saponiny znalazły również wiele innych zastosowań w przemyśle spożywczym i kosmetycznym.⁶⁴ Szerokie spektrum właściwości saponin przypisuje się przede wszystkim ich aglikonowemu szkieletowi, który ulega licznym modyfikacjom.

Na podstawie struktury szkieletów aglikonu, saponiny zazwyczaj dzieli się na dwie główne grupy, saponiny steroidowe i saponiny triterpenowe. Saponiny steroidowe, które występują niemal wyłącznie w jednoliściennych okrytonasiennych, obejmują cztery reprezentatywne typy szkieletów steroidowych, a mianowicie heksacykliczny spirostan, pentacykliczny furostan, tetracykliczny cholestan, oraz laktonowy typ kardenolidów (Rys. 7).



Rysunek 7. Rodzaje szkieletów steroidowych.

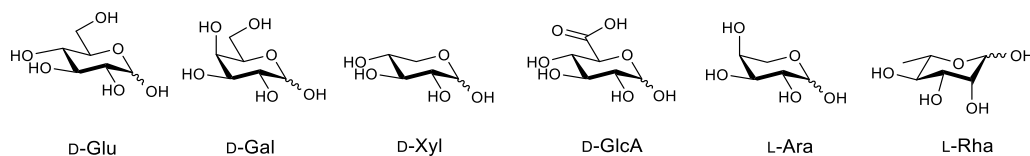
Saponiny triterpenowe, które są szeroko rozpowszechnione w okrytonasiennych i okrytozalążkowych, obejmują cztery reprezentatywne typy szkieletów triterpenowych, a mianowicie pentacykliczne olean, ursan i lupan, oraz tetracykliczny dammaran (Rys. 8).



Rysunek 8. Rodzaje szkieletów triterpenowych.

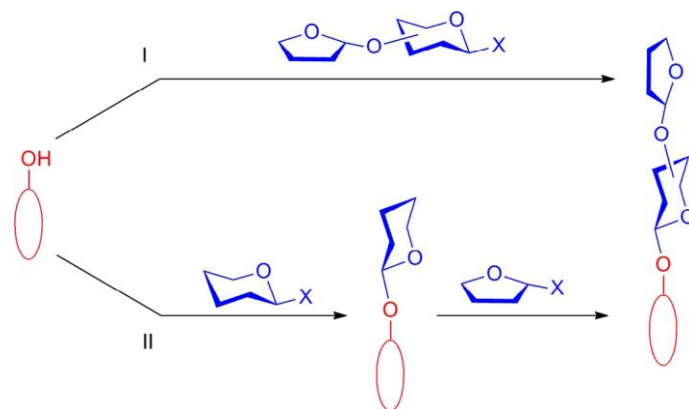
Ponadto, liczba łańcuchów sacharydowych przyłączonych do aglikonowego szkieletu może się zmieniać, dając początek monopodstawionym (z pojedynczym łańcuchem cukrowym najczęściej w pozycji C-3) lub dwupodstawionym (przyłączone są dwa łańcuchy cukrowe w pozycjach C-3 i C-28) saponinom. Możliwe jest również przyłączenie reszt cukrowych w innych pozycjach szkieletu triterpenowego.

Najczęściej występującymi w saponinach cukrami są D-glukoza (D-Glu), L-ramnoza (L-Rha), kwas D-glukuronowy (D-GlcA), D-ksyloza (D-Xyl), L-arabinoza (L-Ara, zarówno w postaci piranozowej, jak i furanozowej) i D-galaktoza (D-Gal).



Rysunek 9. Przykładowe cukry występujące w saponinach.

Do tej pory zbadano wiele struktur saponin oraz określono ich aktywność biologiczną, jednakże zależności struktura-aktywność (SAR) i mechanizmy działania saponin są nadal słabo poznane. Izolacja czystych saponin z surowych ekstraktów roślinnych, szczególnie w znaczących ilościach, jest niezwykle żmudna. Synteza chemiczna jest więc niezbędnym narzędziem w otrzymywaniu saponin w ilości wystarczającej do badań SAR i poszukiwania nowych pochodnych o potencjalnych właściwościach biologicznych.



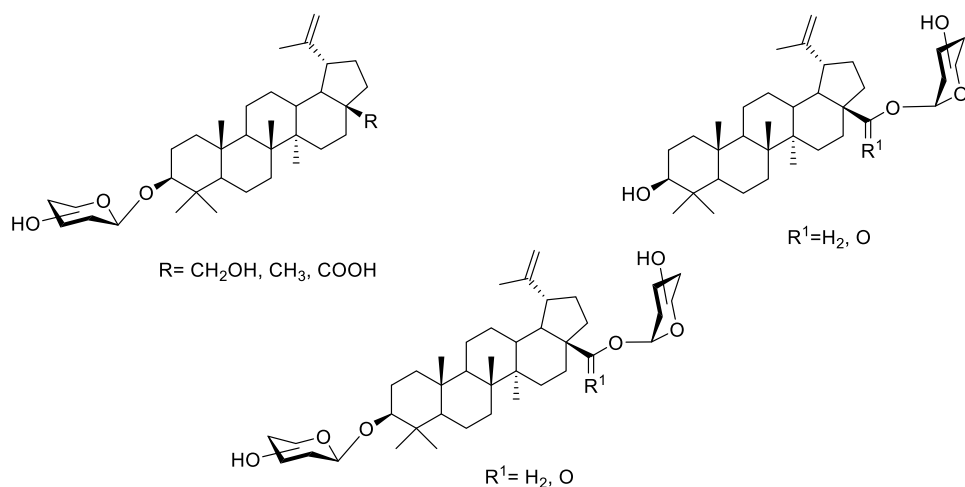
Rysunek 10.

Najprostszym sposobem syntezy saponin jest taktyka zbieżna, która umożliwia przyłączenie gotowego łańcucha cukrowego z aglikonem (Taktyka I, Rys. 10). Taktyka zbieżna jest preferowana, gdy istnieje utrudniony dostęp do centrum reakcyjnego w aglikonie lub jest on wrażliwy na odczynniki i warunki związane z wydłużaniem łańcucha cukrowego. Inną strategią jest taktyka liniowa, w której łańcuch oligosacharydu buduje się stopniowo na szkieletcie aglikonu. (Taktyka II, Rys. 10). Taktykę liniową można stosować, gdy możliwe jest stereoselektywne tworzenie naturalnie występującego wiązania 1,2-*trans*-glikozydowego między jednostką cukrową a aglikonem przez wykorzystanie efektu uczestnictwa grupy sąsiadującej (NGP). Należy pamiętać, że nie ma uniwersalnej taktyki, która zapewni efektywną syntezę saponin. Wyżej wymienione podejścia mają zarówno zalety jak i wady, a wybór taktyki w dużym stopniu zależy od konkretnych struktur saponin.⁶⁵

Bardzo ważnym zagadnieniem przy syntezie saponin jest odpowiedni dobór grup zabezpieczających w części sacharydowej, gdyż ma on kluczowe znaczenie dla powodzenia syntezy, wpływa znacząco na stereo-, chemo- i regioselektywność, jak również na wydajność reakcji glikozydowania. Należy zwrócić uwagę, że grupy estrowe, wprowadzone w pozycję C-2 w donorach glikozydowych, mogą zapewnić utworzenie wiązania 1,2-*trans*-glikozydowego w wyniku działania efektu grupy sąsiadującej (NGP), podczas gdy reakcja aglikonu z donorem glikozydowym zawierającym podstawnik typu estrowego w pozycji C-2 często prowadzi do mieszanin α / β -anomerów.⁶⁵

1.4.1 Saponiny typu lupanu

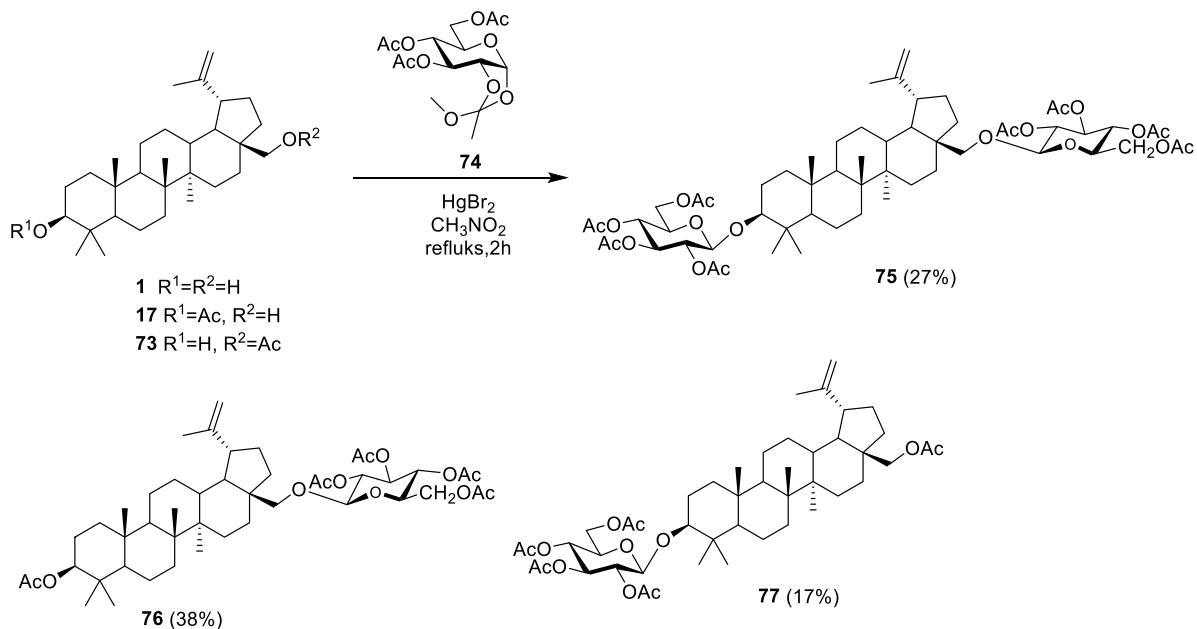
Saponiny lupanowe przyciągnęły szczególną uwagę w ostatniej dekadzie z powodu ich interesujących właściwości biologicznych, w tym aktywności przeciwnowotworowej, przeciwzapalnej i aktywności hamującej lipazy.⁶⁶



Rysunek 11. Przykładowe struktury saponin typu lupanu.

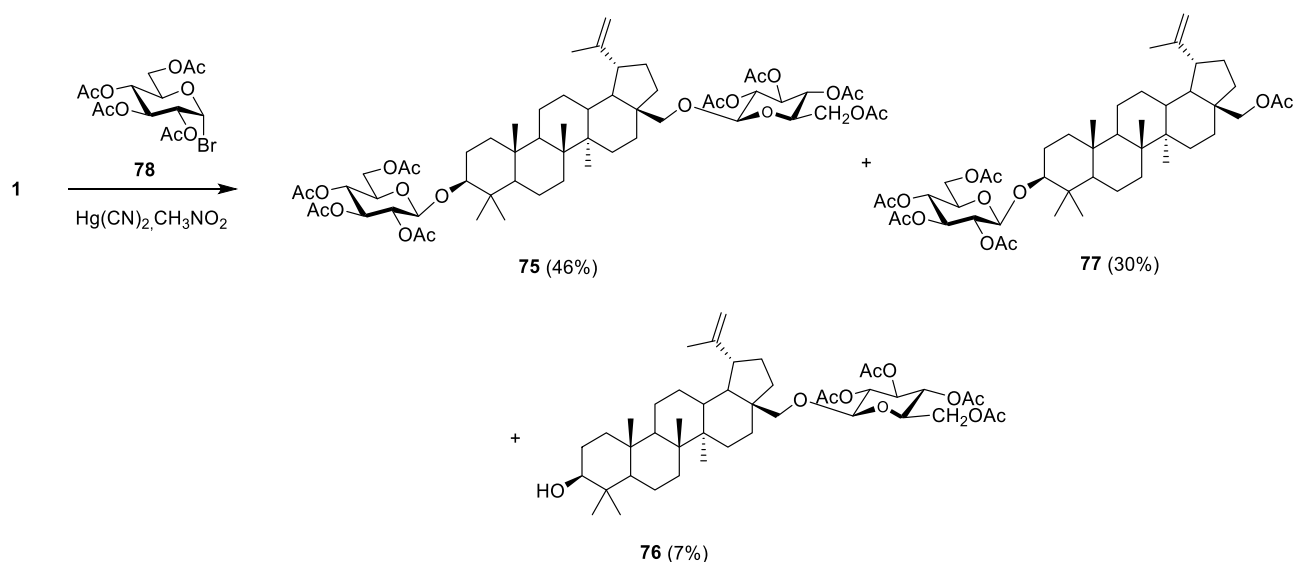
Saponiny lupanowe składają się z aglikonu zawierającego resztę lupeolu, betuliny lub kwasu betulinowego, połączonego wiązaniem/wiązaniem glikozydowymi z łańcuchami cukrowymi w pozycjach C-3 i/lub C-28 (Rys.11).

W literaturze można znaleźć różne metody syntezy saponin typu lupanu. Jedną z pierwszych syntez saponin typu lupanowego opublikowano w 1973 roku.



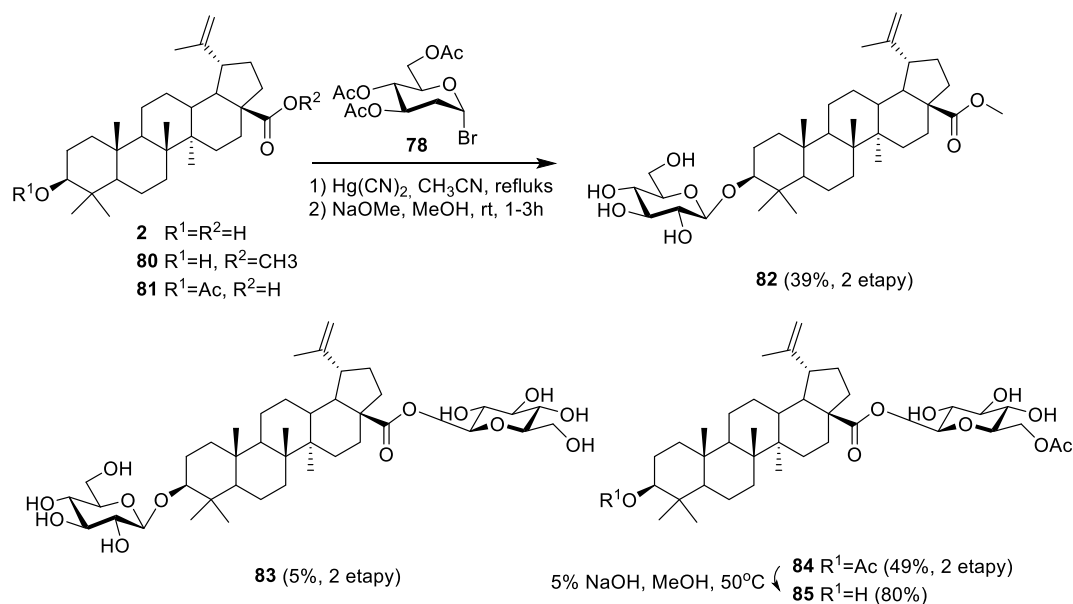
Schemat 43. Synteza saponin betulinowych z ortoestrów cukrowych.

Saponiny (**75-77**) otrzymano w wyniku reakcji pomiędzy betulina (**1**) i jej monoacetanami (**17**, **73**) z peracetylowanym ortoestrem glukopiranozy **74** w obecności HgBr₂ jako promotora. Reakcja była stereoselektywna. Jako jedyne produkty otrzymano saponiny z wiązaniem β-glikozydowym (1,2-*trans*-glikozydy, Schemat 43).⁶⁷



Schemat 44. Synteza acetylowanych saponin betuliny w warunkach Koenigsa - Knorra.

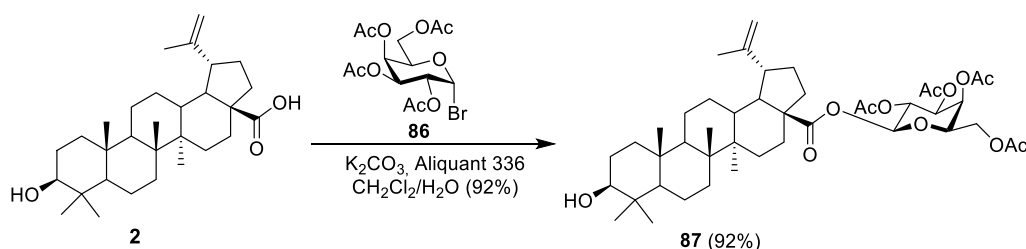
Kilka lat później opisano syntezę saponin betuliny (**75**, **76** i **77**) stosując procedurę Koenigsa - Knorra. Reakcja sprzęgania betuliny (**1**) z bromkiem glikozyłu **78**, w obecności $\text{Hg}(\text{CN})_2$ doprowadziła do utworzenia dwóch monopodstawionych saponin w pozycjach C-28 (**76**, 7%) i C-3 (**77**, 30%), a także saponiny dwupodstawionej (**75**, 46%, Schemat 44). Grupa acetylowa w pozycji C-2 była niezbędna do stereoselektywnego utworzenia wiązania glikozylowego 1,2-*trans*. Stosując omawianą metodę można również otrzymać inne saponiny lupanowe.⁶⁸ Obecnie stosowane są alternatywne metody glikozydowania w celu uniknięcia toksycznych soli rtęci.



Schemat 45. Synteza acetylowanych saponin lupanowych w warunkach Koenigsa - Knorra.

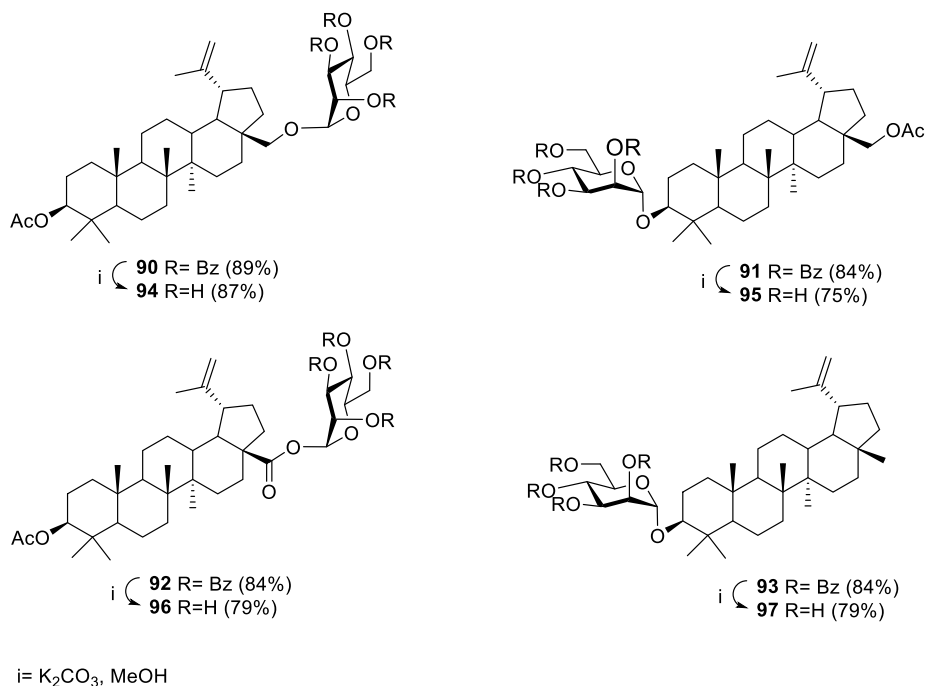
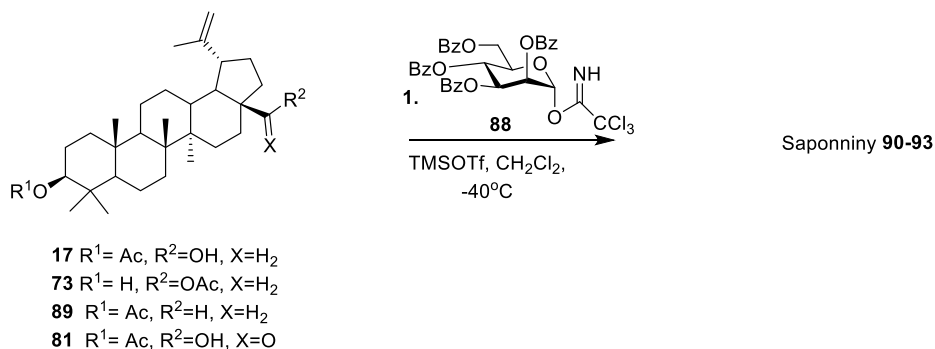
W standardowych warunkach reakcji glikozydowania metodą Koenigsa - Knorra, betulian metylu **80** reagował z bromkiem glikozylowym z utworzeniem peracetylowanego związku, który poddano hydrolizie w celu otrzymania saponiny z wolnymi grupami hydroksylowymi (**82**, 39% po dwóch etapach). W wyniku analogicznej reakcji zabezpieczonego w pozycji C-3 kwasu betuliny **81** powstają saponiny z pojedynczym łańcuchem cukrowym (**84-85**, 39% po trzech etapach). Natomiast reakcja z udziałem wolnego

kwasy betulinowego **2** prowadzi do powstania saponiny dwupodstawionej (**83**, 5% po dwóch etapach, Schemat 45).⁶⁹



Schemat 46. Synteza saponin z wykorzystaniem metody PTC.

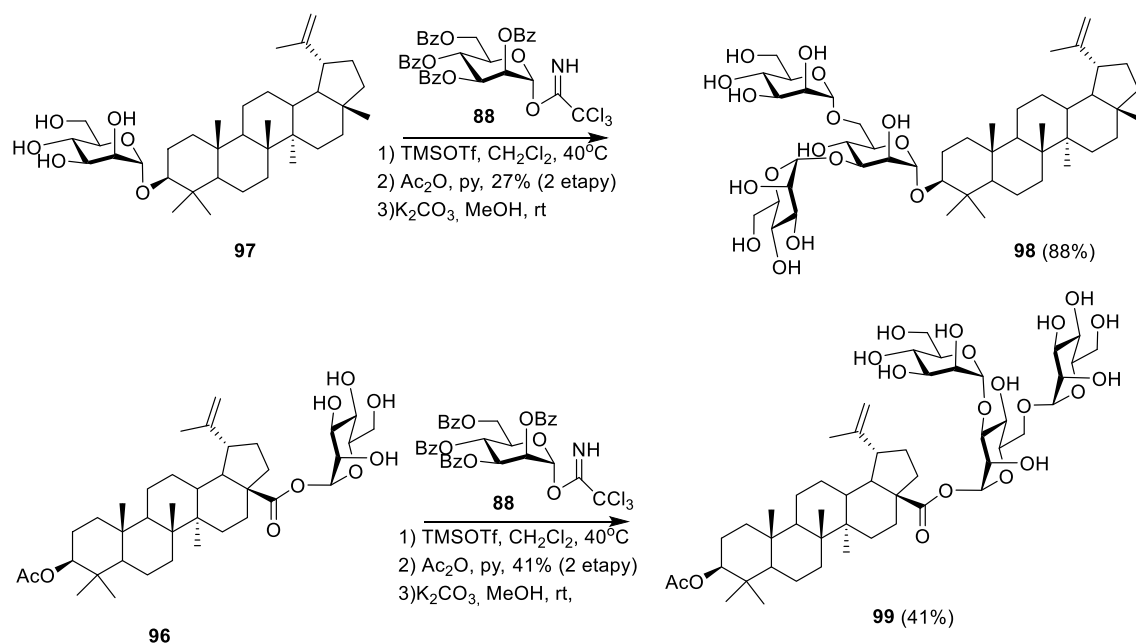
Syntezę saponin można również prowadzić w warunkach przeniesienia międzyfazowego. Opracowana metodologia daje estry 1,2-*trans*-glikozydowe z wysoką wydajnością. W omawianym przykładzie reakcję prowadzono w heterogenicznym układzie rozpuszczalników ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$), w obecności bromku glukozydu **86** i katalizatora przeniesienia fazowego (Aliquant 336). Typowym przykładem wykorzystania tej metodologii jest synteza 28-*O*-2,3,4,6-tetra-*O*-acetylo- β -D-galaktopiranozy (**87**) z kwasu betulinowego z wysoką wydajnością (92%, Schemat 46).⁷⁰



Schemat 47. Synteza saponin zawierających resztę D-mannozy.

W ostatnich latach w naszym zespole opracowano szybki i skuteczny sposób otrzymywania saponin zawierających resztę D-mannozy (jako reszty monocukru i trisacharydu), pochodnych lupeolu, kwasu betulinowego i betuliny.⁷¹ Skuteczna synteza tych związków jest szczególnie pożądana, gdyż końcowe jednostki α -mannopiranozyłowe rozpoznawane są przez receptory makrofagów i komórek dendrytycznych powszechnie występujących w glikoproteinach patogennych bakterii, drożdży i różnych pasożytów. Ze szczególnie wysokim powinowactwem do receptorów mannozowych wiąże się rozgałęziony ligand 3,6-di-O-(α -D-mannopiranozylo)- α -D-manopiranozyłowy, otwierając drogę do transportu antygenów lub leków do ludzkich komórek dendrytycznych i makrofagów.⁷²

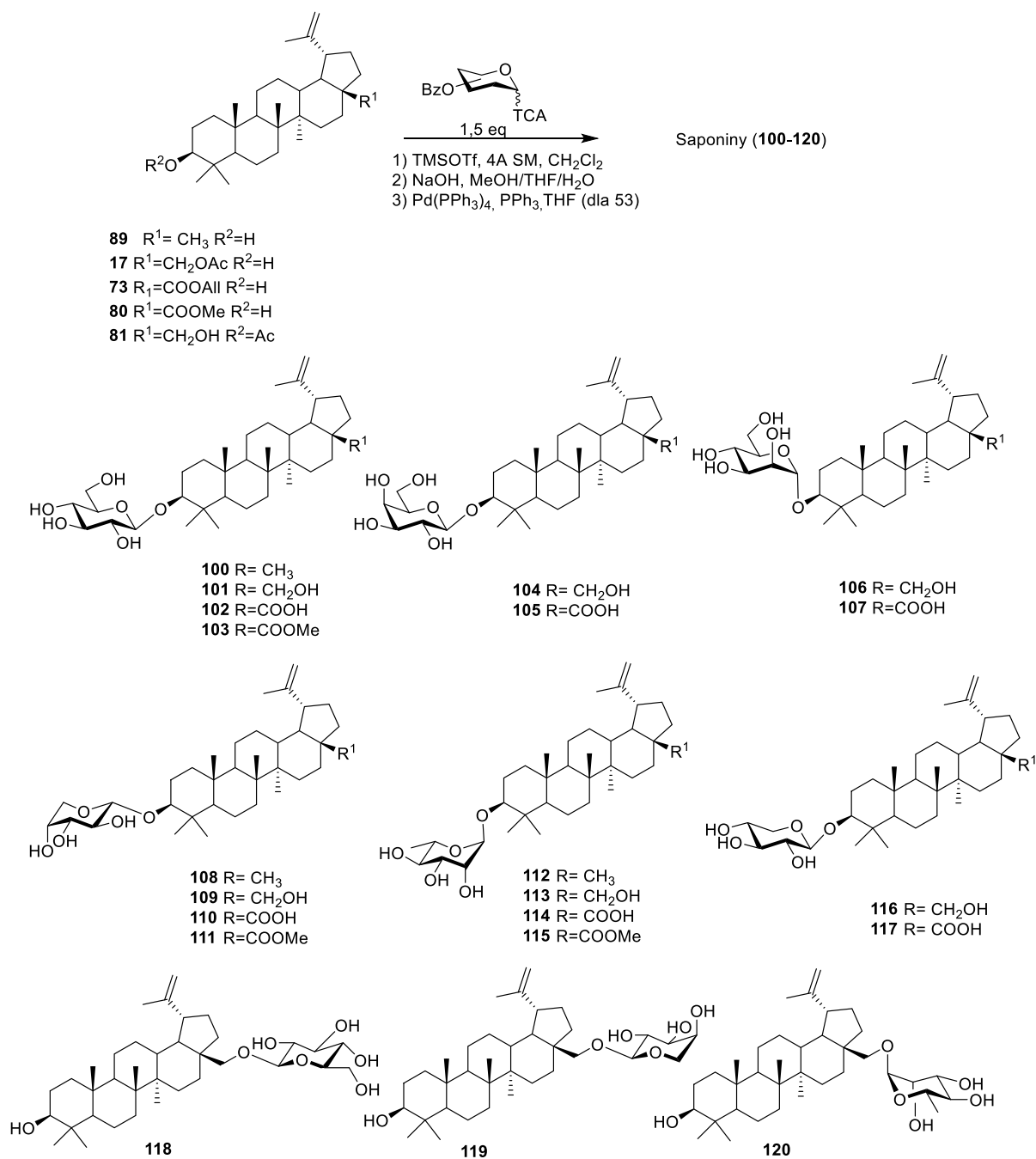
Opracowana metodologia polegała na reakcji selektywnie zabezpieczonej betuliny (**17** i **73**), lupeolu (**89**) i kwasu betulinowego (**81**) z trichloroacetoimidanem α -D-mannopiranozyłu w obecności TMSOTf jako aktywatora. W wyniku reakcji glikozydowania powstały z bardzo dobrą wydajnością perbenzoilowane glikozydy **90-93**. Usunięcie benzoilowych grup zabezpieczających w obecności węglańku potasu w metanolu dało wolne saponiny **94-98** (Schemat 47).⁷¹



Schemat 48. Synteza saponin zwracających trimannową resztę cukrową.

Identyczne warunki zostały zastosowane do syntezy saponin zawierających resztę trimannozową. Pochodne lupeolu (**97**) i kwasu betulinowego (**98**) poddano reakcji glikozydowania z kolejną cząsteczką donora **88** w obecności TMSOTf, otrzymując trisacharydy (połączone 1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 6). Zasadowa hydroliza grup zabezpieczających w obecności węglańku potasu dostarczyła finalne saponiny **98** (88%) i **99** (41%, Schemat 48).⁷¹

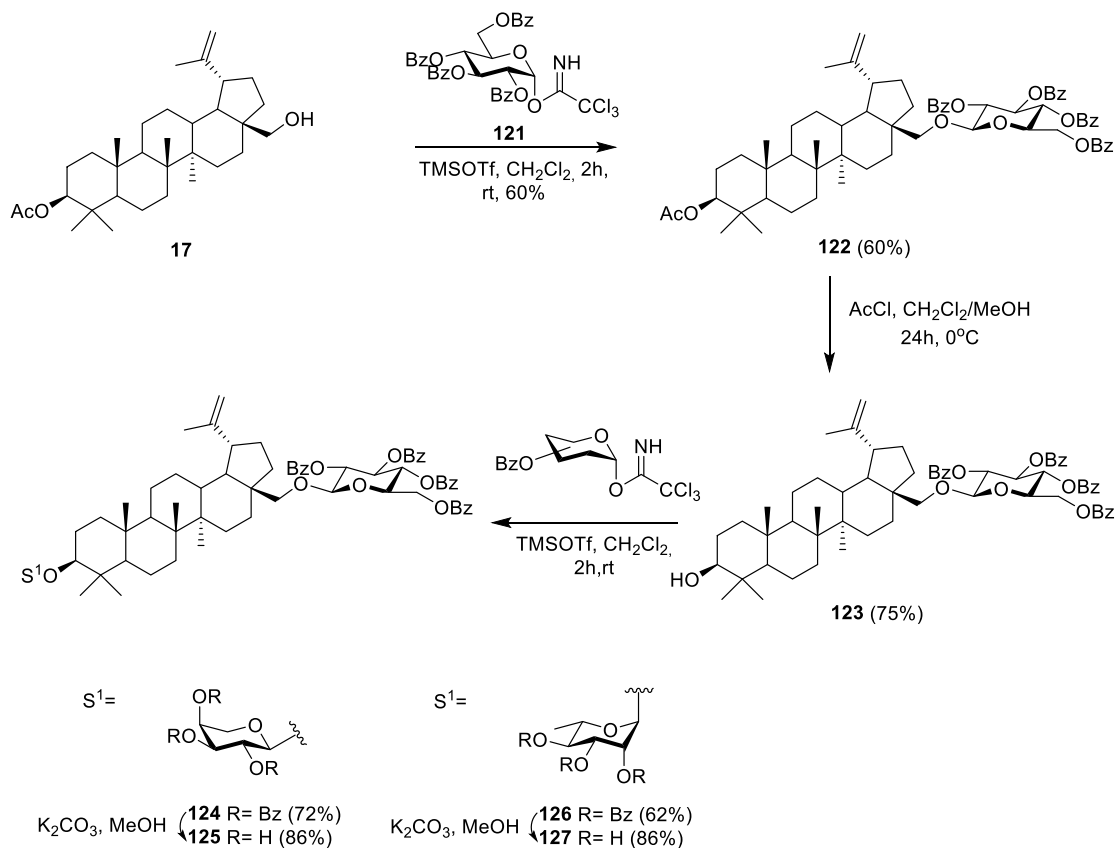
Zaczynając od selektywnie zabezpieczonych akceptorów (lupeol **89**, betulina **1**, kwas betulinowy **2** i betulinian metylu **80**) można w łatwy sposób, stosując opisaną powyżej metodologię zsyntetyzować saponiny typu lupanowego z pojedynczym łańcuchem cukrowym przyłączonym w pozycji C-3 i C-28 (**100-120**, Schemat 49).⁷³ Co ciekawe, wszystkie zsyntetyzowane saponiny otrzymano w wysoce stereoselektywny sposób (β -D-glukozydy, β -D-galaktozydy, β -D-ksylozydy, α -D-mannozydy, α -D-arabinozydy, α -L-ramnozydy) z dobrymi wydajnościami.



Schemat 49. Przykładowe saponiny typu lupanu.

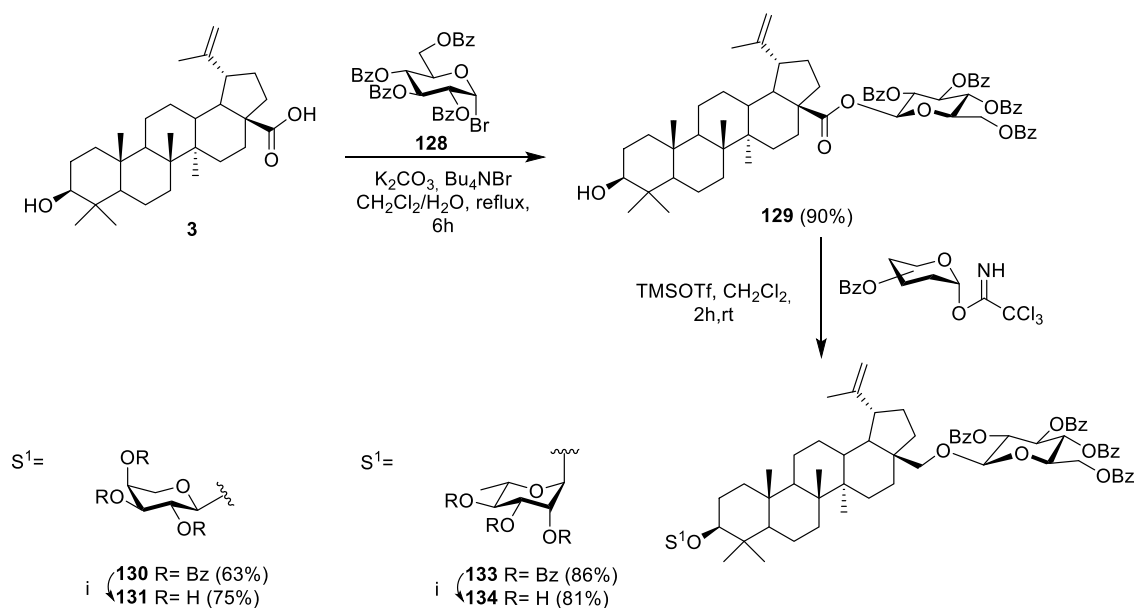
1.4.2 Saponiny zawierające dwie reszty cukrowe

Tego typu związki są farmakologicznie atrakcyjnymi metabolitami wtórnymi, wykazującymi znacznie mniejsze działanie hemolityczne w porównaniu z monopodstawionymi saponinami. Schemat 50 przedstawia syntezę saponin zawierających łańcuchy cukrowe w pozycji C-3 i C-28 z zastosowaniem reakcji glikozydowania odpowiednimi donorami Schmidta.



Schemat 50. Synteza dipodstawionych saponin – pochodnych betuliny.

Reakcja monoocetanu betuliny **17** z donorem Schmidta **121** w obecności katalitycznej ilości TMSOTf dała benzoilowaną saponinę **122** (60%). Następnie, w wyniku regioselektywnego odbezpieczenia grupy hydroksylowej C-3 otrzymano alkohol **123** (75%), który poddano kolejnej reakcji glikozydowania donorami Schmidta o konfiguracji L-arabino lub L-ramno. Otrzymano disacharydy **124** (72%) i **126** (62%). Ich hydroliza w warunkach zasadowych dała docelowe saponiny **125** (86%) i **127** (72%, Schemat 50).⁷⁴



Schemat 51. Synteza dipodstawionych saponin – pochodnych kwasu betulinowego.

Kondensacja kwasu betulinowego (**3**) z perbenzoilowanym donorem **128** w warunkach przeniesienia fazowego dała acylosaponinę **129** (90%), która następnie została poddana reakcji glikozydowania donorami Schmidta o konfiguracji L-arabino lub L-ramno w standardowych warunkach. W wyniku reakcji otrzymano benzoilowane saponiny **130** (63%) i **133** (86%). Docelowe wolne saponiny **131** (75%) i **134** (81%) uzyskano poprzez usunięcie grup benzoilowych za pomocą 0,5 N NaOH (Schemat 51).⁷⁴

1.5 WŁAŚCIWOŚCI BIOLOGICZNE

1.5.1 Betulina

W literaturze można znaleźć liczne doniesienia opisujące właściwości farmakologiczne betuliny. Triterpenoid ten, jak również jego półsyntetyczne pochodne, wykazują szerokie spektrum interesujących właściwości biologicznych, wśród których najczęściej wymienia się działanie obniżające poziom cholesterolu, działanie przeciwzapalne, działanie przeciwmalaryczne czy chroniące wątrobę.⁷⁵ Największe zainteresowanie wzbudzają jednak jej właściwości przeciwnowotworowe.

Zainteresowanie betuliną i jej pochodnymi jako środkami przeciwnowotworowymi rozpoczęło odkrycie z 1995 roku. Pish i współpracownicy udowodnili, że kwas betulinowy jest selektywnym inhibitorem wzrostu komórek czerniaka.¹

Liczne badania wykazały, że również betulina hamuje wzrost i proliferację komórek nowotworowych oraz indukuje mechanizm apoptozy (programowanej śmierci komórki), zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*.⁷⁶ Właściwości antyproliferacyjne, jak i cytotoksyczność betuliny, zostały zbadane na szeregu ludzkich i zwierzęcych linii komórek nowotworowych; wybrane wyniki tych badań zostały przedstawione w Tabeli 2.⁷⁷

Tabela 2. Antyproliferacyjne działanie betuliny wobec ludzkich linii komórek nowotworowych *in vitro*.

| Rodzaj nowotworu | Linia komórkowa | Wartości IC ₅₀ | | Literatura |
|------------------------------|-----------------|---------------------------|-------|------------|
| | | μM | μm/ml | |
| białaczka | CCRF/CEM | 24.6 | 10.9 | 78 |
| białaczka limfoblastyczna | JurKat E6.1 | 6.7 | 3.0 | 79 |
| białaczka szpikowa | K 562 | 14.5 | 6.4 | 80 |
| białaczka promieloblastyczna | HL 60 | 14.7 | 6.5 | 80 |
| czerniak | G361 | 12.4 | 5.5 | 80 |
| | SK-MEL-28 | 16.2 | 7.2 | |
| | MEL-2 | >45.2 | 20 | 81 |
| | SK-MEL2 | >250.0 | 111 | 82 |
| nerwiak płodowy | SK-N-AS | 2.5 | 1.1 | 79 |
| | GOTO | 17.1 | 7.6 | 80 |
| | NB-1 | 16.5 | 7.3 | |

c.d. Tabeli 2.

| Rodzaj nowotworu | Linia komórkowa | Wartości IC ₅₀ | | Literatura |
|-----------------------------|-----------------|---------------------------|-------|------------|
| | | μM | μm/ml | |
| rak piersi | T47D | 5.2 | 2.3 | 79 |
| rak gruczołowy piersi | MCF-7 | 23.3 | 10.3 | 73 |
| | | 30.7 | 13.6 | 83 |
| | | 8.32 | 3.7 | 84 |
| rak płuc | Lu1 | >45.2 | 20 | 85 |
| | A549 | 20.0 | 14.8 | 86 |
| | | 33.4 | 3.3 | 84 |
| niedrobnokomórkowy rak płóc | NCI-H460 | 63.5 | 28.1 | 83 |
| chłoniak | U937 | 14.4 | 6.4 | 80 |
| rak jajnika | A2780 | >45.2 | 20 | 87 |
| rak okrężnicy | DLD-1 | 6.6 | 2.9 | 73 |
| | HT-29 | 4.3 | 1.9 | 79 |
| | COL 2 | 45.2 | >200 | 85 |
| | SW707 | 51.7 | 22.9 | 78 |
| rak gruczołowy prostaty | PC-3 | 82.9 | 36.7 | 83 |
| | | 17.9 | 7.9 | 73 |
| rak szyjki macicy | HeLa | 74.1 | 32.8 | 88 |
| | | 57.1 | 25.3 | 88 |
| | | 34.4 | 15.2 | 88 |
| | | 22.6 | 10.0 | 83 |
| | | 6.7 | 2.9 | 84 |
| rak skóry | A431 | 6.8 | 3.0 | 79 |
| mięśniak prążkowany | TE671 | 10.3 | 4.6 | 79 |
| rak tarczycy | FTC 238 | 6.8 | 3.0 | 79 |
| rak trzustki | EPP85-181P | 21.1 | 9.3 | 89 |
| rak wątroby | HepG2 | 22.8 | 10.1 | 83 |
| szpiczak mnogi | RPMI8226 | 6.4 | 2.8 | 79 |
| rak żołądka | EPG85-257P | 18.7 | 8.3 | 89 |

Z powyższej tabeli wynika, że:

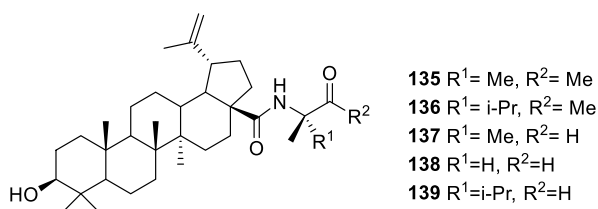
- betulina wykazuje znaczną aktywność wobec nowotworów ośrodkowego układu nerwowego, takich jak nerwiak płodowy (SK-N-AS, NB-1, GATO) czy mięśniak prążkowany (TE671) oraz nowotwory płuc (Lu1, NCI-H460, A549);
- wysoką cytotoksyczność zaobserwowano wobec komórek nowotworowych spotykanych u kobiet: rak piersi (MCF-7), rak szyjki macicy (HeLa) oraz rak jajnika (A2780);
- betulina wykazuje aktywność przeciwko liniom komórek nowotworów żołądka (EPG85-257P), trzustki (EPP85-181P) czy wątroby (HepG2);
- betulina hamuje proliferację komórek nowotworowych układu krwionośnego, takich jak białaczki szpikowej (K 562), limfoblastycznej (JurKat E6.1) czy białaczki promieloblastycznej (HL 60) oraz chłoniaka (U937);
- wysoka aktywność obserwowana jest również przeciwko nowotworom skóry (czerniak G361, SK-MEL-28).

Ponadto, badaniami *in vitro* wobec linii komórek nowotworowych, takich jak glejak czy rak płuc potwierdzono, że betulina hamuje inwazyjność komórek nowotworowych i co bardzo istotne, zdolność do tworzenia przerzutów.

1.5.2 Pochodne betuliny

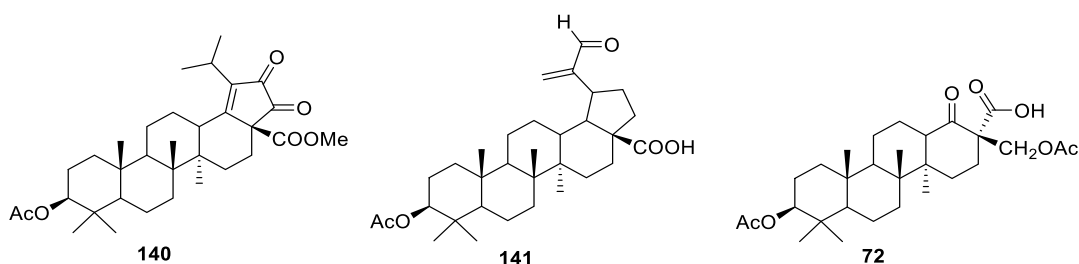
Liczne badania wykazały, że nawet proste modyfikacje w strukturze cząsteczki mogą znacząco zmieniać cytotoksyczność. Utlenienie grupy hydroksylowej betuliny w pozycji C-28 do aldehydu betulinowego, zwiększa cytotoksyczność w stosunku do tych samych linii komórkowych o kilka rzędów wielkości. Dalsze utlenianie aldehydu betulinowego do kwasu nie ma większego wpływu na cytotoksyczność. Ponadto, betulinian metylu ma w przybliżeniu taki sam profil cytotoksyczności jak aldehyd betulinowy.⁹⁰

Kwas betulinowy **2** jest znacznie bardziej cytotoksyczny wobec czerniaka (MEL-2) w porównaniu do betuliny **1**.⁸¹ Otrzymane wyniki wskazują, że obecność grupy karbonylowej w pozycji C-28 jest niezbędna do osiągnięcia dużej aktywności cytotoksycznej.



Rysunek 12. Struktury najbardziej aktywnych amidowych pochodnych kwasu betulinowego.

Estry metylowe pochodnych amidowych alaniny **135** i waliny **136** (Rysunek 12) oraz wolnego kwasu alaniny **137** i glicyny **138** wykazują cytotoksyczność względem linii komórkowej czerniaka (MEL-2) porównywalną z tą dla kwasu betulinowego **2**. Wolne kwasy alaniny **137** i walina **139** wykazały cytotoksyczność również wobec ludzkiego raka jamy ustnej.⁹¹



Rysunek 13. Związki karbonylowe posiadające zmodyfikowany pierścieni E o wyższej cytotoxycznosci niż kwas betulinowy **2**.

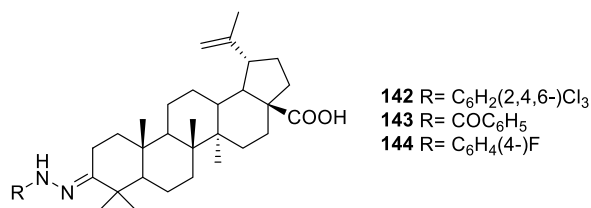
Kolejne badania wykazały, że związki **140-141** i **72** (Rysunek 13) zawierające układy α,β -nienasyconych ketonów lub aldehydów oraz ugrupowania karbonylowe w obrębie pierścienia E, posiadają szeroką aktywność cytotoxyczną *in vitro* wobec kilku linii komórek nowotworowych przez indukowanie ich apoptozy. Niestety, toksycznosc tych pochodnych w stosunku do normalnych ludzkich limfocytów również znacznie wzrosła.⁵⁷

Uwodornienie wiązania podwójnego w pozycji C20(29) kwasu betulinowego (**2**) nieznacznie zmniejszyło cytotoxycznosc wobec linii komórkowej czerniaka (MEL-2). Kwas 20,29-dihydrobetulinowy i 20,29-dihydrobetulinian metylu miały zwiększony efekt hamujący na topoizomerazę I w porównaniu z kwasem betulinowym (**2**).⁹² Kwas 20,29-dihydrobetulinowy miał nieznacznie podwyższoną cytotoxycznosc wobec linii komórkowych białaczki / chłoniaka (MOLT-4) i raka prostaty (DU145). Jest on także cytotoxyczny dla linii komórek rakowych jajnika (PA-1) i płuc (A549), podczas gdy kwas betulinowy jest nieaktywny. Podwójne wiązanie w reszcie izopropenylowej w kwasie betulinowym (**2**) odgrywa kluczową rolę w wywoływaniu cytotoxycznosci wobec komórek śródbłonna (ECV304).⁹³ Stwierdzono również, że wpływ modyfikacji chemicznych, takich jak wprowadzenie grupy karbonylowej, hydroksylowej, oksymowej, hydroksyloaminowej, metoksyloaminowej i ugrupowania eterowego w pozycji C-20 kwasu betulinowego (**2**), skutkuje zmniejszeniem aktywnosci w porównaniu z wyjściowym kwasem.

Kwas betulinowy (**3**) jest związkiem bardziej aktywnym niż kwas betulinowy (**2**) wobec komórek czerniaka MEL-2 ($ID_{50} = 1,6$ mg / ml) i raka gruczołu krokowego (PC-3) ($ID_{50} = 1,3$ mg / ml), podczas gdy wpływ fragmentu karbonylowego ketonu w pozycji C-3 na linie komórkowe czerniaka G361 i SK-MEL-28 był mały. W porównaniu do kwasu betulinowego, kwas betulinowy (**3**) jest także bardziej aktywny wobec nowotworów śródbłonna (ECV 304), ludzkiego naskórkowego raka jamy ustnej (KB), jajnika (PA-1), linii komórkowej raka okrężnicy (HT 29), prostaty (PC 3), białaczki (CEM) i sutka (MCF 7).⁹⁴ Jednak kwas betulinowy (**3**) jest mniej aktywny wobec linii ludzkich komórek limfoblastycznych i limfocytów B białaczki (CEM.CM3 i BRISTOL8), prostaty (DU145) i płuc (L132).⁹⁵

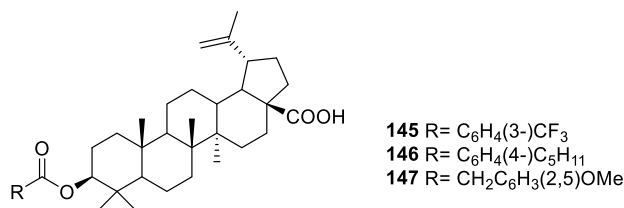
Wprowadzenie reszty oksymu metylowego lub oksymu do kwasu betulinowego w pozycji C-3 spowodowało utratę cytotoxycznosci w stosunku do linii komórkowej ludzkiego czerniaka (MEL-2).

Aktywnosc cytotoxyczna kwasu epibetulinowego jest nieznacznie większa wobec linii komórek czerniaka Bro i zmniejszyła się w kierunku komórek czerniaka MS.⁹⁶ Przyłączenie dużego łańcucha arylopropenoiowego w pozycji C-3 spowodowało, że pochodne kwasu betulinowego były nietoksyczne względem linii komórkowej raka okrężnicy (HT 29).⁹⁷



Rysunek 14. Pochodne 3-hydrazonowe kwasu betulinowego wykazujące zwiększoną cytotoksyczność względem linii komórek śródbłonna niż kwas betulinowy (**2**).

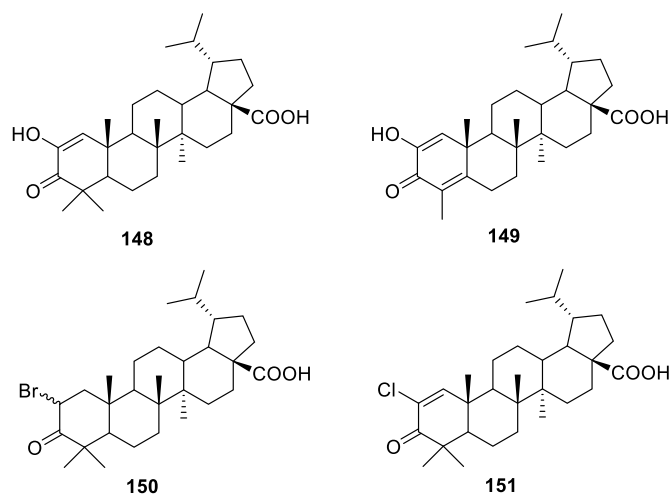
Pochodne kwasu 3-hydrazono-20,29-dihydrobetulinowego **142-144** (Rys. 14) były bardziej aktywne niż kwas betulinowy (**2**) względem śródbłonkowej linii komórkowej (ECV304). Te pochodne wykazywały również wysoką specyficzność wobec linii komórkowej raka płuc (A549).



Rysunek 15. C-3 podstawione pochodne kwasu betulinowego.

Pochodna kwasu 3-O-acylobetulinowego **145** mająca grupę elektronoakceptorową w pierścieniu aromatycznym (Rys. 15) jest aktywnym środkiem antyangiogennym na linii komórkowej śródbłonna (ECV304) w porównaniu ze związkami posiadającymi podstawnik o dużej objętości np. pentyl (związek **146**), lub grupę donorową w pierścieniu aromatycznym (**147**).⁹⁸

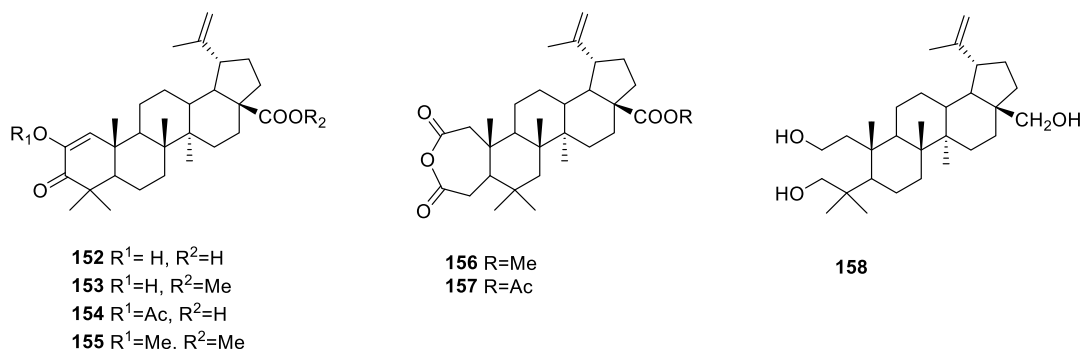
W analogach 20,29-dihydrobetulinowych efekt został odwrócony. Związki posiadające podstawniki alkilowe wykazywały wyższą cytotoksyczność, a związek zawierający grupę trifluorometylową wykazywał niższą cytotoksyczność.



Rysunek 16. Silnie cytotoksyczne pochodne zawierające zmodyfikowany pierścień A

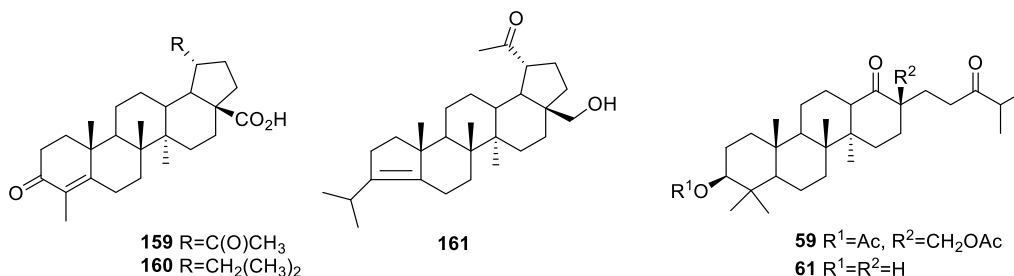
Stwierdzono również, że związek **148** posiada znaczącą aktywność wobec linii komórkowych białaczki. Natomiast związek **149** jest aktywny wobec linii komórkowej raka jajnika (SK-OV-3) z GI₅₀ < 10 nM (GI₅₀ = 50% zahamowania wzrostu).⁹⁹ Kwas 2-bromo-20,29-dihydrobetulinowy (**150**) wykazywał zwiększoną cytotoksyczność względem ludzkich białaczek limfoblastycznych (MOLT-4 i CEM.CM3) i linii komórkowych jajnika (PA-1).⁹³

Kolejne badania związków zawierających zmodyfikowany pierścień A (Rys. 15) wykazały, że pochodna **145** podstawiona grupą elektronoakceptorową jest bardziej aktywnym środkiem antyangiogennym przeciwko śródbłonkowej linii komórkowej niż związki **146-147**. Ponadto stwierdzono, że pochodne kwasu betulinowego z minimalną zawadą przestrzenną są bardziej cytotoksyczne niż kwas betulinowy wobec linii komórkowych raka czerniaka (SK-MEL-2 i B16-F10) i płuc (A-549). Zwłaszcza związki posiadające strukturę enonu z grupą elektronoakceptorową, taką jak 2-chloro **151**, 2-cyjano lub 2-formylo, wykazywały silną cytotoksyczność.¹⁰⁰



Rysunek 17.

Związkami aktywnymi biologicznie są również pochodne kwasu betulinowego **152-155**; wykazują one silną cytotoksyczność w stosunku do linii komórkowych ludzkiej białaczki limfoblastycznej (CEM), białaczki (K562 i K562 Tax), okrężnicy (HT 29), prostaty (PC 3 i DU 145), sutka (MCF 7) i czerniaka (SK-MEL2). Ponadto, znaczną aktywność wykazywały także bezwodniki **156 i 157** oraz triol **158** (Rys. 17).⁹⁴

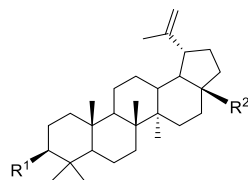


Rysunek 18.

Zbadano również aktywność przeciwnowotworową pochodnych betuliny i kwasu betulinowego otrzymanych przez przekształcenia do pochodnych typu lupanu **159-160, 61**. Wykazano, że związki te wykazują wysoką aktywność in vitro przeciw komórkom białaczki.

1.5.3 Saponiny typu lupanu

Saponiny triterpenoidowe są szeroko rozpowszechnione w przyrodzie. Wykazują one bardzo zróżnicowane działanie biologiczne i farmakologiczne, takie jak aktywność cytotoksyczna, przeciwnowotworowa i przeciwzapalna. W przeciwieństwie do saponin typu oleananu, które są często izolowane, saponiny typu lupanowego są bardzo rzadkie i występują głównie w gatunkach roślin z rodzaju *Schefflera* i *Pulsatilla*. W literaturze można znaleźć wiele prac dotyczących izolowania i syntezy saponin lupanowych, natomiast tylko w nielicznych publikacjach opisano ich działanie farmakologiczne. W poniższej tabeli przedstawiono cytotoksyczność wybranych saponin typu lupanu podstawionych w pozycji C-3 lub C-28 (Tabela 3).

Tabela 3. Cytotoksyczność wybranych saponin typu lupanu podstawionych w pozycji C-3 lub C-28.⁷³

| nr związku | R ¹ | R ² | IC ₅₀ (μmol L ⁻¹) | | |
|------------|----------------|-------------------------|--|-------------|------------|
| | | | A549 | DLD-1 | JB |
| 100 | D-Glu | CH ₃ | 14±1 | 14 ± 1 | 13.3 ± 0.5 |
| 112 | L-Rha | CH ₃ | >178 | >178 | >179 |
| 108 | D-Ara | CH ₃ | 28±2 | 50 ± 6 | 15.8 ± 0.8 |
| 101 | D-Glu | CH ₂ OH | >200 | >200 | >201 |
| 113 | L-Rha | CH ₂ OH | 22±3 | 50 ± 10 | 33 ± 5 |
| 109 | L-Ara | CH ₂ OH | 41±3 | 63 ± 8 | 59 ± 5 |
| 119 | H | CH ₂ O-D-Glu | >248 | >248 | >248 |
| 121 | H | CH ₂ O-L-Rha | >228 | >228 | >228 |
| 120 | H | CH ₂ O-D-Ara | >175 | >175 | >175 |
| 103 | D-Glu | COOCH ₃ | 8.4±3 | 3.93 ± 0.09 | 9.3 ± 0.2 |
| 115 | L-Rha | COOCH ₃ | 59±3 | >183 | 53 ± 2 |
| 111 | D-Ara | COOCH ₃ | 13.5±0.6 | 18 ± 1 | 12.5 ± 0.4 |
| 102 | D-Glu | COOH | >178 | 32 ± 9 | > 178 |
| 114 | L-Rha | COOH | 2.6±0.6 | 3.9 ± 0.4 | 31 ± 3 |
| 110 | D-Ara | COOH | 10±2 | 17 ± 3 | 47 ± 5 |
| 117 | L-Ksy | CH ₂ OH | 90 ± 10 | > 100 | |
| 118 | L-Ksy | COOH | 14 ± 2 | 19.2 ± 0.8 | |

Otrzymane wyniki pokazują, że mono-podstawione saponiny wykazują zróżnicowaną aktywność biologiczną. Najlepsze rezultaty otrzymano dla 3-O-β-D-glukopiranozydu **103**. Związek ten wykazuje silną cytotoksyczność wobec komórek nowotworowych jelita grubego (DLD-1, IC₅₀ 3,93 μM). Pochodna D-arabinozy **111** okazała się aktywna wobec wszystkich badanych linii komórek nowotworowych (IC₅₀ 13.3-18 μM), podczas gdy pochodna L-ramnozy **115** wywierała umiarkowaną aktywność tylko przeciwko komórkom raka płuc (A-549, IC₅₀ 59 μM). Co więcej, silne cytotoksyczne okazały się związki: 3-O-α-L-ramnopiranozyd **114** i 3-O-α-D-arabinopiranozyd **110** (IC₅₀ 2,6-3,9 i 10-17 μM). Glikozydy kwasu betulinowego (**102**, **114**, **110**) są jedynymi związkami, wykazującymi zróżnicowaną cytotoksyczność wobec linii komórek rakowych w porównaniu ze zdrowymi liniami komórkowymi. Związki **114** i **110** wykazują tylko umiarkowaną aktywność przeciwko ludzkim fibroblastom (odpowiednio IC₅₀ 31 i 47 μM). Najlepsze wyniki otrzymano dla 3-O-β-D-glukopiranozydu **102**, który był nieaktywny wobec zdrowych komórek (IC₅₀ > 178 μM). Wyniki te pokazują, że glikozydowanie w pozycji C-3 daje silne i selektywnie działające pochodne. Z przedstawionych danych wynika, że dla wszystkich zsyntezowanych glikozydów obecność reszty kwasowej w pozycji C-28 wpływa na aktywność i selektywność wobec testowanych linii komórek rakowych.

Tabela 4. Cytotoksyczność pochodnych typu lupanu zawierających resztę mannozy.⁷¹

| nr związku | R ¹ | R ² | IC ₅₀ | | | | |
|------------|----------------|---------------------|------------------|------------|------------|------------|------------|
| | | | CEM | MCF7 | HeLa | RPMI 8226 | JB |
| 97 | D-Man | CH ₃ | 33.3 ± 4.7 | 34.1 ± 0.1 | 32.1 ± 0.4 | 26.2 ± 1.5 | 33.5 ± 5.3 |
| 96 | AcO | COO-D-Man | 10.4 ± 0.7 | 22.7 ± 2.2 | 34.7 ± 2.5 | 19.4 ± 0.5 | 38.7 ± 0.5 |
| 95 | D-Man | CH ₂ OAc | 12.9 ± 1.1 | 35.5 ± 1.9 | 42.8 ± 1.3 | 18.5 ± 0.5 | 43.1 ± 0.5 |
| 94 | AcO | D-Man | 27.7 ± 5.3 | 39.2 ± 0.2 | 45.7 ± 3.5 | 29.2 ± 3.8 | 35.6 ± 7.9 |

Pochodne mannosacharydów (**93**, **96**, **95**, **94**) również wykazują wysoką aktywność cytotoksyczną wobec linii komórek nowotworowych. Niestety, związki te są również znacząco toksyczne względem normalnych komórek (Tabela 4).⁷¹

Tabela 5. Cytotoksyczność wybranych saponin typu lupanu podstawionych w pozycji C-3 i C-28.⁷⁴

| nr związku | R ¹ | R ² | IC ₅₀ | | | | |
|------------|----------------|-------------------------|------------------|------------|------------|-----------|------------|
| | | | A549 | DLD-1 | MCF7 | Wsl | PC-3 |
| 162 | D-Glu | CH ₂ O-D-Glu | >100 | 27 ± 2 | 14.5 ± 0.9 | 20 ± 2 | >100 |
| 163 | D-Glu | COO-D-Glu | >100 | >100 | 20 ± 2 | 35 ± 3 | 66 ± 3 |
| 125 | L-Ara | CH ₂ O-D-Glu | >100 | 19 ± 2 | 9.5 ± 0.8 | 4.5 ± 0.3 | 5.3 ± 0.6 |
| 131 | L-Ara | COO-D-Glu | 76 ± 4 | 60 ± 5 | 23 ± 1 | 50 ± 7 | 68 ± 7 |
| 127 | L-Rha | CH ₂ O-D-Glu | 16.8 ± 0.9 | 10.6 ± 0.9 | 9.0 ± 0.7 | 5.3 ± 0.4 | 6.9 ± 0.4 |
| 134 | L-Rha | COO-D-Glu | 23 ± 1 | 11.0 ± 0.5 | 5.7 ± 0.6 | 9 ± 1 | 11.2 ± 0.8 |
| 164 | L-Rha | CH ₂ O-L-Rha | 1.9 ± 0.1 | 1.9 ± 0.1 | 1.7 ± 0.2 | 1.3 ± 0.1 | 1.8 ± 0.1 |
| 165 | L-Rha | COO-L-Rha | 7.2 ± 0.5 | 7.2 ± 0.5 | 6.0 ± 0.6 | 4.9 ± 0.7 | 7.2 ± 0.5 |

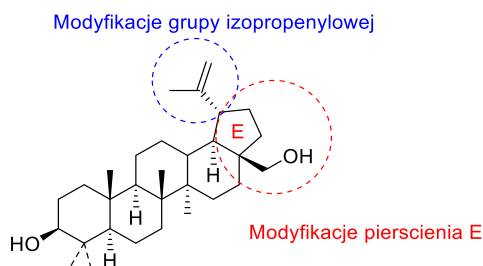
Spośród dipodstawionych saponin ciekawe właściwości biologiczne posiadają α -L-ramnopiranozydy. Najwyższą cytotoksyczność wykazują związki **127**, **134**, **164** i **165** (IC₅₀ od 1,7 do 23 μ M). Saponiny **164** i **165** były wysoce cytotoksyczne wobec wszystkich testowanych linii komórek rakowych (odpowiednio IC₅₀ 1,7-1,9 i 6,0-7,2 μ M) i znacznie bardziej aktywne niż ich macierzyste triterpenoidy (Tabela 5). Warto zauważyć, że ze wszystkich testowanych związków najlepsze właściwości hamowania wzrostu ludzkich linii komórek rakowych posiada pochodna betuliny **164**.⁷⁴ Wzrost cytotoksyczności skorelowany z obecnością fragmentów ramnozy również odnotowano w literaturze dla glikozydów steroidowych.¹⁰¹ Sugerowano, że pewne typy komórek nowotworowych mogą mieć receptory białkowe, takie jak lektyny,¹⁰² które rozpoznają fragmenty ramnozy i ułatwiają przenoszenie leku do cytoplazmy komórkowej. Zatem receptory ramnozy mogą służyć do dostarczania środka przeciwnowotworowego bezpośrednio do guza.

Podsumowując, należy podkreślić, że triterpenoidy typu lupanu stanowią cenną klasę związków, które wykazują znaczną aktywność przeciwko licznym liniom komórek nowotworowych. Przyłączenie do nich reszt cukrowych nie tylko poprawia rozpuszczalność otrzymanych związków w wodzie (a więc i w płynach ustrojowych), ale ma także istotny wpływ na ich aktywność przeciwnowotworową.

2 BADANIA WŁASNE

2.1 WSTĘP

Jak już wspomniałam w poprzednim rozdziale, zarówno betulina, jak i jej półsyntetyczne pochodne wykazują bardzo interesujące właściwości biologiczne. Niestety, triterpenoidy lupanowe są związkami słabo rozpuszczalnymi w wodzie, a więc i w płynach ustrojowych, co uniemożliwia ich zastosowanie jako potencjalnych leków. Dlatego też, spośród wielu możliwych modyfikacji, postanowiłam skupić się na przekształceniach szkieletu cząsteczki betuliny w obrębie pierścienia E i grupy izopropenylowej. Zaproponowane modyfikacje miały na celu otrzymanie nowych związków o potencjalnej aktywności biologicznej oraz zwiększonej rozpuszczalności w wodzie. Otrzymane wyniki powinny też w sposób istotny poszerzyć naszą wiedzę dotyczącą reaktywności układu betuliny. Założone cele można osiągnąć np. przez zmianę stopnia skondensowania cząsteczki przez degradację pierścienia E lub wprowadzenie nowych hydrofilowych grup funkcyjnych do reszty betuliny.



Rysunek 1.

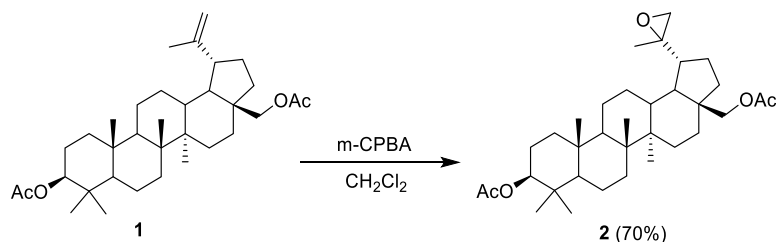
Kolejnym sposobem zwiększenia rozpuszczalności może być przyłączenie do triterpenoidu reszty sacharydowej. Przyłączenie cząsteczki cukru powinno nie tylko poprawiać rozpuszczalność otrzymanych związków w wodzie, ale także znacząco wpłynąć na ich cytotoksyczność.¹⁰³ Podjęłam więc próbę syntezy saponin zawierających w swojej strukturze resztę betuliny oraz jej zmodyfikowanych pochodnych.

Otrzymane związki, zarówno pochodne betuliny, jak i saponiny, poddałam badaniom *in vitro* wobec fibroblastów oraz wybranych linii komórek rakowych o różnym pochodzeniu histopatologicznym w celu określenia ich aktywności biologicznej.

2.2 SYNTEZA POCHODNYCH BETULINY

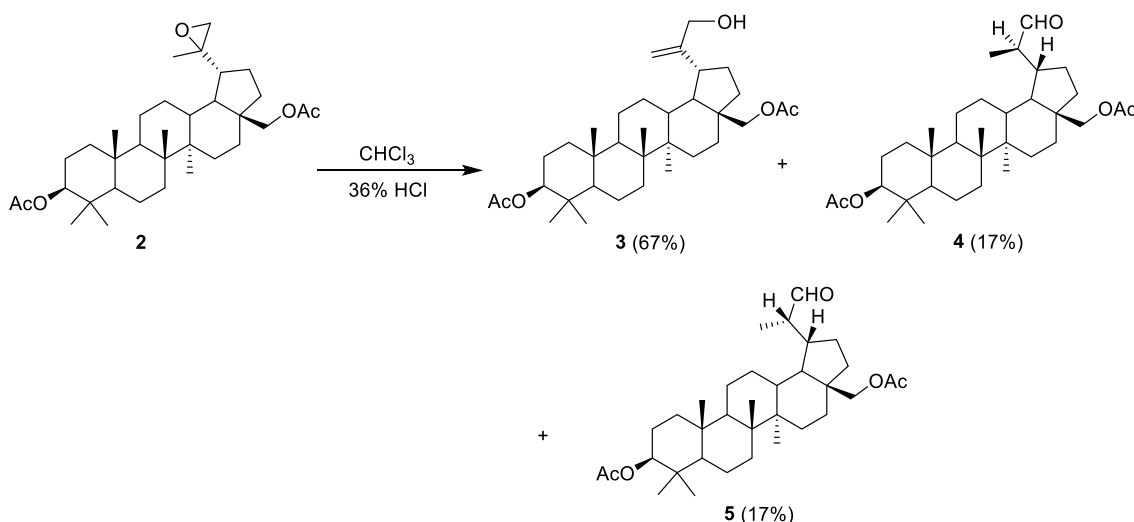
2.2.1 Modyfikacje łańcucha bocznego

W pierwszym etapie podjęłam próbę modyfikacji grupy izopropenylowej. Tak jak opisałam w części literaturowej, znanych jest wiele przekształceń wiązania podwójnego w pozycji C20(30) betuliny. Produkty otrzymane w wyniku takich modyfikacji mogą być interesującymi materiałami wyjściowymi do syntezy nowych pochodnych, zawierających w swojej strukturze zmodyfikowany łańcuch boczny z dodatkowym hetroatomem, np. atomem tlenu.



Schemat 1.

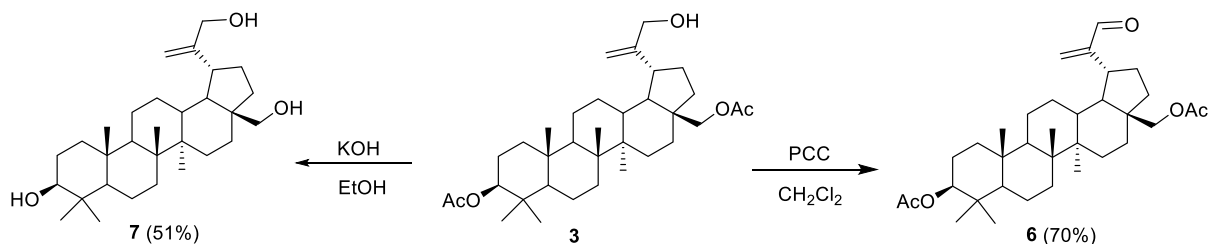
Jednym ze sposobów modyfikacji wiązania podwójnego jest jego utlenianie. W zależności od zastosowanych odczynników oraz warunków reakcji można otrzymać pochodne zawierające w łańcuchu bocznym ugrupowanie karbonylowe, karboksylowe czy epoksydowe. W swojej pracy postanowiłam zastosować znaną literaturowo metodę utleniania dioctanu betuliny za pomocą kwasu m-chloronadbenzoesowego (m-CPBA) w CH₂Cl₂ prowadzącą z dobrą wydajnością do epoksydu **2** (70%, Schemat 1).²¹



Schemat 2.

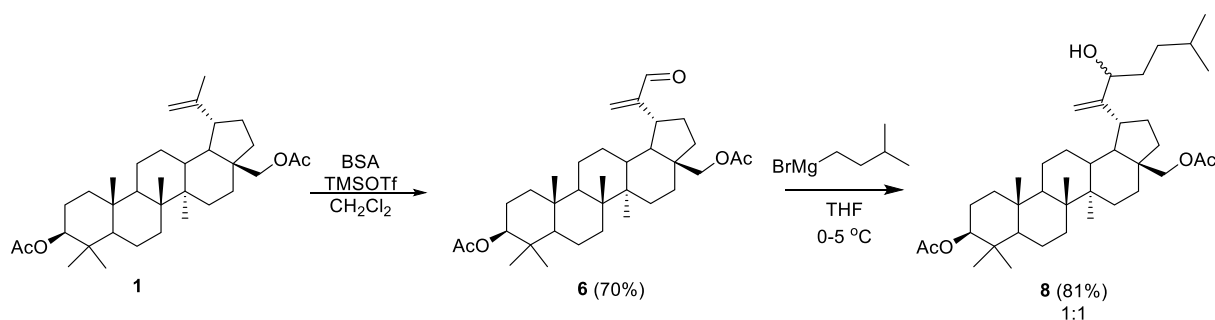
Następnie związek **2** poddałam reakcji z katalityczną ilością 36% kwasu solnego w chloroformie. Produktami reakcji otwarcia pierścienia epoksydowego są znane literaturowo alkohol **3** (67%) oraz izomeryczne aldehydy **4** (17%) i **5** (17%). Otrzymane związki w łatwy sposób rozdzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej. Konfigurację aldehydów na atomie węgla C-20 określiłam porównując ich własności spektralne z danymi literaturowymi (Schemat 2).²¹

Z danych literaturowych wiadomo, że triterpenoidy zawierające układy α,β -nienasyconych ketonów lub aldehydów oraz ugrupowania karbonylowe w obrębie łańcucha bocznego czy pierścienia E posiadają znaczną aktywność cytotoksyczną.^{57,104} Istotny wpływ na właściwości biologiczne ma także budowa i długość łańcucha bocznego.^{105,106} Postanowiłam więc sprawdzić, czy przedłużenie łańcucha bocznego cząsteczki betuliny będzie miało wpływ na jej aktywność. Do przedłużonego łańcucha bocznego zdecydowałam się także wprowadzić nową funkcję tlenową, która nie tylko pozwoliłaby na zbadanie wpływu dodatkowego atomu tlenu, ale otwierałaby drogę do syntezy saponin z grupami cukrowymi przyłączonymi w łańcuchu bocznym.



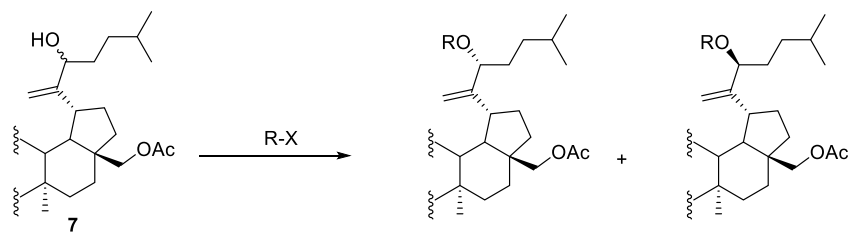
Schemat 3.

Do syntezy tego typu pochodnych postanowiłam użyć alkoholu **3**, otrzymanego powyżej. W wyniku utleniania związku **3** za pomocą chlorochromianu pirydyny (PCC) w CH_2Cl_2 otrzymałam z dobrą wydajnością pożądany aldehyd **6** (70%). Triol **7**, potrzebny do przeprowadzenia badań biologicznych, otrzymałam w wyniku hydrolizy grup estrowych za pomocą KOH w etanolu (51%, Schemat 3).



Schemat 4.

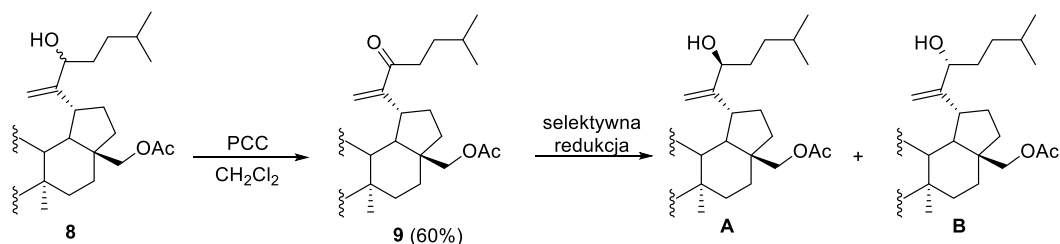
Wydajną, jednoetapową metodą syntezy związku **6** okazała się reakcja dioctanu betuliny **1** z BSA w obecności TMSOTf w CH_2Cl_2 , w wyniku której otrzymałam oczekiwany aldehyd z wydajnością 70%. Jego reakcja z bromkiem izobutylmagnezowym prowadzi do mieszaniny diastereoizomerycznych alkoholi **8** (81%), której nie udało mi się rozdzielić za pomocą chromatografii kolumnowej (Schemat 4).



R-X= TBMS-Cl, CH_2Cl_2 , imidazol (brak reakcji)
 R-X= TIPS-Cl, CH_2Cl_2 , imidazol (brak reakcji)
 R-X= chlorek kwasu (-)-kamfanowego (brak reakcji)
 R-X= $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2\text{OC}(\text{NH})\text{CCl}_3$, TMSOTf, THF

Schemat 5.

Przeprowadziłam próbę rozdzielenia otrzymanych diastereoizomerycznych alkoholi przez przekształcenie ich w pochodne sililowe (TBDPS, TIPS), alilowe i diastereoizomeryczne estry kwasu (-)-kamfanowego mając nadzieję, że otrzymane związki będzie można w łatwy sposób rozdzielić metodami chromatograficznymi lub przez krystalizację. W wyniku reakcji z trichloroacetomidanem allilu tworzyła się mieszanina niezidentyfikowanych produktów. Pozostałe reakcje nie przebiegały (Schemat 5).



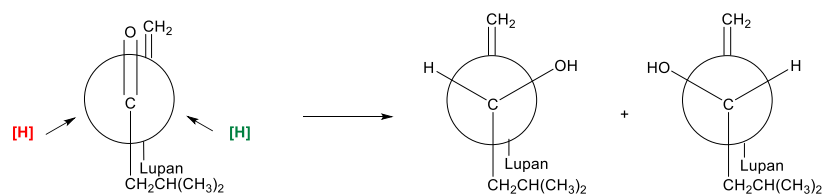
Schemat 6.

Aby uniknąć operowania mieszaniną **8**, postanowiłam utlenić ją do ketonu **9** za pomocą PCC w CH_2Cl_2 , a następnie przeprowadzić stereoselektywną redukcję grupy karbonylowej (Schemat 6). Przeprowadziłam szereg reakcji z różnymi odczynnikami redukującymi. Wyniki przedstawiłam w Tabeli 1.

Tabela 1. Stereoselektywna redukcja ketonu **9**.

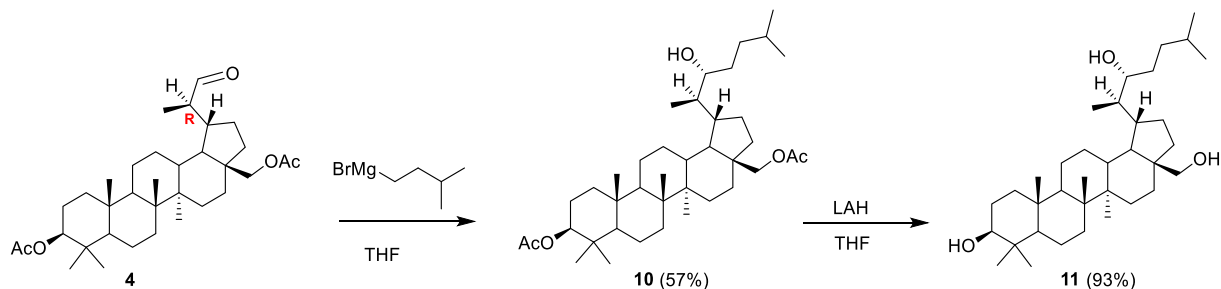
| nr | redukcja | wydajność [%] | A:B |
|----|--|---------------|-----|
| 1 | R-CBS, pinakolboran | 0 | - |
| 2 | R-CBS, BBN-9 | 0 | - |
| 3 | R-CBS, $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ | 0 | - |
| 4 | R-CBS, $\text{BH}_3 \cdot \text{pirydyna}$ | 0 | - |
| 5 | R-CBS, $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ | 40 | 4:1 |
| 6 | R-CBS, katecholboran | 0 | - |
| 7 | borowodorek cynku, THF | 56 | 1:1 |
| 8 | K-Selectride, THF | 62 | 1:1 |
| 9 | L-Selectride, THF | 42 | 1:1 |
| 10 | DIBAL-H | 22 | 1:1 |
| 11 | S-Apine-Borane, THF | 0 | - |
| 12 | R-Apine-Borane, THF | 0 | - |
| 13 | (-)-DIP-Chloride, THF | 0 | - |
| 14 | (+)-DIP-Chloride, THF | 0 | - |

Z przedstawionych danych wynika, że redukcja grupy karbonylowej następuje tylko w przypadku reakcji z kompleksem borowodoru z siarczkiem dimetylu w obecności R-CBS oraz borowodorkiem cynku w THF (nr 5 i 7), K- i L-Selectridami w tetrahydrofuranie (nr 7-9) oraz z DIBAL-H w THF (nr 10). Niestety nie są to reakcje selektywne, w każdym z wymienionych przypadków otrzymałam mieszaninę diastereoizomerów. Najlepszy wynik uzyskałam w reakcji z udziałem $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2 / \text{R-CBS}$ (nr 5, 4:1). Konfiguracja nowo utworzonego centrum stereogenicznego nie została jednoznacznie określona.



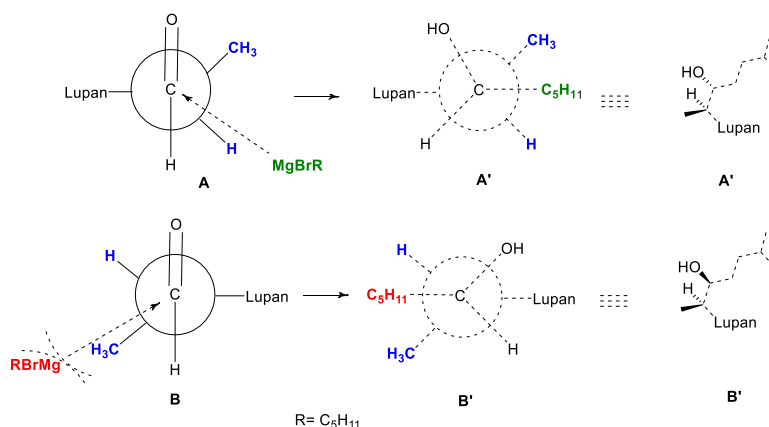
Rysunek 2.

Niska stereoselektywność reakcji wynika prawdopodobnie z płaskiego ułożenia fragmentu α,β -nienasyconego ketonu i w efekcie braku zawad przestrzennych wymuszających atak odczynnika redukującego z mniej zatłoczonej strony grupy karbonylowej (Rys. 2).



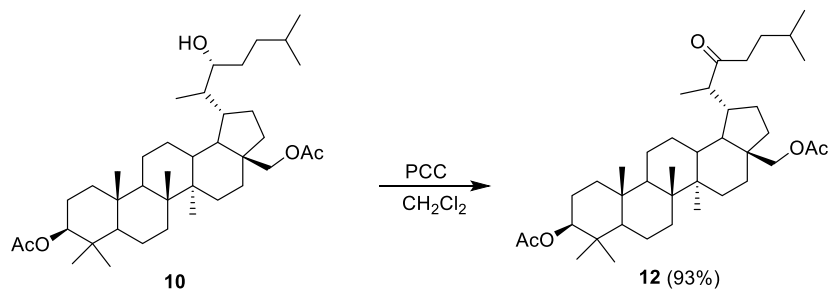
Schemat 7.

Wysoką selektywność obserwowałam natomiast w reakcji aldehydu **4** z bromkiem izobutylo-magnezowym. Jako jedyny produkt powstał alkohol **10** (57%). Usunięcie zabezpieczających grup acetylowych dało triol **11** (93%) przeznaczony do badań biologicznych (Schemat 7).



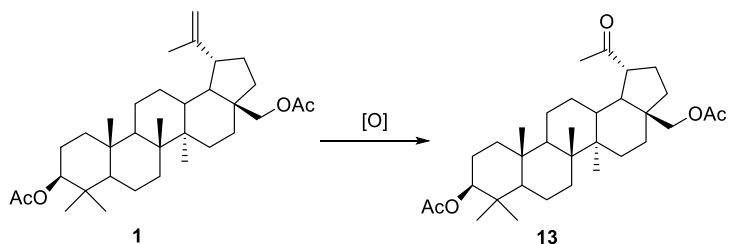
Rysunek 3.

Ponieważ konfiguracja tworzącego się podczas reakcji nowego centrum stereogenicznego zależy od kierunku ataku grupy R w stosunku do grupy karbonylowej, to zgodnie z modelem Felkina-Ahna, spodziewałam się, że produktem głównym reakcji powinien być diastereoizomer **A'**. W przypadku konformera **A** nie występują zawady przestrzenne utrudniające atak nukleofila, natomiast w przypadku konformera **B**, atak może być utrudniony przez grupę metylową (Rys. 3). Analiza widma NMR (HMBC, NOESY, COSY) z dużym prawdopodobieństwem potwierdziła strukturę związku **10**.



Schemat 8.

Następnie, alkohol **10** poddałam reakcji utlenienia za pomocą PCC w CH_2Cl_2 . Jako jedyny produkt otrzymałam z bardzo dobrą wydajnością keton **12** wykorzystany w badaniach biologicznych (93%, Schemat 8).



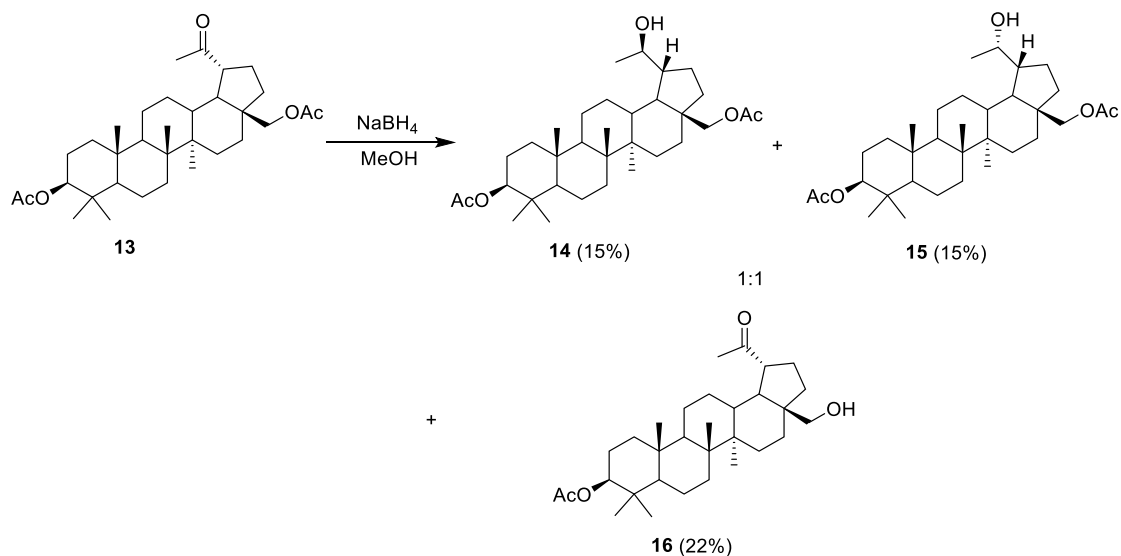
Schemat 9.

Do syntezy pochodnych z przedłużonym łańcuchem bocznym w pozycji C-19 postanowiłam wykorzystać również norketon **13** (Schemat 9). Przeprowadziłam optymalizację warunków reakcji jego otrzymywania z dioctanu betuliny (**1**). Wydajności i warunki reakcji przedstawia Tabela 2.

Tabela 2. Warunki reakcji utleniania wiązania podwójnego.

| Nr. | Warunki | Wydajność [%] |
|-----|---|---------------|
| 1 | O_3 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, -78°C | 90 |
| 2 | OsO_4 , pirydyna | 0 |
| 3 | kat. OsO_4 , NMO, pirydyna | 10 |
| 4 | NaIO_4 , kat. RuCl_3 | 25 |
| 5 | KMnO_4 , temp. 65°C | 0 |

Zdecydowanie najlepsze rezultaty uzyskałam w reakcji ozonolizy w mieszaninie $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$. W tych warunkach oczekiwany produkt powstaje z wydajnością 90%. Pozostałe reakcje przebiegały na ogół z niższą wydajnością. Zarówno czterotlenek osmu w pirydynie, jak i nadmanganian potasu nie utleniają wiązania podwójnego w dioctanie betuliny **1**.



Schemat 10.

Następnie przeprowadziłam redukcję norketonu **13** za pomocą NaBH_4 w metanolu. W wyniku reakcji powstała bardzo trudna w rozdziale mieszanina diastereoizomerycznych alkoholi **14/15** i deacetylowanej w pozycji O-28 pochodnej betuliny **16** (Schemat 10). Powstawanie diastereoizomerycznych alkoholi **14** i **15** w stosunku 1:1 wynika, tak jak w przypadku poprzednich reakcji redukcji, z braku zróżnicowania przestrzennego w najbliższym otoczeniu grupy karbonylowej, które mogłoby wpłynąć na kierunek ataku cząsteczki reduktora. Konfigurację alkoholi na atomie węgla C-20 określiłam porównując ich własności spektralne z danymi literaturowymi.¹⁰⁷

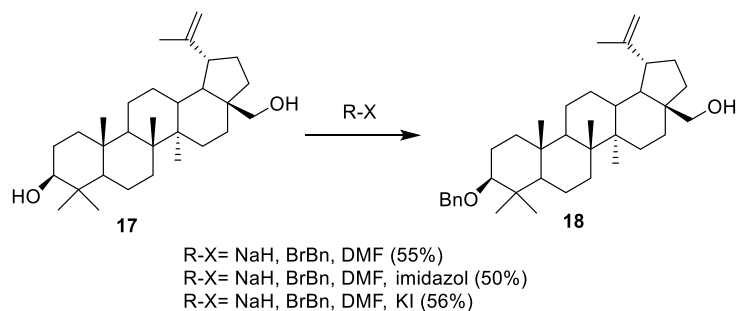
Ponieważ redukcja norketonu **13** za pomocą za pomocą borowodoru sodu w metanolu okazała się reakcją o umiarkowanej wydajności, długim czasie reakcji, trudnym rozdziale powstałych produktów, postanowiłam przeprowadzić reakcję z innymi odczynnikami redukującymi. Wyniki i warunki reakcji przedstawiłam w Tabeli nr 3.

Tabela 3. Redukcja ketonu **13**.

| nr. | warunki reakcji | wydajność [%] | 14:15 |
|-----|--|---------------|-------|
| 1 | R-CBS, pinacoloboran | 0 | - |
| 2 | R-CBS, BBN-9 | 0 | - |
| 3 | R-CBS, $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ | 0 | - |
| 4 | R-CBS, $\text{BH}_3 \cdot \text{pirydyna}$ | 0 | - |
| 5 | R-CBS, $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ | 15 | 1:1 |
| 6 | R-CBS, katecholboran | 20 | 1:1 |
| 7 | borowodorek cynku, THF | 0 | - |
| 8 | K-Selectride, THF | 28 | 1:1 |
| 9 | L-Selectride, THF | 25 | 1:1 |
| 10 | DIBAL-H | 22 | 1:1 |
| 11 | S-Apine-Borane, THF | 0 | - |
| 12 | R-Apine-Borane, THF | 0 | - |
| 13 | (-)-DIP-Chloride, THF | 0 | - |
| 14 | (+)-DIP-Chloride, THF | 0 | - |

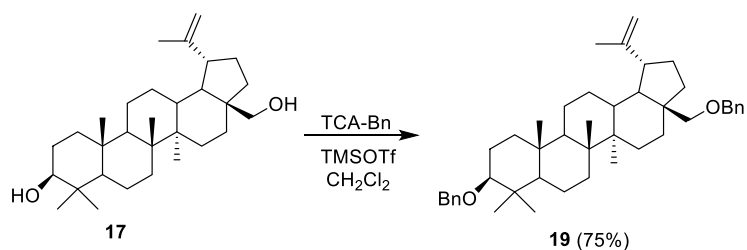
Z tabeli wynika, że redukcja grupy karbonylowej następuje tylko w przypadku reakcji z kompleksem borowodoru z siarczkiem dimetylu w obecności R-CBS, katecholboranem (nr 5-6), K- i L-Selectridem (8-9) oraz DIBAL-H (nr 10). W przypadku reakcji z K- i L-Selectridami (nr 8-9) oprócz redukcji grupy karbonylowej następuje dodatkowo redukcja grupy estrowej na atome węgla C-28. Wszystkie otrzymane alkohole są mieszaninami diastereoizomerów w stosunku 1:1, a wydajności reakcji są niskie. Powstawanie diastereoizomerów w stosunku 1:1, tak jak w przypadku reakcji redukcji norketonu **13** za pomocą NaBH_4 , wynika z braku zawady przestrzennej w najbliższym otoczeniu grupy karbonylowej, która mogłaby wpłynąć na kierunek ataku cząsteczki reduktora.

Najlepszą metodą redukcji ketonu **13** okazała się reakcja z NaBH_4 w metanolu. Głównymi problemami były tworzenie mieszaniny diastereoizometrycznych alkoholi oraz niepożądana redukcja grup acetylowych w pozycji C-3 lub C-28. Postanowiłam więc sprawdzić, czy zmiana grup zabezpieczających będzie miała istotny wpływ na przebieg reakcji redukcji ketonu.



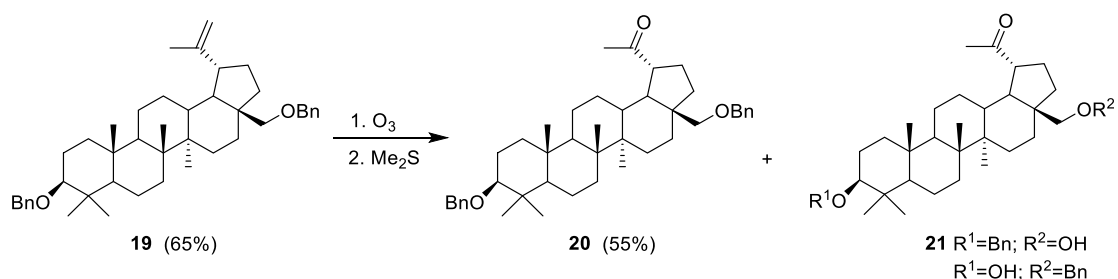
Schemat 11.

W tym celu przeprowadziłam reakcję betuliny **17** z bromkiem benzylu w obecności wodoroku sodu w DMF. Jedynym produktem reakcji była pochodna betuliny **18** (55%) zawierająca grupę benzylową w pozycji C-3, a nie jak oczekiwałam produkt dibenzylowany. Dodatek imidazolu lub jodku potasu nie wpłynął istotnie na wydajność reakcji (Schemat 11).



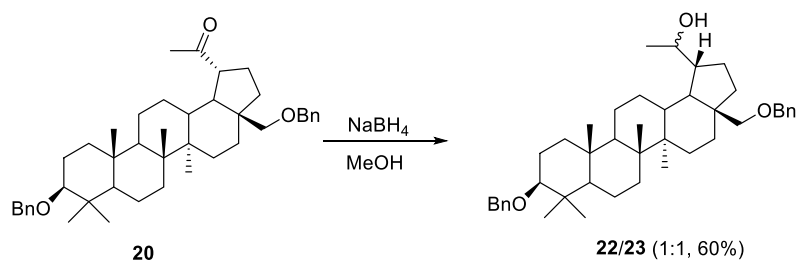
Schemat 12.

Pochodną dibenzylową **19** otrzymałam w wyniku reakcji betuliny z trichloroacetoimidanem benzylu (TCA-Bn) w obecności katalitycznej ilości TMSOTf w CH_2Cl_2 . Oczekiwany produkt wydzieliłam z bardzo dobrą wydajnością (75%, Schemat 12).



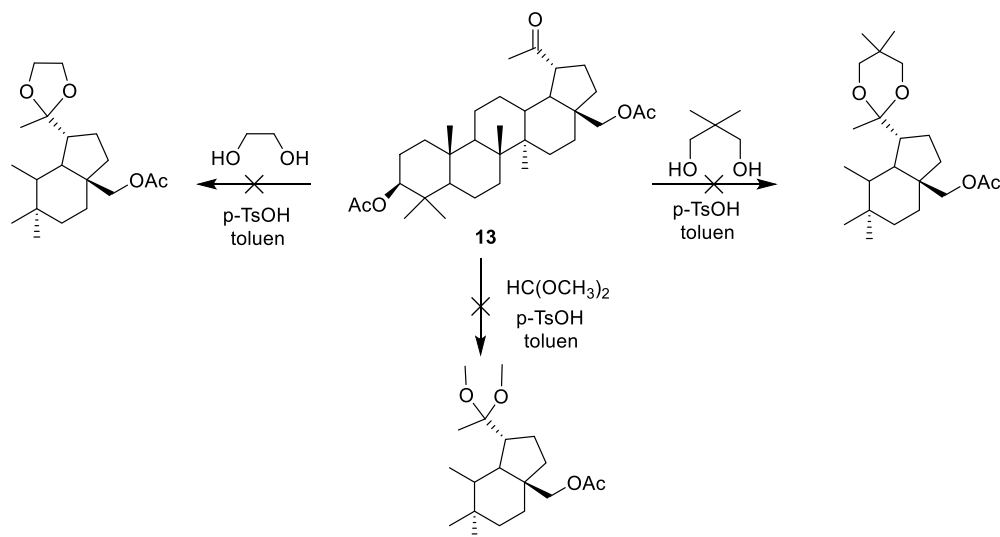
Schemat 13.

Ozonoliza pochodnej dibenzylowej **19** w mieszaninie $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ prowadzi do oczekiwanego ketonu **20** (55%) oraz mieszaniny **21** (30%) zawierającej związku z wolną grupą hydroksylową w pozycji C-28 lub C-3 (Schemat 13).



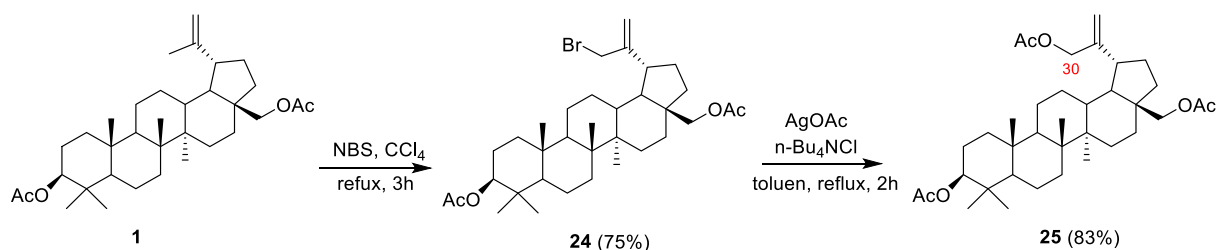
Schemat 14.

Tak przygotowany keton **20** poddałam reakcji redukcji za pomocą NaBH_4 w metanolu. Otrzymałam mieszaninę alkoholi, którą z łatwością rozdzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej (Schemat 14). Redukcja ketonu w pochodnej zabezpieczonej grupami benzyłowymi zachodzi z podobną wydajnością jak dla pochodnej zabezpieczonej grupami acetylowymi, a produktami są diastereoizomeryczne alkohole **22** i **23**. W tym przypadku nie powstają natomiast trudne w rozdziale produkty redukcji grup estrowych, a mieszanina diastereoizometrycznych alkoholi z powodu większej różnicy w polarności jest łatwa do rozdziału chromatograficznego. Konfiguracja nowo utworzonego centrum stereogenicznego nie została ustalona.



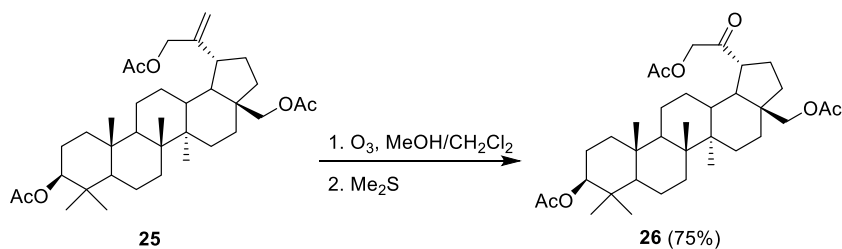
Schemat 15.

Sprawdziłam również, czy dla pochodnej acetylowej **13** możliwe jest zabezpieczenie grupy karbonylowej w postaci acetalu, co umożliwiłoby łatwą manipulację grupami estrowymi w pozycjach C-3 i C-28. Keton **13** poddałam reakcjom z ortomrówczanem metylu, glikolem etylenowym oraz 3,3-dimetylo-1,3-propanodiolem w obecności $p\text{-TsOH}$ w CH_2Cl_2 . W wyniku tych reakcji nie otrzymałam oczekiwanych acetalu. Obserwowałam natomiast częściową hydrolizę grup acetylowych w pozycji C-3 i C-28 (10-30%, Schemat 15).



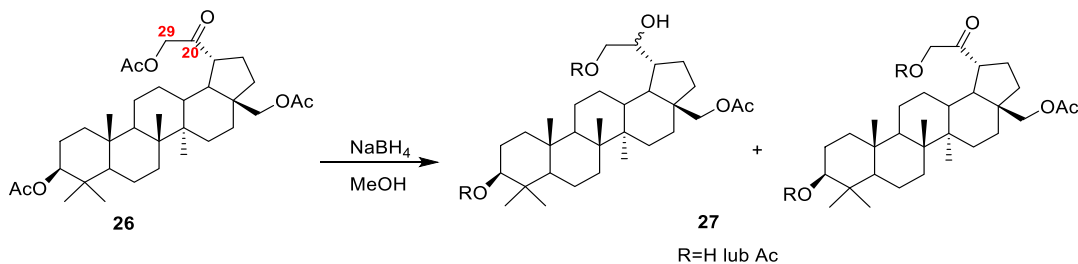
Schemat 16.

Kolejną modyfikacją łańcucha bocznego, którą przeprowadziłam, było wprowadzenie dodatkowej funkcji tlenowej w pozycję C-30. W tym celu dioctan betuliny poddałam reakcji z N-bromosukcynoimidem w czterochlorku węgla. Jako jedyny produkt otrzymałam bromopochodną **24** (75%). Wymianę atomu bromu na resztę acetylową przeprowadziłam z AgOAc oraz $n\text{-Bu}_4\text{NCl}$ w toluenie, otrzymując z dobrą wydajnością pochodną **25** (83%, Schemat 16).



Schemat 17.

W wyniku reakcji ozonolizy związku **25** w mieszaninie MeOH/CH₂Cl₂, jako jedyny produkt otrzymałam keton **26** z bardzo dobrą wydajnością (75%, Schemat 17).



Schemat 18.

Niestety, próba redukcji grupy karbonylowej w związku **26** za pomocą NaBH₄ w metanolu zakończyła się niepowodzeniem. Otrzymałam trudną w rozdziale mieszaninę produktów (**27**) z wolną grupą hydroksylową zarówno w pozycji C-3, jak i C-29 oraz mieszaninę alkoholi w pozycji C-20 (Schemat 18).

Podsumowując opisaną część badań dotyczącą modyfikacji grupy izopropenylowej pochodnych betuliny, z powodzeniem otrzymałam związki zawierające w swojej strukturze zmodyfikowany łańcuch boczny. Nowe pochodne posiadały w swojej strukturze funkcję karbonylową lub resztę α,β -nienasyconego ketonu. Natomiast redukcja grupy karbonylowej związku **9** okazała się reakcją nioselektywną, otrzymałam trudne w rozdziale diastereoizomeryczne alkohole w stosunku 1:1.

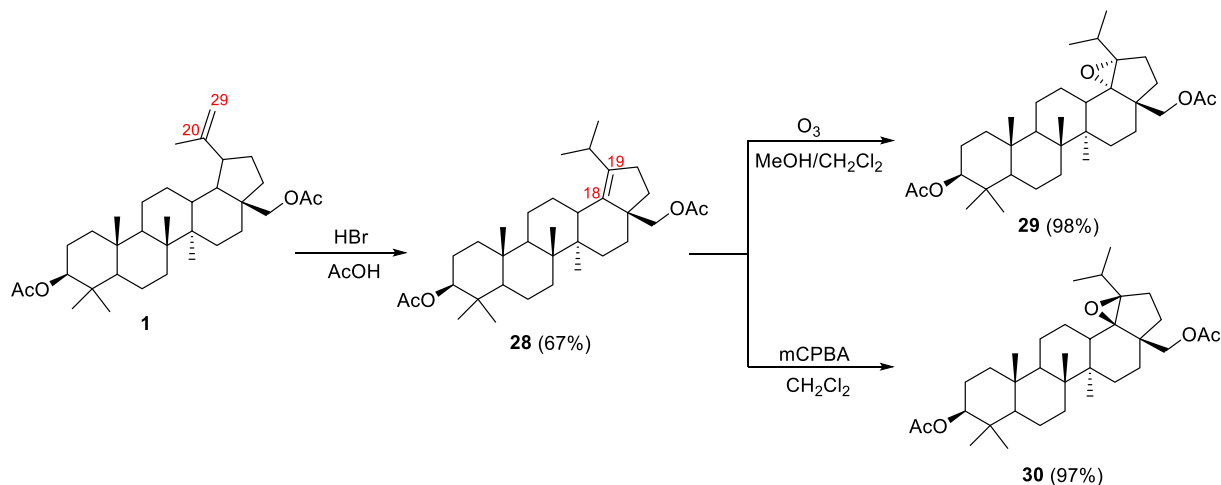
Przeprowadziłam również skuteczną redukcję grupy karbonylowej w norketonach **13** i **20** posiadających różne grupy zabezpieczające w pozycjach C-3 i C-28. W obecności grup acetylowych produktami były diastereoizomeryczne alkohole w stosunku 1:1, które z powodu małej różnicy w polarności są trudne w rozdziale. W obecności grup benzylowych (w pozycjach C-3 i C-28), reakcja redukcji również była nioselektywna (1:1), ale otrzymaną mieszaninę alkoholi mogłam rozdzielić na czyste diastereoizomery za pomocą chromatografii kolumnowej. W tym przypadku nie otrzymywałam produktów redukcji grup estrowych w pozycjach C-28 lub C-3. Z powodzeniem wprowadziłam również nową funkcję tlenową w pozycję C-30 otrzymując z bardzo dobrą wydajnością związek **26**.

Przygotowałam pięć związków do badań biologicznych.

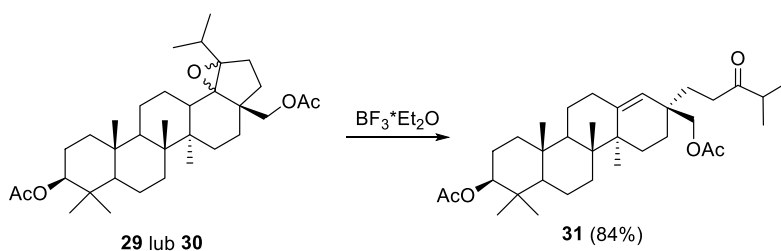
2.2.2 Modyfikacje pierścienia E

W literaturze możemy znaleźć przykłady różnych modyfikacji pierścienia E betuliny. Jedną z nich jest synteza epoksydów, których otwarcie prowadzi do pochodnych czteropierścieniowych.⁵² Modyfikacja i dalsze reakcje tych związków mogą prowadzić do nowych nieznanych struktur o ciekawych właściwościach biologicznych. Powyższe przesłanki zachęciły mnie do syntezy pochodnych betuliny zawierających w swojej strukturze zmodyfikowany pierścień E oraz związków powstających w wyniku jego degradacji.

Oczekiwałam, że zaproponowane modyfikacje zwiększą rozpuszczalność otrzymanych związków w wodzie oraz będą miały istotny wpływ na ich właściwości biologiczne.

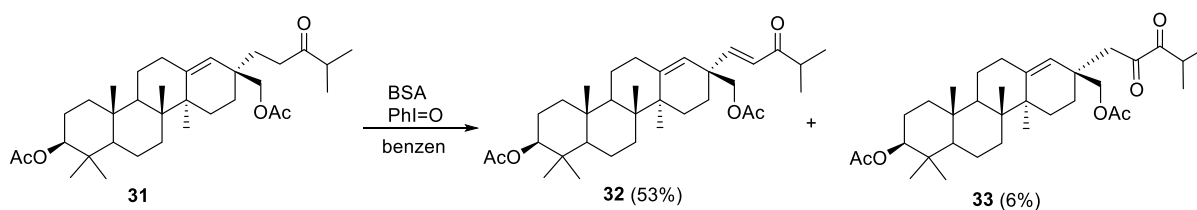


Pierwszym etapem tej części pracy była synteza epoksydów. Olefinę **28** otrzymałam w reakcji dioctanu betuliny z bromowodorem w kwasie octowym. W tych warunkach następuje migracja wiązania podwójnego C20(29) do pozycji C18(19). W wyniku reakcji ozonolizy nowopowstałego wiązania podwójnego w mieszaninie rozpuszczalników MeOH/CH₂Cl₂ utworzył się z bardzo dobrą wydajnością epoksyd **29** (98%). Natomiast pod działaniem m-CPBA powstał jego diastereoizomer **30** (97%, Schemat 19).⁵²

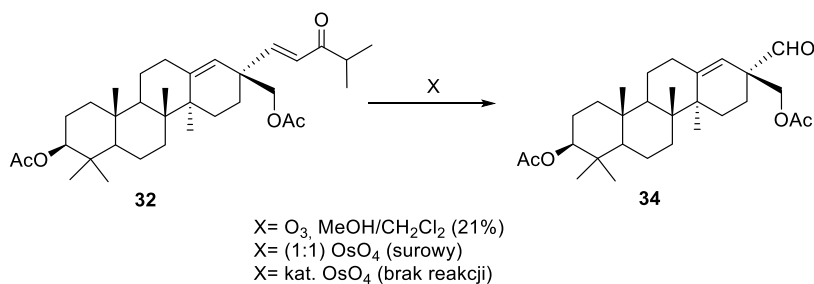


Schemat 20. Otwieranie pierścienia epoksydowego za pomocą BF₃·Et₂O.

Oba epoksydy poddałam reakcji z BF₃·Et₂O. W obecności kwasów Lewisa następuje otwarcie pierścienia epoksydowego i przegrupowanie łańcucha węglowego z utworzeniem czteropierścieniowego produktu z wiązaniem nienasyconym pomiędzy atomami C-13 i C-18 w pierścieniu D (Schemat 20).⁵²

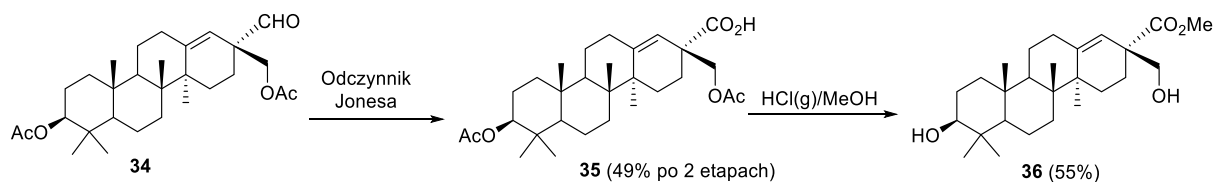


Następnie, otrzymany związek **31** poddałam reakcji utleniania w obecności BSA. Produktem głównym reakcji był oczekiwany α,β nienasycony keton **32** (53%). W niewielkiej ilości powstaje również diketon **33** (6%, Schemat 21). Tworzenie α,β-diketonów nie było wcześniej obserwowane w reakcjach utleniania za pomocą BSA.



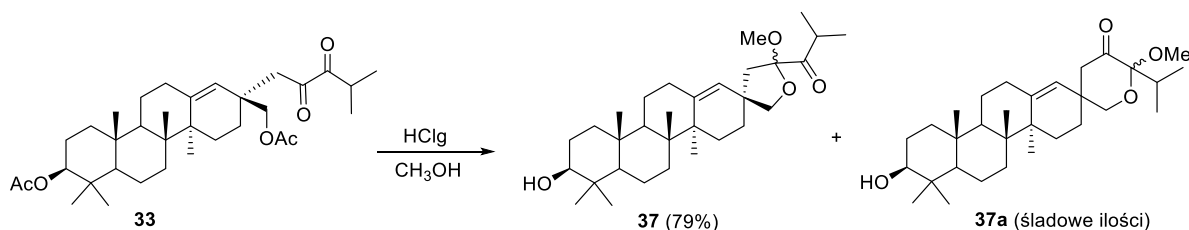
Schemat 22

α,β -Nienasycony keton **32** poddałam reakcji ozonolizy. Utlenianiu uległo tylko wiązanie podwójne w pozycji C21(22), ale wydajność pożądanego aldehydu wynosiła zaledwie 21%. Związek ten można otrzymać z bardzo dobrą wydajnością przez utlenianie ketonu **32** stechiometryczną ilością czterotlenku osmu. Powstaje aldehyd **34**, który użyłam do następnej reakcji bez oczyszczania. Próby utlenienia olefiny **32** wobec katalitycznej ilości OsO_4 zakończyły się niepowodzeniem (Schemat 22).



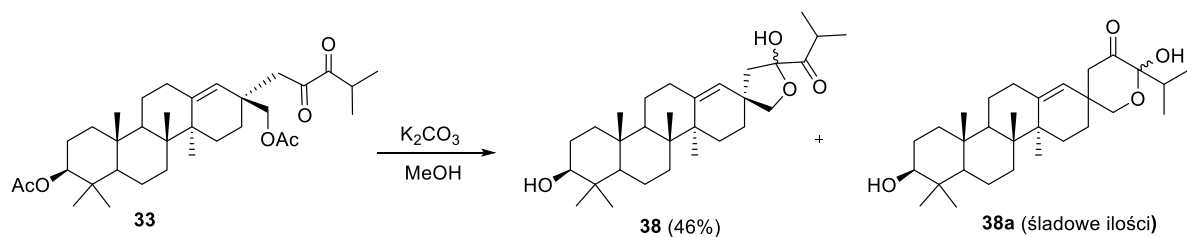
Schemat 23.

Z danych literaturowych wiadomo, że w większości przypadków aldehydy są mniej aktywne od odpowiednich kwasów karboksylowych, a te z kolei wykazują słabsze działanie biologiczne w porównaniu z ich estrami metylowymi. Dlatego postanowiłam przekształcić aldehyd **34** za pomocą odczynnika Jonesa w kwas **35** a następnie w jego ester metylowy **36** w reakcji z metanolem w obecności gazowego chlorowodoru. W tych warunkach następuje jednocześnie usunięcie grup acetylowych (Schemat 23). Otrzymany ester **36** wykorzystałam do badań biologicznych.



Schemat 24.

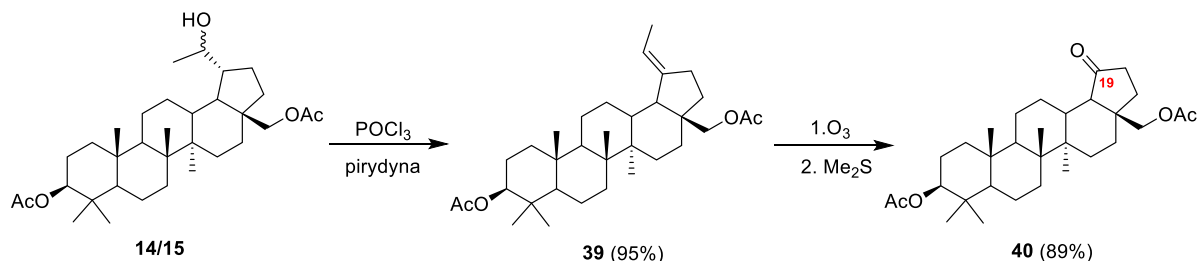
Ciekawe rezultaty uzyskałam w wyniku analogicznej reakcji diketonu **33** z metanolem w obecności gazowego chlorowodoru. Jako produkt główny otrzymałam acetal **37**, a nie jak oczekiwałam pochodną z wolnymi grupami hydroksylowymi w pozycjach C-3 i C-28 (Schemat 24). Z widm NMR wynika, że produktem głównym jest jeden z epimerów **37**. Drugi epimer **37** oraz analogi z pierścieniem sześciocłonowym **37a** powstają w śladowych ilościach.



Schemat 25.

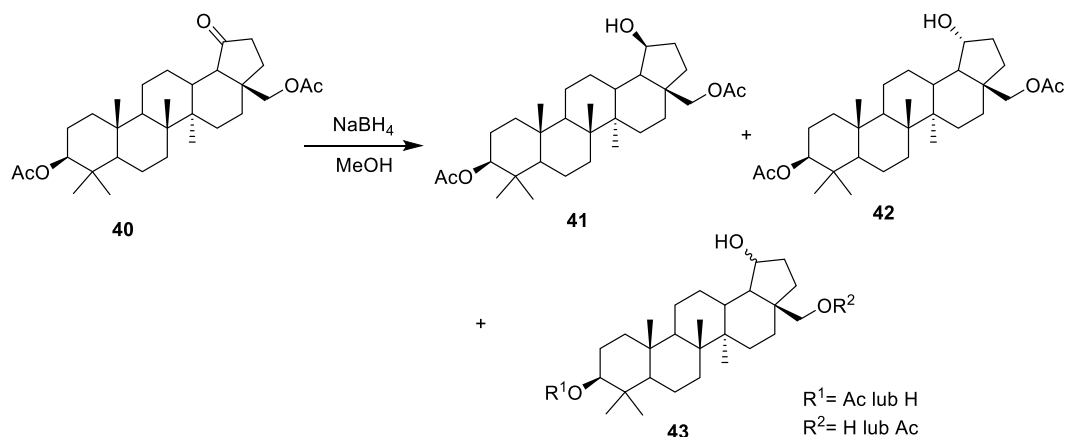
Natomiast w wyniku reakcji diketonu **33** z węglanem potasu w metanolu tworzy się cykliczny hemiacetal **38**. Podobnie jak w poprzednim przypadku, z widm NMR wynika, że produktem głównym jest jeden z epimerów **38**, który występuje w mieszaninie ze śladowymi ilościami drugiego epimeru **38** oraz analogami z pierścieniem sześciocłonowym **38a** (Schemat 25).

Podjęłam również próbę wprowadzenia grupy karbonylowej w pozycję C-19 pierścienia E.



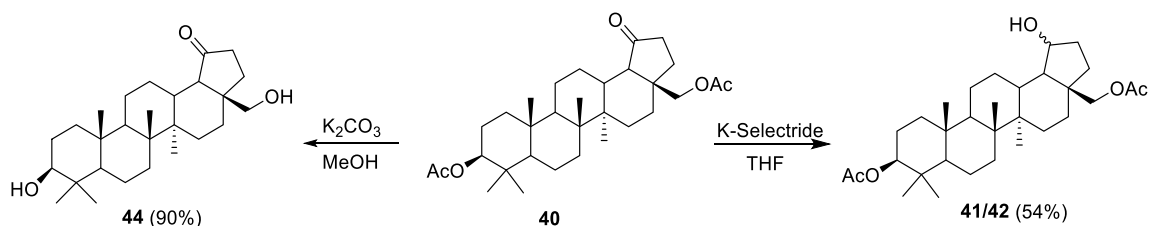
Schemat 26.

W wyniku reakcji pomiędzy mieszaniną alkoholi **14/15** z $POCl_3$ w pirydynie otrzymałam związek **39** zawierający egzocykliczne wiązanie podwójne w pozycji C19(20) (95%). Następnie olefinę **39** poddałam reakcji ozonolizy w standardowych warunkach ($-78\text{ }^\circ\text{C}$, $CH_2Cl_2/MeOH$). Jako jedyny produkt otrzymałam keton **40** z bardzo dobrą wydajnością (89%, Schemat 26).



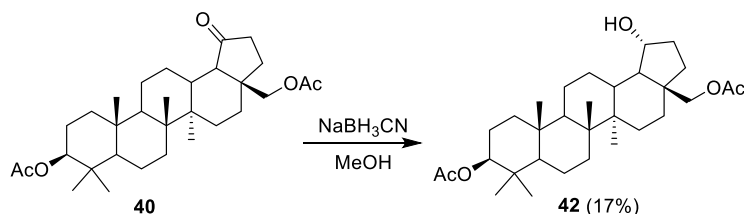
Schemat 27.

Podobnie jak w poprzednich przykładach, redukcja ketonu **40** za pomocą $NaBH_4$ w MeOH nie była selektywna. Otrzymałam trudną w rozdziale mieszaninę licznych produktów redukcji grup acetylowych w pozycjach C-3, C-28 (**43**) oraz grupy ketonowej w pozycji C-19 (**41/42**, Schemat 27).



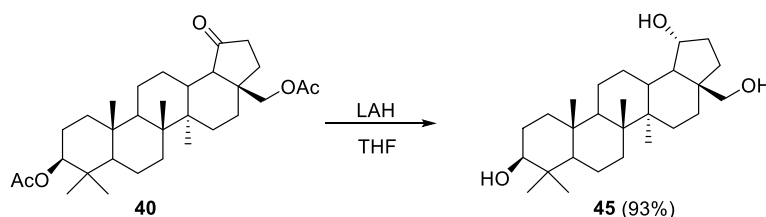
Schemat 28.

Próba selektywnej redukcji ketonu **40** za pomocą K-Selectridu w THF, okazała się nieskuteczna, produktami reakcji była mieszanina dioli **41/42**, której nie udało mi się rozdzielić za pomocą chromatografii kolumnowej (54%). Związek **44** potrzebny do badań biologicznych otrzymałam w wyniku reakcji **40** z K_2CO_3 w MeOH (90%, Schemat 28).



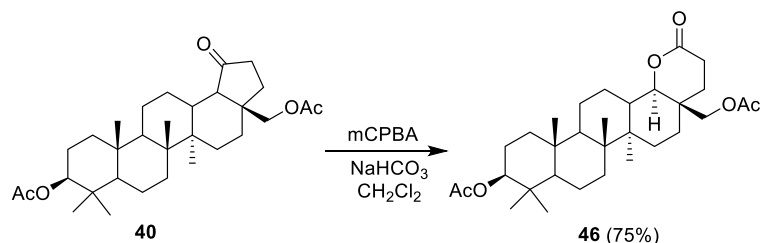
Schemat 29.

Natomiast w wyniku reakcji z $NaBH_3CN$ w metanolu otrzymałam oczekiwany alkohol **42** (17%, Schemat 29). Redukcja grupy karbonylowej przebiega w tym przypadku stereoselektywnie. Jedynym produktem reakcji jest diastereoizomer **42**. Jego budowę potwierdziłam za pomocą spektroskopii NMR.



Schemat 30.

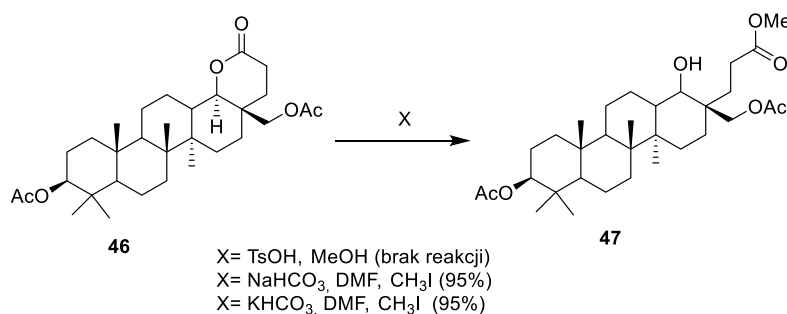
Aby uniknąć tworzenia się mieszaniny alkoholi oraz niecałkowitego przereagowania substratu przeprowadziłam reakcję z glinowodorkiem litu w THF. Produktem tej reakcji jest triol (**45**, 93%). Również ta reakcja była w pełni stereoselektywna, jej produktem był pojedynczy diastereoizomer **45**. Jego budowę potwierdziłam za pomocą spektroskopii NMR. Otrzymany triol wykorzystałam do badań biologicznych (Schemat 30).



Schemat 31.

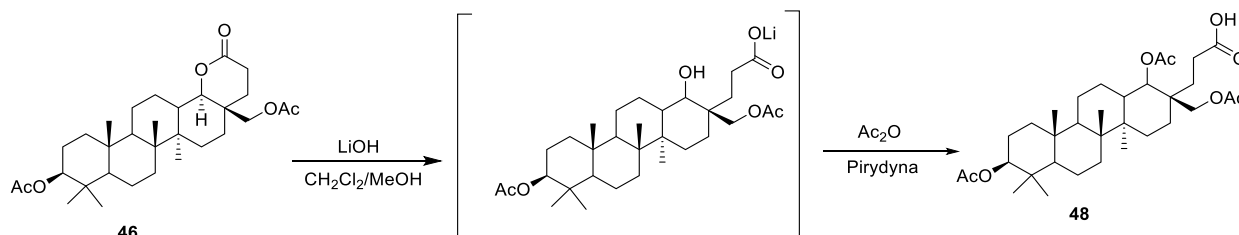
Utlenianie ketonu **40** metodą Bayera-Villigera za pomocą m-CPBA przebiega z bardzo dobrą wydajnością. Jako jedyny produkt otrzymałam lakton (**46**, 75%, Schemat 31).

Spodziewałam się, że otwarcie pierścienia laktonowego będzie dogodną drogą syntezy pochodnych czteropierścieniowych.



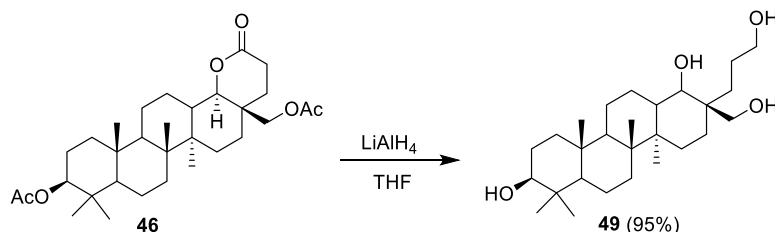
Schemat 32.

Przeprowadziłam szereg reakcji mających na celu znalezienie optymalnej metody otwarcia pierścienia laktonowego. Najpierw podjęłam próbę syntezy estru metylowego **47**. Reakcja laktonu **46** z metanolem w obecności kwasu p-toluenosulfonowego okazała się nieskuteczna. Oczekiwany produkt otrzymałam natomiast w reakcji z $\text{NaHCO}_3/\text{CH}_3\text{I}$ w DMF (**47**, 95%). Ten sam związek powstał w wyniku analogicznej reakcji z KHCO_3 (**47**, 95%). Obie reakcje przeprowadziłam w skali miligramowej. Próba powiększenia skali reakcji nie powiodła się, w każdym przypadku odzyskiwałam niezmienny substrat (Schemat 32).



Schemat 33.

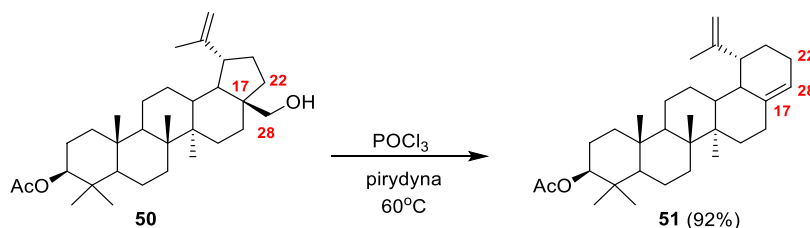
Natomiast w wyniku reakcji laktonu z wodorotlenkiem litu w mieszaninie rozpuszczalników $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ a następnie reakcji acetylowania bezwodnikiem octowym w pirydynie otrzymałam oczekiwany produkt **48** w mieszaninie z substratem, której nie udało mi się rozdzielić metodami chromatograficznymi (Schemat 33). Dodatkowo, tak jak w poprzednio opisywanych próbach otwierania pierścienia laktonowego, reakcja zachodziła tylko w skali miligramowej, a wielokrotne próby powiększenia skali reakcji zakończyły się niepowodzeniem.



Schemat 34.

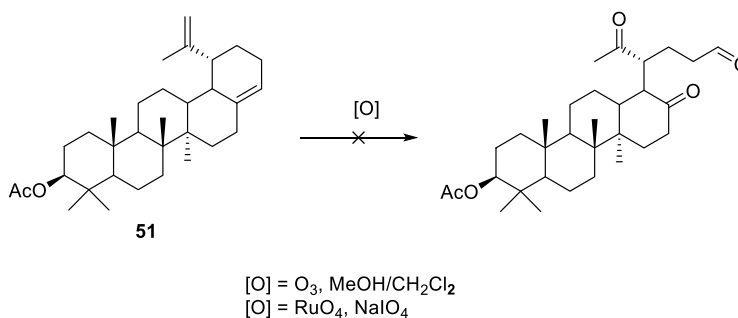
Jedyną reakcją, która przebiegała zgodnie z oczekiwaniami, była redukcja laktonu **46** za pomocą glinowodoroku litu w THF, w wyniku której otrzymałam czteropierścieniowy tetraol **49** z bardzo dobrą wydajnością (95%, Schemat 34).

Opisane powyżej reakcje prowadzą do otwarcia pierścienia E betuliny przez rozerwanie wiązania w pozycji C18(19). Możliwe jest również łatwe przekształcenie szkieletu betuliny przez insercję atomu węgla C-28 do wiązania C17(22) i rozerwanie powstającego wiązania podwójnego C17(28).



Schemat 35.

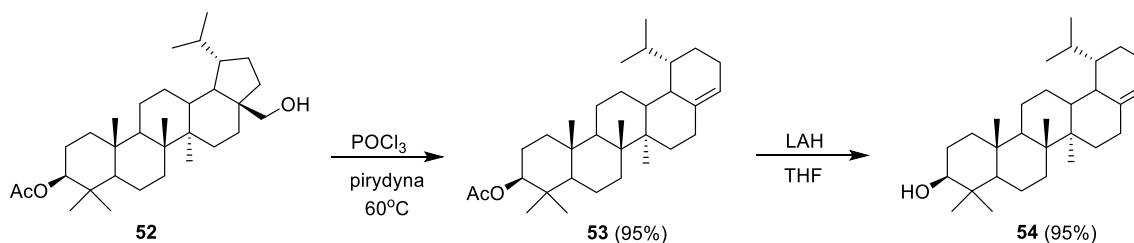
Monoacetan **50** poddałam reakcji z POCl_3 w pirydynie, w wyniku której następuje przegrupowanie atomu węgla C-28 i ekspansja pierścienia E do układu sześciocłonowego. Jako jedyny produkt otrzymałam oczekiwany związek zawierający nowe nienasycone wiązanie w pozycji C17(28) (**51**, 92%, Schemat 35).⁴⁸



Schemat 36.

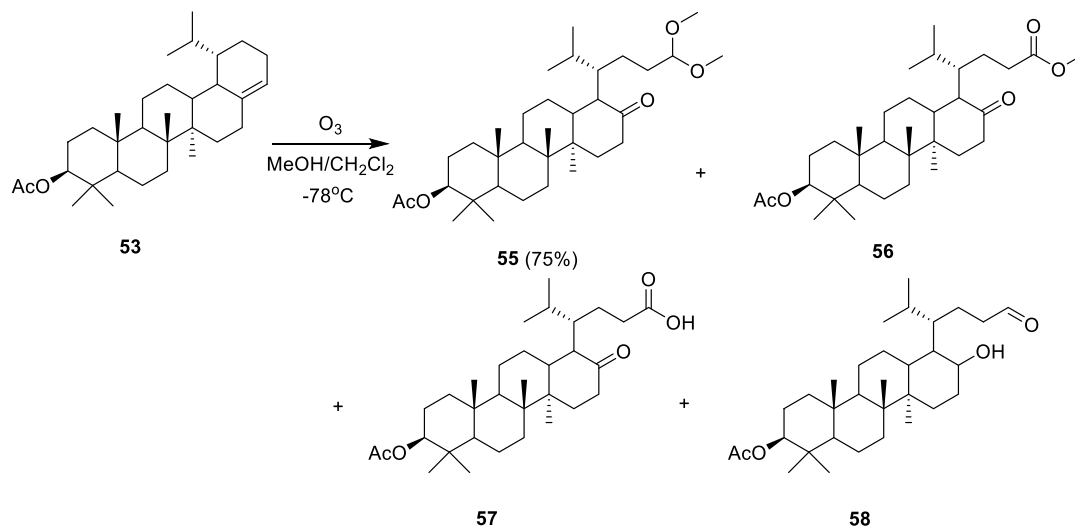
Ozonoliza olefiny **51** prowadzi do złożonej mieszaniny, której nie udało mi się rozdzielić metodami chromatograficznymi. Natomiast w wyniku reakcji z czterotlenkiem rutenu i następczym rozcięciu powstającego układu diolu za pomocą nadjodanu sodu nastąpiła degradacja cząsteczki.

Trudności z otrzymaniem czystych produktów reakcji, z dobrymi wydajnościami, były prawdopodobnie spowodowane obecnością wiązania podwójnego w łańcuchu bocznym betuliny. Zwiększa ono liczbę możliwych produktów reakcji oraz liczbę produktów ubocznych utrudniających oczyszczenie mieszaniny poreakcyjnej. Dlatego też, zdecydowałam się na syntezę związku zawierającego wiązanie podwójne tylko w pierścieniu E.



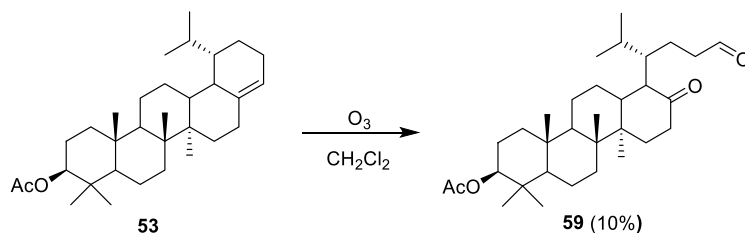
Schemat 37.

Analogicznie do poprzednio opisywanej syntezy, związek z sześciocłonowym pierścieniem E otrzymałam w wyniku reakcji monoacetanu dihydrobetuliny (**52**) z POCl_3 w pirydynie. Produkt **53** powstaje z bardzo dobrą wydajnością 95%. Redukcja **53** za pomocą LiAlH_4 prowadzi do alkoholu **54**, który użyłam do badań biologicznych (Schemat 37).



Schemat 38.

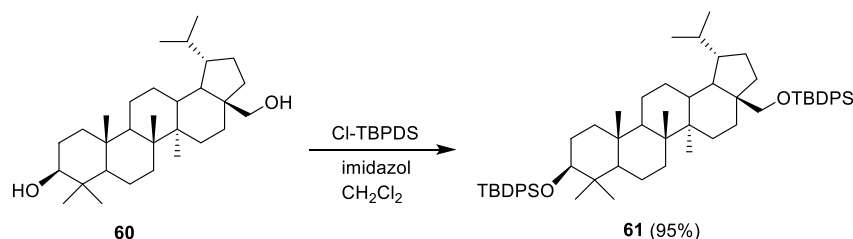
Olefinę **53** poddałam reakcji ozonolizy w standardowych warunkach. Otrzymałam mieszaninę produktów, którą rozdzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej. Głównym produktem reakcji był związek **55** (75%). Pozostałe produkty **56-58** tworzyły się z niewielką wydajnością (Schemat 38). Ich budowę potwierdziłam za pomocą metod spektroskopowych.



Schemat 39.

Aby uniknąć tworzenia acetalu, przeprowadziłam próbę ozonolizy w CH₂Cl₂, bez dodatku metanolu. Niestety, w temperaturze reakcji (-78°C) rozpuszczalność substratu jest bardzo słaba, przez co wydajność produktu **59** również jest niewielka (ok 10%, Schemat 39).

Wcześniejsze badania prowadzone w naszym zespole wskazują, że duży wpływ na reaktywność podstawników w pierścieniu E betuliny mają grupy zabezpieczające resztę hydroksylową w pozycji C-3. W związku z tym, postanowiłam sprawdzić, jaki wpływ na przebieg reakcji ozonolizy analogów **53**, ma grupa zabezpieczająca w tej pozycji.



Schemat 40.

Zdecydowałam się na zastosowanie grupy tert-butyldifenylsilylowej i benzoilowej. Tego typu grupy zabezpieczające były już z powodzeniem używane we wcześniejszych pracach zespołu. Selektywne wprowadzenie grupy TBDPS w pozycję C-3 betuliny, zgodnie z oczekiwaniami było praktycznie niemożliwe. Jediną skuteczną metodą okazała się synteza

dwuetapowa, w której najpierw otrzymałam pochodną disililową **61**, a następnie selektywnie usunęłam grupę zabezpieczającą w pozycji C-28.

W reakcji dihydrobetuliny **60** z chlorkiem *tert*-butyldifenylosililowym w obecności imidazolu w CH₂Cl₂ w temperaturze 50°C otrzymałam z bardzo dobrą wydajnością związek disililowany **61** (95%, Schemat 40). W celu znalezienia optymalnych warunków selektywnego usuwania grupy sililowej z pozycji C-28, przetestowałam szereg odczynników desililujących (Schemat 41). Wyniki przedstawiłam w Tabeli 4.

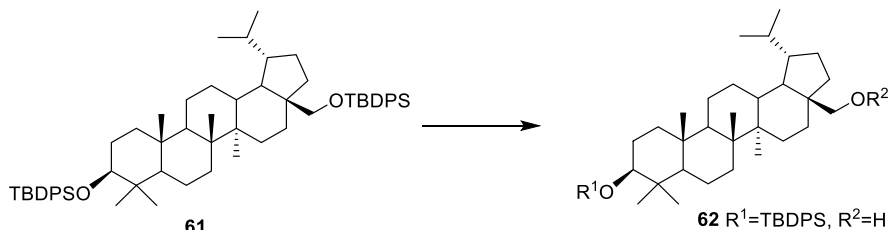
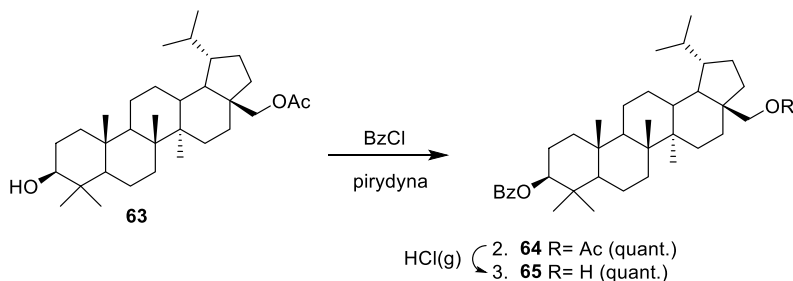


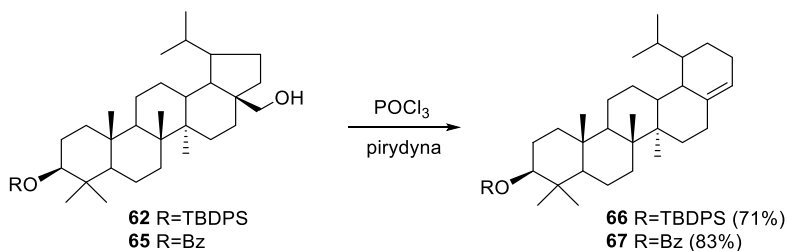
Tabela 4. Selektywna hydroliza TBDPS.

| nr reakcji | Warunki | R ¹ | R ² | Wydajność [%] |
|------------|---|----------------|----------------|---------------|
| 1 | BF ₃ EtO ₂ , THF | TBDPS | TBDPS | 0 |
| 2 | LiBr, korona-18, 85°C | TBDPS | TBDPS | 0 |
| 3 | HF, pirydyna, temp.pok | TBDPS | TBDPS | 0 |
| 4 | KF, MeOH/CH ₂ Cl ₂ | TBDPS | TBDPS | 0 |
| 5 | 0.1M KOH/EtOH, temp.pok | TBDPS | TBDPS | 0 |
| 6 | TFA:H ₂ O (1:1:1), THF, 0°C | H | H | 100 |
| 7 | TFA:H ₂ O (1:1:1), THF, temp.pok | H | H | 60 |
| 8 | p-TsOH, MeOH/DCM | H | H | 49 |
| 9 | TBAF 1 eq, THF, temp.pok | H | H | 70 |
| 10 | TBAF 0,5 eq, THF, temp.pok | H | H | 30 |
| 11 | TBAF 0,25 eq, THF, temp.pok | TBDPS | H | 74 |

Oczekiwaną, selektywnie zabezpieczoną pochodną **62** otrzymałam w wyniku reakcji z 0,25 ekwiwalenta TBAF w THF z bardzo dobrą wydajnością (74%, nr 11).

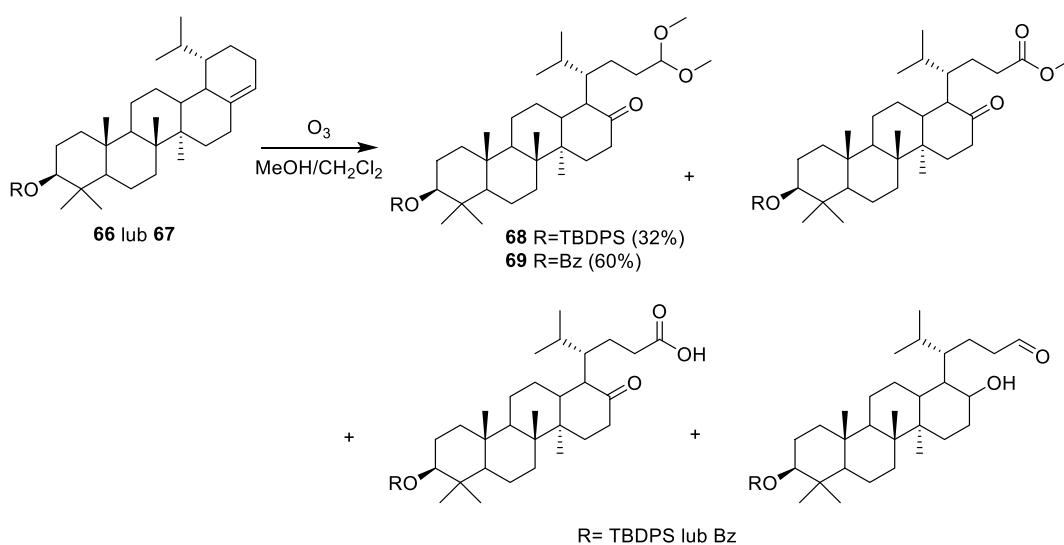


Natomiast selektywnie zabezpieczoną w pozycji C-3 pochodną benzoilową **64**, otrzymałam w wyniku reakcji monoocetanu betuliny chlorkiem benzoilu w pirydynie. Jej deacetylowanie w reakcji z metanolem w obecności chlorowodoru dało oczekiwany związek **65**. Obie reakcje przebiegały z wydajnością ilościową (Schemat 42).



Schemat 43.

Tak przygotowane selektywnie zabezpieczone w pozycji C-3 pochodne betuliny **62** i **65** poddałam reakcji z POCl_3 w pirydynie w temperaturze 60°C . Produktami reakcji były związki z sześciocłonowym nienasyconym pierścieniem E. Wydajności reakcji okazały się niższe niż dla analogicznej pochodnej zabezpieczonej grupą acetylową w pozycji C-3 (**66**: TBDPS, 71%, **67**: Bz, 83%, Schemat 43, vs **55**: R=Ac, 95%).

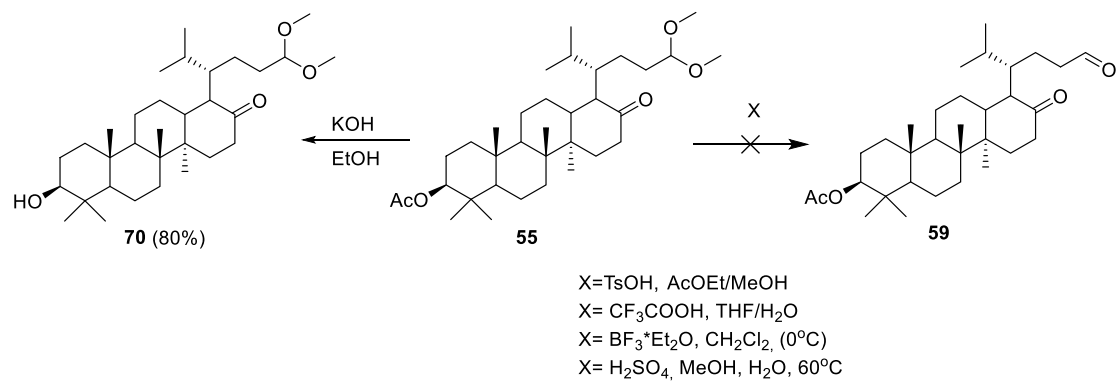


Schemat 44.

Reakcję ozonolizy związków **66** i **67** przeprowadziłam w standardowych warunkach (O_3 , -78°C , $\text{MeOH/CH}_2\text{Cl}_2$). W przypadku pochodnej **68** zabezpieczonej grupą TBDPS, za niską wydajność (32%) odpowiada prawdopodobnie jego słaba rozpuszczalność (Schemat 44).

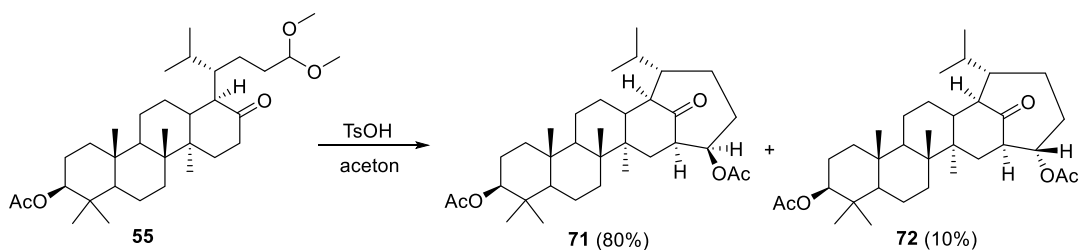
Natomiast w przypadku związku **69** zabezpieczonego w pozycji C-3 grupą benzoilową wydajność reakcji wynosiła (60%). Problemem było oczyszczenie pożądanego produktu. W reakcji tworzą się liczne produkty uboczne.

Z powyższego doświadczenia wynika, że rodzaj grupy zabezpieczającej w pozycji C-3 pochodnych betuliny ma istotny wpływ na przebieg reakcji ozonolizy. Wynika to z różnicy w rozpuszczalności, reaktywności grup zabezpieczających oraz tworzeniu produktów ubocznych. We wszystkich przypadkach produktem głównym był acetal dimetylowy powstający z tworzącego się w reakcji ozonolizy ugrupowania aldehydowego.



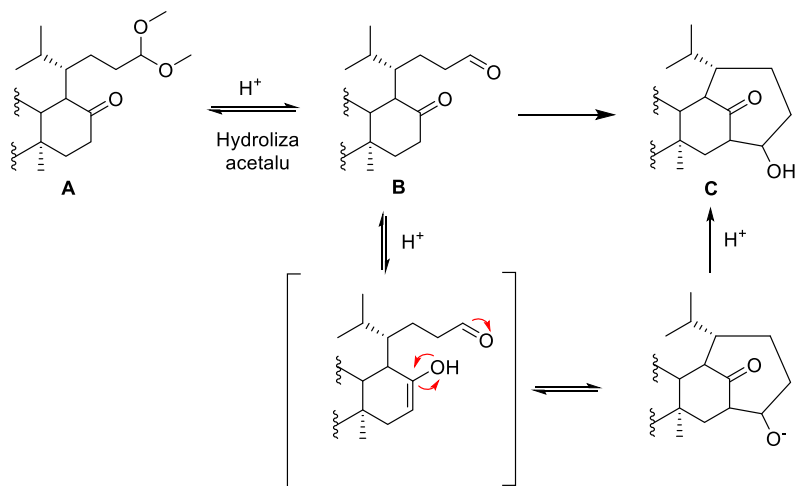
Schemat 45.

Z danych literaturowych wiadomo, że pochodne z grupami aldehydowymi lub karboksylowymi wykazują znacznie lepsze właściwości biologiczne w porównaniu z acetalami. Postanowiłam więc znaleźć dogodną metodę hydrolizy otrzymanego acetalu. Hydroliza w obecności katalitycznej ilości kwasu p-toluenosulfonowego jak i w obecności kwasu trifluoroctowego nie zachodziła. W wyniku reakcji z kwasem siarkowym w metanolu w temperaturze 60°C , jak i w reakcji z $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ w CH_2Cl_2 , nastąpił rozkład substratu. Związek **70** potrzebny do badań biologicznych otrzymałam w wyniku reakcji **55** z KOH w EtOH (80%, Schemat 45).

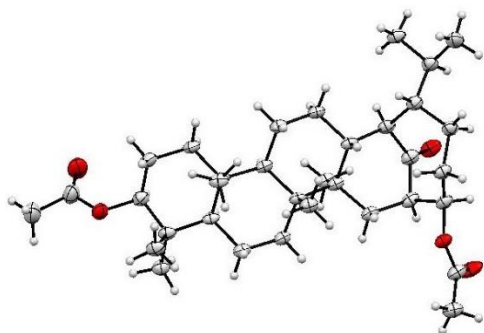


Schemat 46.

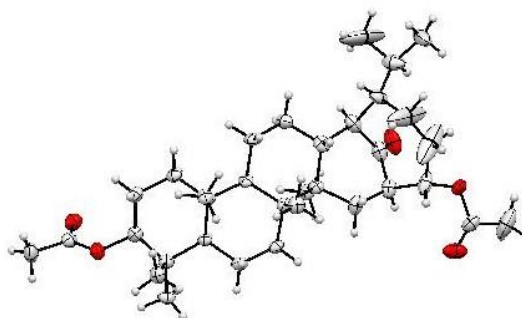
Natomiast w wyniku reakcji z równomolową ilością p-TsOH w acetonie otrzymałam mieszaninę dwóch związków **71** i **72** w stosunku 8:1, którą rozdzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej. Oba produkty zawierają w swojej budowie siedmioczłonowy pierścień E. Związków posiadających tego typu pierścień, nie opisano do tej pory w literaturze. Ich budowę potwierdzają zarówno badania za pomocą spektroskopii NMR i MS, jak i rentgenowska analiza strukturalna (Schemat 46, Rys. 4 i 5).



Schemat 47.

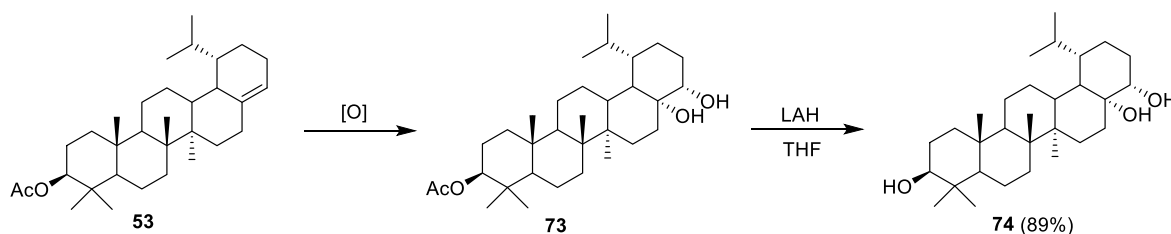


Rys. 4. ORTEP-71



Rys. 5. ORTEP-72

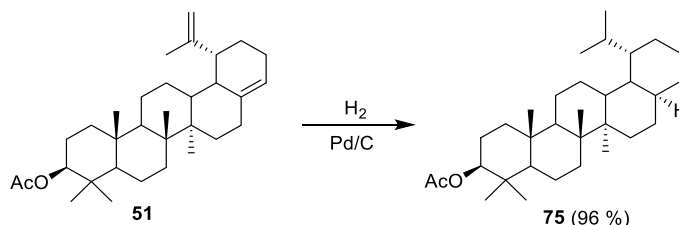
Pierwszym etapem reakcji jest prawdopodobnie katalizowana kwasem hydroliza acetalu **A** do aldehydu **B**, który w warunkach reakcji ulega krzyżowej reakcji aldolowej i tworzy się związek **C** z siedmioczłonowym pierścieniem **E** (Schemat 47).



[O] = KMnO_4 , KOH (brak reakcji)
 [O] = KMnO_4 , KOH , 60°C (brak reakcji)
 [O] = OsO_4 kat., NMO , pirydyna (brak reakcji)
 [O] = 1 eq OsO_4 , pirydyna (84%)

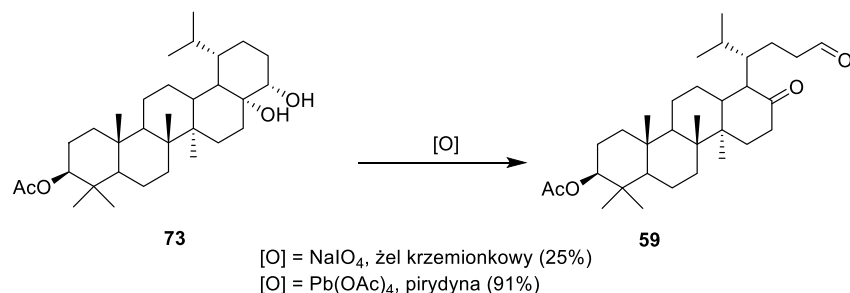
Schemat 48. Synteza diolu **72**.

Pożądaný aldehyd **59** można natomiast w prosty sposób otrzymać w reakcji dwuetapowej, przekształcając olefinę **53** w diol **73**, a następnie rozcinając ugrupowanie diolu w warunkach utleniających. Synteza diolu ze związku **53** z nadmanganianem potasu oraz reakcja w obecności katalitycznej ilości czterotlenku osmu nie zachodziły. Natomiast w wyniku reakcji ze stechiometryczną ilością czterotlenku osmu w pirydynie otrzymałam oczekiwany produkt **73** (84%, Schemat 48), który posiada dwie grupy hydroksylowe położone względem siebie w pozycji *cis*. Do tej pory otrzymywano tego typu diole o konfiguracji *trans*.¹⁰⁸ Konfigurację ugrupowania diolu potwierdziłam za pomocą spektroskopii NMR. Atak odczynnika utleniającego nastąpił „od dołu układu” terpenowego. Nie obserwowałam powstawania produktu izomerycznego. Redukcja grupy estrowej za pomocą LiAlH_4 dała triol **74** (89%), potrzebny do badań biologicznych.



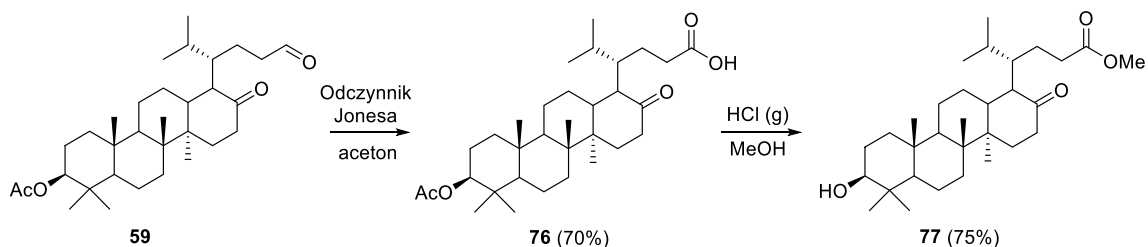
Schemat 49.

Tę silną preferencję ataku na wiązanie podwójne od dołu układu terpenowego obserwowałam również w reakcji wodorowania dienu **51**, w której powstał wyłącznie jeden produkt **75** (Schemat 49).



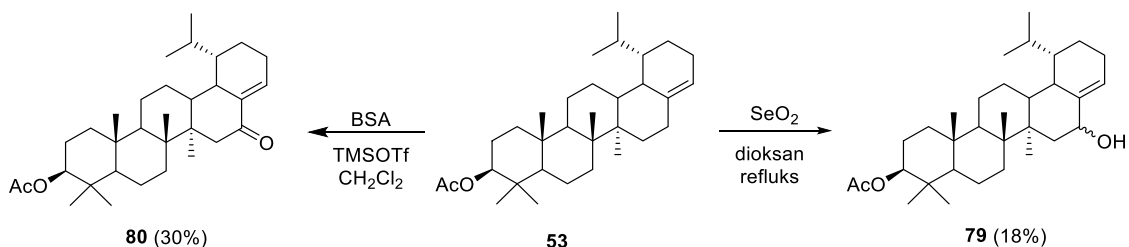
Schemat 50.

Cięcie otrzymanego diolu **73** próbowałam przeprowadzić nadjodanem sodu osadzonym na żelu krzemionkowym w CH_2Cl_2 , jednak pomimo długiego czasu reakcji (7 dni) konwersja substratu w produkt wyniosła zaledwie 25%. Natomiast reakcja z czteroctanem ołowiu w pirydynie dała oczekiwany czteropierścieniowy związek **59** z bardzo dobrą wydajnością już po około 1 godzinie (91%, Schemat 50).



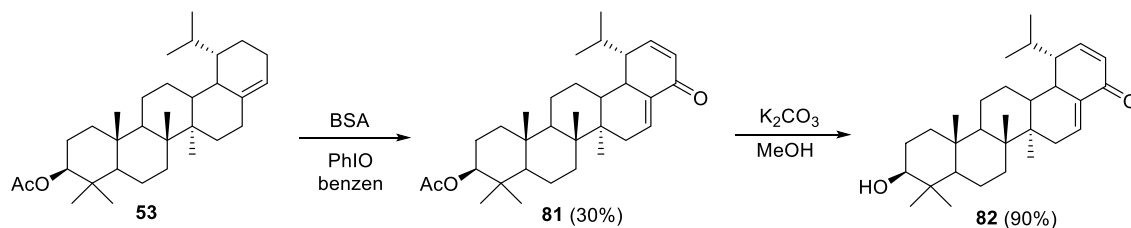
Schemat 51.

W celu przygotowania próbek do badań biologicznych, otrzymany aldehyd **59** utleniałam za pomocą odczynnika Jonesa do kwasu **76** (70%). Natomiast reakcja z metanolem w obecności gazowego chlorowodoru prowadzi do estru metylowego **77** z jednoczesnym usunięciem grupy acetylowej z pozycji O-3 (75%, Schemat 51).



Schemat 52.

Reakcja utleniania w pozycji allilowej pozwala na wprowadzenie do szkieletu terpenu nowej funkcji tlenowej. W wyniku reakcji związku **53** z dwutlenkiem selenu w dioksanie otrzymałam alkohol **79** z wydajnością 18%. Natomiast w wyniku reakcji pomiędzy olefiną **53** i BSA w obecności TMSOTf w CH_2Cl_2 otrzymałam mieszaninę produktów, z której udało mi się wyodrębnić nieznaną substancję zawierającą grupę karbonylową w pozycji C-16 pierścienia D (**80**, 30%, Schemat 52). Budowę obu produktów potwierdziłam za pomocą metod spektroskopowych (NMR, MS, IR).



Schemat 53. Utlenianie wiązania podwójnego za pomocą BSA/PhIO.

Utlenianie olefiny **53** za pomocą BSA w obecności jodoksybenzenu w temperaturze 80 °C prowadzi natomiast do związku **81**. Produktem reakcji jest keton zawierający dwa wiązania podwójne, jedno pomiędzy atomami węgla C16-C17 pierścienia D, drugie pomiędzy atomami węgla C21-C22 w pierścieniu E. Jego budowę potwierdziłam metodami spektroskopowymi. W wyniku reakcji z K_2CO_3 w MeOH powstaje alkohol **82** (90%), niezbędny do badań biologicznych (Schemat 53).

Podsumowując powyższą część badań dotyczącą modyfikacji pierścienia E, otrzymałam szereg związków zawierających w swojej strukturze zmodyfikowany pięcioczłonowy pierścień E. Jego ekspansja do pierścienia sześcioczłonowego zakończyła się powodzeniem. Otrzymałam szereg pochodnych, między innymi z wiązaniem podwójnym w pozycji C17(28) oraz ugrupowaniem diolu (**73**), który posiada dwie grupy hydroksylowe położone względem siebie w pozycji *cis*. Dodatkowo związki te okazały się wygodnymi substratami w dalszych przekształceniach szkieletu betuliny. Degradacja sześcioczłonowego pierścienia E doprowadziła do nowych pochodnych czteropierścieniowych posiadających w pozycji C-28 ugrupowanie acetalu (**55**), kwasu (**76**) lub estru (**77**). Udowodniłam również, że grupa zabezpieczająca w pozycji C-3 szkieletu betuliny ma duży wpływ na reakcję ozonolizy. Zaobserwowałam nieznaną do tej pory przekształcenia prowadzące do związków posiadających siedmioczłonowy pierścień E (**71**, **72**). Przygotowałam 17 związków do badań biologicznych.

2.3 SYNTEZA SAPONIN

Triterpenoidy często występują w przyrodzie w połączeniu z cukrami jako glikozydy (saponiny). Wyzdzielanie saponin z materiałów roślinnych jest jednak bardzo żmudne i są one izolowane na ogół w bardzo małych ilościach. Ich synteza laboratoryjna jest często jedyną metodą uzyskania wystarczającej ilości związków do badań biologicznych (badanie SAR). Przyłączenie łańcucha cukrowego do cząsteczki triterpenoidu nie tylko poprawia ich rozpuszczalność w wodzie (dzięki dużej liczbie hydrofilowych grup hydroksylowych obecnych w sacharydzie), reszta cukrowa jest często niezbędna do uzyskania aktywności biologicznej.

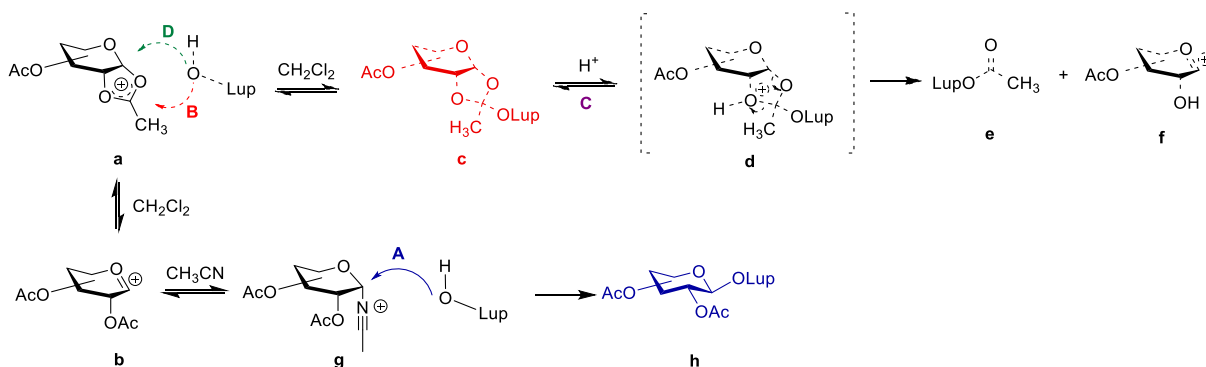
2.3.1 Synteza saponin z użyciem peracetylowanych donorów Schmidta

Peracetylowane donory Schmidta są szeroko stosowanymi materiałami wyjściowymi do syntezy wiązania glikozydowego¹⁰⁹ oraz syntezy saponin.¹¹⁰ Są one łatwe do przygotowania z peracetylowanych cukrów, jednych z najtańszych dostępnych w handlu pochodnych węglowodanów. Usuwanie grup acetylowych przez traktowanie zabezpieczonych pochodnych katalityczną ilością zasady, takiej jak metanolan sodu czy węglan potasu, daje wolne cukry z bardzo wysoką wydajnością, bez konieczności oczyszczania mieszanin poreakcyjnych.

Niestety, reakcja glikozydowania triterpenoidów typu lupanowego acetylowanymi donorami zwykle nie daje oczekiwanych produktów. Obserwuje się praktycznie wyłącznie migrację grupy acetylowej z cząsteczki donora do cząsteczki triterpenu.^{111,112} Opisano tylko nieliczne udane syntezy z peracetylowanych bromków glukopiranozylowych i ortoestrów

cukrowych.^{68,69} Wydajności tych syntez były raczej umiarkowane, a jako produkt uboczny wyizolowano znaczne ilości dioctanu betuliny. Dlatego praktycznie we wszystkich współczesnych syntezach saponin lupanowych stosowane są perbenzoilowane donory glikozyłowe. W ich przypadku nie obserwuje się migracji grupy acylowej. Niestety, pochodne benzoilowane nie są dostępne handlowo, a produktem ubocznym powstającym przy odbezpieczaniu grup hydroksylowych jest benzoesan metylu, który należy usunąć metodami chromatograficznymi. Zmniejsza to całkowitą wydajność, zwiększa koszty i wydłuża czas syntezy.

Postanowiłam przeprowadzić próbę modyfikacji/optimalizacji warunków reakcji glikozydowania z użyciem acetylowanych donorów tak, aby możliwe było otrzymanie oczekiwanych saponin typu lupanu z dobrymi wydajnościami.

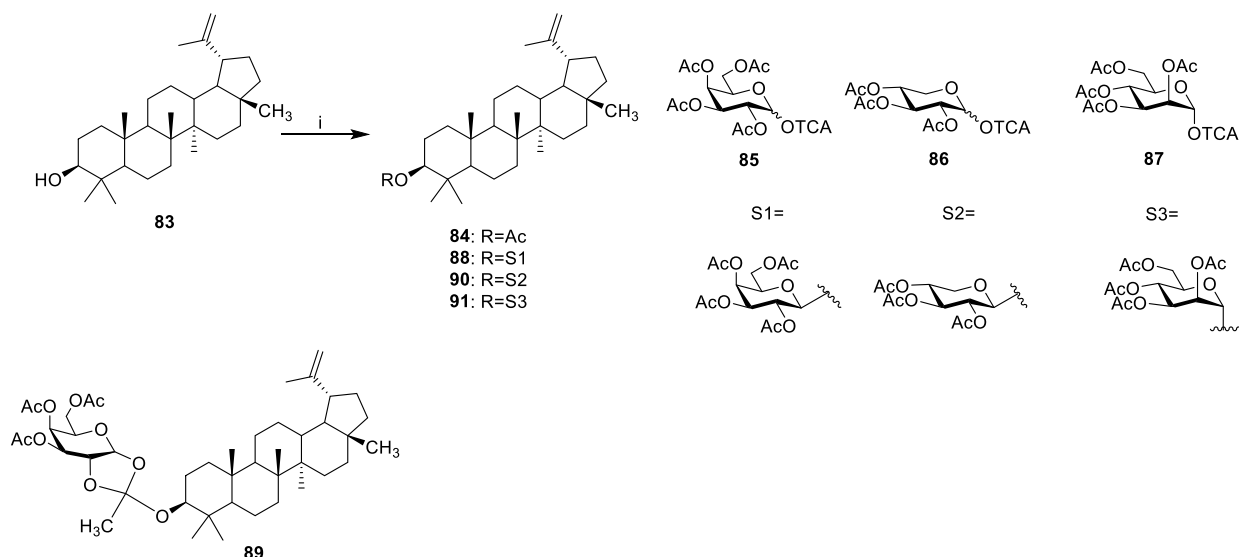


Rysunek 6. Możliwe ścieżki reakcji prowadzące do utworzenia glikozydu lupanowego lub migracji reszty acylowej (Lup - fragment lupanu).

Uważam, że reakcja glikozydowania przebiega w tym przypadku prawdopodobnie przez etap tworzenia ortoestru. Jon **b**, który tworzy się pod działaniem promotora na cząsteczkę donora, może być stabilizowany przez grupę acetylową znajdującą się przy sąsiednim atomie węgla przez tworzenie jonu acyloksoniowego **a**. Reakcja nukleofila (w tym przypadku lupanu) z jonem acyloksoniowym prowadzi do utworzenia ortoestru **c** (ścieżka **B**), który następnie przegrupowuje się (poprzez jon **d**) do acetylowanego lupanu **e** i deacetylowanego jonu **f** (ścieżka **C**). Atak nukleofila "od góry" (ścieżka **D**) w stosunku do pierścienia cukrowego, prowadzący do glikozydu **h**, wydaje się niekorzystny.

Jak wiadomo, w obecności acetonitrylu tworzy się kation iminoacetylowy **g**. Grupa acetylowa obecna na sąsiednim atomie węgla, nie jest wtedy w stanie utworzyć jonu acyloksoniowego, w wyniku czego nie powstają ortoestry. Reakcja z nukleofilem zachodzi „od góry” pierścienia (Ścieżka **A**) i w konsekwencji tworzy się pożądany glikozyd 1,2-*trans*.

Uznałam więc, że użycie acetonitrylu jako rozpuszczalnika w reakcji glikozydowania lupeolu i monoocctanu betuliny peracetylowanymi donorami Schmidta powinno uniemożliwić tworzenie ortoestru **c**, w efekcie nie powinna następować migracja grupy acylowej, a preferowanym kierunkiem reakcji powinno być tworzenie oczekiwanych saponin **h**.



Schemat 54.

Optymalizację warunków glikozydowania z użyciem peracetylowanych donorów Schmidta rozpoczęłam od przeprowadzenia reakcji w dichlorometanie z dwoma różnymi aktywatorami. Wyniki opisanych reakcji przedstawiłam w Tabeli 5. Tak jak oczekiwałam w wyniku reakcji lupeolu (**83**) z trichloroacetoimidanem 2,3,4,6-tetra-*O*-acetylo-D-galaktopiranozyli (**85**) w dichlorometanie w obecności $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ jako aktywatora otrzymałam złożoną mieszaninę produktów, z której, za pomocą chromatografii kolumnowej wydzieliłam octan lupeolu (**84**, 29%), nieprzereagowany lupeol (18%), oczekiwaną saponinę **88** (20%) i ortoester **89** (16%). Tę samą reakcję powtórzyłam następnie w obecności TMSOTf jako aktywatora. W tym przypadku jako jedyny produkt otrzymałam octan lupeolu (**84**, 66%).

Ze względu na bardzo słabą rozpuszczalność lupeolu i pochodnych betuliny w acetonitrylu w niskiej temperaturze konieczne było użycie dichlorometanu jako współrozpuszczalnika. Stwierdziłam, że mieszanina dichlorometan-acetonitryl w stosunku objętościowym 3:2 gwarantuje wystarczającą rozpuszczalność lupanów w niskiej temperaturze i wysoką wydajność tworzenia pożądanego glikozydu. Potwierdziłam również, że dużo lepszym aktywatorem w reakcjach glikozydowania za pomocą peracetylowanych donorów Schmidta jest TMSOTf, ponieważ w jego obecności oczekiwaną saponinę **88** otrzymywałam z dobrymi wydajnościami. Natomiast w obecności $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ jako aktywatora konwersja substratu w produkt była bardzo niska (**88**, 6%, nr 4).

Sprawdziłam również, jaki wpływ na przebieg reakcji mają temperatura oraz ilość użytego aktywatora. Prowadząc reakcję glikozydowania lupeolu trichloroacetoimidanem 2,3,4,6-tetra-*O*-acetylo-D-galaktopiranozyli w mieszaninie rozpuszczalników DCM: CH_3CN (3:2), w temperaturze -40°C , jako główne produkty otrzymałam zabezpieczoną saponinę **88** (46%), oraz octan lupeolu (**84**, 21%, nr 5). W temperaturze 0°C wydajność produktów była prawie identyczna (**84**, 21% i **88**, 44%, nr 6). Dla porównania, w mieszaninie dichlorometan-acetonitryl 1:1 (nr 3) odzyskałam duże ilości nieprzereagowanego lupeolu (31%, najprawdopodobniej z powodu słabej rozpuszczalności substratu), a wydajność wymaganego glikozydu **88** była nieco wyższa (56%). Przy użyciu większego nadmiaru donora (1,5 eq), wydajność oczekiwanej saponiny **88** znacznie wzrosła (85%), a ilość octanu lupeolu zmniejszyła się do 10% (nr 7). Reakcje w temperaturze 0°C dały prawie identyczne wyniki (**84**, 13% i **88**, 82%, nr 8).

Tabela 5. Reakcje glikozydowania lupeolu (1).

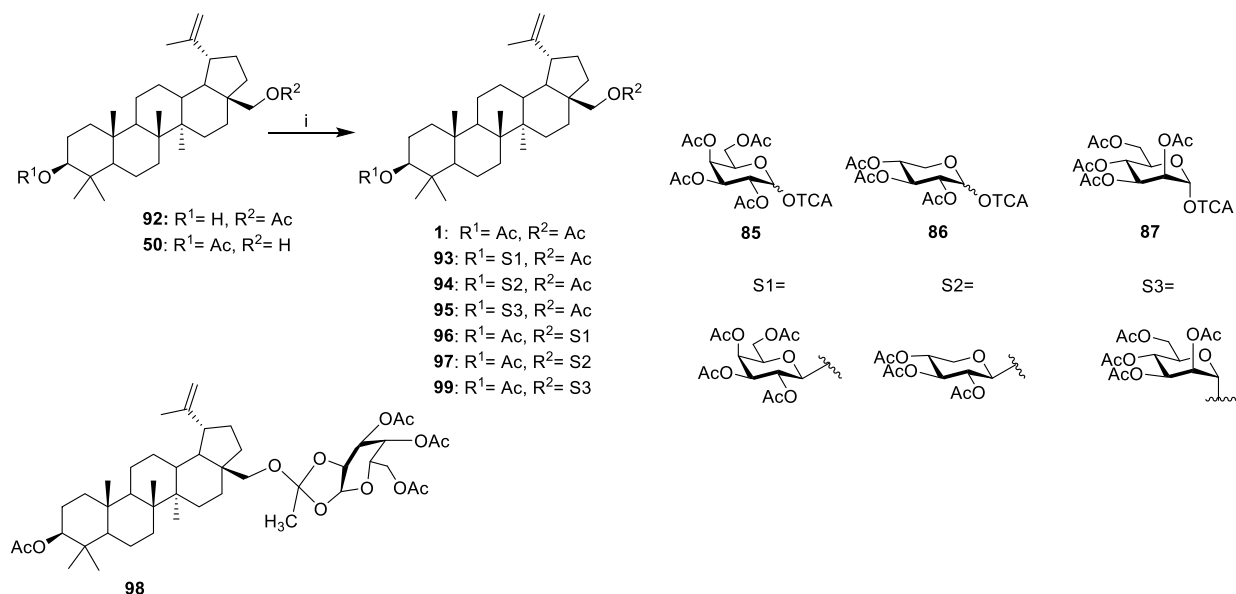
| nr | Akceptor | Donor | Aktywator | Rozpuszczalnik | Temperatura | Lupan | Saponina | Ortoester |
|----|----------|-------------|------------------------------------|----------------|-------------|---------------------|----------|-----------|
| | | | | | (°C) | (%) | (%) | (%) |
| 1 | 83 | 85 (1.1 eq) | BF ₃ ·Et ₂ O | DCM | -40 | 83 (18%) i 84 (29%) | 88 (20%) | 89 (16%) |
| 2 | 83 | 85 (1.1 eq) | TMSOTf | DCM | -40 | 84 (66%) | - | - |
| 3 | 83 | 85 (1.1 eq) | TMSOTf | DCM:MeCN 1:1 | -40 | 83 (31%) i 84 (10%) | 88 (56%) | - |
| 4 | 83 | 85 (1.5 eq) | BF ₃ ·Et ₂ O | DCM:MeCN 1:1 | -40 | 84 (73%) | 88 (6%) | 89 (13%) |
| 5 | 83 | 85 (1.1 eq) | TMSOTf | DCM:MeCN 3:2 | -40 | 84 (21%) | 88 (46%) | - |
| 6 | 83 | 85 (1.1 eq) | TMSOTf | DCM:MeCN 3:2 | 0 | 84 (21%) | 88 (44%) | - |
| 7 | 83 | 85 (1.5 eq) | TMSOTf | DCM:MeCN 3:2 | -40 | 84 (10%) | 88 (85%) | - |
| 8 | 83 | 85 (1.5 eq) | TMSOTf | DCM:MeCN 3:2 | 0 | 84 (13%) | 88 (82%) | - |

Warunki i wydajności reakcji glikozydowania lupeolu z trichloroacetoimidanem 2,3,4-tri-*O*-acetylo-D-ksylopiranozyłu (**86**) oraz trichloroacetoimidanem 2,3,4,6-tetra-*O*-acetylo-D-mannopiranozyłu (**87**) przedstawiłam w Tabeli nr 6. W temperaturze 0 °C (nr 2 i 4), oczekiwaną saponinę **90** otrzymałam z wydajnością 70-74%. W tych warunkach octan lupeolu wydzieliłam z wydajnością 20%. Obniżenie temperatury do -40 °C znacznie zmniejszyło wydajność oczekiwanego produktu **90** (41-53%, nr 1 i 3), a octan lupeolu tworzył się w tym przypadku z wydajnością 32-38%. Zaobserwowałam również, że zwiększenie ilości nadmiaru donora **86** do 1,5 eq (nr 3 i 4) nie ma wpływu na wydajność saponin. Odwrotną reaktywność wykazywała natomiast pochodna mannozy **87**, która była praktycznie niewrażliwa na zmianę temperatury reakcji (nr 5 i 6), natomiast wydajność tworzenia saponin z jej udziałem okazała się zależna w znacznym stopniu od nadmiaru użytego donora (nr 7 i 8). Oczekiwaną saponinę **91** otrzymałam z wydajnością 53-70%, chociaż wydajność octanu lupeolu (**84**), pozostawała stosunkowo wysoka (22-36%, nr 5-8). Nie obserwowałam tworzenia ortoestrów.

Tabela 6. Reakcje glikozydowania lupeolu (1).

| nr | Akceptor | Donor | Aktywator | Rozpuszczalnik | Temperatura (°C) | Lupan (%) | Saponina (%) |
|----|----------|-------------|-----------|----------------|------------------|-----------|--------------|
| 1 | 83 | 86 (1.1 eq) | TMSOTf | DCM:MeCN 3:2 | -40 | 84 (32%) | 90 (41%) |
| 2 | 83 | 86 (1.1 eq) | TMSOTf | DCM:MeCN 3:3 | 0 | 84 (20%) | 90 (70%) |
| 3 | 83 | 86 (1.5 eq) | TMSOTf | DCM:MeCN 3:4 | -40 | 84 (38%) | 90 (53%) |
| 4 | 83 | 86 (1.5 eq) | TMSOTf | DCM:MeCN 3:5 | 0 | 84 (20%) | 90 (74%) |
| 5 | 83 | 87 (1.1 eq) | TMSOTf | DCM:MeCN 3:2 | -40 | 84 (36%) | 91 (53%) |
| 6 | 83 | 87 (1.1 eq) | TMSOTf | DCM:MeCN 3:2 | 0 | 84 (23%) | 91 (62%) |
| 7 | 83 | 87 (1.5 eq) | TMSOTf | DCM:MeCN 3:2 | -40 | 84 (25%) | 91 (69%) |
| 8 | 83 | 87 (1.5 eq) | TMSOTf | DCM:MeCN 3:2 | 0 | 84 (22%) | 91 (70%) |

Najwyższą wydajność oczekiwanych pochodnych lupeolu otrzymałam w obecności 1,5 eq donora **87** w temperaturze 0 °C. Analogiczne warunki prowadzenia reakcji zastosowałam do syntezy pochodnych betuliny (Schemat 55, Tabela 7).



Schemat 55.

W wyniku reakcji 28-*O*-acetylobetuliny (**92**) z pochodnymi galaktopiranozy **85** i ksylopiranozy **86**, otrzymałam z bardzo dobrymi wydajnościami oczekiwane saponiny **93** (86%) i **94** (81%, nr 1 i 2). Nieco niższą wydajność uzyskałam w przypadku pochodnej mannopiranozy **95** (57%, nr 3). Natomiast produkt uboczny reakcji, dioctan betuliny, powstawał w powyższych reakcjach z niską wydajnością (10-15%, Tabela 7).

W wyniku reakcji 3-*O*-acetylo-betuliny **50** z pochodną galaktopiranozy **85** (nr 4 i 5), w standardowych warunkach (DCM:MeCN 3:2, TMSOTf, temp. 0 °C i -40 °C) otrzymałam jako główny produkt ortoester **98** (38-45%), podczas gdy spodziewany glikozyd wydzieliłam z niską wydajnością (20-29%). Jako produkt uboczny tej reakcji powstał również dioctan betuliny (**1**, 23-25%). Aby zapobiec tworzeniu się niepożądanego ortoestru **98**, zastosowałam stechiometryczne ilości TMSOTf. W tym przypadku otrzymałam glikozyd **96** z umiarkowaną wydajnością (54%, nr 6). Dioctan betuliny również tworzył się w znacznych ilościach (38%). Podobne wyniki uzyskałam w przypadku pochodnej ksylozy **86**. Reakcja donoru Schmidta **86** z octanem betuliny **50** dawała glikozyd **97** z umiarkowaną wydajnością (52%). Niestety, w wyniku analogicznej reakcji z donorem mannozy **87** jako jedyny produkt otrzymałam dioctan betuliny (**1**, 75%, nr 8).

Tabela 7. Reakcje glikozydowania monoocetanu betuliny **50** i **92**.

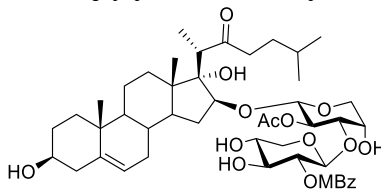
| nr | Akceptor | Donor | Aktywator | Rozpuszczalnik | Temperatura (°C) | Lupan (%) | Saponina (%) | Ortoester (%) |
|----|-----------|--------------------|---------------|----------------|------------------|----------------|-----------------|-----------------|
| 1 | 92 | 85 (1.1 eq) | TMSOTf | DCM:MeCN 3:2 | 0 | 1 (10%) | 93 (86%) | |
| 2 | 92 | 86 (1.1 eq) | TMSOTf | DCM:MeCN 3:2 | 0 | 1 (13%) | 94 (81%) | |
| 3 | 92 | 87 (1.5 eq) | TMSOTf | DCM:MeCN 3:2 | 0 | 1 (15%) | 95 (57%) | |
| 4 | 50 | 85 (1.5 eq) | TMSOTf | DCM:MeCN 3:2 | -40 | 1 (25%) | 96 (20%) | 98 (45%) |
| 5 | 50 | 85 (1.5 eq) | TMSOTf | DCM:MeCN 3:2 | 0 | 1 (23%) | 96 (29%) | 98 (38%) |
| 6 | 50 | 85 (1.5 eq) | TMSOTf (1 eq) | DCM:MeCN 3:2 | 0 | 1 (38%) | 96 (54%) | |
| 7 | 50 | 86 (1.5 eq) | TMSOTf (1 eq) | DCM:MeCN 3:2 | 0 | 1 (44%) | 97 (52%) | |
| 8 | 50 | 87 (1.5 eq) | TMSOTf (1 eq) | DCM:MeCN 3:2 | 0 | 1 (75%) | | |

Zgodnie z oczekiwaniem, obecność grupy acetylowej w pozycji 2 donoru decyduje o stereoselektywności reakcji glikozydowania. We wszystkich przypadkach otrzymałam

glikozydy 1,2-*trans* jako jedyne produkty glikozydowania, co zostało potwierdzone przez wartości stałych sprzężenia 3J w widmach 1H NMR. Strukturę ortoestrów **89** i **98** potwierdziłam za pomocą spektroskopii NMR. W widmach ^{13}C NMR widoczne są charakterystyczne sygnały pochodzące od czwartorzędowych atomów węgla pierścienia dioksolanu znajdujących się w zakresie: 121,5-122,3 ppm. W widmie 1H NMR również znajdują się charakterystyczne sygnały grup metylowych przy 1,68-1,71 ppm, co ostatecznie potwierdziło strukturę ortoestru dla obu związków.

Podsumowując tę część moich badań mogę stwierdzić, że opracowałam prostą i skuteczną metodę syntezy saponin lupanowych z acetylowanych donorów Schmidta i triterpenów lupanowych. Dane eksperymentalne pokazują, że acetonitryl odgrywa kluczową rolę w tworzeniu glikozydów lupanowych. Chociaż nadal obserwowałam migrację grupy acetylowej i tworzenie acetylowanych lupanów, wydajność oczekiwanych saponin była zwykle dobra. Biorąc pod uwagę komercyjną dostępność i niski koszt peracetylowanych cukrów, metodę tę można uznać za wyjątkowo konkurencyjną w stosunku do istniejących procedur, w których stosuje się perbenzoilowane donory. Może ona być z powodzeniem stosowana do syntezy prostych pochodnych betuliny zawierających resztę monocukrów.

2.3.2 Synteza saponin zawierających disacharyd OSW-1.

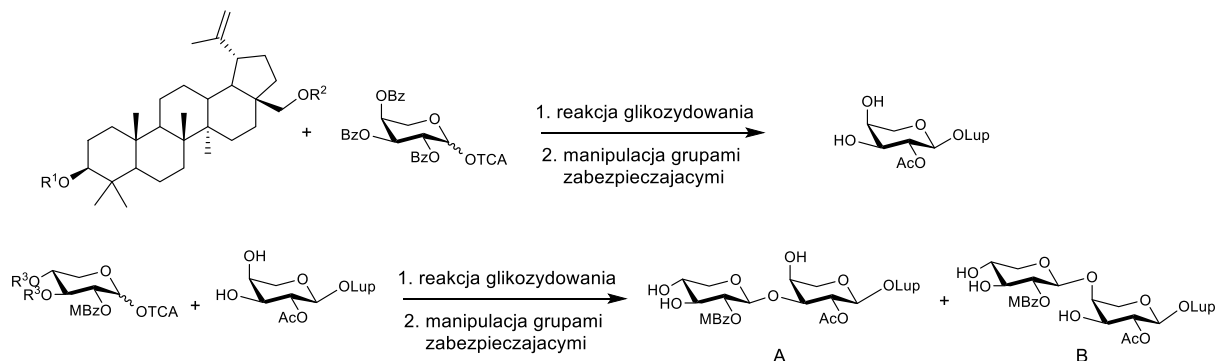


Rysunek 7 Saponina OSW-1.

Nasze zainteresowanie wzbudziła synteza saponin zawierających tzw. disacharyd OSW-1, który jest zbudowany z D-ksylopiranozy połączonej wiązaniem 1→3 glikozydowym z L-arbinopiranozą. Przykładem wysoce aktywnej saponiny zawierającej taki łańcuch cukrowy jest saponina OSW-1 (Rys. 7). Związek ten wykazuje wyjątkowo wysoką cytotoksyczność wobec linii komórek nowotworowych w stężeniu nanomolowym ($IC_{50} = 0,1-0,7$ nM). Wykazuje więc działanie około 10-100 razy silniejsze niż stosowane klinicznie leki przeciwnowotworowe.¹¹³ Struktura, aktywność biologiczna, synteza chemiczna i modyfikacje saponiny OSW-1 i jej pochodnych zostały ostatnio szczegółowo zbadane i opisane w literaturze.¹¹⁴ Badania SAR wykazały, że część cukrowa odgrywa istotną rolę w cytotoksyczności tego związku, a usunięcie grupy acetylowej (Ac) lub grupy 4-metoksybenzoilowej (MBz) znajdujących się w ugrupowaniu disacharydowym skutkuje drastycznym spadkiem aktywności.¹¹⁵ Z drugiej strony aglikonowa część toleruje pewne modyfikacje bez znaczącej utraty aktywności. Zasadnym było pytanie, czy wprowadzenie disacharydu OSW-1 do cząsteczki lupanów pozwoli na otrzymanie wysoce aktywnych saponin. Podjęłam się więc syntezy pochodnych zawierających ten disacharyd oraz jego nieznanymi analogów konfiguracyjnych.

Znane metody syntezy saponiny OSW-1 polegają na przyłączeniu reszty disacharydu do cząsteczki sterydu w reakcji glikozydowania. Podjęłam próbę zastosowania tej procedury do syntezy pochodnych lupanowych. Zgodnie z oczekiwaniami, w obecności grupy acetylowej w pozycji 2-*O* cukru, reakcja glikozydowania pomiędzy odpowiednio zabezpieczonym disacharydem OSW-1 i pochodnymi lupanów nie powiodła się. Podczas reakcji glikozydowania lupanów z acetylowanymi donorami następuje migracja grupy acetylowej i jest ona praktycznie jedynym obserwowanym procesem. Opisana w poprzednim rozdziale

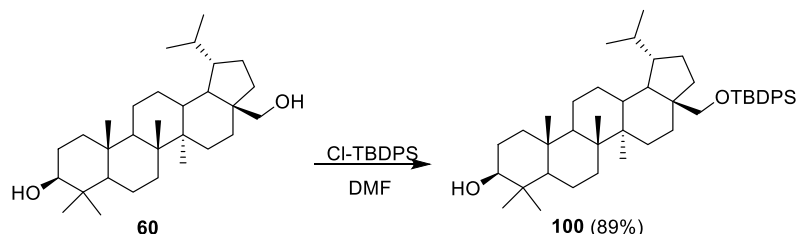
metodologia, która pozwoliła na zastosowanie acetylowanych donorów w reakcji glikozydowania betuliny, w tym przypadku okazała się nieskuteczna.¹¹⁶



Schemat 56.

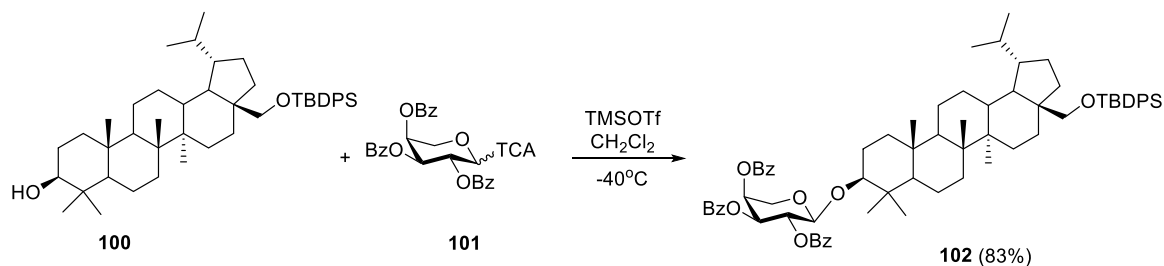
Opisane powyżej problemy wymusiły zastosowanie metodologii, w której ugrupowanie disacharydowe budowane jest na szkielecie betuliny stopniowo (taktyka liniowa). Aby uniknąć migracji grupy acetylowej, zastosowałam perbenzoilowane donory Schmidta. Pierwszym etapem było glikozydowanie pochodnej betuliny perbenzoilowanym donorem L-arabinozy (Schemat 56). Następnie, przez manipulację grupami zabezpieczającymi wprowadziłam resztę D-ksylozy w kolejnej reakcji glikozydowania. Ze względu na obecność ugrupowania diolu powstają disacharydy połączone wiązaniem 1→3 i 1→4 glikozydowym o konfiguracji 1,2-*trans*. W pełni świadomie zdecydowałam się na wybór diolu jako substratu w syntezie disacharydów. Pozwoliło mi to na otrzymanie w jednym etapie zarówno produktu z występującym w przyrodzie wiązaniem glikozydowym 1→3, jak i na otrzymanie pochodnych z wiązaniem typu 1→4. W efekcie, możliwe było rozszerzenie badań biologicznych i zbadanie aktywności regioizomerów disacharydu OSW-1.

2.3.2.1 Synteza saponin zawierających disacharyd OSW-1 w pozycji C-3



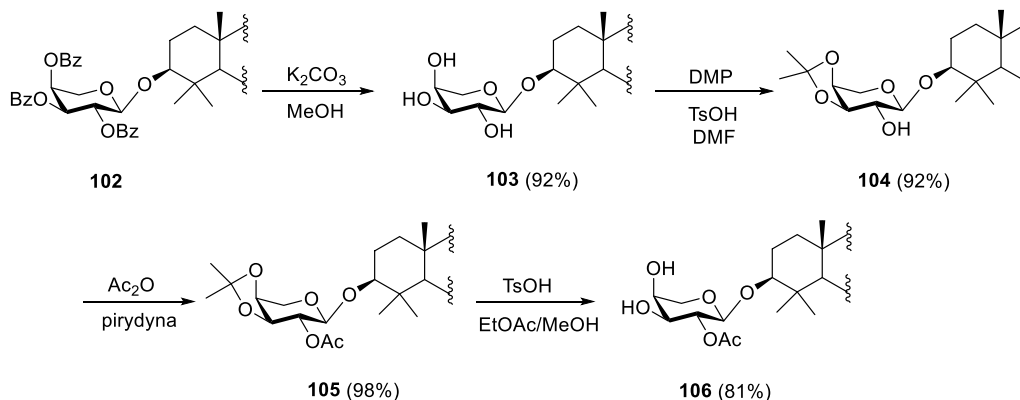
Schemat 57.

Ze względu na kompatybilność grup zabezpieczających w dalszych etapach syntezy postanowiłam zabezpieczyć grupę hydroksylową w pozycji C-28 grupą *tert*-butylo-difenylosililową. W wyniku reakcji z Cl-TBDPS w obecności imidazolu w DMF otrzymałam selektywnie zabezpieczoną pochodną betuliny (**100**, 89%, Schemat 57).¹¹⁷

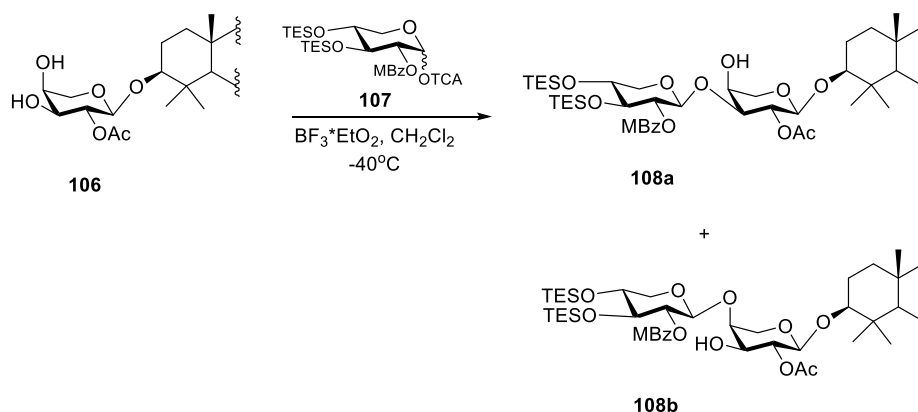


Schemat 58.

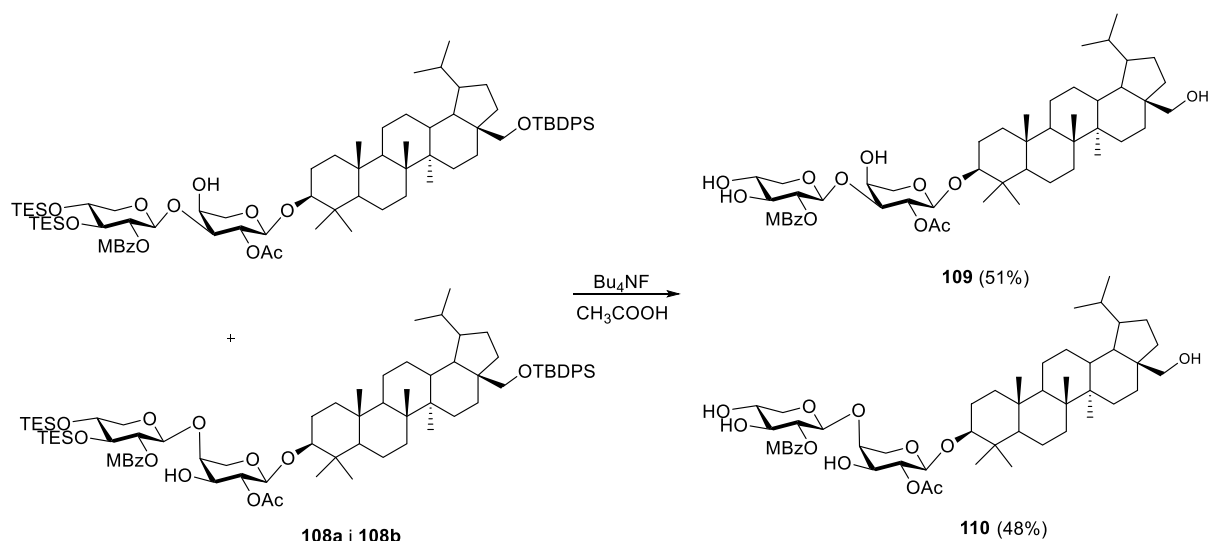
Tak przygotowany aglikon **100** poddałam reakcji glikozydowania z trichloroacetoimidanem L-arabinopiranozyli **101**. Reakcję prowadziłam w obecności katalitycznej ilości TMSOTf w CH_2Cl_2 w temperaturze -40°C . Jako jedyny produkt otrzymałam związek **102** zawierający wiązanie 1,2-*trans* glikozydowe (83%, Schemat 58).



Wprowadzenie grupy acetylowej w pozycję C-2 cukru wymagało przeprowadzenia szeregu przekształceń. W wyniku reakcji związku **102** z węglanem potasu w metanolu, otrzymałam wolną saponinę (**103**, 92%). Następnie grupy hydroksylowe w pozycji C3' i C-4' zabezpieczyłam w reakcji z dimetoksypropanem (DMP) w obecności kwasu p-toluenosulfonowego. Oczekiwany produkt **104** otrzymałam z wydajnością (92%). Jego acetylowanie w standardowych warunkach (Ac_2O , Py), dało związek **105** z bardzo dobrą wydajnością (98%). Grupę acetalową usunęłam w reakcji z katalityczną ilością kwasu p-toluenosulfonowego w mieszaninie rozpuszczalników EtOH/MeOH. Pożądany glikozyd **106** otrzymałam z bardzo dobrą wydajnością (81%, Schemat 59).



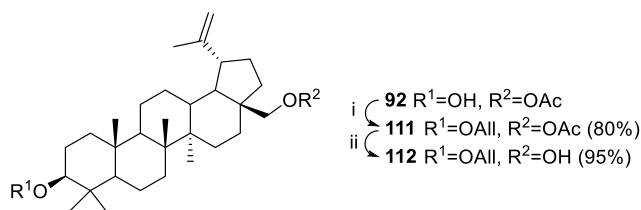
Selektywne zabezpieczenie grupy hydroksylowej w pozycji C-4 reszty cukrowej jest praktycznie niemożliwe. W reakcji glikozydowania z kolejną cząsteczką sacharydu postanowiłam więc użyć otrzymany powyżej diol. Związek **106** poddałam reakcji glikozydowania z trichloroacetoimidanem D-ksylopiranozyli **107**. Reakcję prowadziłam w obecności katalitycznej ilości $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ w CH_2Cl_2 . Zgodnie z oczekiwaniami, otrzymałam mieszaninę dwóch disacharydów (**108a** i **108b**, 61%), którą użyłam w kolejnym etapie bez oczyszczania (Schemat 60).



W celu jednoczesnego usunięcia grup trietylosililowych z części cukrowej oraz grupy tert-butyldifenylsililowej z pozycji O-28 mieszaninę **108** poddałam reakcji z fluorkiem tertabutyloamoniowym w obecności kwasu octowego. Zgodnie z oczekiwaniami, z mieszaniny preakcyjnej wydzieliłam dwie wolne saponiny: pierwszą połączoną wiązaniem glikozydowym 1→3 (**109**, 51%) i drugą połączoną wiązaniem glikozydowym 1→4 (**110**, 48%).

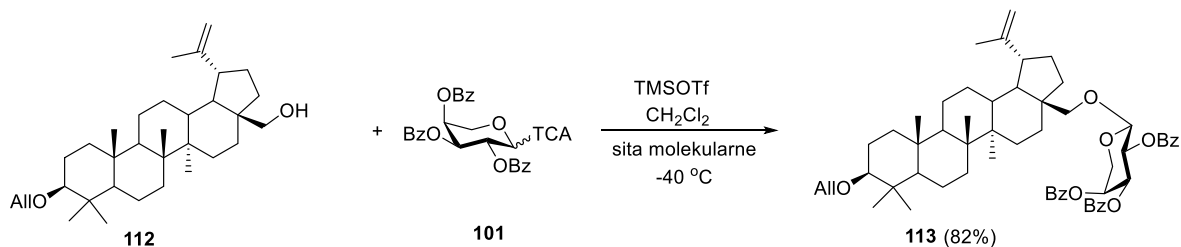
W naszym zespole zostały również otrzymane analogiczne saponiny z resztą OSW-1 przyłączoną w pozycji C-3, zawierające w łańcuchu bocznym szkieletu betuliny wiązanie podwójne C20(29).¹¹⁶

2.3.2.2 Synteza saponin zawierających disacharyd OSW-1 w pozycji C-28.



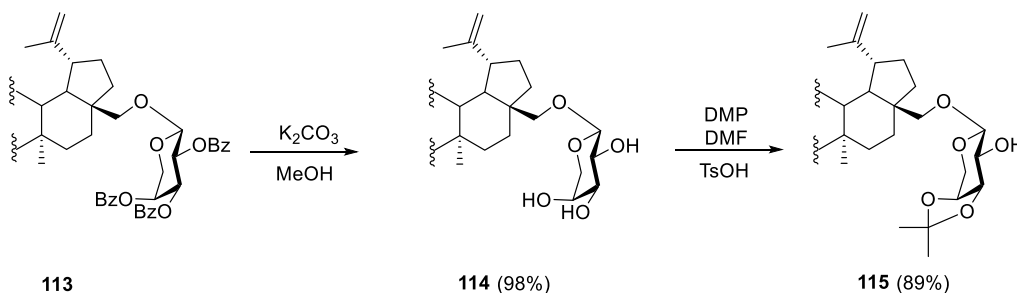
Metodologię opisaną powyżej zastosowałam również do syntezy saponin zawierających disacharyd OSW-1 w pozycji C-28. W pierwszym etapie przygotowałam selektywnie zabezpieczony aglikon **112**.¹¹⁸ W wyniku reakcji monoocetanu betuliny **92** z trichloroacetoimidanem allilu otrzymałam związek **111** posiadający grupę allilową w pozycji C-3. Następnie, w wyniku hydrolizy grupy acetylowej za pomocą KOH w etanolu otrzymałam pochodną **112** z bardzo dobrą wydajnością (95%, Schemat 62).

Saponiny z resztą L-arabinopiranozy.



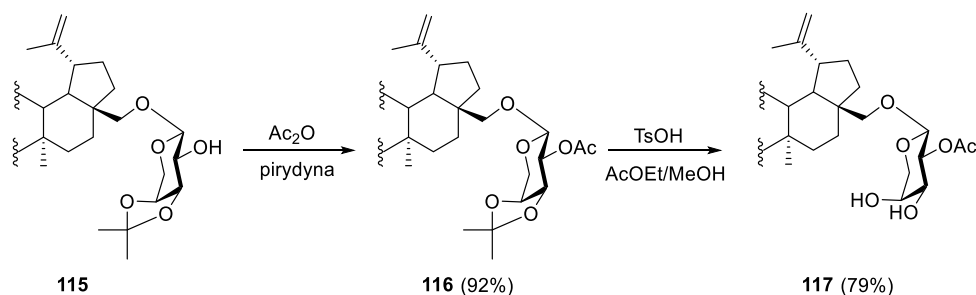
Schemat 63.

Selektywnie zabezpieczoną betulinę **112** poddałam reakcji glikozydowania perbenzoilowanym trichloroacetimidanem L-arabinozy (**101**) w obecności TMSOTf w CH₂Cl₂. Otrzymałam z dobrą wydajnością glikozyd **113** (82%, Schemat 63).



Schemat 64.

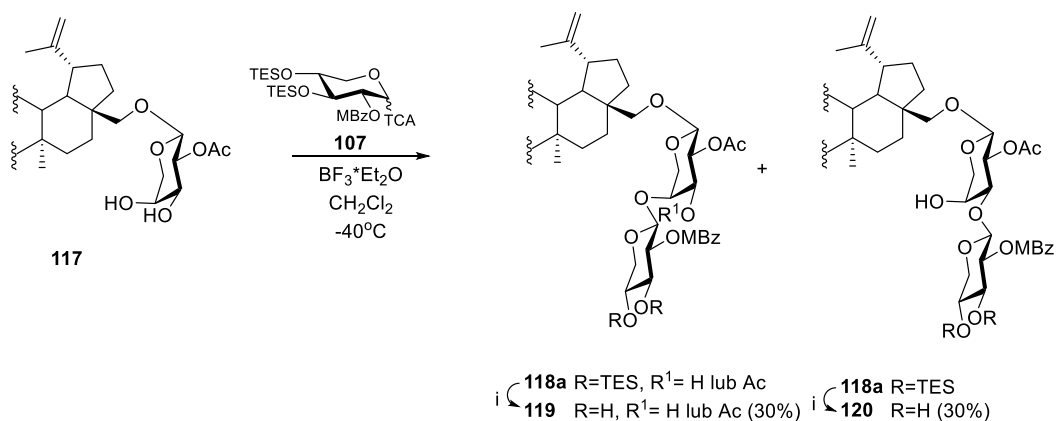
Grupę acetylową wprowadziłam w pozycję O-2 stosując metodologię opisaną powyżej dla związku **106**. W wyniku deestryfikacji saponiny **113** węglanem potasu w metanolu otrzymałam związek **114** (98%). Wolne grupy hydroksylowe w pozycji C3' i C-4' zabezpieczyłam za pomocą reakcji z dimetoksypropanem (DMP) w obecności kwasu p-toluenosulfonowego otrzymując oczekiwany produkt **115** z wydajnością 89% (Schemat 64).



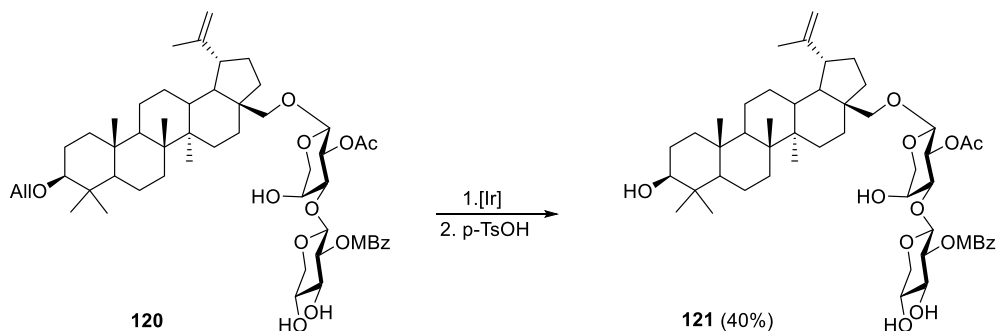
Schemat 65.

Wolną grupę hydroksylową w pozycji C-2' poddałam reakcji acetylowania za pomocą bezwodnika octowego w pirydynie (**116**, 92%). W wyniku hydrolizy reszty acetalowej katalizowanej kwasem p-toluenosulfonowym w mieszaninie AcOEt/MeOH otrzymałam arabinozyd **117** (79%, Schemat 65).

Saponiny z resztą D-ksylopiranozylo-L-arabinopiranozydu

Schemat 66. (i) CSA, MeOH, CH₂Cl₂

Otrzymany powyżej arabinozyd **117** poddałam reakcji glikozydowania trichloroacetoimidanem D-ksylozy **107** w obecności BF₃·Et₂O w dichlorometanie. Zgodnie z oczekiwaniami powstała mieszanina produktów **118** z wydajnością 71%. Po usunięciu grup trietylosililowych (TES) za pomocą kwasu kamforosulfonowego w mieszaninie rozpuszczalników MeOH/CH₂Cl₂ i rozdziłu produktów za pomocą chromatografii kolumnowej otrzymałam dwie frakcje. Pierwsza frakcja (**119**, 30%) zawierała mieszaninę 1→4 połączonych disacharydów: acetylowanego w pozycji O-3 arabinopiranozy oraz oczekiwany produkt z wolną grupą hydroksylową w pozycji O-3 arabinopiranozy. Pochodna z grupą acetylową w pozycji O-3 powstaje prawdopodobnie przez migrację grupy acetylowej z pozycji O-2 w trakcie reakcji. Drugą frakcję stanowił 1 → 3 połączony disacharyd **120** (30%, Schemat 66).

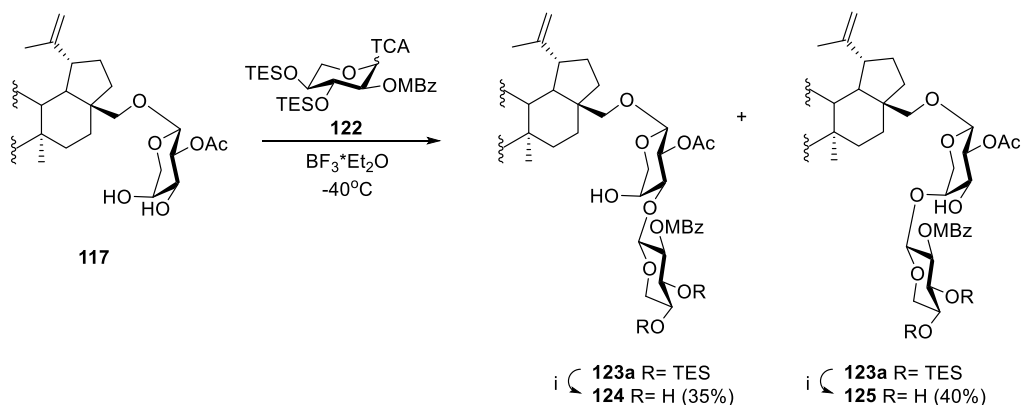


Schemat 67.

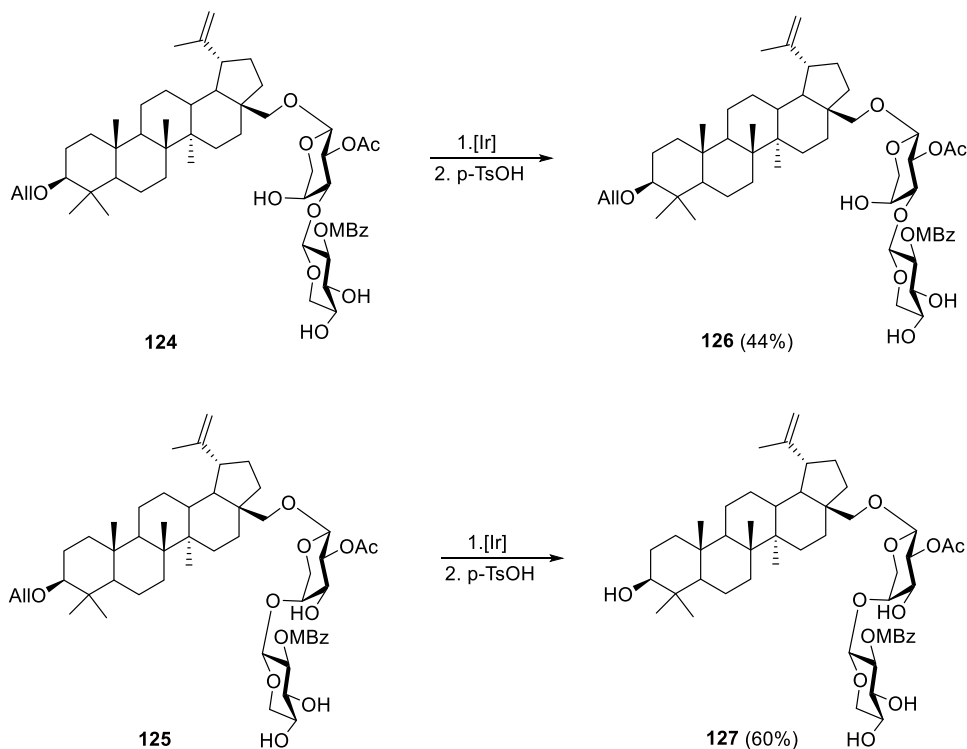
Ostatnim etapem syntezy saponiny z resztą β-D-ksylopiranozylo-(1→3)-2-O-acetylo-α-L-arabinopiranozydu było usunięcie zabezpieczającej grupy allilowej z pozycji C-3. Reakcję przeprowadziłam dwuetapowo. W pierwszym etapie, w wyniku reakcji z aktywowanym wodorem kompleksem irydowym ([Ir(COD)(MePPh₂)₂]PF₆) następuje izomeryzacja wiązania podwójnego do układu winylowego, który w obecności kwasu p-toluenosulfonowego hydrolizuje dając oczekiwany produkt **121** (40%, Schemat 67).

Do tej pory nie była badana aktywność analogów konfiguracyjnych disacharydu OSW-1, dlatego postanowiłam przeprowadzić również syntezę pochodnych zawierających disacharyd zbudowany z par L-arabinoza-L-ksyloza, D-arabinoza-D-ksyloza oraz D-arabinoza-L-ksyloza. Do ich syntezy wykorzystałam opisaną powyżej metodologię.

Saponiny z resztą L-arabinopiranozylo-L-ksylopiranozydu

Schemat 68. (i) CSA, MeOH, CH₂Cl₂.

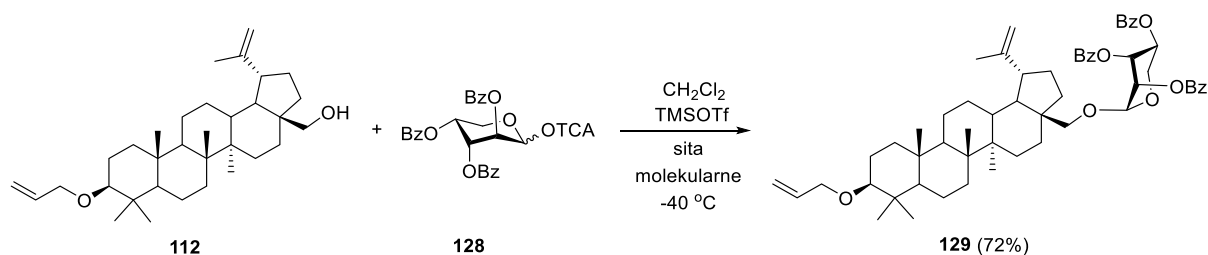
Saponinę **117** z resztą L-arabinozy poddałam reakcji glikozydowania trichloroacetoimidanem L-ksylozy w obecności BF₃·Et₂O. Analogicznie do poprzednio omawianej syntezy otrzymałam mieszaninę produktów, którą poddałam reakcji hydrolizy grup trietylosililowych (TES) za pomocą kwasu kamforosulfonowego w mieszaninie rozpuszczalników MeOH/CH₂Cl₂. Mieszaninę produktów rozdzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej. Otrzymałam połączony wiązaniem 1→3 glikozydowym disacharyd (**124**, 35%) i połączony wiązaniem 1→4 glikozydowym disacharyd (**125**, 40%, Schemat 68). Również w tym przypadku w niewielkim nadmiarze tworzył się disacharyd typu 1→4.



Schemat 69.

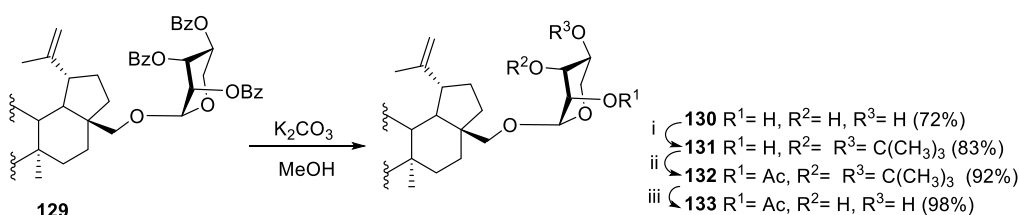
Grupę allilową usunęłam przez jej izomeryzację w obecności kompleksu irydu i hydrolizę wobec kwasu p-toluenosulfonowego (**126** – 44%, **127** – 60%, Schemat 69).

Saponiny z resztą D-arabinopiranozy

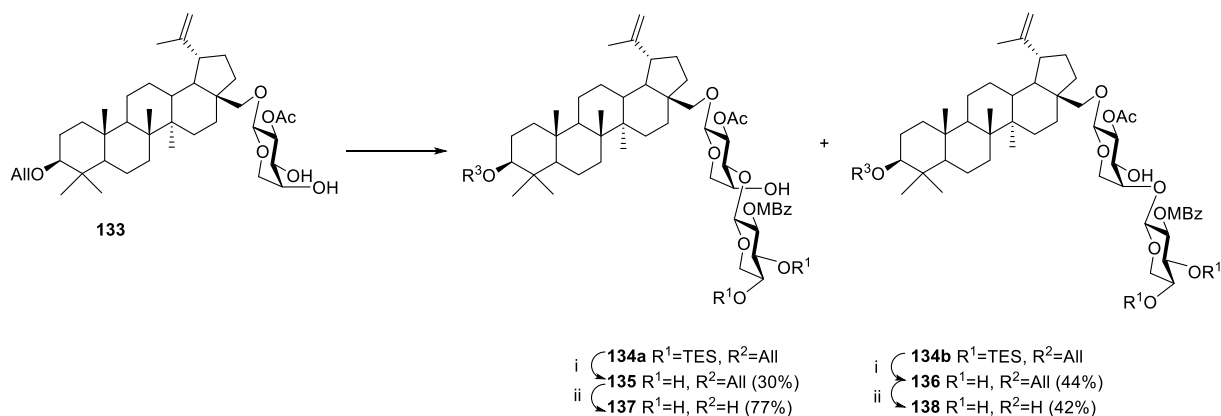


Schemat 70.

Syntezę pochodnych zawierających resztę D-arabinopiranozy rozpoczęłam od reakcji glikozydowania **112** donorem **128** w obecności katalitycznej ilości TMSOTf , w wyniku której z dobrą wydajnością otrzymałam oczekiwany produkt z wiązaniem glikozydowym 1,2 *trans*- (**129**, 72%, Schemat 70).

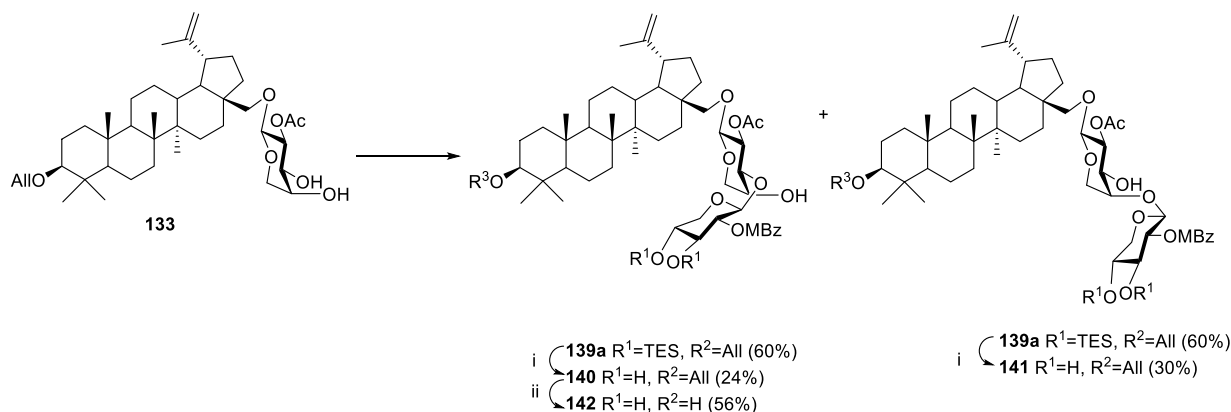
Schemat 71. (i) DMF, dimetoksypropan, *p*-TsOH; (ii) Ac_2O , Py; (iii) *p*-TsOH, metanol, octan etylu.

Niezbędny w dalszej syntezie mono-octan **133** otrzymałam analogicznie do syntezы pochodnej **117**. Perbenzoylowaną pochodną **129** poddałam reakcji hydrolizy w obecności węgla potasu w metanolu (**130**, 72%). Kolejno zabezpieczyłam grupy hydroksylowe w pozycji C-3' i C-4' w reakcji z DMP (**131**, 83%). Wolną grupę hydroksylową w pozycji C-2' poddałam reakcji acetylowania z bezwodnikiem octowym w pirydynie (**132**, 92%), a następnie usunęłam zabezpieczenie acetalowe za pomocą *p*-TsOH w mieszaninie MeOH/EtOAc . Oczekiwaną saponinę z resztą acetylową w pozycji C-2' D-arabinozy **133** otrzymałam z bardzo dobrą wydajnością (98%, Schemat 71).

Schemat 72. (i) CSA, $\text{MeOH/CH}_2\text{Cl}_2$; (ii) $[\text{Ir}(\text{COD})(\text{MePPh}_2)_2]\text{PF}_6$, TsOH.

W kolejnym etapie, w wyniku reakcji glikozydowania donorem L-ksylozy powstała mieszanina **134** (74%), którą następnie poddałam reakcji hydrolizy grup tietylosililowych. Mieszaninę poreakcyjną rozdzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej, otrzymując związek **135** (30%) połączony wiązaniem 1→3 glikozydowym oraz **136** (44%) połączony

wiązaniem 1→4. Jest to kolejny przykład reakcji glikozydowania w wyniku której w przewodzie powstaje związek połączony wiązaniem 1→4 glikozydowym (Schemat 72).

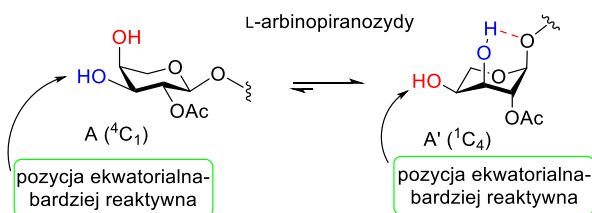


Schemat 73. (i) CSA, MeOH/CH₂Cl₂; (ii) [Ir(COD)(MePPh₂)₂]PF₆, TsOH.

Wolne saponiny zawierające izomer disacharydu OSW-1 zbudowany z D-ksylozy-D-arabinozy otrzymałam w wyniku analogicznych przemian, jakie opisałam powyżej dla saponin z resztą L-ksylozy-D-arabinozy. Wyniki i warunki reakcji przedstawia Schemat 73.

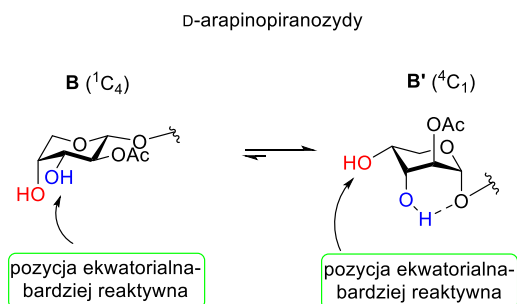
2.3.3 Wpływ wiązania wodorowego na regioselektywność reakcji glikozydowania.

Powszechnie uważa się, że grupy hydroksylowe w piranozach w pozycjach ekwatorialnych są bardziej reaktywne niż te zorientowane aksjalnie. Jednak w większości badanych przeze mnie przypadków, w wyniku przyłączenia drugiej cząsteczki cukru w reakcji glikozydowania diolu, otrzymywałam w przewodzie produkty połączone 1→4, a więc produkty reakcji z grupą hydroksylową w pozycji formalnie aksjalnej. Wyniki te są zgodne z innymi wynikami otrzymanymi wcześniej w naszym zespole, które wyraźnie pokazały, że regioselektywność reakcji glikozydowania 3,4-dioli zależy od konfiguracji na centrum anomerycznym akceptora.¹¹⁹ Akceptory posiadające aksjalnie zorientowany podstawnik w pozycji anomerycznej preferują tworzenie regioizomerów połączonych 1→3, podczas gdy ekwatorialnie zorientowana część aglikonowa, prowadzi do otrzymaniem w niewielkiej przewodzie regioizomerów typu 1→4. Odwrócona selektywność niektórych pochodnych L-arabinopiranozydu została opisana w literaturze¹²⁰ i wyjaśniano ją przez wpływ dużego podstawnika w pozycji O-2 lub inwersję pierścienia piranozydu, który przyjmuje nietypową konformację ¹C₄. W wyniku zmiany konformacji grupa hydroksylowa przy węglu C-4 zajmuje bardziej reaktywną pozycję ekwatorialną. Proces inwersji został potwierdzony danymi spektroskopii NMR. Inwersja pierścienia i jej konsekwencje zostały omówione, jednak pochodzenie tego zjawiska nie zostało jak do tej pory wyjaśnione. Interesującym jest fakt, że taka fleksyjność pierścienia była obserwowana tylko dla odpowiednich 3,4-dioli a pierścień piranozowy powraca do oczekiwanej konformacji ⁴C₁ po zakończeniu reakcji glikozydowania lub zabezpieczeniu grup hydroksylowych.



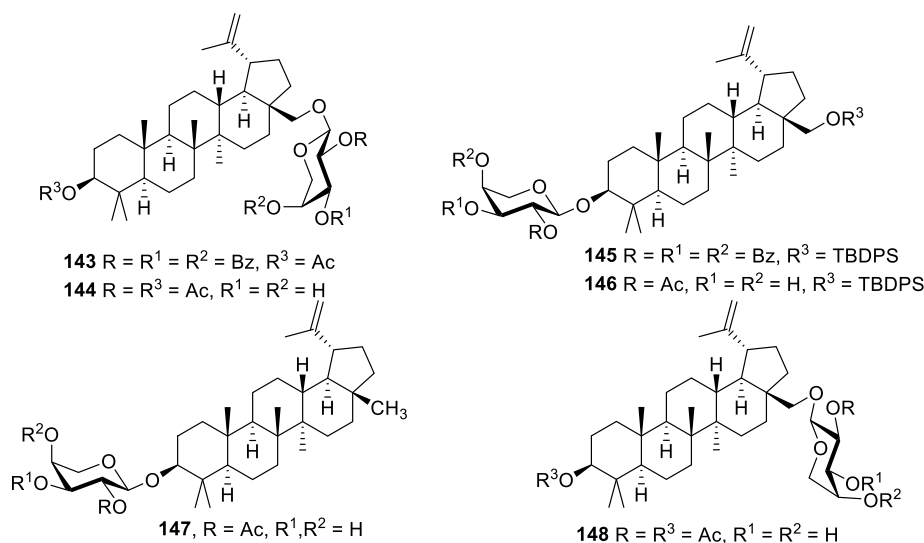
Rysunek 8.

Przypuszczałam, że w przypadku pierścienia α -L-arabinopiranozydu A (4C_1) inwersja pierścienia do konformeru A' (konformacja 1C_4) jest silnie wspierana przez tworzenie wiązania wodorowego między grupą hydroksylową w pozycji C-3 i anomerycznym atomem tlenu i jest dodatkowo wzmocniana przez efekt anomeryczny. Liczne, przeprowadzone w naszym zespole syntezy pochodnych betuliny oraz wyniki badań spektroskopii NMR (Tabela 8) potwierdziły powyższą tezę. Stałe sprzężenia zmierzone w roztworze $CDCl_3$ dla dioli **117**, **144**, **146** i **147** $J_{1,2} = 2.0 - 3.9$ Hz i ${}^1J_{C1,H1} = 165.5 - 166.9$ Hz - wskazują na ekwatorialną pozycję anomerycznego atomu wodoru i preferencję dla konformeru A' (Rys. 8).



Rysunek 9.

Podobny efekt zaobserwowałam dla α -D-arabinopiranozydu **B** (1C_4), który ulega inwersji do konformacji **B'** (4C_1). Inwersję pierścienia potwierdziły stałe sprzężenia zmierzone w roztworze $CDCl_3$ dla związku **148** $J_{1,2} = 3.5$ Hz i ${}^1J_{C1,H1} = 166.9$ Hz oraz związku **133** $J_{1,2} = 3.7$ Hz i ${}^1J_{C1,H1} = 166.9$ Hz. Zmianę konformacji pierścienia obserwowaliśmy tylko dla odpowiednich 3,4-dioli, w przypadku zabezpieczonych pochodnych **143**, **145** zmierzone stałe sprzężenia ($J_{1,2} = 6.2 - 6.4$ Hz i ${}^1J_{C1,H1} = 159.0 - 159.9$ Hz) pozostają w oczekiwanym zakresie dla konformeru A (lub B). Dodanie metanolu do roztworu **144**, **147**, który rozbija wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe, znacząco zmieniło stałe sprzężenia, dając $J_{1,2} = 7.5$ Hz i ${}^1J_{C1,H1} = 157.8-160.7$ Hz. Takie wartości są charakterystyczne dla aksjalnie zorientowanego anomerycznego atomu wodoru i odpowiadają konformerom A i B. Zaprezentowane dane wyraźnie potwierdzają udział wiązania wodorowego w stabilizacji konformerów A' i B' w aprotonowych rozpuszczalnikach i powrót do konformacji A (lub B) poprzez zerwanie wiązania wodorowego w obecności metanolu (Tabela 8, Rysunek 8 i 9).



Schemat 74. Związki wykorzystane w badaniach wpływu wiązania wodorowego na regioselektywność reakcji glikozydowania.

Tabela 8. Wybrane stałe sprzężenia $J_{1,2}$ i $^1J_{C1,H1}$ dla protonów anomerycznych.

| Arabinozyd | Rozpuszczalnik | Atom | 1H [ppm] | $J_{1,2}$ [Hz] | Atom | ^{13}C [ppm] | $^1J_{C1-H1}$ [Hz] |
|------------|--------------------|------|-------------|----------------|------|----------------|--------------------|
| 117 | CDCl ₃ | H-1 | 4.55 | 3.7 | C-1 | 99.0 | 166.9 |
| 117 | CD ₃ OD | H-1 | 4.30 | 7.5 | C-1 | 103.2 | 159.0 |
| 133 | CDCl ₃ | H-1 | 4.55 | 3.7 | C-1 | 99.0 | 166.9 |
| 143 | CDCl ₃ | H-1 | 4.70 | 6.2 | C-1 | 101.6 | 159.9 |
| 144 | CDCl ₃ | H-1 | 4.55 | 3.7 | C-1 | 99.0 | 166.9 |
| 144 | CD ₃ OD | H-1 | 4.32 | 7.5 | C-1 | 102.1 | 160.5 |
| 145 | CDCl ₃ | H-1 | 4.77 | 6.4 | C-1 | 103.0 | 159.0 |
| 146 | CDCl ₃ | H-1 | 4.59 | 2.0 | C-1 | 100.7 | 165.5 |
| 147 | CDCl ₃ | H-1 | 4.63 | 3.9 | C-1 | 100.7 | 166.6 |
| 147 | CD ₃ OD | H-1 | 4.37 | 7.5 | C-1 | 103.4 | 160.7 |
| 148 | CDCl ₃ | H-1 | 4.55 | 3.5 | C-1 | 99.0 | 166.7 |
| 148 | CD ₃ OD | H-1 | 4.32 | 7.3 | C-1 | 103.2 | 160.5 |

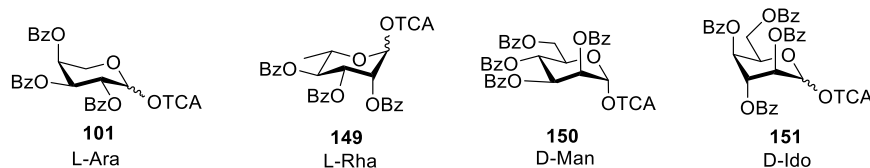
Z danych literaturowych wynika, że wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe zwiększają reaktywność grupy hydroksylowej w reakcji glikozydowania. Powyższe wyniki pokazują, że względna pozycja grupy hydroksylowej ma znacznie większy wpływ na reaktywność niż wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe. Nie w każdym przypadku obserwowaliśmy preferencję do tworzenia w przewodzie związków 1→4, a gdy występowała, miała tylko delikatną przewagę nad tworzeniem związków z połączeniem 1→3, co pozwala wnioskować, że grupa hydroksylowa w pozycji ekwatorialnej jest nadal bardziej reaktywna niż grupa hydroksylowa zaangażowana w wiązanie wodorowe.

Podsumowując tę część badań dotyczących syntezy saponin zawierających resztę disacharydu OSW-1, z powodzeniem otrzymałam oczekiwane saponiny zawierające ten disacharyd w pozycji C-3 lub C-28 szkieletu betuliny. Przeprowadziłam również syntezę jego analogów zbudowanych z L-arabinozy-L-ksylozy, D-arabinozy-D-ksylozy oraz D-arabinozy-L-ksylozy. Pochodne te otrzymałam w wyniku reakcji glikozydowania odpowiednio zabezpieczonych arabinopiranozydów, podczas której zaobserwowałam nieoczekiwaną preferencję do tworzenia w przewodzie regioizomerów połączonych wiązaniem glikozydowym 1→4. Przedstawiłam wiarygodny mechanizm oparty na badaniach NMR wyjaśniających taką regioselektywność. Badania te potwierdziły niezwyklej fleksyjność pierścienia i zmianę konformacji pierścieni cukrowych dla niektórych arabinopiranozydów wywołaną przez tworzenie wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych. Zaobserwowana inwersja pierścienia niewątpliwie wpływa na względną reaktywność grup hydroksylowych i w rezultacie na regioselektywność reakcji glikozydowania diolu.

2.3.4 Synteza saponin zawierających czteropierścieniowy aglikon

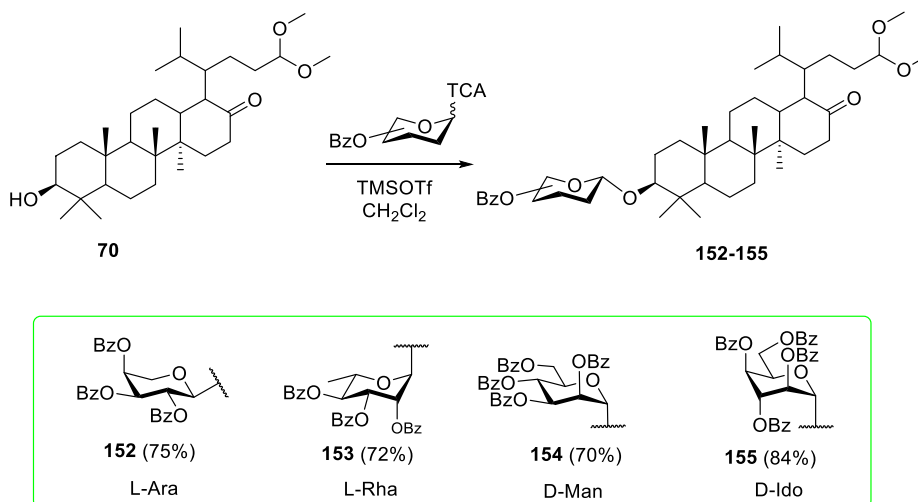
Związki czteropierścieniowe, które otrzymałam w wyniku degradacji pierścienia E pochodnych betuliny są ciekawymi materiałami wyjściowymi w syntezie nowej grupy saponin. W porównaniu z pięciopierścieniowymi triterpenami związki te powinny wykazywać lepszą rozpuszczalność w wodzie dzięki zmniejszeniu stopnia skondensowania struktury cząsteczki. Badania literaturowe pokazują, że związki czteropierścieniowe posiadają ciekawą aktywność przeciwnowotworową. Można więc spekulować, że saponiny zawierające tego typu szkielet

będą również wykazywały interesującą bioaktywność. Skłoniło mnie to do podjęcia prób syntezy tego typu połączeń.



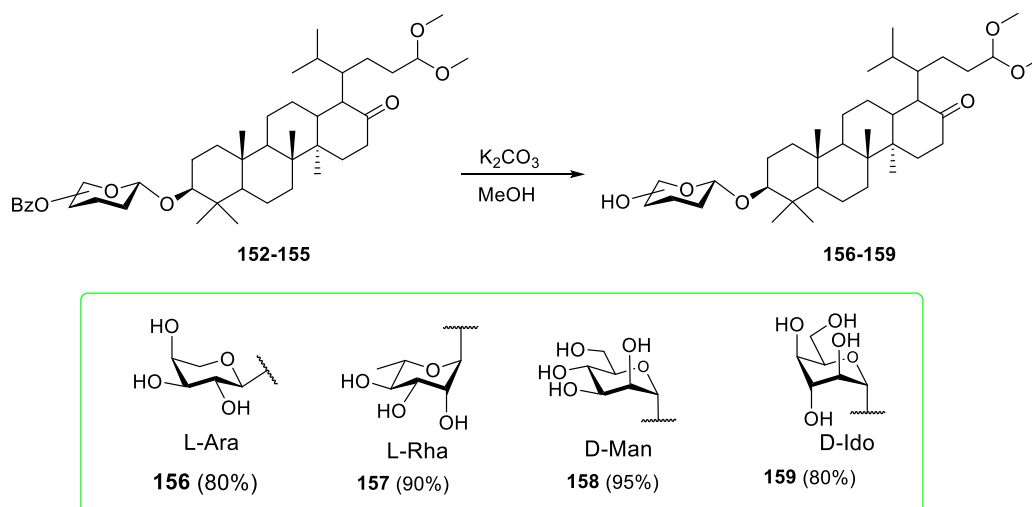
Rysunek 10. Perbenzoilowane donory Schmidta.

Wybór cukrów w syntezie nowych glikozydów również nie był przypadkowy. Jak opisałam w części literaturowej, liczne badania wykazały, że związki zawierające w swojej budowie reszty: L-arabinozy, D-idozy, L-ramnozy i D-mannozy cechuje znaczna aktywność biologiczna.^{121,122}



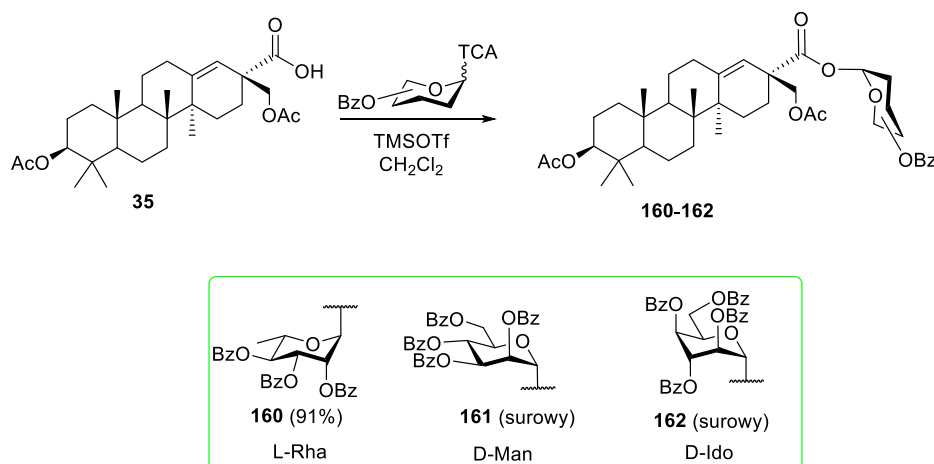
Schemat 75.

Czteropierścieniowy związek **70** poddałam reakcji glikozydowania z perbenzoilowanymi donorami Schmidta (**101**, **149-151**) w obecności katalitycznej ilości TMSOTf w CH_2Cl_2 w temperaturze -40°C . Jako jedyne produkty reakcji otrzymałam z dobrymi wydajnościami zabezpieczone saponiny **152-155** (Schemat 75).



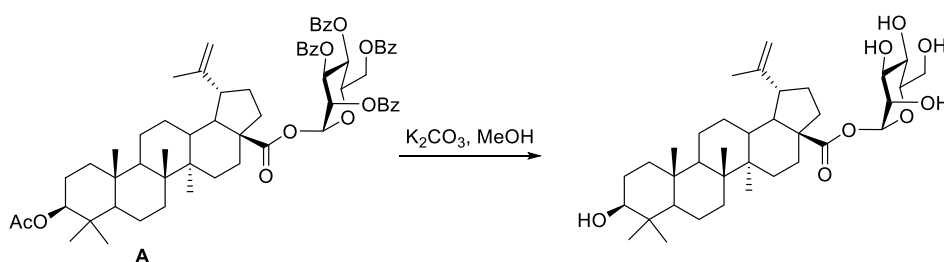
Schemat 76.

Wolne saponiny **156-159** otrzymałam z bardzo dobrymi wydajnościami w wyniku reakcji hydrolizy grup estrowych w obecności węglanu potasu w metanolu (Schemat 76).



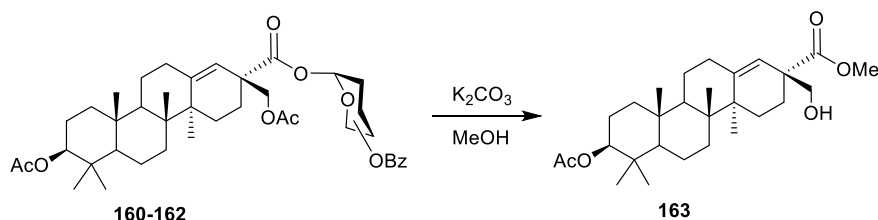
Schemat 77.

Postanowiłam również przeprowadzić analogiczną syntezę dla czteropierścieniowej pochodnej **35**. Reakcję prowadziłam z perbenzoylowanymi donorami Schmidta (L-Rha, D-Ido i D-Man, **149-151**) w obecności katalitycznej ilości TMSOTf w dichlorometanie w temperaturze -40°C . Jedynymi produktami reakcji powstającymi z bardzo dobrą wydajnością były oczekiwane saponiny **160 - 162** (Schemat 77).



Schemat 78.

Wcześniejsze badania w naszym zespole pokazały, że możliwe jest selektywne usunięcie grup benzoilowych i acetylowych w obecności estrów cukrowych przez działanie węglanem potasu w metanolu. W tych warunkach estry kwasu betulinowego typu **A** ulegały przekształceniu w wolne saponiny bez naruszania wiązania estrowego pomiędzy cząsteczką cukru, a resztą triterpenową (Schemat 78).⁷¹



Schemat 79.

Niestety, w przypadku saponin **162-164**, w obecności węglanu potasu w metanolu, następowała wyczerpująca transestryfikacja prowadząca do estru **165**. Wynika to

prawdopodobnie z braku zawady przestrzennej i łatwej dostępności grupy estrowej w pozycji C-17 (Schemat 79).

Podsumowując tę część badań, synteza saponin zawierających w swojej strukturze czteropierścieniowe szkielety triterpenoidowe zakończyła się połowicznym sukcesem. Z dobrymi wydajnościami otrzymałam wszystkie oczekiwane produkty reakcji glikozydowania. W przypadku estrów cukrowych **160-162**, opartych na pochodnej **35**, nie udało mi się jednak otrzymać wolnych saponin.

2.4 BADANIA BIOLOGICZNE.

Badania biologiczne zostały wykonane w Zakładzie Biologii Chemicznej i Genetyki, Uniwersytetu Palackiego w Ołomuńcu. Część badań wykonałam samodzielnie pod opieką dr Lucie Rarovej w trakcie pobytu w laboratorium biologicznym. Aktywność przeciwnowotworowa otrzymanych związków została zbadana metodą *in vitro* wobec ludzkich fibroblastów (BJ) oraz wybranych linii komórek rakowych o różnym pochodzeniu histopatologicznym:

- białaczki limfoblastycznej CEM,
- gruczolakoraka sutka MCF7,
- raka szyjki macicy HeLa,
- czerniaka G-361.

Procedura badań została opisana w literaturze.¹¹⁶

2.4.1 Pochodne betuliny

Tabela 9 przedstawia wartości IC_{50} dla pochodnych betuliny zawierających zmodyfikowany łańcuch boczny, związków z sześcioczłonowym pierścieniem E oraz pochodnych czteropierścieniowych. Strukturę badanych związków przedstawiłam na Rysunku 11.

Z analizy danych wynika, że:

- Pięciopierścieniowe pochodne betuliny z przedłużonym łańcuchem bocznym są nieaktywne biologicznie (**7**, **9**, **12**), za wyjątkiem pochodnej **10**, która jest wysoce aktywna wobec trzech linii komórkowych: MCF7, HeLa i G361 (IC_{50} 14.5 ± 1.3 - 8.8 ± 0.8 μM). Niestety związek **10** jest również cytotoksyczny wobec BJ (IC_{50} 4.6 ± 1.6 μM).
- Pięciopierścieniowe pochodne betuliny: związek **43** posiadający grupę karbonylową w pozycji C-19 oraz triol **45** nie wykazują aktywności biologicznej.
- Związki z sześcioczłonowym pierścieniem E są nieaktywne biologicznie. Można więc podejrzewać, że powiększenie pierścienia E tego typu związków powoduje spadek aktywności biologicznej.
- Związki czteropierścieniowe wykazują zróżnicowaną aktywność biologiczną:
 - Związki **35**, **36**, **49** i **76** są nieaktywne biologicznie.
 - Pozostałe wykazują umiarkowaną lub wysoką cytotoksyczność wobec wybranych linii komórkowych np. związek **31** jest nieaktywny wobec linii komórek CEM ($IC_{50} > 50$ μM) i MCF7 ($IC_{50} > 50$ μM) wykazuje natomiast

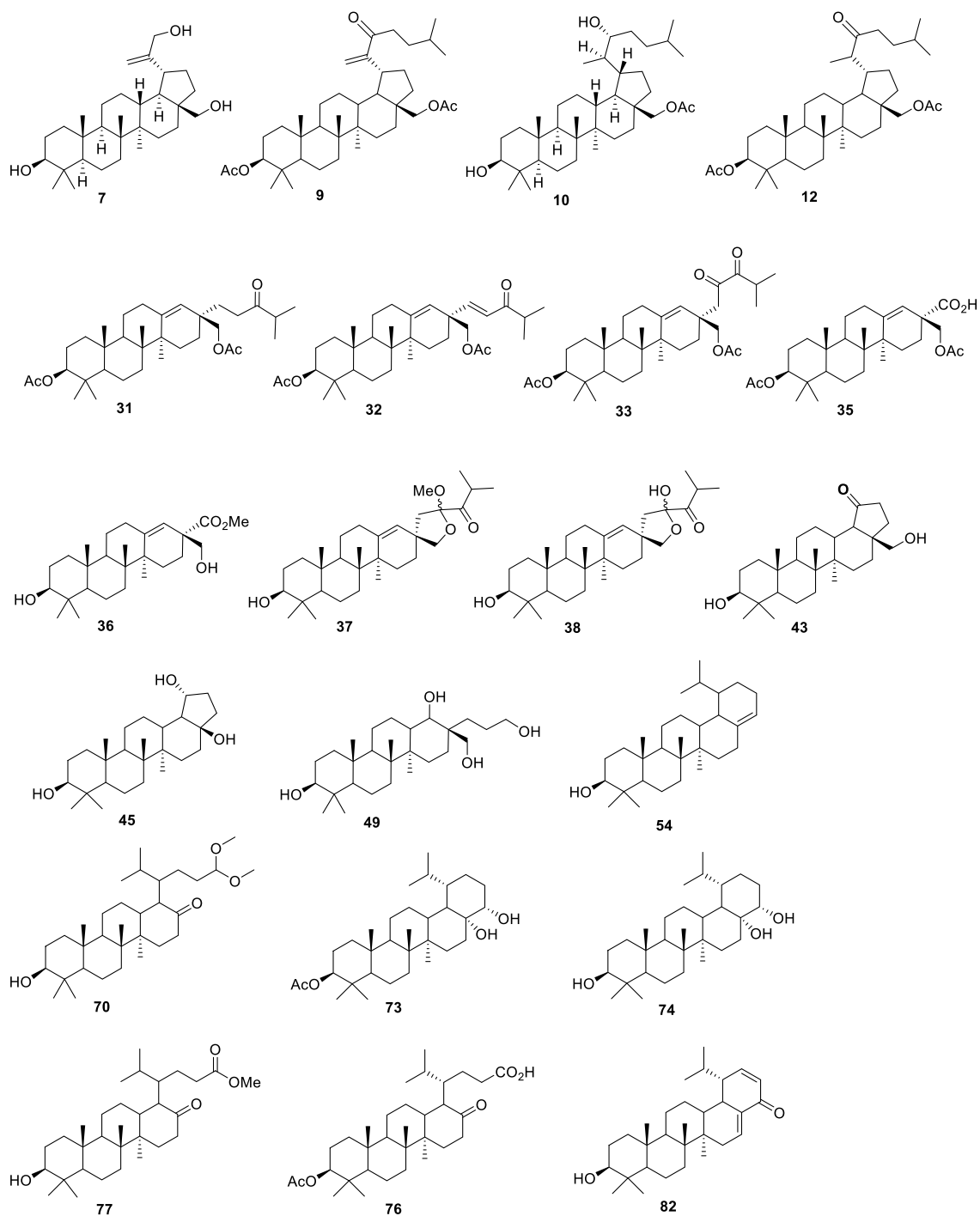
wysoką cytotoksyczność wobec linii komórek HeLa (IC_{50} $23.3 \pm 1.3 \mu M$) i G-361 (IC_{50} $20.8 \pm 1.5 \mu M$).

- Związek **32**, który posiada zbliżoną strukturę do związku **31** (wiązanie podwójne w łańcuchu bocznym) jest aktywny wobec wszystkich badanych linii komórkowych (IC_{50} $18.2 \pm 0.4 - 6.6 \pm 0.4 \mu M$). Niestety jest on również toksyczny wobec BJ (IC_{50} $15.0 \pm 0.1 \mu M$).
- Związki **36** i **37** są nieaktywne wobec linii komórek CEM ($IC_{50} > 50 \mu M$) i MCF7 ($IC_{50} > 50 \mu M$), umiarkowanie aktywne wobec linii komórek HeLa (IC_{50} $34.1 \pm 0.0 - 46.4 \pm 1.1 \mu M$) oraz silnie aktywne wobec linii komórek G-361 (IC_{50} $7.1 \pm 1.6 - 14.1 \pm 0.8 \mu M$), co istotne nie będąc jednocześnie toksycznymi wobec BJ.

Najciekawsze wyniki otrzymałam dla związków **37** i **38**. Są one nietoksyczne a jednocześnie wykazują bardzo dużą selektywność wobec linii komórek G361. Spośród wszystkich zaprezentowanych powyżej związków, pochodne czteropierścieniowe wykazują najlepsze właściwości przeciwnowotworowe. Ich toksyczność jest niska, często wykazują znaczną selektywność wobec niektórych linii komórkowych.

Tabela 9.

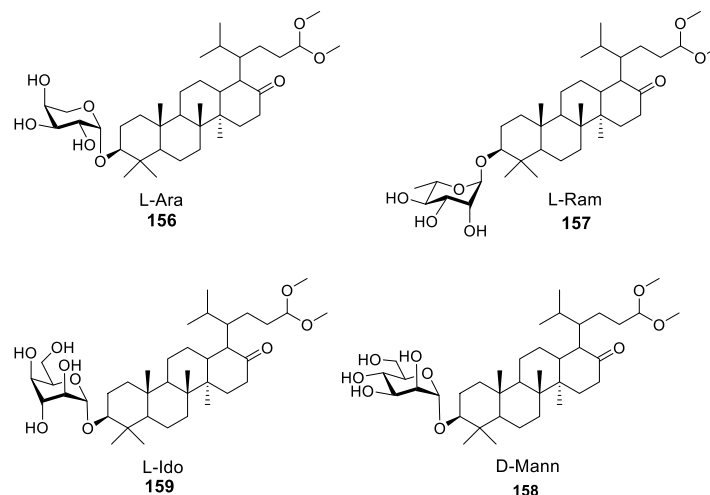
| nr | CEM | MCF7 | HeLa | G-361 | BJ |
|--|------------|------------|------------|------------|------------|
| pięcioczłonowy pierścień E | | | | | |
| 7 | >50 | >50 | >50 | 47.8±0.5 | 30.7±0.3 |
| 9 | - | - | - | >50 | >50 |
| 10 | >50 | 10.5±0.2 | 14.5±1.3 | 8.8±0.8 | 4.6±1.6 |
| 12 | - | - | - | >50 | >50 |
| 43 | >50 | >50 | >50 | 41.3 ± 4.6 | 41.2 ± 7.6 |
| 45 | >50 | >50 | >50 | 46.2 ± 0.8 | >50 |
| sześcioczłonowy pierścień E | | | | | |
| 54 | - | - | - | >50 | >50 |
| 73 | >50 | 49.5 ± 0.2 | 43.4 ± 4.2 | 41.7 ± 4.9 | >50 |
| 74 | >50 | >50 | >50 | >50 | >50 |
| 82 | >50 | >50 | >50 | >50 | >50 |
| związki czteropierścieniowe (zdegradowany pierścień E) | | | | | |
| 31 | >50 | >50 | 23.3 ± 1.3 | 20.8 ± 1.5 | >50 |
| 32 | 9.8 ± 1.3 | 18.2 ± 0.4 | 6.6 ± 0.4 | 8.7 ± 0.2 | 15.0 ± 0.1 |
| 33 | >50 | 22.2 ± 3.0 | 29.1 ± 7.8 | 22.9 ± 0.6 | >50 |
| 35 | - | - | - | >50 | >50 |
| 36 | - | - | - | >50 | >50 |
| 37 | >50 | >50 | 34.1 ± 0.0 | 7.1 ± 1.6 | >50 |
| 38 | >50 | >50 | 46.4 ± 1.1 | 14.1 ± 0.8 | >50 |
| 49 | - | - | - | >50 | >50 |
| 70 | 28.7 ± 7.2 | 34.3 ± 2.9 | 17.4 ± 1.3 | 12.1 ± 0.6 | 35.8 ± 0.8 |
| 77 | >50 | 45.0 ± 4.9 | 25.2 ± 5.4 | 17.6 ± 3.1 | 47.5 ± 1.3 |
| 76 | - | - | - | >50 | >50 |



Rysunek 11.

2.4.2 Saponiny

Badaniu metodą *in vitro* poddano również większość otrzymanych przez mnie saponin. Tabela nr 10 przedstawia wartości IC_{50} dla monosacharydów z czteropierścieniowym szkieletem triterpenowym. Strukturę związków przedstawiłam na Rysunku 12.



Rysunek 12.

Tabela 10.

| Związek | CEM | MCF7 | HeLa | G-361 | BJ |
|------------|------------|------------|------------|-------------|------------|
| 156 | 31.4 ± 1.2 | 48.2 ± 0.2 | 42.7 ± 0.9 | 24.9 ± 2.1 | 47.4 ± 0.2 |
| 157 | 45.7 ± 1.3 | 46.0 ± 1.2 | 22.3 ± 2.8 | 39.8 ± 1.1 | 41.7 ± 2.1 |
| 158 | 19.4 ± 1.1 | 47.2 ± 0.8 | 46.3 ± 0.4 | 43.6 ± 5.8 | 46.6 ± 0.4 |
| 159 | >50 | >50 | 43.8 ± 4.3 | 38.4 ± 11.6 | >50 |

Z analizy danych wynika, że:

- Saponiny zawierające czteropierscieniowy szkielet triterpenowy wykazują większości przypadków umiarkowaną aktywność przeciwnowotworową.
- Wyraźną selektywność działania wykazują: **156** z resztą L-arbinopiranozy wobec linii komórek czerniaka G-361 (IC_{50} 24.9 ± 2.1 μ M), **157** z resztą L-ramnopiranozy (IC_{50} 22.3±2.8 μ M) wobec linii komórek raka szyjki macicy (HeLa) oraz **158** (IC_{50} 19.4±1.1 μ M) zawierający resztę D-mannopiranozy wobec linii komórek białaczki limfoblastycznej typu T (CEM).

OSW-1

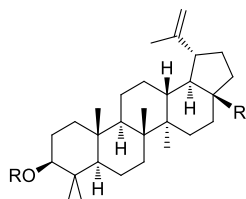


Tabela 11.

| nr | R | R' | CEM | MCF7 | HeLa | G361 | BJ |
|----------------------------|-----|--|----------|----------|----------|----------|----------|
| Disacharydy połączone 1→3: | | | | | | | |
| 119 | All | CH ₂ O-(2-OMBz-β-D-Xylp-(1→3)-2-OAc-α-L-Arap) | 26.7±0.1 | >50 | 39.4±2.8 | >50 | 46.8±1.1 |
| 121 | H | CH ₂ O-(2-OMBz-β-D-Xylp-(1→3)-2-OAc-α-L-Arap) | 29.4±2.2 | 31.4±1.3 | 33.7±7.7 | 44.9±6.4 | 44.8±7.4 |

c.d. Tabeli 11

| | | | | | | | |
|----------------------------|-----|--|----------|----------|----------|----------|----------|
| 135 | All | CH ₂ O-(2-OMBz-β-L-Xylp-(1→3)-2-OAc-α-D-Arap) | 33.1±3.0 | 26.0±4.2 | 45.3±1.1 | >50 | 15.3±1.4 |
| 137 | H | CH ₂ O-(2-OMBz-β-L-Xylp-(1→3)-2-OAc-α-D-Arap) | 9.6±3.5 | 8.7±0.0 | 9.7±1.5 | 8.1±0.4 | 7.0±1.0 |
| 124 | All | CH ₂ O-(2-OMBz-β-L-Xylp-(1→3)-2-OAc-α-L-Arap) | 13.6±2.0 | 31.5±0.0 | 16.5±1.4 | 41.2±3.9 | 12.6±0.8 |
| 126 | H | CH ₂ O-(2-OMBz-β-L-Xylp-(1→3)-2-OAc-α-L-Arap) | 7.2±0.5 | 8.3±0.2 | 9.2±0.3 | 8.0±0.6 | 6.6±0.1 |
| Disacharydy połączone 1→4: | | | | | | | |
| 120 | All | CH ₂ O-(2-OMBz-β-D-Xylp-(1→4)-2/3-OAc-α-L-Arap) | 7.0±0.1 | 8.0±0.5 | 11.1±2.6 | 19.0±1.6 | 6.6±0.1 |
| 136 | All | CH ₂ O-(2-OMBz-β-L-Xylp-(1→4)-2-OAc-α-D-Arap) | 26.0±2.6 | 42.7±0.1 | 45.1±0.8 | >50 | 39.3±6.4 |
| 138 | H | CH ₂ O-(2-OMBz-β-L-Xylp-(1→4)-2-OAc-α-D-Arap) | 8.0±1.3 | 12.3±0.6 | 13.2±1.6 | 8.5±0.3 | 11.5±2.4 |
| 141 | All | CH ₂ O-(2-OMBz-β-D-Xylp-(1→4)-2-OAc-α-D-Arap) | 10.9±3.5 | 39.7±3.5 | 41.3±1.5 | 32.9±2.6 | 26.9±7.8 |
| 125 | All | CH ₂ O-(2-OMBz-β-L-Xylp-(1→4)-2-OAc-α-L-Arap) | 26.5±3.8 | 39.8±0.4 | 36.2±5.7 | 38.7±1.1 | 41.2±2.3 |
| 127 | H | CH ₂ O-(2-OMBz-β-L-Xylp-(1→4)-2-OAc-α-L-Arap) | 26.3±0.5 | 13.5±2.9 | 27.8±3.7 | 31.4±1.6 | 29.0±4.9 |

Disacharydy połączone wiązaniem 1 → 3 glikozydowym z wolną grupą hydroksylową w pozycji C-3 są wysoce aktywne (IC₅₀ do 6,0 μM). Analogiczne związki zabezpieczone grupą allilową wykazują tylko umiarkowaną aktywność (IC₅₀ około 26,0–45,3 μM). Nie zaobserwowałam natomiast istotnych różnic w aktywności między związkami połączonymi wiązaniem (1 → 3)- i (1 → 4)-glikozydowym.

W większości przypadków, toksyczność przedstawionych pochodnych wobec zdrowych komórek jest podobna lub wyższa w porównaniu z cytotoksycznością wobec linii komórek nowotworowych. Przedstawione wyniki sugerują, że komórki rakowe i normalne reagują podobnie w obecności saponin lupanowych.

Saponiny lupanowe zawierające resztę disacharydową OSW-1 lub jej analogi są również mniej cytotoksyczne niż naturalna saponina OSW-1. Jak już wspomniałam, reszta disacharydowa jest niezbędna do wystąpienia wysokiej aktywności tego związku, podczas gdy część steroidowa może tolerować niektóre modyfikacje bez utraty aktywności. Przedstawione wyniki wyraźnie sugerują jednak, że szkielet steroidowy jest konieczny dla wydajnego i silnego wiązania z receptorami. Oczywistym jest, że szkielet betuliny (pentacykliczny triterpen) zbyt różni się strukturalnie od pierwotnego steroidu i nie pasuje do miejsca aktywnego receptora.

PODSUMOWANIE:

Podsumowując ujęte w ramach niniejszej rozprawy prace badawcze, zrealizowałam następujące cele:

- ✓ modyfikacja łańcucha bocznego betuliny przez jego utlenienie, przedłużenie i degradację;

- ✓ modyfikacja pierścienia E betuliny przez jego ekspansję do pierścieni sześć- i siedmioczłonowych;
- ✓ funkcjonalizacja zmodyfikowanego pierścienia E betuliny;
- ✓ degradacja szkieletu betuliny do układu czteropierścieniowego;
- ✓ zbadanie reakcji utleniania pochodnych betuliny z wykorzystaniem BSA i SeO₂;
- ✓ opracowanie warunków glikozydowania pochodnych betuliny za pomocą peracetylowanych donorów Schmidta i zaproponowanie mechanizmu reakcji;
- ✓ synteza saponin zawierających resztę disacharydu OSW-1 i jego izomerów konfiguracyjnych;
- ✓ wyjaśnienie wpływu wiązania wodorowego na regioselektywność reakcji glikozydowania;
- ✓ synteza saponin zawierających czteropierścieniowy aglikon;
- ✓ przygotowanie 37 próbek do badań biologicznych i wstępne oszacowanie zależności aktywności od budowy badanych pochodnych.

3 CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA

3.1 UWAGI OGÓLNE

Widma NMR zostały zarejestrowane przy pomocy spektrometrów Varian Vnmrs-600 (600 MHz), Varian Mercury (500 MHz), Bruker DRX (500 MHz) w temperaturze pokojowej. Przesunięcia chemiczne wyrażono w skali δ [ppm] względem tetrametylosilanu (TMS, Me₄Si) stosowanego jako wzorzec wewnętrzny. Wartości stałych sprzężenia J podano w hercach. Przypisania sygnałów atomów wodoru i węgla dokonano na podstawie widm korelacyjnych COSY (¹H-¹H) oraz HSQC i HMBC (¹H-¹³C).

Oznaczenia mas (m/z) wykonano przy pomocy spektrometru mas Mariner PerSeptive Biosystems w technice ESI w wysokiej (HRMS) albo niskiej (LRMS) rozdzielczości.

Wartości skręcalności właściwych oznaczono w temperaturze pokojowej przy pomocy polarymetru JASCO P 2000 w kuwecie o długości 100 mm dla linii D lampy sodowej.

Analizę elementarną (C, H) wykonano w Laboratorium Mikroanalitycznym Instytutu Chemii Organicznej PAN w automatycznym analizatorze Perkin-Elmer 240.

Rozdziały chromatograficzne przeprowadzono na żelu krzemionkowym Kieselgel firmy Merck (o wielkości ziaren 0.063-0.200 mm lub 0.040-0.063 mm).

Postęp reakcji kontrolowano przy pomocy chromatografii cienkowarstwowej (TLC, firmy Merck silicagel 60 F254) stosując wywoływacz cerowo-molibdenowy.

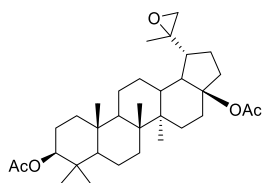
Widma IR zmierzono na aparacie Jasco 6200 FT-IR.

Ozonolizę wykonywano w generatorze ozonu GO-D5G.

3.2 PRZEPISY PREPARATYWNE

4.2.1 3 β ,28-Di-O-acetylolup-20R,29-epoksybetulina (**2**).¹²³

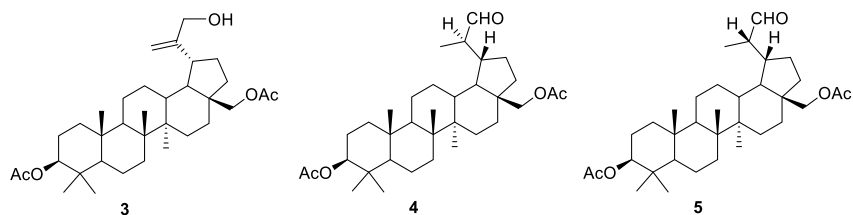
Do roztworu dioctanu betuliny **1** (12.0 g, 22.7 mmol) w dichlorometanie (150 ml), dodałam w temperaturze 0 °C kwas m-chloroperoksybenzoesowy (4.31 g, 25.0 mmol). Reakcję prowadziłam w temperaturze pokojowej do zaniku substratu na TLC (4 h, heksan/octan etylu 5:1). Po zakończeniu reakcji pozostałości nadkwasu rozłożyłam 10% wodnym roztworem tiosiarczanu sodu (10 ml). Całość przemyłam nasyconym roztworem wodorowęglanu sodu (100 ml) i zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem. Mieszaninę rozdzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej (heksan/octan etylu 40:1→10:1) otrzymując **2** (8.7 g, 70%) w postaci oleju. Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.



4.2.2 Otwieranie epoksydu **2**¹²³

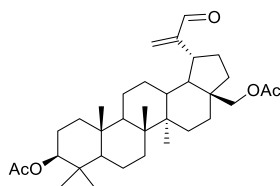
Do roztworu **2** (4.80 g, 8.80 mmol) w dichlorometanie (250 ml), dodałam około 25 kropli 36% kwasu solnego. Mieszaninę ogrzewałam w temperaturze wrzenia do zaniku substratu na TLC (30 min, heksan/octan etylu 5:1). Po ochłodzeniu mieszaniny do temperatury pokojowej

przemyłam ją 5% wodnym roztworem NaHCO_3 (50 ml) i wodą (50 ml), osuszyłam i zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem. Mieszaninę rozdzielłam za pomocą chromatografii kolumnowej (heksan/octan etylu 6:1→1:3), otrzymując **3** (1.47 g, 67%), **4** (818 mg, 17%) i **5** (796 mg, 17%) w postaci olejów. Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.



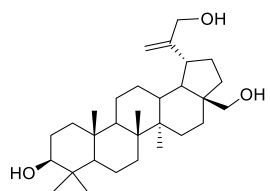
4.2.3 3β,28-Di-O-acetylo-lup-20(29)-en-30-al (**6**)¹²⁴

Do roztworu **3** (760 mg, 1.42 mmol) w dichlorometanie (25 ml) ochłodzonego do temperatury 0 °C, dodałam PCC (1.81 g, 8.40 mmol). Reakcję prowadziłam w temperaturze pokojowej do zaniku substratu na TLC (2 h, heksan/octan etylu 5:1). Mieszaninę poreakcyjną zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i oczyściłam za pomocą chromatografii kolumnowej (heksan/octan etylu 20:1→15:1) otrzymując **6** (513 mg, 70%) w postaci białej piany. Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.



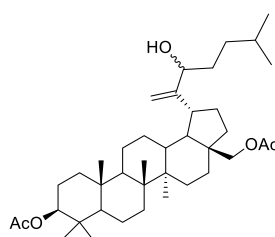
4.2.4 Lup-20(29)-en-3β,28,30-triol (**7**)¹²⁵

Do roztworu **3** (190 mg, 0.310 mmol) w etanolu (20 ml), dodałam KOH (50.0 mg). Mieszaninę ogrzewałam w temperaturze wrzenia do zaniku substratu na TLC (2 h, heksan/octan etylu 5:1). Mieszaninę poreakcyjną zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i oczyściłam za pomocą chromatografii kolumnowej (heksan/octan etylu 20:1→2:1) otrzymując **7** (86.6 mg, 51%) w postaci amorficznego proszku. Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.



4.2.5 Związek **8**

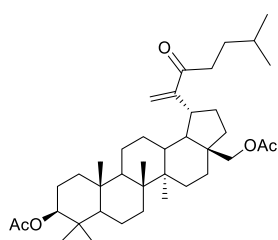
Do roztworu **6** (490 mg, 0.810 mmol) w tetrahydrofuranie (20 ml), ochłodzonego do temperatury -78 °C dodałam bromek izobutylomagnezowy (2 M w eterze dietylowym, 0.90 ml, 1.8 mmol). Reakcję prowadziłam w atmosferze argonu w temperaturze -78 °C do zaniku substratu na TLC (2 h, heksan/octan etylu 5:1). Reakcję zakończyłam dodając nasycony roztwór chlorku amonu (2 ml). Rozpuszczalniki usunęłam pod zmniejszonym ciśnieniem. Mieszaninę rozdzielłam za pomocą kolumny chromatograficznej (heksan/octan etylu 20:1→10:1) otrzymując mieszaninę alkoholi **8** (455 mg, 81%) w postaci oleju.



¹H NMR (CDCl_3) wybrane sygnały δ : 4.97 (s, 1 H), 4.93 (s, 1H), 4.90 (s, 1 H), 4.86 (s, 1 H), 4.45 (dd, J 5.6 Hz, 10.8 Hz), 4.19-4.25 (m, 1 H), 3.95-4.02 (m, 1 H), 3.75-3.86 (m, 1 H), 2.05 (s, 6 H, 2 x CH_3), 2.02 (s, 6 H, 2 x CH_3), 1.03 (s, 3 H, CH_3), 1.01 (s, 3 H, CH_3), 0.97 (s, 3 H, CH_3), 0.94 (s, 3 H, CH_3), 0.87 (m, 6 H), 0.82 (s, 3 H, CH_3), 0.81 (s, 3 H, CH_3).
¹³C NMR (CDCl_3) wybrane sygnały δ : 171.1 (C), 171.5(C), 170.9 (C), 170.9 (C), 157.8 (C-20), 157.8 (C-20), 80.3 (C-3), 62.6, 55.2, 50.2, 46.1, 42.6, 40.9, 37.8, 37.0, 35.0, 34.1, 28.1, 27.9, 23.6, 22.8, 22.5, 21.3, 21.0, 19.19, 16.44, 16.1, 16.0, 14.6.

4.2.6 Związek **9**

Wychodząc z **8** (500 mg, 0.810 mmol) i stosując procedurę 4.2.3 otrzymałam **9** (291 mg, 60%) w postaci amorficznego proszku.



$[\alpha]_D^{20}$ -3.02 (*c* 0.2, chloroform).

ν_{\max} (film): 2952, 2870, 1738, 1464, 1389, 1365, 1244, 1030, 979, 757 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.94 (s, 1 H, H-30), 5.72 (s, 1 H, H-30), 4.41-4.46 (m, 1 H, H-3), 4.26 (d, 1 H, *J* 11.2 Hz, H-28), 3.38 (d, 1 H, *J* 11.2 Hz, H-28), 2.78-2.87 (m, 1 H, H-19), 2.64 (m, 2 H, H-31), 2.05 (s, 3 H, CH_3), 2.02 (s, 3 H, CH_3), 1.00 (s, 3 H, CH_3), 0.92 (s, 3 H, CH_3),

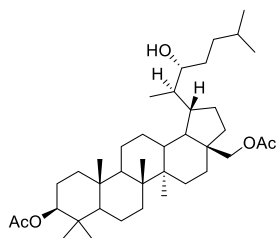
0.89 (s, 3 H, CH_3), 0.88 (s, 3 H, CH_3), 0.82 (s, 3 H, CH_3), 0.81 (s, 6 H, 2 x CH_3), 0.73-1.84 (m, 27 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 202.5 (C-29), 171.5, 171.1, 154.8 (C-20), 121.9 (C-30), 80.4 (C-3), 62.7 (C-28), 50.2, 46.5, 42.6, 40.9, 38.4, 37.8, 37.2, 37.0, 36.3, 36.3, 34.4, 34.1, 33.6, 29.8, 27.9, 27.8, 27.5, 27.5, 27.0, 24.8, 24.5, 23.7, 22.4, 22.4, 21.3, 21.1, 20.9, 18.2, 16.5, 16.1, 16.0, 14.7.

HR-MS (ESI) $\text{C}_{39}\text{H}_{62}\text{NaO}_5$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 633.4495, zmierzona: 633.4452.

4.2.7 Związek 10

Wychodząc z **4** (800 mg, 1.47 mmol) i stosując procedurę 4.2.5 otrzymałam alkohol **10** (524 mg, 57%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ -14.8 (*c* 0.3, chloroform).

ν_{\max} (film): 3532, 2950, 2870, 1737, 1461, 1366, 1244, 1029, 979 cm^{-1} .

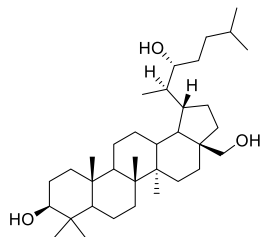
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 4.45-4.50 (m, 1 H, H-3), 4.23-4.28 (m, 1 H, H-29), 3.76-3.83 (m, 2 H, H-28), 2.06 (s, 3 H, CH_3), 2.04 (s, 3 H, CH_3), 1.98-2.03 (m, 1 H), 1.05 (s, 3 H, CH_3), 0.95 (s, 3 H, CH_3), 0.91 (s, 3 H, CH_3), 0.83-0.93 (m, 6 H, 2 x CH_3), 0.86 (s, 3 H, CH_3), 0.85 (s, 3 H, CH_3), 0.84 (s, 3 H, CH_3), 0.77-1.86 (m, 29 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 171.6, 171.0, 80.9 (C-3), 71.2 (C-29), 62.7 (C-28), 55.3, 50.0, 48.2, 46.2, 44.5, 42.9, 41.0, 38.9, 38.4, 37.8, 37.3, 37.0, 35.6, 35.4, 34.5, 34.2, 30.0, 27.9, 27.3, 27.0, 23.6, 23.2, 22.8, 22.5, 21.2, 21.0, 20.9, 18.2, 16.5, 16.1, 16.1, 14.6, 13.6.

LR-MS (EI) $\text{C}_{38}\text{H}_{64}\text{O}_5$ $[\text{M}]^+$ obliczona: 600.48, zmierzona: 600.48.

4.2.8 Związek 11

Do roztworu związku **7** (50 mg; 0.080 mmol) w bezwodnym tetrahydrofuranie (5 ml) w temperaturze -40°C dodałam LiAlH_4 (15 mg, 0.32 mmol). Reakcję prowadziłam w atmosferze argonu, w temperaturze -40°C do zaniku substratu na TLC (1 h, heksan/octan etylu 5:1). Nadmiar LiAlH_4 rozłożyłam octanem etylu (2 ml). Mieszaninę przesączyłam przez cienką warstwę żelu krzemionkowego, przesącz zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując **11** (40 mg, 93%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ -27.2 (*c* 0.2, chloroform).

ν_{\max} (film): 3532, 2950, 2870, 1737, 1461, 1366, 1244, 1029, 979 cm^{-1} .

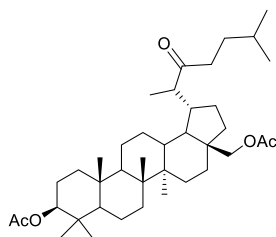
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 4.22-4.28 (m, 1 H), 3.74-3.82 (m, 3 H), 3.20-3.28 (m, 1 H, H-3), 3.20 (dd, 1 H, *J* 4.9 Hz, 10.9 Hz), 1.04 (d, 3 H, *J* 6.2 Hz, CH_3), 0.97 (d, 3 H, *J* 6.2 Hz, CH_3), 0.92 (s, 3 H, CH_3), 0.91 (s, 6 H, 2 x CH_3), 0.89 (s, 3 H, CH_3), 0.84 (s, 3 H, CH_3), 0.77 (s, 3 H, CH_3), 0.67-2.03 (m, 32 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 72.9, 71.2, 71.2, 68.7, 60.5, 55.2, 50.1, 48.1, 47.6, 46.2, 44.5, 42.9, 41.0, 40.9, 39.1, 38.9, 38.6, 38.7, 37.3, 37.1, 37.0, 35.4, 34.5, 34.3, 44.2, 33.9, 31.9, 30.0, 29.7, 28.0, 27.8, 27.4, 27.3, 26.9, 22.8, 22.5, 21.3.

LR-MS (ESI) $\text{C}_{38}\text{H}_{62}\text{NaO}_3$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 553.46, zmierzona: 553.46.

4.2.9 Związek 12

Wychodząc z **10** (463 mg, 0.750 mmol) i stosując procedurę 4.2.3 otrzymałam **10** (431 mg, 93%).



$[\alpha]_D^{20}$ 3.8 (*c* 0.2, chloroform).

ν_{\max} (film): 2952, 2871, 1736, 1677, 1466, 1389, 1365, 1245, 1031, 979, 756 cm^{-1} .

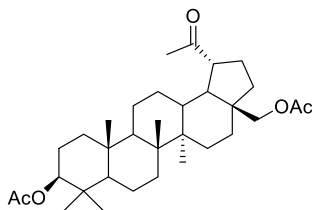
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 4.44-4.54 (m, 1 H, H-3), 4.21-4.29 (m, 1 H, H-28), 3.77-3.84 (m, 1 H, H-28), 2.76-2.84 (m, 2 H), 2.07 (s, 3 H, CH_3), 2.05 (s, 3 H, CH_3), 1.04 (s, 3 H, CH_3), 0.94 (s, 3 H, CH_3), 0.89 (s, 3 H, CH_3), 0.87 (s, 3 H, CH_3), 0.85 (s, 6 H, 2 x CH_3), 0.84 (s, 3 H, CH_3), 0.73-1.84 (m, 32 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 202.5 (C-29), 171.5, 170.9, 154.8, 80.9 (C-3), 62.9 (C-28), 55.3, 49.9, 49.8, 47.7, 47.3, 46.7, 46.3, 42.9, 42.3, 40.9, 38.4, 37.8, 37.2, 37.0, 34.7, 34.2, 29.3, 27.9, 26.9, 26.8, 25.8, 25.4, 23.7, 22.7, 22.6, 21.3, 21.0, 20.9, 18.2, 16.5, 16.1, 16.0, 14.7.

Anal. Element. $\text{C}_{39}\text{H}_{64}\text{O}_5$ obliczona: C 76.42, H 10.52, zmierzona: C 76.50, H 10.57.

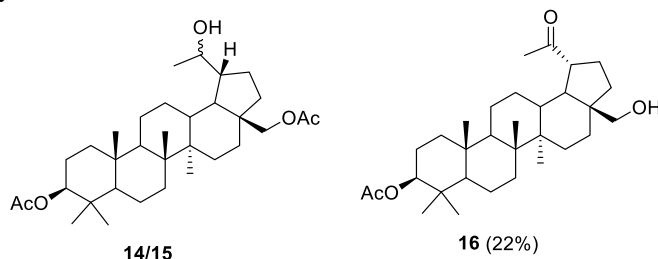
4.2.10 3 β ,28-Di-O-acetylo-30-norlup-20-on (**13**)¹²⁶

Do roztworu dioctanu betuliny (526 mg, 1.00 mmol) w mieszaninie rozpuszczalników MeOH/ CH_2Cl_2 1:1 (300 ml) ochłodzonego do temperatury -78°C wprowadziłam ozon. Reakcję prowadziłam do momentu uzyskania przez roztwór szafirowej barwy. Dodatkowo przebieg reakcji monitorowałam za pomocą TLC. Po stwierdzeniu zaniku substratu, roztwór mieszałam w atmosferze tlenu do odbarwienia. Następnie dodałam Me_2S_2 (4 ml), całość mieszałam przez 24 h w temperaturze pokojowej. Mieszaninę poreakcyjną zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i oczyściłam za pomocą chromatografii kolumnowej (heksan/octan etylu 30:1 \rightarrow 15:1) uzyskując **13** (475 mg, 90%) w postaci amorficznego proszku. Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.



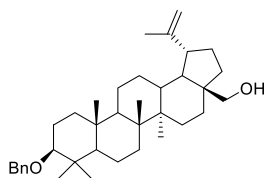
4.2.11 Redukcja ketonu **13**¹²⁷

Do roztworu **13** (1.54 g, 2.90 mmol) w MeOH dodałam porcjami borowodrek sodu (549 mg, 14.5 mmol). Reakcję prowadziłam w temperaturze pokojowej do zaniku substratu na TLC (24 h, heksan/octan etylu 3:1). Mieszaninę zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i rozdzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej (heksan/octan etylu 15:1 \rightarrow 5:1) otrzymując mieszaninę **14/15** (455 mg, 30%) oraz **16** (333 mg, 22%) w postaci białych pian. Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.



4.2.12 3 β -O-benzylo- lup-20(29)-en (**18**)

Do roztworu dioctanu betuliny **1** (100 mg, 0.230 mmol) w DMF (3 ml) dodano NaH (40 mg, 0.92 mmol). Reakcję prowadziłam w temperaturze pokojowej do zaniku substratu na TLC (24 h, heksan/octan etylu 5:1). Mieszaninę zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i rozdzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej (heksan/octan etylu 15:1 \rightarrow 5:1) otrzymując **18** (77 mg, 55%) w postaci oleju.

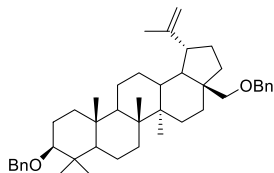


$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.22-7.38 (m, 5 H, Ar), 4.66-4.68 (m, 1 H, $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 4.56-4.59 (m, 1 H, $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 4.60 (d, 1 H, J 12.4 Hz, H-29), 4.49 (d, 1 H, J 12.4 Hz, H-29), 3.75-3.78 (m, 1 H), 3.29 (d, 1 H, J 11.0 Hz), 3.20-3.14 (m, 1 H), 2.36-2.42 (m, 1 H, H-19), 1.68 (s, 3 H, CH_3 , H-30), 1.02 (s, 3 H, CH_3), 0.98 (s, 3 H, CH_3), 0.96 (s, 3 H, CH_3), 0.83 (s, 3 H, CH_3), 0.76 (s, 3 H, CH_3), 0.66-2.00 (m, 25 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 150.8 (C-20), 136.9 (Ar), 129.3 (Ar), 128.2 (Ar), 127.8 (Ar), 127.6 (Ar), 127.4 (Ar), 109.3 (C-29), 86.4 (C-3), 73.3, 72.1, 70.28, 68.0 (C-28), 55.7, 50.3, 48.8, 47.9, 42.6, 40.9, 39.0, 38.6, 37.4, 37.1, 35.9, 34.4, 30.2, 29.9, 28.2, 27.1, 25.2, 22.9, 20.8, 19.1, 18.3, 16.1, 15.8, 14.7.

4.2.13 $3\beta,28\text{-Di-O-benzyl-lup-20(29)-en}$ (**19**)

Do roztworu dioctanu betuliny **1** (5.0 g, 12 mmol) w dichlorometanie (80 ml) dodałam trichloroacetoimidan benzylu¹²⁸ (6.0 ml, 31 mmol) oraz sita molekularne (4 Å, 500 mg, drobno zmielone). Następnie, po ochłodzeniu do temperatury -40°C , dodałam TMSOTf (100 μl , 0.360 mmol). Reakcję prowadziłam w atmosferze argonu w temperaturze pokojowej do zaniku substratu na TLC (24 h, heksan/octan etylu 10:1). Dodałam Et_3N (1 ml), zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i rozdzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej (heksan/octan etylu 40:1 \rightarrow 10:1) uzyskując **19** (5.45 g, 75%) w postaci oleju.



$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 54.8 (c 0.3, chloroform).

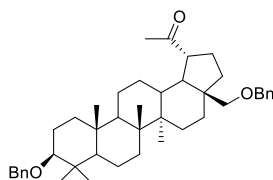
ν_{max} (film): 2942, 2868, 1454, 1374, 1361, 1108, 1095, 1071, 1028, 882, 755, 734, 697 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.22-7.38 (m, 10 H, Ar), 4.63-4.67 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 4.54-4.58 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 4.47 (d, 1 H, J 11.2 Hz, H-29), 4.41 (d, 1 H, H-29), 3.5 (d, 1 H, J 9.0 Hz, H-28), 3.08 (d, 1 H, J 9.0 Hz, H-28), 2.88 (dd, 1 H, J 4.4 Hz 11.7 Hz, H-3), 2.33-2.38 (m, 1 H, H-19), 1.66 (s, 3 H, CH_3 , H-30), 0.96 (s, 3 H, CH_3), 0.93 (s, 3 H, CH_3), 0.83 (s, 3 H, CH_3), 0.81 (s, 6 H, 2 x CH_3), 0.61-2.05 (m, 24 H, protony lupanowe). $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 150.8 (C-20), 139.5 (Ar), 138.9 (Ar), 128.4 (Ar), 128.3 (Ar), 128.2 (Ar), 127.8 (Ar), 127.6 (Ar), 127.6 (Ar), 127.4 (Ar), 127.4 (Ar), 127.2 (Ar), 109.4 (C-29), 86.4 (C-3), 73.3, 72.1, 7.28, 68.0 (C-28), 55.7, 50.3, 48.8, 47.9, 47.2, 42.6, 40.9, 39.0, 38.6, 37.4, 37.1, 34.9, 34.2, 30.0, 29.9, 28.2, 27.1, 25.2, 22.9, 20.8, 19.1, 18.3, 16.4, 16.1, 15.8, 14.7.

Anal. Element. $\text{C}_{44}\text{H}_{62}\text{O}_2$: obliczona: C 84.83, H 10.03, zmierzona: C 84.85, H 10.24.

4.2.14 Redukcja ketonu **19**

Wychodząc z **19** (150 mg, 0.410 mmol) i stosując procedurę 4.2.10 otrzymałam **20** (139 mg, 55%) oraz mieszaninę **21** (75 mg, 30%) w postaci olejów.



$3\beta,28\text{-Di-O-benzyl-30-norlup-20-on}$ (**20**)

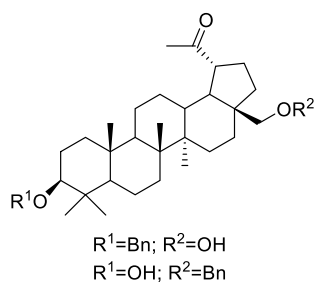
$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 3.8 (c 0.2 chloroform).

ν_{max} (film): 3386, 2942, 2867, 1703, 1494, 1453, 1389, 1362, 1272, 1096, 1071, 1027, 973, 737, 699 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.20-7.36 (m, 10 H, Ar), 4.64 (m, 1 H, 11.9 Hz), 4.53 (d, 1 H, J 12.4 Hz), 4.47 (d, 1 H, J 12.4 Hz), 4.41 (d, 1 H, J 11.9 Hz), 3.45 (d, 1 H, J 9.0 Hz, H-28), 2.89 (dd, 1 H, J 4.4 Hz, 11.7 Hz, H-3), 2.55-2.61 (m, 1 H, H-19), 2.12 (s, 3 H, CH_3), 0.96 (s, 3 H, CH_3), 0.95 (s, 3 H, CH_3), 0.82 (s, 3 H, CH_3), 0.82 (s, 3 H, CH_3), 0.81 (s, 3 H, CH_3), 0.82-2.13 (m, 25 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 212.5 (C-20), 139.5 (Ar), 138.8 (Ar), 128.4 (Ar), 128.4 (Ar), 128.2 (Ar), 128.2 (Ar), 127.6 (Ar), 127.6 (Ar), 127.5 (Ar), 127.4 (Ar), 127.4 (Ar), 127.2 (Ar), 86.4 (C-3), 73.4, 71.3, 68.1, 55.7, 52.3, 50.2, 49.7, 47.3, 42.5, 40.8, 39.0, 37.1, 36.3, 34.9, 34.1, 29.8, 29.3, 28.2, 27.9, 27.2, 27.0, 22.9, 20.8, 19.8, 18.2, 16.4, 16.1, 15.7, 14.7.

LR-MS (EI) C₄₃H₆₀O₃ [M]⁺ obliczona: 624.45; zmierzona: 624.45.



Mieszanina **21**

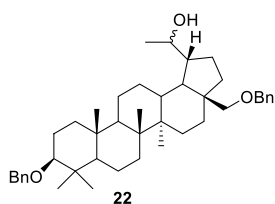
¹H NMR (CDCl₃) (wybrane sygnały) δ: związek A: 4.68-4.73 (m, 1 H), 4.57 (d, 1 H, *J* 12.3 Hz), 4.50 (d, 1 H, *J* 12.3 Hz), 2.54-2.68 (m, 1 H), 2.13 (s, 3 H, CH₃). Związek B: 4.66 (d, 1 H, *J* 11.9 Hz), 4.42 (d, 1 H, *J* 11.9 Hz), 3.45-3.47 (m, 1 H), 2.88-2.94 (m, 1 H), 2.71-2.78 (m, 1 H), 2.18 (s, 3 H, CH₃)

¹³C NMR (CDCl₃) (wybrane sygnały) δ: związek A: 212.2, 168.4, 138.7, 129.5, 128.3, 127.4, 81.5, 73.3, 68.1, 55.4, 52.4, 50.2, 49.6, 47.2, 42.6, 40.6. Związek B: 212.7, 166.7, 139.5, 132.9, 130.2, 86.3,

71.2, 62.8, 55.8, 52.7.

4.2.15 3β,28-Di-O-benzylo-30-nor-lup-3β,20,28-triol (**22**, **23**)

Wychodząc z **20** (50 mg, 0.080 mmol) i stosując procedurę 4.2.11 otrzymałam **22** (15 mg, 30%) i **23** (15 mg, 30%) w postaci olejów.



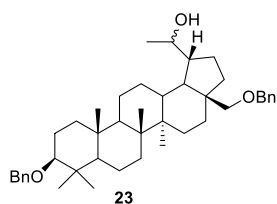
[α]_D²⁰ 2.4 (*c*, 0.2 chloroform).

*v*_{max} (film): 3445, 2940, 2968, 1496, 1490, 1389, 1360, 1216, 1096, 1071, 1046, 1028, 756, 697 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ: 7.23-7.36 (m, 10 H, Ar), 5.03-5.09 (m, 1 H, H-20), 4.66 (d, 1 H, *J* 11.9 Hz), 4.54 (d, 1 H, *J* 12.5 Hz), 4.46 (d, 1 H, *J* 12.5 Hz), 4.41 (d, 1 H, *J* 11.9 Hz), 3.46 (d, 1 H, *J* 9.2 Hz, H-28), 3.01 (d, 1 H, *J* 9.2 Hz, H-28), 2.86-2.91 (m, 1 H, H-3), 2.04, 1.14 (d, 1 H, *J* 6.4, H-30), 1.14 (s, 3 H, CH₃), 0.96 (s, 3 H, CH₃), 0.83 (s, 3 H, CH₃), 0.82 (s, 3 H, CH₃), 0.81 (s, 6 H, 2 x CH₃), 0.77-2.03 (m, 25 H, protony lupanowe).

¹³C NMR (CDCl₃) δ: 139.5 - 127.1 (Ar), 86.5 (C-3), 73.4, 72.3 (C-20), 71.4, 67.9 (C-28), 55.7 (C-5), 49.9, 47, 47.2, 44.2, 42.6, 40.9, 39.0, 38.5, 37.1, 36.4, 34.8, 34.2, 30.1, 28.2, 26.9, 26.7, 22.9, 22.7, 21.3, 20.7, 19.8, 18.2, 16.4, 16.0, 15.8, 14.3.

Anal. Element. C₄₃H₆₂O₃ obliczona: C 82.38, H 9.97; zmierzona: C 82.41, H 9.90.



[α]_D²⁰ 3.8 (*c*, 0.2 chloroform).

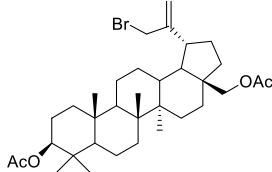
*v*_{max} (film): 3408, 3027, 2941, 2866, 1495, 1454, 1388, 1361, 1215, 1095, 1028, 755, 697 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ: 7.21-7.36 (m, 10 H, Ar), 5.08-5.14 (m, 1 H, H-20), 4.66 (d, 1 H, *J* 12.4 Hz), 4.55 (d, 1 H, *J* 12.4 Hz), 4.39-4.45 (m, 2 H), 3.45 (d, 1 H, *J* 9.1 Hz, H-28), 3.02 (d, 1 H, *J* 9.1 Hz, H-28), 2.89 (dd, 1 H, *J* 4.3 Hz, 11.7 Hz, H-3), 1.11 (s, 3 H, CH₃), 0.96 (s, 3 H), 0.88 (s, 6 H, 2 x CH₃), 0.81 (s, 6 H, 2x CH₃), 0.62-2.10 (m, 26 H, protony lupanowe).

¹³C NMR (CDCl₃) δ: 139.5 (Ar), 138.9 (Ar), 128.3 (Ar), 128.3 (Ar), 128.1 (Ar), 128.1 (Ar), 127.6 (Ar), 127.6 (Ar), 127.4 (Ar), 127.4 (Ar), 127.4 (Ar), 127.2 (Ar), 86.4 (C-3), 73.4, 73.1, 71.3, 67.7 (C-28), 55.7 (C-5), 49.9, 48.9, 47.4, 42.6, 40.9, 39.0, 38.5, 37.1, 36.3, 35.0, 34.2, 30.16, 28.2, 26.9, 26.8, 22.9, 22.6, 21.4, 20.7, 18.2, 16.4, 16.0, 15.7, 14.4, 13.78.

Anal. Element. C₄₃H₆₂O₃ obliczona: C 82.38, H 9.97; zmierzona: C 82.29, H 10.01.

4.2.16 3β,28-Di-O-acetylo-30-bromo-lup-20(29)-en (**24**)¹²⁹

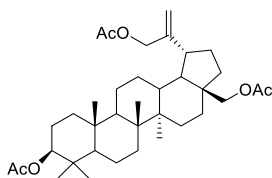


Do roztworu dioctanu betuliny **1** (530 mg, 1.00 mmol) w czterochlorku węgla (10 ml) dodałam NBS (300 mg, 1.70 mmol). Mieszaninę ogrzewałam do temperatury wrzenia do zaniku substratu na TLC (3 h, heksan/octan etylu 10:1). Po ochłodzeniu do temperatury pokojowej, mieszaninę zateżyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i rozdzieliłam za

pomocą chromatografii kolumnowej (heksan/octan etylu 40:1→20:1) uzyskując **24** (455 mg, 75%) w postaci oleju. Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.

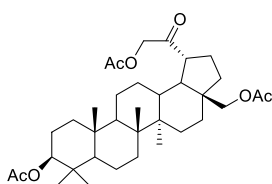
4.2.17 *3β,28,30-Tri-O-acetylo-lup-20(29)-en-3β,28,30-triol* (**25**)¹²⁴

Do roztworu **24** (430 mg, 0.710 mmol) w toluenie (10 ml) dodałam AgOAc (237 mg, 1.42 mmol) oraz *n*Bu₄NCl (114 mg, 0.350 mmol). Mieszaninę ogrzewałam w temperaturze wrzenia do zaniku substratu na TLC (9 h, heksan/octan etylu 10:1). Po ochłodzeniu do temperatury pokojowej mieszaninę zateżyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i rozdzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej (heksan/octan etylu 40:1→20:1) uzyskując **25** (345 mg, 83%) w postaci oleju. Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.



4.2.18 *3β,28,30-Tri-O-acetylo-29-nor-lup-20(29)-en-20-on-3β,28,30-triol* (**26**)¹²⁴

Wychodząc z **25** (320 mg, 0.550 mmol) i stosując procedurę 4.2.10 otrzymałam **26** (243 mg, 75%) w postaci amorficznego proszku. Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.

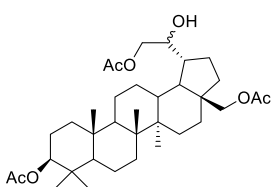


¹H NMR (CDCl₃) δ: 4.74 (d, 1 H, *J* 16.9 Hz, H-30), 4.64 (d, 1 H, *J* 16.9 Hz, H-30), 4.47 (dd, 1 H, *J* 5.0 Hz, 11.0 Hz, H-3), 4.20 (d, 1 H, 11.2 Hz, H-28), 3.79 (d, 1 H, 11.2 Hz, H-28), 2.70-2.59 (m, 1 H, H-19), 2.17 (s, 3 H, CH₃), 2.08 (s, 3 H, CH₃), 2.04 (s, 3 H, CH₃), 1.01 (s, 3 H, CH₃), 0.99 (s, 3 H, CH₃), 0.84 (s, 6 H, 2 x CH₃), 0.83 (s, 3 H, CH₃), 0.76-2.25 (m, 24 H, protony lupanowe).

¹³C NMR (CDCl₃) δ: 206.1 (C, C-20), 171.5 (C), 170.9 (C), 170.1 (C), 80.8 (C-3), 67.7 (C-30), 62.4 (C-28), 55.3 (C-5), 50.1, 48.7, 46.7, 46.3, 42.6, 40.8, 38.3, 37.8, 37.1, 36.3, 34.5, 34.0, 29.3, 27.9, 27.8, 27.5, 26.9, 23.6, 21.3, 20.7, 20.8, 20.4, 18.1, 16.5, 16.1, 15.9, 14.6.

4.2.19 *3β,28,30-Tri-O-acetylo-29-nor-lup-3β,20,28,30-tetraol* (**27**)

Wychodząc z **26** (194 mg, 0.330 mmol) i stosując procedurę 4.2.11 otrzymałam **27** (120 mg, 63%) w postaci oleju.

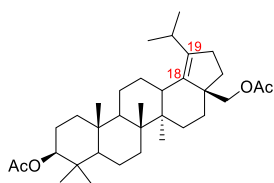


¹H NMR (CDCl₃) δ: wybrane sygnały: 4.54-4.60 (m, 1 H), 4.23-4.63 (m, 1 H), 4.40-4.45 (m, 1 H), 4.16 (d, 1 H, *J* 11.8 Hz, H-28), 3.75 (d, 1 H, *J* 11.8 Hz, H-28), 3.50-3.54 (m, 1 H), 2.72-2.58 (m, 1 H), 2.13 (s, 3 H, CH₃), 2.08 (s, 3 H, CH₃), 2.04 (s, 3 H, CH₃), 1.01 (s, 3 H, CH₃), 0.98 (s, 3 H, CH₃), 0.85 (s, 6 H, 2 x CH₃), 0.84 (s, 3 H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃) δ: wybrane sygnały: 171.5, 170.9, 170.1, 80.3, 70.1, 67.9, 63.0, 55.4, 50.2, 46.7, 46.1, 42.6, 41.3, 39.3, 37.9, 37.1, 36.3, 34.6, 29.4, 27.9, 27.9, 27.5, 27.0, 23.6, 21.3, 20.7, 20.8, 20.4, 18.0, 16.5, 15.9, 14.6.

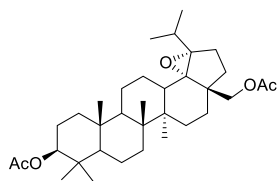
4.2.20 *3β,28-Di-O-acetylo-lup-18(19)-en* (**28**)¹³⁰

Do roztworu **1** (20 g, 4.0 mmol) w toluenie (40 ml) dodałam kwas octowy (40 ml) oraz bezwodnik octowy (40 ml). Mieszaninę ogrzewałam w temperaturze 70°C aż do momentu rozpuszczenia substratu. Po ochłodzeniu mieszaniny do temperatury 40°C dodałam 33% HBr/AcOH (40 ml). Następnie mieszaninę ogrzewałam w temperaturze 90°C do zaniku substratu na TLC (2 h, heksan/octan etylu 10:1). Aby zakończyć reakcję dodałam AcONa (24 g). Mieszaninę zateżyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i rozdzieliłam za pomocą kolumny chromatograficznej (heksan/octan etylu 40:1→10:1) uzyskując **28** (13.36 g, 67%) w postaci amorficznego proszku. Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.



4.2.21 *3β,28-Di-O-acetylo-18α,19α-epoksyłupan* (**29**)⁵²

Wychodząc z **28** (3.00 g, 5.70 mmol) i stosując procedurę 4.2.10 otrzymałam **29** (3.03 g, 98%) w postaci amorficznego proszku. Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.

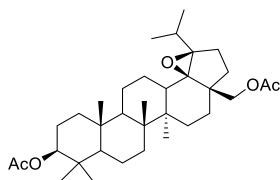


¹H NMR (CDCl₃) δ: 4.47 (dd, 1 H, *J* 4.9 Hz, 11.5 Hz, H-3), 3.69 (s, 3 H, CH₃), 2.31 (dd, 1 H, *J* 3.9 Hz, 12.2 Hz, H-13), 2.18-2.13 (m, 1 H, H-16), 2.10-2.05 (m, 1 H, H-20), 2.04 (s, 3 H, CH₃), 1.11 (s, 3 H, CH₃, H-27), 1.06 (s, 3 H, CH₃, H-30), 1.04 (s, 3 H, CH₃, H-29), 0.92 (s, 3 H, CH₃, H-26), 0.85 (s, 3 H, CH₃, H-25), 0.84 (s, 3 H, CH₃, H-23), 0.83 (s, 3 H, CH₃, H-24), 0.78-1.74 (m, 23 H, protony lupanowe).

¹³C NMR (CDCl₃) δ: 176.0 (C, C-28), 170.9 (C), 80.8 (C-3), 74.5 (C-19), 73.3 (C-18), 55.2 (C-5), 54.4 (C-17), 51.5 (CH₃), 49.6 (C-9), 43.7 (C-14), 40.8 (C-8), 38.3 (C-1), 37.7 (C-4), 37.0 (C-10), 36.5 (C-13), 33.7 (C-7), 30.7 (C-22), 29.1 (C-15), 29.0 (C-20), 27.9 (C-23), 27.6 (C-16), 23.9 (C-21), 23.6 (C-2), 22.9 (C-12), 21.27 (CH₃), 21.3 (CH₃), 20.3 (C-11), 19.4 (C-30), 18.7 (C-29), 18.1 (C-6), 16.5 (C-24), 16.2 (C-25), 15.8 (C-26), 14.6 (C-27).

4.2.22 *3β,28-Di-O-acetylo-18β,19β-epoksyłupan* (**30**)¹³¹

Wychodząc z **28** (2.20 g, 4.18 mmol) i stosując procedurę 4.2.1 otrzymałam **30** (2.20 g, 97%). Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.



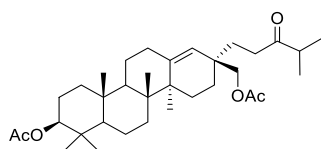
¹H NMR (CDCl₃) δ: 4.47 (dd, 1 H, *J* 5.4 Hz, 11.1 Hz, H-3), 3.73 (s, 3 H, CH₃), 2.75-2.79 (m, 1 H, H-13), 2.14-2.20 (m, 1 H, H-20), 2.04 (s, 3 H, CH₃), 1.95-2.00 (m, 1 H, H-16), 1.85-1.90 (m, 1 H, H-21), 1.07 (d, 3 H, *J* 6.9 Hz, CH₃, H-30), 1.04-1.06 (m, 3 H, CH₃, H-29), 1.05 (s, 3 H, CH₃, H-27), 0.99 (s, 3 H, CH₃, H-26), 0.88 (s, 3 H, CH₃, H-25), 0.84 (s, 3 H, CH₃, H-23), 0.83 (s, 3 H, CH₃, H-24), 0.78-1.74 (m, 22 H, protony lupanowe).

lupanowe).

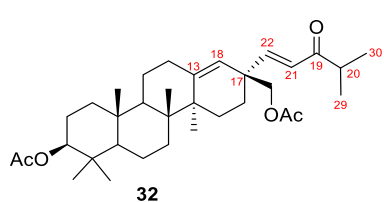
¹³C NMR (CDCl₃) δ: 176.1 (C-28), 171.0 (C), 80.8 (C-3), 75.6 (C-19), 74.8 (C-18), 55.5 (C-5), 54.7 (C-17), 51.8 (CH₃), 51.4 (C-10), 43.0 (C-14), 40.9 (C-9), 38.7 (C-13), 38.5 (C-1), 37.8 (C-4), 37.2 (C-6), 34.2 (C-8), 30.0 (C-22), 29.0 (C-16), 28.8 (C-15), 28.2 (C-20), 27.9 (C-23), 23.6 (C-2), 23.5 (C-12), 23.0 (C-21), 21.28 (CH₃), 21.5 (C-11), 21.03 (CH₃), 19.8 (C-29), 18.8 (C-30), 18.1 (C-7), 16.7 (C-25), 16.6 (C-27), 16.5 (C-24), 16.3 (C-26).

4.2.23 Związek **31**⁵²

Do roztworu **30** (1.00 g, 1.84 mmol) w benzenie (40 ml), dodałam BF₃·Et₂O (454 μl, 3.68 mmol). Reakcję prowadziłam w temperaturze pokojowej do zaniku substratu na TLC (30 min, heksan/octan etylu 10:1). Mieszaninę przesączyłam przez ciekłą warstwę żelu krzemionkowego (2 cm), zateżyłam i rozdzieliłam za pomocą kolumny chromatograficznej (heksan/octan etylu 30:1→20:1) otrzymując **31** (843 mg, 84%) w postaci oleju. Dane analityczne zgodna z danymi literaturowymi.

**4.2.24** Związek **32** i **33**

Do roztworu **31** (218 mg; 0.403 mmol) w benzenie (6 ml) dodałam jodoksybenzen (320 mg, 1.40 mmol) oraz BSA (45 mg, 0.11 mmol, 0.25 ekw.). Reakcję prowadziłam w termobloku w temperaturze 80°C do zaniku substratu na TLC (24 h, heksan/octan etylu 5:1). Po ochłodzeniu do temperatury pokojowej, mieszaninę zateżyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i rozdzieliłam na płycie preparatywnej 0.5mm (heksan/octan etylu 20:1x 5) otrzymując **32** (115 mg, 53%) oraz **33** (75 mg, 6%) w amorficznych proszkach.



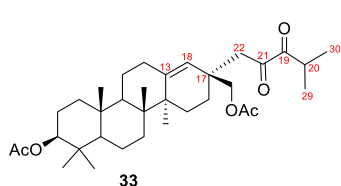
$[\alpha]_D^{20}$ -11.9 (*c* 0.2, chloroform).

ν_{\max} (film): 2944, 2875, 1736, 1697, 1671, 1622, 1451, 1370, 1244, 1030, 980, 755 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 6.81 (d, 1 H, *J* 16.1 Hz, H-22), 6.11 (d, 1 H, *J* 16.1 Hz, H-21), 5.10-5.12 (m, 1 H, H-18), 4.50 (dd, 1 H, *J* 5.4 Hz, 11.0 Hz, H-3), 4.08 (d, 1 H, *J* 11.0 Hz, H-28), 3.94 (d, 1

H, *J* 11.0 Hz, H-28), 2.81-2.90 (m, 1 H, H-20), 2.05 (s, 3 H, CH_3), 2.04 (s, 3 H, CH_3), 1.12 (s, 3 H, CH_3 , H-29), 1.11 (s, 3 H, CH_3 , H-30), 1.10 (s, 3 H, CH_3 , H-27), 0.95 (s, 3 H, CH_3 , H-26), 0.91 (s, 3 H, CH_3 , H-25), 0.87 (s, 3 H, CH_3 , H-23), 0.85 (s, 3 H, CH_3 , H-24), 0.82-2.43 (m, H 18, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 204.2 (C-19), 170.9 (C), 151.5 (C-22), 146.9 (C-13), 126.5 (C-21), 120.5 (C-18), 80.7 (C-3), 67.6 (C-28), 55.5 (C-5), 51.0 (C-9), 43.3 (C-14), 41.4 (C-17), 40.7 (C-8), 37.30 (C-10), 38.6 (C-1), 38.5 (C-20), 37.7 (C-4), 37.3 (C-29), 34.4 (C-7), 32.6 (C-12), 28.0 (C-23), 27.0 (C-16), 26.3 (C-15), 23.6 (C-2), 21.8 (C-11), 21.6 (C-27), 21.3 (CH_3), 20.9 (CH_3), 18.4 (C-30), 18.2 (C-26), 18.1 (C-6), 16.6 (C-24), 16.5 (C-25).



$[\alpha]_D^{20}$ -30.3 (*c* 0.3, chloroform).

ν_{\max} (film): 2969, 2944, 2875, 1736, 1712, 1467, 1369, 1245, 1029, 979, 757 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.12 (s, 1 H, H-18), 4.47-4.52 (m, 1 H, H-3), 4.06 (d, 1 H, *J* 11.1 Hz, H-28), 3.93 (d, 1 H, *J* 11.1 Hz, H-28), 3.31-3.38 (m, 1 H, H-20), 3.03 (d, 1 H, *J* 14.8 Hz, H-22), 2.54 (d,

1 H, *J* 14.8 Hz, H-22), 2.05 (s, 3 H, CH_3), 2.04 (s, 3 H, CH_3), 1.10 (s, 3 H, CH_3 , H-27), 1.08 (d, 3 H, *J* 7.0 Hz, CH_3 , H-29), 1.05 (d, 3 H, *J* 7.0 Hz, CH_3 , H-30), 0.92 (s, 3 H, CH_3 , H-26), 0.90 (s, 3 H, CH_3 , H-25), 0.87 (s, 3 H, CH_3 , H-24), 0.84 (s, 3 H, CH_3 , H-23), 0.81-2.31 (m, 18 H, protony lupanowe).

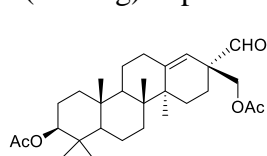
$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 202.9 (C-19), 199.4 (C-21), 171.0 (C), 170.8 (C), 146.4 (C-13), 122.1 (C-18), 80.8 (C-3), 67.7 (C-28), 55.4 (C-5), 50.8 (C-9), 43.3 (C-14), 42.7 (C-22), 40.4 (C-8), 38.6 (C-1), 38.6 (C-17), 37.7 (C-4), 37.2 (C-10), 34.4 (C-7), 33.3 (C-20), 32.4 (C-12), 28.0 (C-23), 26.2 (C-16), 26.0 (C-15), 23.6 (C-2), 21.7 (C-11), 21.3 (CH_3), 20.9 (C-27), 20.9 (CH_3), 18.1 (C-6), 18.1 (C-26), 17.8 (C-30), 17.6 (C-29), 16.6 (C-24), 16.5 (C-25).

HR-MS (EI) $\text{C}_{34}\text{H}_{52}\text{O}_6$ $[\text{M}]^+$ obliczona: 556.3764; zmierzona: 556.3766.

4.2.25 Związek 34

Metoda A: Wychodząc z **32** (150 mg, 0.280 mmol) i stosując procedurę 4.2.10 otrzymałam **34** (27 mg, 21%) w postaci amorficznego proszku.

Metoda B: Do roztworu **32** (529.9 mg, 0.98 mmol) w pirydynie (25 ml) dodałam czterotlenek osmu (250 mg, 0.98 mmol). Reakcję prowadziłam w temperaturze pokojowej do zaniku substratu na TLC (120 h, heksan/octan etylu 5:1). Powstałe estry osmowe rozłożyłam dodając do mieszaniny nasycony roztwór $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (10 ml) i mieszając przez kolejne 72 godziny. Następnie mieszaninę zatężyłam i przesączyłam przez żel krzemionkowy, otrzymując surowy **34** (450 mg) w postaci amorficznego proszku.



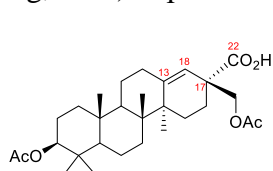
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 9.31 (s, 1 H, H-22), 5.07 (s, 1 H, H-18), 4.49 (dd, 1 H, *J* 5.6 Hz, 10.9 Hz, H-3), 4.20 (d, 1 H, *J* 11.3 Hz, H-28), 4.14 (d, 1 H, *J* 11.3 Hz, H-28), 2.04 (s, 3 H, CH_3), 2.02 (s, 3 H, CH_3), 1.15 (s, 3 H, CH_3), 0.92 (s, 3 H, CH_3), 0.90 (s, 3 H, CH_3), 0.86 (s, 3 H, CH_3), 0.84 (s, 3 H, CH_3), 0.82-2.39 (m, 18 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 201.8 (C-22), 171.0 (C), 171.0 (C), 150.4 (C-13), 114.4 (C-18), 80.7 (C-3), 64.5 (C-28), 55.4 (C-5), 51.5, 50.7, 43.5, 40.6, 38.6, 37.7, 37.3, 34.5, 32.6, 28.0, 25.4, 23.6, 21.7, 21.3, 21.3, 21.0, 20.8, 18.1, 18.1, 16.6, 16.5.

HR-MS (ESI) $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{NaO}_5$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 495.3070; zmierzona: 495.3086.

4.2.26 Związek 35

Do roztworu **34** (450 mg, 0.921 mmol) w acetonie (15 ml) dodałam odczynnik Jonesa (1.5 ml). Roztwór mieszałam w temperaturze pokojowej do zaniku substratu na TLC (1 h, heksan/octan etylu: 5:1). Nadmiar utleniacza rozłożyłam dodając do mieszaniny izopropanol (1 ml) i mieszałam przez kolejne 20 minut. Powstający osad zdekantowałam i przemyłam acetonem. Otrzymany roztwór zatężyłam. Mieszaninę rozdzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej (heksan/octan etylu 5:1→heksan/octan etylu/metanol 5:3:1) otrzymując **35** (296 mg, 49%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ -12.2 (*c* 0.2, chloroform).

ν_{\max} (film): 2946, 2878, 1739, 1705, 1453, 1370, 1246, 1032, 979, 738 cm^{-1} .

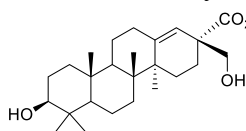
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.31-5.33 (m, 1 H, H-18), 4.48-4.52 (m, 1 H, H-3), 4.20 (s, 2 H, H-28), 2.05 (s, 3 H, CH_3), 2.04 (s, 3 H, CH_3), 1.15 (s, 3 H, CH_3 , H-27), 0.92 (s, 3 H, CH_3 , H-26), 0.91 (s, 3 H, CH_3 , H-25), 0.87 (s, 3 H, CH_3 , H-23), 0.84 (s, 3 H, CH_3 , H-24), 0.82-2.33 (m, 19 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 180.3 (C-22), 171.1 (C), 170.9 (C), 148.1 (C-13), 117.6 (C-18), 80.8 (C-3), 66.7 (C-18), 55.4 (C-5), 50.7 (C-9), 47.4 (C-17), 43.3 (C-14), 40.5 (C-8), 38.6 (C-1), 37.7 (C-4), 37.3 (C-10), 34.3 (C-7), 32.4 (C-12), 28.0 (C-23), 25.73 (C-15), 23.6 (C-2), 23.0 (C-16), 21.7 (C-11), 21.6 (CH_3), 21.1 (C-27), 20.9 (CH_3), 18.1 (C-26), 18.1 (C-6), 16.6 (C-24), 16.5 (C-25).

HR-MS (ESI) $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{NaO}_6$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 511.303; zmierzona: 511.3060.

4.2.27 Związek 36

Do roztworu **35** (49 mg, 0.10 mmol) w metanolu (3 ml) dodałam chlorek acetylu (10 μl). Reakcję prowadziłam w temperaturze pokojowej do zaniku substratu na TLC (24 h, heksan/octan etylu 1:1). Następnie roztwór zobojętniłam Et_3N (2 krople). Mieszaninę zatężyłam i rozdzieliłam na płycie preparatywnej 0.5mm (heksan/octan etylu 7:3 x 2, heksan/octan etylu 1:1) otrzymując **36** (23 mg, 55%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ -8.7 (*c* 0.2, chloroform).

ν_{\max} (film): 3413, 2927, 2871, 1722, 1457, 1381, 1291, 1210, 1133, 1101, 1039, 977, 737 cm^{-1} .

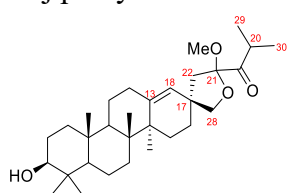
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.30 (s, 1 H, H-18), 4.23 (s, 6 H), 3.73 (d, 1 H, *J* 11.0, H-28), 3.58 (d, 1 H, *J* 11.0, H-28), 3.17-3.24 (m, 1 H, H-3), 1.16 (s, 3 H, CH_3), 0.98 (s, 3 H, CH_3), 0.92 (s, 3 H, CH_3), 0.89 (s, 3 H, CH_3), 0.77 (s, 3 H, CH_3), 0.73-2.34 (m, 17 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 171.1 (C-22), 146.3 (C-13), 118.6 (C-18), 78.3 (C-3), 65.4 (C-28), 55.1 (C-5), 51.6, 50.6, 49.7, 42.9, 40.1, 38.7, 38.5, 37.0, 34.2, 32.1, 27.6, 25.5, 22.5, 21.4, 21.0, 20.8, 17.9, 17.7, 16.0, 15.1.

HR-MS (ESI) $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{NaO}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 441.2976; zmierzona: 441.2981.

4.2.28 Związek 37

Wychodząc z **33** (32 mg, 0.057 mmol) i stosując procedurę 4.2.27 otrzymałam **37** (22 mg, 79%) białej piany.



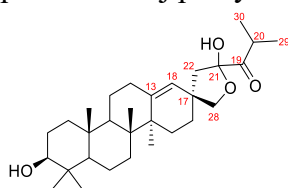
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.30 (s, 1 H, H-18), 3.38 (d, 1 H, *J* 8.3 Hz, H-28), 3.67 (d, 1 H, *J* 8.3 Hz, H-28), 3.19-3.26 (m, 1 H, H-3), 3.18 (s, 3 H, CH_3), 3.07-3.15 (m, 1 H, H-20), 1.12 (s, 3 H, CH_3), 1.11 (s, 3 H, CH_3), 1.10 (s, 3 H, CH_3), 0.99 (s, 3 H, CH_3), 0.87 (s, 3 H, CH_3), 0.85 (s, 3 H, CH_3), 0.77 (s, 3 H, CH_3), 0.70-2.30 (m, 23 H, protony lupanowe).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 211.2 (C-19), 144.0 (C-13), 125.7 (C-18), 110.2 (C-21), 79.0 (C-3), 76.5 (C-28), 55.4 (C-5), 50.9, 50.6, 49.5, 43.6, 42.8, 40.3, 38.9, 38.8, 37.4, 35.1, 35.1, 34.5, 32.2, 31.8, 28.1, 27.3, 21.8, 20.6, 19.2, 19.1, 18.2, 17.8, 16.4, 15.5.

HR-MS (EI) $\text{C}_{34}\text{H}_{52}\text{O}_6$ $[\text{M}]^+$ obliczona: 556.3766; zmierzona: 556.3764.

4.2.29 Związek 38

Do roztworu **33** (40 mg, 0.072 mmol) w metanolu (2 ml) dodałam węglan potasu (20 mg, 0.14 mmol). Reakcję prowadziłam w temperaturze 25°C do zaniku substratu na TLC (48 h, heksan/octan etylu 5:1). Mieszaninę zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i rozdzieliłam na płycie preparatywnej 0.5 mm (heksan/octan etylu 3:1 x 2). Otrzymałam **38** (18 mg, 46%) w postaci białej piany.



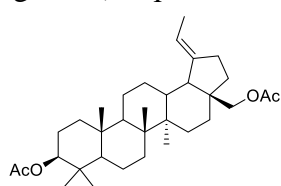
^1H NMR (CDCl_3) δ : 5.23 (s, 1 H, C-18), 4.29 (s, 1H), 3.94-3.96 (m, 1 H, H-28), 3.84-3.86 (m, 1 H, 28), 3.24-3.29 (m, 1 H, H-3), 3.13-3.20 (m, 1 H, H-20), 1.18 (s, 3 H, CH_3 , H-27), 1.03 (s, 3 H, CH_3 , H-23), 0.91 (s, 3 H, CH_3 , H-25), 0.90 (s, 3 H, CH_3 , H-26), 0.81 (s, 3 H, CH_3), 0.75-2.30 (m, 27 H, protony lupanowe).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 212.4 (C-19), 143.6 (C-13), 125.9 (C-18), 105.2 (C-21), 78.9 (C-3), 77.8 (C-28), 55.4 (C-5), 50.9 (C-9), 50.0 (C-22), 44.1 (C-17), 42.4 (C-14), 40.4 (C-8), 39.0 (C-1), 38.9 (C-4), 37.4 (C-25), 34.6 (C-7), 33.5 (C-20), 32.2 (C-12), 32.0 (C-16), 28.4 (C-15), 28.0 (C-23), 27.4 (C-2), 21.9 (C-11), 20.7 (C-27), 20.0 (C-29), 19.6 (C-30), 18.2 (C-6), 17.9 (C-26), 16.4 (C-25), 15.5 (C-24).

HR-MS (ESI) $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{NaO}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 495.3440; zmierzona: 495.3450.

4.2.30 $3\beta,28$ -Di-*O*-acetylo-30-nor-lup-19(20)-en (**39**)¹³²

Do roztworu **14/15** (480 mg, 0.936 mmol) w pirydynie (10 ml) dodałam POCl_3 (3.34 ml, 9.36 mmol). Całość mieszałam w temperaturze 60°C do zaniku substratu na TLC (1 h, heksan/octan etylu 5:1). Po ochłodzeniu mieszaniny do temperatury pokojowej, pozostałości POCl_3 rozłożyłam wylewając ostrożnie mieszaninę na lód. Po rozpuszczeniu lodu do mieszaniny dodałam 20 ml dichlorometanu i rozdzieliłam fazy. Fazę wodną przemyłam dichlorometanem (2 x 15 ml). Połączone fazy organiczne zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i oczyściłam za pomocą chromatografii kolumnowej (heksan/octan etylu 40:1 \rightarrow 20:1) otrzymując **39** (439 mg, 95%) w postaci białej piany.

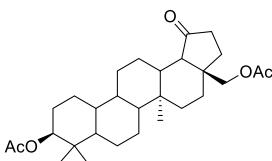


^1H NMR (CDCl_3) δ : 5.31-5.38 (m, 1 H, H-20), 4.48 (dd, 1 H, J 5.6 Hz, 10.6 Hz, H-3), 4.14 (d, 1 H, J 11.5 Hz, H-28), 3.54 (d, 1 H, J 11.5 Hz, H-28), 2.21-2.32 (m, 1 H, H-19), 2.04 (s, 6 H, 2 x CH_3), 1.04 (s, 3 H, CH_3), 0.98 (s, 3 H, CH_3), 0.87 (s, 3 H, CH_3), 0.85 (s, 6 H, 2 x CH_3), 0.79-2.10 (m, 26 H, protony lupanowe).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 171.5 (C), 170.9 (C), 143.2 (C-19), 114.1 (C-20), 80.9 (C-3), 62.9 (C-28), 55.5 (C-5), 50.7, 50.4, 43.9, 42.7, 40.9, 38.4, 37.8, 37.1, 35.1, 34.0, 32.3, 28.5, 27.9, 26.8, 25.4, 25.3, 23.7, 21.3, 21.0, 20.8, 18.2, 16.4, 16.2, 16.0, 15.3, 14.0.

4.2.31 $3\beta,28$ -Di-*O*-acetylo-20,29,30-trinor-lup-19-on (**40**)¹³²

Wychodząc z **39** (135 mg; 0.253 mmol) i stosując procedurę 4.2.10 otrzymałam **40** (116 mg, 89 %) w postaci białej piany.



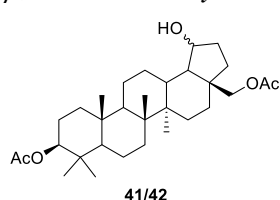
^1H NMR (CDCl_3) δ : 4.43-4.52 (m, 1 H, H-3), 4.10 (m, 1 H, H-28), 3.90 (m, 1 H, H-28), 2.46-2.57 (m, 1 H), 2.04 (s, 3 H, CH_3), 1.03 (s, 3 H, CH_3), 0.95 (s, 3 H, CH_3), 0.87 (s, 3 H, CH_3), 0.83-0.86 (m, 6 H, 2 x CH_3), 0.78-2.26 (m, 22 H, protony lupanowe).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 215.7, 170.9, 180.8, 80.8 (C-3), 63.4 (C-28), 55.8, 50.3, 42.6, 40.8, 38.4, 37.8, 37.1, 35.2, 34.1, 33.4, 30.7, 30.3, 27.9, 26.9, 23.4, 21.2, 20.8, 20.3, 18.1, 16.4, 16.1, 15.9, 14.3.

4.2.32 Redukcja norketonu **40**

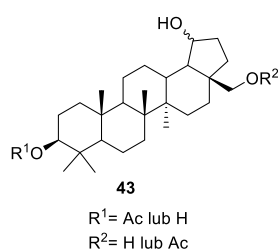
Wychodząc z z **40** (100 mg; 0.120 mmol) i stosując procedurę 4.2.11 otrzymałam mieszaninę **41/42** (20 mg, 20 %) oraz mieszaninę **43** (22mg, 22%) w postaci białych pian.

3 β ,28-Di-O-acetylo-20,29,30-trinor-lup-3 β ,19,28-triol (41/42)



^1H NMR (CDCl_3) δ : wybrane sygnały: 4.45-4.50 (m, 2 H), 4.04-4.18 (m, 2 H), 2.09 (s, 6 H, 2 x CH_3), 2.04 (s, 6 H, 2 x CH_3)

^{13}C NMR (CDCl_3) δ : wybrane sygnały: 171.3, 171.3, 171.1, 170.9, 80.9, 79.9, 72.0, 71.8, 63.8, 63.7, 55.5, 55.2



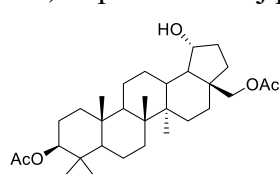
Mieszanina **43**

^1H NMR (CDCl_3) δ : wybrane sygnały: związek A: 4.50-4.60(m, 1 H), 3.38-3.45(m, 1 H), 3.10-3.17(m, 1 H), 2.13(s, 3H, CH_3), związek B: 4.11-4.15(m, 1 H), 3.89-3.92(m, 1H) 3.85-3.92(m, 1 H), 2.13(s, 3 H, CH_3)

^{13}C NMR (CDCl_3) δ :wybrane sygnały: związek A:179.8, 171.1, 80.9, 65.1, 55.6, 51.92, 45.93, 42.84, 37.8, związek B: 179.8, 171.0, 78.9, 72.3, 55.5, 51.0, 40.8, 37.8.

4.2.33 *3 β ,28-Di-O-acetylo-20,29,30-trinor-lup-3 β ,19,28-triol (42)*

Do roztworu **40** (87 mg, 0.17 mmol) w MeOH (3 ml) dodałam NaBH_3CN (53 mg, 0.85 mmol). Reakcję prowadziłam w temperaturze pokojowej do zaniku substratu na TLC (24 h, heksan/octan etylu 3:1). Mieszaninę zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i rozdzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej (heksan/octan etylu 15:1→5:1) otrzymując **42** (15 mg, 17%) w postaci białej piany.



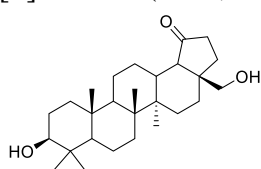
^1H NMR (CDCl_3) δ :4.44-4.51 (m, 1 H), 4.32 (s, 1 H), 4.23-4.28 (1 H), 2.05 (s, 3 H, CH_3), 2.04 (s, 3 H, CH_3), 1.07 (s, 3 H, CH_3), 0.95 (s, 3 H, CH_3), 0.87 (s, 3 H, CH_3), 0.85 (bs, 6 H, 2 x CH_3), 0.76-1.98 (m, 26 H, protony lupanowe).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 171.3, 171.1, 80.7, 71.9, 63.8, 55.5 (C-5), 53.0, 50.4, 44.8, 42.2, 40.9, 38.4, 37.8, 37.1, 35.1, 34.1, 33.6, 32.4, 29.9, 27.0, 27.1, 25.4, 23.6, 21.3, 21.1, 20.6, 18.2, 16.5, 16.1, 16.0, 14.7.

4.2.34 *20,29,30-trinor-lup-19-on-3 β ,28-ol (44)*¹³²

Wychodząc z z **40** (100 mg; 0.120 mmol) i stosując procedurę 4.2.29 otrzymałam **44** (74 mg, 90%) w postaci białej piany. Dane fizykochemiczne zgodne z danymi literaturowymi.

$[\alpha]_D^{20}$ 28.5 (c 0.3, chloroform)



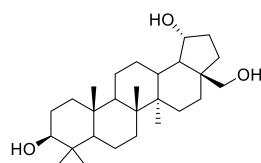
ν_{max} (film): 3418, 2944, 2871, 1723, 1453, 1375, 1249, 1060, 1031, 983, 755 cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3) δ : 3.50-3.60 (m, 2 H), 3.35-3.40 (m, 1 H), 3.15-3.22 (m, 1 H), 1.02 (s, 3 H, CH_3), 0.96 (s, 3H, CH_3), 0.86 (s, 3 H, CH_3), 0.82 (s, 3 H, CH_3), 0.76 (s, 3 H, CH_3), 0.66-2.30 (m, 25 H, protony lupanowe).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 223.2, 171.2, 80.9, 78.3, 65.3, 55.2, 52.8, 43.7, 40.9, 38.7, 38.6, 37.3, 37.0, 36.6, 33.7, 29.2, 27.6, 26.3, 24.9, 23.4, 21.5, 20.6, 18.0, 16.2, 15.11.

4.2.35 3 β ,19,28-Tri-O-acetylo-20,29,30-trinor-lup-3 β ,19,28-triol (45)

Wychodząc z **40** (100 mg, 0.211 mmol) i stosując procedurę 4.2.8 otrzymałam **45** (60 mg, 93%) w postaci oleju.



$[\alpha]_D^{20}$ 30.3 (*c* 0.2, chloroform).

ν_{\max} (film): 3359, 2937, 2869, 2486, 2427, 1461, 1376, 1116, 1033 cm^{-1} .

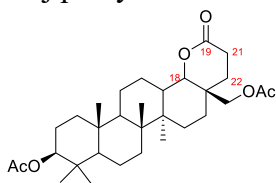
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 4.15-4.19 (m, 1 H), 3.96 (d, 1 H, *J* 11.4 Hz), 3.36 (d, 1 H, *J* 11.4 Hz), 3.16 (dd, 1 H, *J* 5.3 Hz, 11.1 Hz), 1.07 (s, 3 H, CH_3), 0.98 (s, 3 H, CH_3), 0.96 (s, 3 H, CH_3), 0.88 (s, 3 H, CH_3), 0.77 (s, 3 H, CH_3), 0.72-2.21 (m, 23 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 78.4 (C-3), 71.8 (C-19), 63.8 (C-28), 55.4 (C-5), 51.9, 50.4, 45.9, 42.2, 40.8, 38.8, 37.1, 35.1, 34.5, 34.1, 33.2, 32.3, 27.6, 26.7, 24.7, 20.5, 18.2, 15.7, 15.0, 14.3.

LR-MS (EI) $\text{C}_{25}\text{H}_{42}\text{O}_3[\text{M}]^+$ obliczona: 390.31; zmierzona: 390.31.

4.2.36 Związek 46

Do roztworu **40** (100 mg, 0.211 mmol) w dichlorometanie (5 ml) dodałam m-CPBA (135 mg, 0.782 mmol) oraz NaHCO_3 (101 mg, 1.01 mmol). Reakcję prowadziłam w temperaturze pokojowej do zaniku substratu na TLC (24 h, heksan/octan etylu 5:1). Następnie do mieszaniny reakcyjnej dodałam nasycony roztwór $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (1ml), nasycony roztwór NaHCO_3 (1ml) oraz wodę (3ml), mieszałam do sklarowania roztworu. Rozdzieliłam fazy. Fazę wodną przemyłam dichlorometanem (2 x 5 ml). Połączone fazy organiczne zatężyłam, przesączyłam przez cienką warstwę żelu krzemionkowego otrzymując jako jedyny produkt **46** (78 mg, 75%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ -1.3 (*c* 0.2, chloroform).

ν_{\max} (film): 2944, 2874, 1738, 1458, 1389, 1366, 1245, 1032, 981, 756 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 4.45-4.51 (m, 1 H, H-3), 4.24 (d, 1 H, *J* 11.82 Hz, H-28), 4.18 (d, 1 H, *J* 11.82 Hz, H-28), 3.99 (d, 1 H, *J* 11.2 Hz, H-18), 2.61-2.65 (m, 2 H, H-21), 2.07 (s, 3 H, CH_3), 2.05 (s, 3 H, CH_3), 1.05 (s, 3 H, CH_3 , H-26), 0.99 (s, 3 H, CH_3 , H-27), 0.89 (s, 3 H, CH_3 , H-25), 0.85 (s, 6 H, 2 x CH_3), 0.79-1.77 (m, 21 H, protony lupanowe).

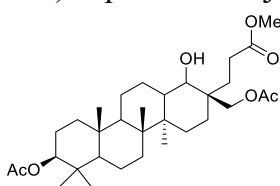
$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 172.5 (C-19), 171.1 (C), 170.8 (C), 83.6 (C-18), 80.7 (C-3), 62.7 (C-28), 55.5 (C-5), 50.4 (C-9), 42.4 (C-14), 40.9 (C-8), 38.5 (C-1), 37.8 (C-4), 37.1 (C-10), 37.0 (C-13), 36.9 (C-17), 33.3 (C-7), 30.0 (C-22), 29.9 (C-16), 27.9 (C-23), 27.5 (C-21), 26.0 (C-15), 23.6 (C-2), 23.0 (C-12), 21.3 (CH_3), 20.8 (CH_3), 20.2 (C-11), 18.0 (C-6), 16.4 (C-24), 16.3 (C-25), 15.8 (C-27), 15.0 (C-26).

Anal. Element. $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_6$ obliczona: C 72.06, H 9.36; zmierzona: C 72.10, H 9.38.

HR-MS (ESI) $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 539.3349; zmierzona: 539.3349.

4.2.37 Związek 47

Do roztworu **46** (50 mg, 0.096 mmol) w DMF (3 ml) dodałam CH_3I (42 mg, 0.30 mmol) oraz NaHCO_3 (10 mg). Reakcję prowadziłam w temperaturze pokojowej do zaniku substratu na TLC (48 h, heksan/octan etylu 1:1). Mieszaninę zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i oczyściłam na płycie preparatywnej 0.5 mm (heksan/octan etylu 2:1x 2) otrzymując **47** (50 mg, 95%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ 28.1 (*c* 0.2, chloroform).

ν_{\max} (film): 3534, 2945, 2872, 1736, 1452, 1370, 1247, 1175, 1035, 981, 756 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 4.45-4.51 (m, 1 H, H-3), 4.35 (d, 1 H, *J* 11.6 Hz, H-28), 4.14 (dd, 1 H, *J* 11.6 Hz, H-28), 3.68 (s, 3 H, CH_3), 3.26-3.34 (m, 1 H, H-18), 2.34-2.49 (m, 2 H), 2.07 (s, 3 H, CH_3), 2.04 (s, 3 H,

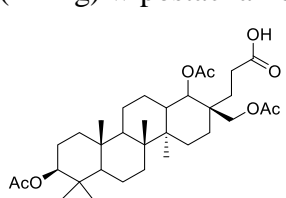
CH₃), 1.02 (s, 3 H, CH₃), 0.90. (s, 3 H, CH₃), 0.88 (s, 3 H, CH₃), 0.85 (s, 6 H, 2 x CH₃), 0.77-1.95 (m, 22 H, protony lupanowe).

¹³C NMR (CDCl₃) δ: 175.0, 171.0, 170.7, 80.8 (C-3), 75.2 (C-18), 65.1 (C-28), 55.5, 51.7, 50.6, 42.0, 40.8, 40.7, 39.5, 38.5, 37.8, 37.1, 33.4, 31.8, 28.6, 27.9, 26.5, 26.1, 24.5, 23.6, 21.3, 21.0, 20.7, 18.1, 16.4, 16.3, 15.7, 15.0.

HR-MS (ESI) C₃₂H₅₂O₇ [M+Na]⁺ obliczona: 571.3618; zmierzona: 571.3611.

4.2.38 Związek 48

Do roztworu **46** (50 mg, 0.10 mmol) w miesznieniu metanol/chlorek metylenu 1:1 (5 ml) dodałam wodorotlenek litu. Reakcję prowadziłam w temperaturze pokojowej do zaniku substratu na TLC (72 h, heksan/octan etylu 5:1). Mieszaninę poreakcyjną zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i rozpuściłam w pirydynie (3 ml), dodałam bezwodnik octowy (0.5 ml). Całość mieszałam w temperaturze pokojowej do zaniku substratu na TLC (24 h, heksan/octan etylu 5:1). Mieszaninę zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i oczyściłam za pomocą płyty preparatywnej 0.5 mm (heksan/octan etylu 5:1) otrzymując mieszaninę **48** i **46** (42 mg) w postaci amorficznego proszku.



¹H NMR (CDCl₃) δ: wybrane sygnały: 4.46-4.50 (m, 1 H), 4.15-4.27 (m, 1 H), 3.99 (d, 1 H, *J* 11.3 Hz), 2.60-2.66 (m, 1 H), 2.08 (s, 3 H, CH₃), 2.07 (s, 3 H, CH₃), 2.04 (s, 3 H, CH₃), 1.03 (s, 3 H, CH₃), 1.02 (s, 3 H, CH₃), 0.87 (s, 3 H, CH₃), 0.84 (s, 3 H, CH₃).

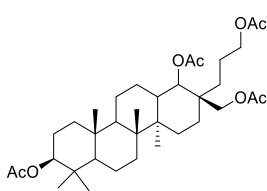
¹³C NMR (CDCl₃) δ: wybrane sygnały: 172.2, 170.9, 170.2, 80.7, 78.2, 68.8, 55.4, 50.3, 42.4, 40.8, 38.4, 37.7, 37.2, 37.0, 33.4, 30.6, 29.0,

27.8, 27.6, 24.2, 23.6, 20.8, 18.0, 16.34, 15.6.

4.2.39 Związek 49

Wychodząc **46** (100 mg, 0.194 mmol) i stosując procedurę 4.2.8 otrzymałam **49** (52 mg, 64%) w postaci oleju. Analizę przeprowadziłam dla jego peracetylowanej pochodnej otrzymanej wg. poniższego przepisu.

Do roztworu **49** (40 mg, 0.092 mmol) w pirydynie (3 ml) dodałam bezwodnik octowy (0.5 ml). Reakcję prowadziłam w temperaturze pokojowej do zaniku substratu na TLC (2 h, heksan/octan etylu 3:1). Mieszaninę zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i oczyściłam za pomocą płyty preparatywnej 0.5 mm (heksan/octan etylu 5:1 x 2). Otrzymałam **49Ac** (65 mg, 90 %) w postaci białej piany.



[α]_D²⁰ 13.6 (c 0.3, chloroform).

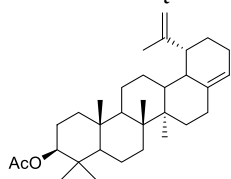
ν_{max} (film): 3451, 2946, 2873, 1738, 1451, 1369, 1243, 1032, 980 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ: 4.94 (d, 1 H, *J* 11.3 Hz, H-28), 4.47 (dd, 1 H, *J* 11.1 Hz, 6.3 Hz, H-3), 4.36 (d, 1 H, *J* 11.3 Hz, H-28), 3.92-4.10 (m, 3 H), 2.07 (s, 3 H, CH₃), 2.03-2.05 (m, 9 H, 3 x CH₃), 1.02 (s, 3 H, CH₃), 0.98 (s, 3 H, CH₃), 0.87 (s, 3 H, CH₃), 0.85 (s, 3 H, CH₃), 0.84 (s, 3 H, CH₃), 0.78-

1.75 (m, 23 H, protony lupanowe).

¹³C NMR (CDCl₃) δ: 171.1, 171.1, 170.9, 170.5, 80.8 (C-3), 76.7 (C-18), 65.0 (C-28), 64.9, 55.5, 50.5, 42.4, 40.7, 40.5, 38.5, 37.9, 37.8, 37.1, 33.5, 32.5, 27.9, 26.0, 25.9, 24.5, 23.6, 22.5, 21.3, 21.0, 20.9, 20.8, 20.5, 18.1, 16.5, 16.4, 15.7, 15.0.

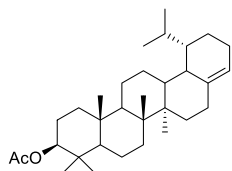
HR-MS (ESI) C₃₅H₅₆NaO₈ [M+Na]⁺ obliczona: 627.3873; zmierzona: 627.3868.

4.2.40 Związek 51⁴⁸

Wychodząc z **50** (3.78 g; 7.72 mmol) i stosując procedurę 4.2.30 otrzymałam **51** (3.3 g; 92%). Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.

4.2.41 Związek 53

Wychodząc z **52** (1.50 g, 3.08 mmol) i stosując procedurę 4.2.30 otrzymałam **53** (2.28 g, 95%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20} - 20.5$ (*c* 0.2, chloroform).

ν_{\max} (film): 2946, 2869, 1732, 1451, 1370, 1247, 1026, 981, 740 cm^{-1}

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.28-5.34 (m, 1 H, H-28), 4.45-4.53 (m, 1 H, H-3), 2.05 (s, 3 H, CH_3), 1.05 (s, 3 H, CH_3), 0.95 (s, 3 H, CH_3), 0.86 (s, 3 H, CH_3), 0.85 (s, 3 H, CH_3), 0.84 (s, 3 H, CH_3), 0.86-0.90 (m, 6 H, 2 x CH_3), 0.75-

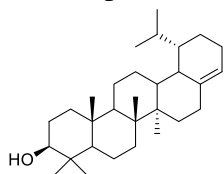
2.17 (m, 26 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 171.1, 141.6 (C-17), 117.5 (C-28), 81.0 (C-3), 55.4, 50.3, 43.3, 42.5, 40.9, 40.2, 38.5, 37.8, 37.1, 34.5, 34.0, 33.2, 29.7, 28.1, 27.9, 25.6, 23.7, 22.1, 21.3, 21.2, 21.1, 20.8, 20.7, 18.2, 16.5, 16.3, 15.8, 14.8.

Anal. Element. $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_2$ obliczona: C 81.99, H 11.18; zmierzona: C 82.09, H 11.20.

4.2.42 Związek 54

Wychodząc z **53** (120 mg, 0.256 mmol) i stosując procedurę 4.2.4 otrzymałam **54** (102 mg, 95%) w postaci oleju.



$[\alpha]_D^{20} - 41.3$ (*c* 0.2, chloroform).

ν_{\max} (film): 3367, 2943, 2866, 1450, 1386, 1034, 1012, 996, 759 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.29-5.34 (m, 1 H, H-28), 3.16-3.23 (m, 1 H, H-3), 1.05 (s, 3 H, CH_3), 0.98 (s, 3 H, CH_3), 0.95 (s, 3 H, CH_3), 0.86-0.89 (m, 6 H, 2 x CH_3), 0.84 (s, 3 H, CH_3), 0.76 (s, 3 H, CH_3), 0.70-2.16 (m, 27 H,

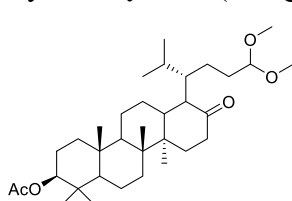
protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 141.6 (C-17), 117.5 (C-28), 79.2 (C-3), 55.3, 50.4, 43.3, 42.6, 40.9, 40.3, 38.8, 38.8, 38.5, 37.2, 34.5, 34.1, 33.2, 28.1, 28.0, 27.4, 25.7, 22.1, 21.2, 21.1, 20.8, 20.7, 18.3, 16.2, 15.8, 15.4, 17.9.

MS-HR (EI) $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ $[\text{M}]^+$ obliczona : 426.3863; zmierzona: 426.3862.

4.2.43 Związek 55

Wychodząc z **53** (3.12g, 6.66 mmol) i stosując procedurę 4.2.10 otrzymałam **55** (2.40 g, 75%).



ν_{\max} (film): 2949, 2873, 1732, 1708, 1452, 1370, 1246, 1126, 1026, 980, 736 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 4.47-4.50 (m, 1 H, H-3), 4.27-4.32 (m, 1 H, H-28), 3.31 (s, 3 H, CH_3), 3.30 (s, 3 H, CH_3), 2.05 (s, 3 H, CH_3), 1.06 (s, 3 H, CH_3), 1.01 (s, 3 H, CH_3), 0.93 (d, 3 H, J 6.7 Hz, CH_3), 0.89 (s, 3 H, CH_3), 0.86 (s, 3 H, CH_3), 0.85 (s, 3 H, CH_3), 0.83 (d, 3

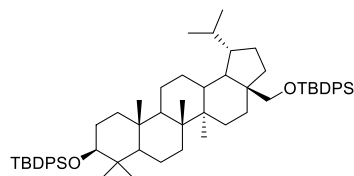
H, J 6.7 Hz, CH_3), 0.79-2.37 (m, 26 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ : 214.1 (C-17), 171.0, 104.8 (C-28), 80.8 (C-3), 55.5, 55.5, 52.9, 52.9, 52.5, 50.8, 45.1, 41.5, 41.1, 40.7, 38.7, 38.6, 37.8, 37.1, 34.1, 33.9, 31.2, 30.6, 27.9, 27.56, 25.5, 23.6, 21.9, 21.3, 21.2, 18.1, 16.5, 16.4, 15.6, 14.8.

Anal. Element. $\text{C}_{34}\text{H}_{58}\text{O}_5$ obliczona: C 74.68, H 10.69; zmierzona: C 74.47, H 10.77.

4.2.44 3β,28-Di-O-tert-butylodifenylo-dihydrobetulina (61)

Do roztworu **60** (4.00 g, 7.76 mmol) w dichlorometanie (50 ml) dodałam Cl-TBDPS (2.5 ml, 9.8 mmol) oraz imidazol (1.34 g, 19.7 mmol). Reakcję prowadziłam w temperaturze 50°C pod chłodnicą powietrzną do zaniku substratu na TLC (6 h, heksan/octan etylu 10:1). Mieszaninę zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i oczyściłam za pomocą chromatografii kolumnowej (heksan/octan etylu 40:1→10:1) uzyskując **61** (6.62 g, 95%) w postaci amorficznego proszku.



$[\alpha]_D^{20}$ -11.7 (*c* 0.2, chloroform)

ν_{\max} (film): 2952, 2860, 1466, 1387, 1362, 1252, 1089, 1006, 882, 837, 772, 671 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.63-7.73 (m, 8 H, Ar), 7.32-7.74 (m, 12 H, Ar), 3.61-3.66 (m, 1 H, H-28), 3.27 (m, 1 H, H-28), 3.27 (d, 1 H, *J* 9.9 Hz, H-28), 3.22 (dd, 1 H, *J* 4.4 Hz, 11.7 Hz, H-3), 2.02-

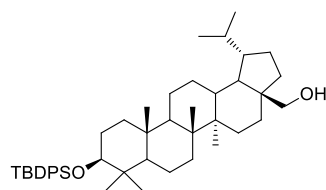
2.12 (m, 1H), 1.04 (s, 9 H, 3 x CH_3), 1.03 (s, 9 H, 3 x CH_3), 0.95 (s, 3 H, CH_3), 0.90 (s, 3 H, CH_3), 0.83 (s, 3 H, CH_3), 0.76 (s, 3 H, CH_3), 0.73 (s, 3 H, CH_3), 0.70 (s, 3 H, CH_3), 0.63 (s, 3 H, CH_3), 0.63-1.76 (m, 24 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 135.9 (4 x C, Ar), 135.7 (2 x C, Ar), 135.6 (2 x C, Ar), 135.6 (Ar), 134.22(Ar), 134.1 (Ar), 134.0 (Ar), 129.5 (Ar), 129.4 (Ar), 129.4 (Ar), 129.2 (Ar), 127.6 (2 x C, Ar), 127.6 (2 x C, Ar), 127.5 (2 x C, Ar), 127.2 (2 x C, Ar), 81.0 (C-3), 61.1 (C-28), 55.2 (C), 49.8, 48.5, 47.5, 44.6, 42.7, 40.7, 39.7, 38.4, 36.8, 36.7, 34.5, 34.2, 29.6, 29.5, 28.4, 27.7, 27.1 (C x 2), 26.9 (C x 2), 26.9, 26.9, 26.8, 22.9, 21.7, 20.6, 19.6, 19.4, 18.4, 16.3, 16.0, 15.7, 14.8, 14.6.

4.2.45 3β-O-tert-Butylodifenylo-dihydrobetulina (62)

Do roztworu **61** (50 mg, 0.054 mmol) w THF (4 ml) dodałam 1M roztwór fluorku tetrabutylamoniowego w THF (0.025ml, 0.025 mmol). Reakcję prowadziłam w temperaturze pokojowej do zaniku substratu na TLC (24 h, heksan/octan etylu 10:1). Mieszaninę zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i oczyściłam na płycie preparatywnej 0.5mm (heksan/octan etylu 5:1x 2) otrzymując **62** (28 mg, 74%) w postaci amorficznego proszku.

$[\alpha]_D^{20}$ -10.1 (*c* 0.4, chloroform)



ν_{\max} (film): 3333, 2951, 2865, 1464, 1385, 1253, 1103, 1029, 883, 839, 773 cm^{-1} .

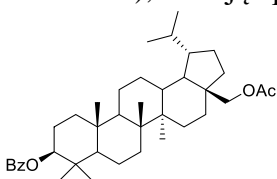
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.70- 7.73 (m, 2 H, Ar), 7.67-7.70 (m, 2 H, Ar), 7.34-7.44 (m, 6 H, Ar), 3.75 (d, 1 H, *J* 10.9 Hz H-28), 3.28 (d, 1 H, *J* 10.9 Hz, H-28), 3.21-3.26 (m, 1 H, H-3), 1.04 (s, 9 H, 3 x CH_3), 0.99 (s, 3 H, CH_3), 0.95 (s, 3 H, CH_3), 0.91 (s, 3 H, CH_3),

0.89 (s, 3 H, CH_3), 0.81 (d, 3 H, *J* 6.4 Hz, CH_3), 0.80 (s, 3 H, CH_3), 0.73 (d, 3 H, *J* 6.4 Hz, CH_3), 0.73-2.32 (m, 27 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 136.0 (3 x C, Ar), 135.5 (Ar), 134.6 (Ar), 134.2 (Ar), 129.4 (Ar), 129.2 (Ar), 127.4 (2 x C, Ar), 127.2 (2 x C, Ar), 81.0 (C-3), 60.6 (C-28), 55.2, 49.9, 48.1, 47.8, 44.5, 42.8, 40.9, 39.7, 38.4, 36.8, 36.7, 34.3, 34.0, 29.4, 29.3, 28.4, 27.7, 27.1 (3 x C), 26.9, 26.8, 22.9, 21.7, 20.7, 19.6, 18.4, 16.3, 16.0, 15.9, 14.8, 14.6.

4.2.46 28-O-Acetylo-3β-O-benzoilo-dihydrobetulina (64).

Wychodząc z monoocetanu dihydrobetuliny **63** (6.00 g; 12.4 mmol) i chlorku benzoilu (1.87 ml, 16.1 mmol), stosując procedurę 4.2.13 otrzymałam **64** (7.21 g, quant.) w postaci oleju.



$[\alpha]_D^{20}$ -13.6 (*c* 0.3, chloroform)

ν_{\max} (film): 2933, 2875, 1710, 1606, 1525, 1488, 14450, 1365, 1282, 1260, 1160, 1069, 1030, 938, 854, 773, 742, 679, 668 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.25-7.30 (m, 2 H, Ar), 7.15-7.20 (m, 3 H, Ar), 3.72 (d, 1 H, *J* 10.9 Hz, H-28), 3.31 (d, 1 H, *J* 10.9 Hz, H-28), 3.18-

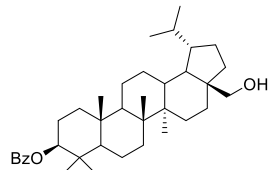
3.25 (s, H, H-3), 2.04 (s, 3 H, CH₃), 1.07 (s, 3 H, CH₃), 1.01 (s, 3 H, CH₃), 0.98 (s, 3 H, CH₃), 0.87 (m, 3 H, CH₃), 0.82 (s, 3 H, CH₃), 0.70-0.79 (m, 3 H, CH₃), 0.60-2.10 (m, 29 H, protony lupanowe).

¹³C NMR (CDCl₃) δ: 171.9 (C), 163.7, 135.08 (C x 2), 122.1 (C x 4), 81.0 (C-3), 62.4 (C-28), 55.4, 50.3, 48.5, 47.4, 44.5, 42.9, 40.9, 38.9, 37.0, 36.9, 36.3, 34.6, 34.0, 29.6, 29.2, 28.0, 37.5, 26.8, 26.7, 26.5, 22.8, 21.7, 20.8, 18.2, 16.4, 16.0, 15.4, 14.9, 14.7.

LR-MS (ESI) C₃₉H₅₈O₄Na [M+Na]⁺ obliczona: 613.42; zmierzona: 613.42.

4.2.47 3β-O-Benzoilo-dihydrobetulina-O-Benzoilo-dihydrobetulina (65)

Wychodząc z **64** (7.00 g; 12.0 mmol) stosując procedurę 4.2.27 otrzymałam **65** (6.48 g, quant.) w postaci oleju.



v_{\max} (film): 2927, 2873, 1607, 1523, 1486, 1449, 1364, 1280, 1252, 1160, 1092, 1061, 1042, 938, 852, 770, 744, 677, 666 cm⁻¹

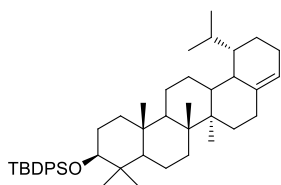
¹H NMR (CDCl₃) δ: 7.26-7.28 (m, 2 H, Ar), 7.16-7.19 (m, 3 H, Ar), 3.75 (d, 1 H, *J* 10.7 Hz, H-28), 3.29 (d, 1 H, *J* 10.7 Hz, H-28), 3.17-3.22 (s, 1 H, H-3), 1.03 (s, 3 H, CH₃), 0.98 (s, 3 H, CH₃), 0.96 (s, 3 H, CH₃), 0.85 (m, 3 H, CH₃), 0.84 (s, 3 H, CH₃), 0.75-0.79 (m, 3 H, CH₃), 0.67-1.95 (m, 30 H, protony lupanowe).

¹³C NMR (CDCl₃) δ: 162.4, 134.04 (C x 2), 120.9 (C x 4), 80.0 (C-3), 60.4 (C-28), 55.2, 50.1, 48.1, 47.8, 44.6, 42.9, 40.9, 38.9, 38.7, 37.1, 36.8, 36.45, 34.4, 34.0, 29.5, 29.3, 28.0, 37.4, 26.9, 26.9, 22.9, 21.7, 20.8, 18.3, 16.0, 16.0, 15.4, 14.6.

HR-MS (EI) C₃₇H₅₆O₃ [M]⁺ obliczona: 548.4229; zmierzona: 548.4225.

4.2.48 Związek 66

Wychodząc z **62** (1.50 g; 2.19 mmol) i stosując procedurę 4.2.30 otrzymałam **66** (1.71 g, 71%) w postaci amorficznego proszku.



$[\alpha]_D^{20}$ -16.5 (c 0.2, chloroform)

v_{\max} (film): 2944, 2860, 1461, 1427, 1388, 1110, 1084, 1065, 760, 741, 703, 650 m⁻¹.

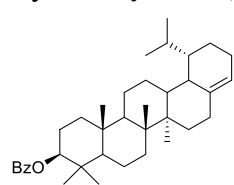
¹H NMR (CDCl₃) δ: 7.68-7.76 (m, 4 H, Ar), 7.35-7.46 (m, 6 H, Ar), 5.30-5.33 (m, 1 H, H-28), 3.28 (dd, 1 H, *J* 4.4 Hz, 11.7 Hz, H-3), 1.06 (s, 9 H, 3 x CH₃), 1.00 (s, 3 H, CH₃), 0.98 (s, 3 H, CH₃), 0.93 (s, 6 H, 2 x CH₃), 0.84-0.88 (m, 6 H, 2 x CH₃), 0.82 (s, 3 H, CH₃), 0.80-2.15 (m, 26 H, protony lupanowe)

¹³C NMR (CDCl₃) δ: 141.6 (C-17), 136.0 (4 x C), 135.6, 135.3, 129.4, 129.4, 129.2, 127.5, 127.5, 127.2, 117.5 (C-28), 84.1 (C-3), 55.3, 50.2, 43.3, 42.5, 40.9, 40.3, 39.7, 38.6, 38.4, 36.9, 34.5, 34.1, 33.2, 28.4, 28.1, 27.7, 27.1, 27.0, 26.9, 25.6, 22.0, 21.2, 21.0, 20.8, 20.7, 19.6, 18.5, 16.3, 16.2, 15.8, 14.9.

Anal. Element. C₄₆H₆₈OSi 2 H₂O obliczona: C 78.80, H 10.35; zmierzona: C 78.56, H 10.13.

4.2.49 Związek 67

Wychodząc z **65** (2.50 g; 4.55 mmol) stosując procedurę 4.2.30 otrzymałam **67** (2.00 g, 83%).



$[\alpha]_D^{20}$ 0 (c 0.2, chloroform).

v_{\max} (film): 2946, 2868, 1714, 1450, 1388, 1367, 1275, 1114, 971 cm⁻¹.

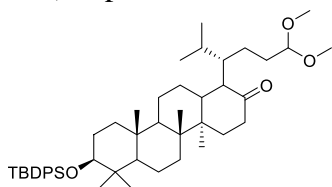
¹H NMR (CDCl₃) δ: 8.02-8.06 (m, 2 H, Ar), 7.51-7.55 (m, 1 H, Ar), 7.40-7.45 (m, 2 H, Ar), 5.30-5.34 (m, 1 H, H-28), 4.70-4.75 (m, 1 H, H-3), 1.07 (s, 3 H, CH₃), 0.99 (s, 3 H, CH₃), 0.96 (s, 3 H, CH₃), 0.92 (s, 3 H, CH₃), 0.90 (s, 3 H, CH₃), 0.88 (s, 3 H, CH₃), 0.87 (s, 3 H, CH₃), 0.85-2.17 (m, 26 H, protony lupanowe).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 166.3, 141.6 (C-17), 132.9, 131.5, 129.5, 129.5, 128.3, 128.3, 117.5 (C-28), 81.6 (C-3), 55.5, 50.4, 42.6, 40.9, 40.2, 38.5, 38.5, 38.2, 37.1, 34.5, 34.0, 33.2, 30.1, 28.1, 28.0, 25.7, 23.7, 22.1, 21.2, 21.1, 20.8, 20.7, 18.2, 16.8, 16.3, 15.8, 14.9.

HR-MS (ESI) $\text{C}_{37}\text{H}_{54}\text{NaO}_2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 553.4022; zmierzona: 553.4030.

4.2.50 Związek 68

Wychodząc z **66** (500 mg; 0.752 mmol) i stosując procedurę 4.2.10 otrzymałam **68** (170 mg, 32%) w postaci amorficznego proszku.



$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 58.5 (*c* 0.3, chloroform)

ν_{max} (film): 2948, 2859, 1704, 1470, 1427, 1389, 1110, 1063, 758, 703 cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.66-7.74 (m, 4 H, Ar), 7.34 -7.46 (m, 6 H, Ar), 4.27 (t, 1 H, *J* 5.5 Hz, H-28), 3.29 (s, 3 H, CH_3), 3.28 (s, 3 H, CH_3), 3.23-3.28 (m, 1 H, H-3), 1.05 (s, 6 H, 2 x CH_3), 1.04 (s, 3 H,

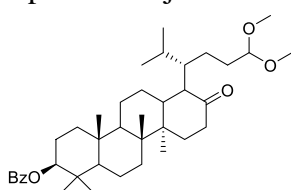
CH_3), 0.99 (s, 3 H, CH_3), 0.97 (s, 3 H, CH_3), 0.96 (s, 3 H, CH_3), 0.92 (s, 3 H, CH_3), 0.90 (s, 3 H, CH_3), 0.83 (s, 3 H, CH_3), 0.79 (s, 3 H, CH_3), 0.78-2.39 (m, 26 H, protony lupanowe).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 214.3, 139.9, 139.9, 139.9, 139.8, 135.5, 134.2, 129.4, 129.2, 127.5, 127.5, 127.2, 127.2, 104.7 (C-28), 80.9 (C-3), 55.4, 52.9, 52.9, 52.5, 50.7, 45.2, 41.4, 41.0, 40.6, 39.7, 38.7, 38.7, 36.9, 34.1, 33.8, 31.1, 30.6, 28.4, 27.7, 27.6, 27.1, 27.1, 27.1, 25.5, 21.9, 21.9, 21.1, 19.6, 18.4.

LR-MS (ESI) $\text{C}_{48}\text{H}_{74}\text{NaO}_4\text{Si}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 742.54; zmierzona: 742.54.

4.2.51 Związek 69

Wychodząc z **67** (100 mg, 0.188 mmol) stosując procedurę 4.2.10 otrzymałam **69** (69 mg, 60%) w postaci oleju.



$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 23.4 (*c* 0.3, chloroform)

ν_{max} (film): 2949, 2872, 1714, 1451, 1389, 1315, 1275, 1115, 1069, 972, 737, 713 cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3) δ : 8.21-8.04 (m, 2H, Ar), 7.51-7.55 (m, 1 H, Ar), 7.40-7.44 (m, 2 H, Ar), 4.68-4.74 (m, 1 H, H-3), 4.28 (t, 1 H, *J* 5.4 Hz, H-28), 3.29 (s, 3 H, CH_3), 3.28 (s, 3 H, CH_3), 1.06 (s, 3 H, CH_3),

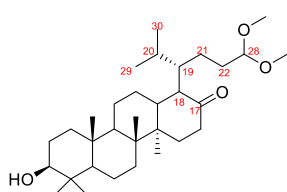
1.01 (s, 3 H, CH_3), 1.00 (s, 3 H, CH_3), 0.92 (s, 6 H, 2 x CH_3), 0.91 (s, 3 H, CH_3), 0.81 (s, 3 H, CH_3), 0.79-2.38 (m, 26 H, protony lupanowe).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 214.1, 166.3, 132.7, 130.9, 129.5, 129.5, 128.3, 128.3, 104.8 (C-28), 81.4 (C-3), 55.6, 55.6, 52.9, 52.8, 52.5, 50.7, 45.1, 41.5, 41.1, 40.7, 38.7, 38.6, 38.2, 37.1, 34.1, 33.9, 31.2, 30.6, 28.0, 27.6, 25.4, 23.7, 21.9, 21.2, 18.1, 16.8, 16.5, 15.6, 14.8.

HR-MS (ESI) $\text{C}_{39}\text{H}_{60}\text{NaO}_5$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 631.4338; zmierzona: 631.4214.

4.2.52 Związek 70

Wychodząc z **55** (4.17g; 7.62 mmol) i stosując procedurę 4.2.4 otrzymałam **70** (3.02g, 80%) w postaci amorficznego proszku.



$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 26.6 (*c* 0.3, chloroform).

ν_{max} (film): 3477, 2946, 2871, 1701, 1466, 1451, 1385, 1268, 1191, 1126, 1072, 1049, 737 cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3) δ : 4.29 (t, 1 H, *J* 5.4 Hz, H-28) 3.31 (s, 3 H, CH_3), 3.30 (s, 3 H, CH_3), 3.21 (dd, 1 H, *J* 4.7 Hz, 11.6 Hz, H-3), 2.31-2.39 (m, 1 H, H-16), 2.26-2.29 (m, 1 H, H-16), 2.19-2.24 (m, 1 H, H-18),

1.91-1.99 (m, 1 H, CH, H-20), 1.06 (s, 3 H, CH_3 , H-27), 1.01 (s, 3 H, CH_3 , H-26), 0.98 (s, 3 H,

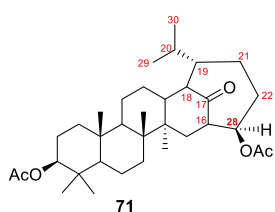
CH₃, H-23), 0.93 (d, 3 H, *J* 6.7 Hz, CH₃, H-29), 0.87 (s, 3 H, CH₃, H-25), 0.82 (d, 3 H, *J* 6.7 Hz, CH₃, H-30), 0.78 (s, 3 H, CH₃, H-24), 0.7-1.8 (m, 23 H, lupan).

¹³C NMR (CDCl₃) δ: 214.2 (C-17), 104.7 (C-28), 78.8 (C-3), 55.4 (C-5), 52.9 (C-18), 52.9 (CH₃), 52.5 (CH₃), 50.9 (C-9), 45.2 (C-19), 41.5 (C-13), 41.1 (C-8), 40.6 (C-14), 38.9 (C-4), 38.8 (C-1), 38.7 (C-16), 37.2 (C-10), 34.1 (C-7), 33.8 (C-22), 31.1 (C-20), 30.6 (C-15), 28.0 (C-23), 27.6 (C-12), 37.3 (C-2), 25.5 (C-21), 21.9 (C-29), 21.9 (C-30), 21.1 (C-11), 18.2 (C-6), 16.4 (C-25), 15.6 (C-26), 15.4 (C-24), 14.8 (C-27).

HR-MS (ESI) C₃₂H₅₆NaO₄ [M+Na]⁺ obliczona: 527.4076; zmierzona: 527.4083.

4.2.53 Związek 71 i 72

Do roztworu **55** (200 mg; 0.360 mmol) w acetonie (8 ml) dodałam kwas paratoluenosulfonowy (100 mg, 0.580 mmol). Reakcję prowadziłam w temperaturze pokojowej do zaniku substratu na TLC (24 h, heksan/octan etylu 5:1). Nadmiar kwasu rozłożyłam za pomocą Et₃N (0.5 ml). Mieszaninę zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i rozdzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej otrzymując **71** (144 mg, 80%) oraz **72** (18 mg, 10%) w postaci białych pian.



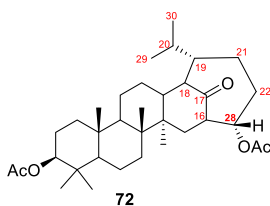
[α]_D²⁰ 45.3 (*c* 0.4, chloroform)

*v*_{max} (film): 2948, 2871, 1736, 1699, 1466, 1448, 1369, 1246, 1208, 1027, 982, 757 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ: 4.79-4.84 (m, 1 H, H-28), 4.48 (dd, 1 H, *J* 5.0 Hz, 11.5 Hz, H-3), 3.00-3.05 (m, 1 H, H-16), 2.11-2.20 (m, 1 H, H-13), 2.06 (s, 3 H, CH₃), 2.05 (s, 3 H, CH₃), 1.93-1.96 (m, 1 H, H-18), 1.12 (s, 3 H, CH₃, H-26), 0.91 (s, 3 H, CH₃, H-25), 0.90 (s, 3 H, CH₃, H-29), 0.86 (s, 3 H, CH₃, H-23), 0.85 (s, 3 H, CH₃, H-24), 0.85 (s, 3 H, CH₃, H-30), 0.84 (s, 3 H, CH₃, H-27), 0.80-1.86 (m, 22 H, protony lupanowe).

¹³C NMR (CDCl₃) δ: 215.7 (C-17), 171.0 (C), 170.0 (C), 80.7 (C-3), 75.4 (C-28), 55.4 (C-5), 54.4 (C-18), 50.8 (C-9), 50.0 (C-19), 49.0 (C-16), 47.5 (C-13), 41.0 (C-8), 39.7 (C-14), 38.6 (C-1), 37.8 (C-4), 37.1 (C-10), 34.2 (C-7), 33.8 (C-20), 29.9 (C-15), 26.8 (C-12), 27.9 (C-23), 27.7 (C-22), 25.5 (C-21), 23.6 (C-2), 21.3 (CH₃), 21.2 (CH₃), 21.2 (C-11), 20.7 (C-29), 19.7 (C-30), 18.0 (C-6), 16.6 (C-25), 16.5 (C-24), 16.0 (C-26), 15.7 (C-27).

HR-MS (ESI) C₃₄H₅₄NaO₅ [M+Na]⁺ obliczona: 565.3869; zmierzona: 565.3856.



*v*_{max} (film): 2948, 2871, 1736, 1699, 1466, 1448, 1369, 1246, 1208, 1027, 982, 757 cm⁻¹.

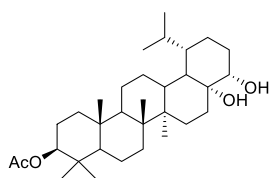
¹H NMR (CDCl₃) δ: 4.78-4.82 (m, 1 H, H-28), 4.47 (dd, 1 H, *J* 5.0 Hz, 11.5 Hz, H-3), 2.66-2.72 (m, 1 H, H-16), 2.06 (s, 3 H, CH₃), 2.04 (s, 3 H, CH₃), 1.05 (s, 3 H, CH₃, H-26), 0.95 (d, 3 H, *J* 6.7 Hz, CH₃, H-30), 0.90 (s, 3 H, CH₃, H-25), 0.88 (d, 3 H, *J* 6.7 Hz, CH₃, H-29), 0.86 (s, 3 H, CH₃, H-27), 0.85 (s, 3 H, CH₃, H-23), 0.84 (s, 3 H, CH₃, H-24), 0.77-2.20 (m, 24 H, protony lupanowe).

¹³C NMR (CDCl₃) δ: 215.0 (C-17), 170.9 (C), 170.5 (C), 80.7 (C-3), 73.5 (C-28), 55.4 (C-5), 54.4 (C-18), 50.7 (C-9), 50.2 (C-16), 47.6 (C-19), 46.1 (C-13), 40.8 (C-8), 39.7 (C-14), 38.5 (C-1), 37.8 (C-4), 37.1 (C-10), 35.0 (C-15), 34.2 (C-7), 32.2 (H-20), 29.6 (C-12), 27.9 (C-23), 26.3 (C-22), 23.6 (C-2), 23.2 (C-21), 21.4 (CH₃), 21.3 (CH₃), 21.2 (C-30), 21.1 (C-11), 20.2 (C-29), 18.0 (C-6), 16.5 (C-25), 16.5 (C-24), 16.0 (C-26), 15.7 (C-27).

HR-MS (EI) C₃₄H₅₄O₅ [M]⁺ obliczona: 543.4049; zmierzona: 543.4047.

4.2.54 Związek 73

Wychodząc z **53** (922 mg, 1.96 mmol), stosując procedurę 4.2.25 B otrzymałam **73** (800 mg; 84%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ 36.2 (*c* 0.2, chloroform).

ν_{\max} (film): 3479, 2946, 2868, 1730, 1716, 1451, 1374, 1248, 1032, 979, 736 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 4.46-4.51 (m, 1 H, H-3), 3.76-3.83 (m, 1 H, H-28), 2.27-2.37 (m, 1 H, H-20), 2.05 (s, 3 H, CH_3), 1.99-2.03 (m, 1 H, H-16), 1.88(d, 1 H, *J* 11.5 Hz, H-18), 1.01(s, 3 H, CH_3 , H-27), 0.98 (s, 3 H,

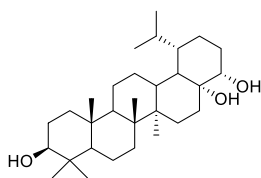
CH_3 , H-26), 0.87 (s, 3 H, CH_3 , H-25), 0.86 (s, 3 H, CH_3 , H-23), 0.84 (s, 3 H, CH_3 , H-24), 0.76-1.86 (m, 31 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 171.0 (C), 80.9 (C-3), 74.9 (C-17), 68.0 (C-28), 55.4 (C-5), 50.1 (C-9), 43.2 (C-18), 41.3 (C-14), 40.9 (C-8), 40.3 (C-19), 38.4 (C-1), 37.8 (C-4), 37.0 (C-10), 36.5 (C-13), 33.9 (C-7), 31.8 (C-16), 28.0 (C-20), 27.9 (C-15), 26.6 (C-22), 25.7 (C-12), 23.6 (C-2), 22.4 (C-29), 22.3 (C-30), 21.4 (C-21), 21.3 (C-11). 21.3 (CH_3), 18.2 (C-6), 16.5 (C-24), 16.3 (C-25), 15.6 (C-26), 15.0 (C-27).

LR-MS (ESI) ($\text{C}_{32}\text{H}_{54}\text{NaO}_5\text{Si}$) $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 525.39; zmierzona: 525.39.

4.2.55 Związek 74

Wychodząc z **73** (100 mg, 0.198 mmol) i stosując procedurę 4.2.8 otrzymałam **74** (80 mg, 89%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ 25.1 (*c* 0.1, chloroform).

ν_{\max} (film): 3355, 2941, 2865, 1448, 1383, 1362, 1039, 977, 939 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 3.76 (dd, 1 H, *J* 5.3 Hz, 10.9 Hz, H-28), 3.17 (dd, 1 H, *J* 5.0 Hz, 11.3 Hz), 2.24-2.23 (m, 1 H), 0.98 (s, 3 H, CH_3), 0.95 (s, 3 H, CH_3), 0.94 (s, 3 H, CH_3), 0.88 (d, 3 H, *J* 6.4 Hz, CH_3), 0.83 (d, 3 H, *J* 6.4 Hz, CH_3), 0.74 (s, 3 H, CH_3), 0.65-2.01 (m, 31 H, protony

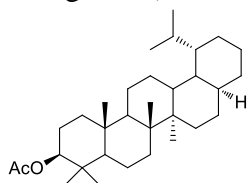
lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 78.8, 74.8, 67.9, 55.3, 50.2, 43.1, 41.3, 40.8, 40.3, 38.8, 38.87, 37.1, 36.5, 34.0, 31.6, 28.1, 27.9, 27.2, 26.3, 26.8, 25.8, 22.4, 22.3, 21.4, 21.3, 18.3, 16.2, 15.6, 15.3, 14.9.

HR-MS (ESI) $\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 483.3814; zmierzona: 483.3814.

4.2.56 Związek 75

Do roztworu **51** (52 mg, 0.11 mmol) w THF/MeOH (4 ml/2 ml) dodałam Pd/C (65 mg). Reakcję prowadziłam w atmosferze wodoru w autoklawie (7 atm.) przez 24 h. Mieszaninę przesączałam przez filtr strzykawkowy (0.45 μm), zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując **75** (48 mg, 92%).



$[\alpha]_D^{20}$ 41.7 (*c* 0.2, chloroform).

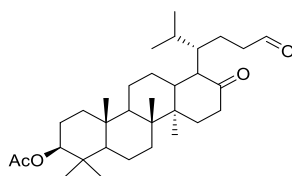
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 4.47-4.49 (m, 1 H, H-3), 2.11(s, 3 H, CH_3), 1.03(s, 3 H, CH_3), 0.94(s, 3 H, CH_3), 0.88(s, 3 H, CH_3), 0.87(s, 3 H, CH_3), 0.86(s, 3 H, CH_3), 0.85(s, 3 H, CH_3), 0.72-1.94(m, 32 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 171.0, 81.0 (C-3), 55.4 (C-5), 50.1, 42.0, 41.0, 40.4, 38.4, 37.8, 37.1, 36.8, 33.9, 32.7, 30.6, 28.7, 27.9, 26.2, 26.2, 25.5, 24.6,

23.7, 21.7, 21.3, 21.2, 21.1, 18.2, 16.5, 16.3, 15.8, 14.0.

4.2.57 Związek 59

Do roztworu **73** (600 mg, 1.20 mmol) w pirydynie (25 ml) dodałam $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ (692 mg, 1.56 mmol). Reakcję prowadziłam w temperaturze pokojowej do zaniku substratu na TLC (24 h, heksan/octan etylu 5:1). Mieszaninę przesączałam przez 5 cm żelu. Przesącz odparowałam otrzymując **59** (539 mg, 91%) w postaci amorficznego proszku.



$[\alpha]_D^{20}$ 29.0 (*c* 0.2, chloroform).

ν_{\max} (film): 2948, 2872, 1728, 1451, 1369, 1247, 1026, 981, 737 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 9.74 (s, 1 H, H-28), 4.49-4.52 (m, 1 H, H-3), 2.46-2.55 (m, 1 H), 2.33-2.43 (m, 2 H), 2.22-2.32 (m, 3 H), 2.05 (s, 3 H, CH_3), 1.08 (s, 3 H, CH_3), 1.02 (s, 3 H, CH_3), 0.93 (s, 3 H, CH_3),

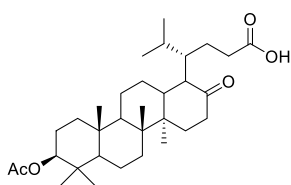
0.90 (s, 3 H, CH_3), 0.86 (s, 3 H, CH_3), 0.85 (s, 3 H, CH_3), 0.82 (s, 3 H, CH_3), 0.8-2.0 (m, 20 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 213.5 (C), 202.3(CH), 170.8, 80.6 (C-3), 55.4, 52.5, 50.6, 44.6, 44.2, 41.4, 41.2, 40.8, 38.8, 38.5, 37.8, 37.1, 34.1, 30.9, 30.7, 27.9, 27.5, 23.6, 22.2, 21.9, 21.7, 21.3, 21.1, 18.1, 16.5, 15.6, 14.7.

HR-MS (ESI) $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{NaO}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 523.3763; zmierzona: 523.3761.

4.2.58 Związek 76

Wychodząc z **59** (112 mg; 0.223 mmol) i stosując procedurę 4.2.26 otrzymałam **76** (64 mg, 70%) w postaci amorficznego proszku.



$[\alpha]_D^{20}$ 39.1 (*c*, 0.4 chloroform).

ν_{\max} (film): 2949, 2872, 1731, 1730, 1451, 1369, 1246, 1025, 980, 756 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 10.00 (s, 1 H), 4.42-4.45 (m, 1 H, H-3), 2.05 (s, 3 H, CH_3), 1.07 (s, 3 H, CH_3), 1.01 (s, 3 H, CH_3), 0.98 (s, 3 H, CH_3), 0.93 (d, 3 H, *J* 6.7 Hz, CH_3 , H-29), 0.87 (s, 3 H, CH_3), 0.82 (d, 3 H, *J*

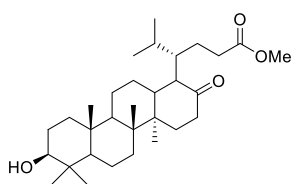
6.7 Hz, CH_3 , H-30), 0.78 (s, 3 H, CH_3), 0.72-2.44 (m, 26 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 214.0 (C, C-17), 178.5 (C, C-28), 171.1 (C), 80.8 (CH, C-3), 55.5 (CH, C-5), 52.7, 50.7, 44.3, 41.2, 41.1, 40.7, 38.7, 38.6, 38.8, 37.1, 34.6, 34.1, 30.8, 30.7, 27.9, 27.9, 27.5, 25.4, 23.6, 21.9, 21.9, 21.3, 20.7, 18.1, 16.5, 15.6, 14.7.

HR-MS (EI) $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_5$ $[\text{M}]^+$ obliczona: 516.3815; zmierzona: 516.3830.

4.2.59 Związek 77

Wychodząc z **76** (110 mg; 0.212 mmol) i stosując procedurę 4.2.27 otrzymałam **77** (78 mg, 75%) w postaci oleju.



ν_{\max} (film): 3461, 2947, 2870, 1736, 1704, 1449, 1384, 1254, 1172, 1038, 755 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.66 (s, 3 H, CH_3 , OMe), 3.21 (dd, 1 H, *J* 5.0 Hz, 11.5 Hz, H-3), 1.07 (s, 3 H, CH_3 , H-27), 1.02 (s, 3 H, CH_3 , H-26), 0.99 (s, 3 H, CH_3 , H-23), 0.93 (d, 3 H, *J* 6.7 Hz, CH_3 , H-29), 0.87 (s, 3 H, CH_3 , H-25), 0.82 (d, 3 H, *J* 6.7 Hz, CH_3 , H-30), 0.78 (s, 3 H, CH_3 , H-

24), 0.72-2.30 (m, 27 H, protony lupanowe).

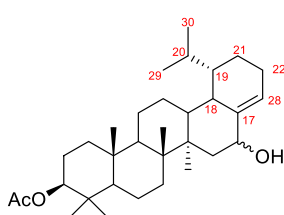
$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 213.8 (C, C-17), 174.1 (C, C-28), 78.8 (CH, C-3), 55.4 (CH, C-5), 52.7, 51.5, 50.8, 44.3, 41.3, 41.1, 40.7, 38.9, 38.8, 37.2, 34.8, 34.2, 30.8, 30.7, 28.0, 27.6, 27.4, 25.7, 21.8, 21.8, 21.1, 20.7, 18.2, 16.4, 15.6, 15.4, 14.8.

HR-MS (EI) $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_5$ $[\text{M}]^+$ obliczona: 489.3941; zmierzona: 489.3944.

4.2.60 Związek 79

Do roztworu **53** (110 mg, 0.234 mmol) w dioksanie (4 ml) dodałam dwutlenek selenu (33 mg, 0.29 mmol). Reakcję prowadziłam w temperaturze wrzenia (110 °C) do zaniku substratu na TLC (24 h, heksan/octan etylu: 5:1). Po schłodzeniu do temperatury pokojowej, do mieszaniny dodałam wodę (2 ml) i eter dietylowy (2 ml), następnie rozdzieliłam fazy. Fazę wodną przemyłam eterem dietylowym (2 x 2 mL). Połączone fazy organiczne osuszyłam i zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem. Mieszaninę rozdzieliłam na płycie preparatywnej 0.5 mm

(heksan/octan etylu 3:1 x 2). Z pośród licznych produktów wyizolowałam związek **79** (20 mg, 18%) w postaci żółtego oleju. Analizę przeprowadziłam dla jego peracetylowanej pochodnej otrzymując wg. procedury 4.2.39



v_{\max} (film): 2949, 2872, 1732, 1691, 1632, 1452, 1368, 1245, 1025, 981, 737 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.60-5.66 (m, 1 H, H-28), 5.23 (dd, 1 H, J 2.4 Hz 4.2 Hz, H-16), 4.45 (dd, 1 H, J 5.9 Hz, 11.1 Hz, H-3), 2.20-2.25 (m, 1 H, H-18), 2.03 (s, 3 H, CH_3), 1.99 (s, 3 H, CH_3), 1.17 (s, 3 H, CH_3 , H-27), 0.90 (s, 3 H, CH_3 , H-26), 0.88 (d, 3 H, J 6.7 Hz, CH_3), 0.86 (d, 3 H, J 6.7 Hz, CH_3), 0.84 (s, 3 H, CH_3 , H-25), 0.83 (s, 3 H, CH_3 , H-23),

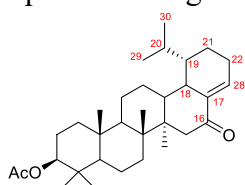
0.81 (s, 3 H, CH_3 , H-24), 0.76-1.82 (m, 23 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 171.0 (C), 170.4 (C), 138.4 (C, C-17), 123.8 (C-28), 80.9 (C-3), 77.12 (C-16), 55.4 (C-5), 49.1 (C-9), 43.3 (C-13), 42.5 (C-14), 41.01 (C-8), 38.4 (C-1), 37.9 (C-19), 37.8 (C-4), 37.3 (C-15), 37.0 (C-10), 35.5 (C-18), 34.1 (C-7), 27.9 (C-23), 27.7 (C-20), 25.0 (C-12), 23.6 (C-2), 21.8 (C-30), 21.7 (CH_3), 21.3 (CH_3), 21.1 (C-22), 20.9 (C-11), 20.7 (C-29), 19.8 (C-21), 18.1 (C-6), 16.5 (C-24), 16.2 (C-27), 16.2 (C-25), 16.1 (C-26).

HR-MS (EI) $\text{C}_{32}\text{H}_{51}\text{O}_3$ $[\text{M}]^+$ obliczona: 483.3838; zmierzona: 483.3831.

4.2.61 Związek 80

Do roztworu BSA (68 mg, 0.19 mmol) w dichlorometanie (3 ml) ochłodzonego do temperatury 0 °C dodałam TMSOTf (17 μl ; 0.095 mmol) i mieszałam w tej temperaturze przez 10 minut. Następnie, do tak przygotowanego roztworu dodałam roztwór **53** (100 mg; 0.19 mmol) w dichlorometanie (3 ml). Reakcję prowadziłam w atmosferze argonu w temperaturze pokojowej do zaniku substratu na TLC (24 h, heksan/octan etylu 5:1). Aby zakończyć reakcję dodałam 2 krople wody. Mieszaninę zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i oczyściłam na płycie preparatywnej 0.5mm (heksan/octan etylu 1:1 x 3). Związek **80** (30 mg, 30 %) wyizolowałam w postaci żółtego oleju.



$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 1.9 (c. 0.2 chloroform)

v_{\max} (film): 2949, 2872, 1732, 1691, 1632, 1452, 1368, 1245, 1025, 981, 737 cm^{-1} .

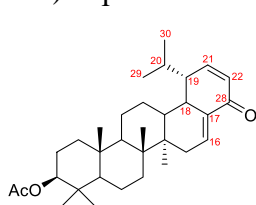
$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.24-6.28 (m, 1 H, H-28), 4.42-4.49 (m, 1 H, H-3), 1.01 (s, 3 H, CH_3), 0.98 (s, 3 H, CH_3), 0.88 (s, 3 H, CH_3), 0.85 (s, 3 H, CH_3), 0.84 (s, 3 H, CH_3), 0.83-0.85 (s, 3 H, CH_3), 0.82 (s, 3 H, CH_3), 0.73-2.45 (m, 27 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ : 206.3, 142.1 (C-17), 130.5 (C-28), 80.5 (C-3), 55.2, 49.8, 48.6, 44.6, 41.2, 40.7, 40.7, 38.7, 38.4, 37.7, 37.0, 33.9, 28.7, 27.9, 26.23 23.6, 21.9, 21.3, 21.3, 21.1, 20.8, 20.3, 18.1, 16.5, 16.2, 16.1, 15.6.

HR-MS (EI) $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{O}_3$ $[\text{M}]^+$ obliczona: 483.3838; zmierzona: 483.3831.

4.2.62 Związek 81

Wychodząc z **53** (100 mg, 0.213 mmol) i stosując procedurę 4.2.24 otrzymałam **81** (25 mg, 25%) w postaci żółtego osadu.



$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 6.80 (dd, 1 H, J 3.2 Hz, 10.4 Hz, H-21), 6.96 (dt, 1 H, J 2.7 Hz, 5.4 Hz, H-16), 6.16 (dd, 1 H, J 2.3 Hz, 10.4 Hz, H-22), 4.48 (dd, 1 H, J 5.1 Hz, 11.4 Hz, H-3), 2.22-2.27 (m, 1 H, H-19), 2.05 (s, 3 H, CH_3), 2.04-2.06 (m, 1 H, H-20), 1.09 (d, 3 H, J 6.7 Hz, CH_3 , H-30), 0.97 (s, 3 H, CH_3 , H-26), 0.91 (s, 3 H, CH_3 , H-27), 0.89 (s, 3 H, CH_3 , H-25), 0.86 (s, 3 H, CH_3 , H-23), 0.85 (s, 3 H, CH_3 , H-24), 0.78 (d, 3 H, J 6.7 Hz, CH_3 , H-29), 0.80-1.86 (m, 18 H, protony lupanowe).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 189.7 (C-28), 171.0 (C), 150.7 (C-21), 135.9 (C-17), 135.1 (C-16), 129.8 (C-22), 80.8 (C-3), 55.3 (C-5), 49.9 (C-9), 47.7 (C-19), 41.3 (C-13), 40.5 (C-14), 40.2 (C-8), 40.2 (C-18), 38.3 (C-1), 37.7 (C-4), 36.9 (C-10), 34.0 (C-7), 32.9 (C-15), 31.3 (C-20), 27.9 (C-23), 27.8 (C-12), 23.6 (C-2), 21.3 (CH_3), 21.2 (C-30), 20.9 (C-11), 17.9 (C-6), 16.7 (C-29), 16.5 (C-24), 16.2 (C-25), 16.2 (C-26), 15.4 (C-27).

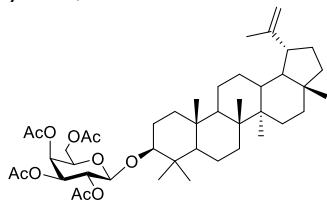
HR-MS (ESI) $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 480.3631; zmierzona: 480.3638.

SAPONINY

4.2.63 Glikozydowanie lupeolu

Reakcję prowadziłam w atmosferze argonu. Mieszaninę lupeolu **83** (100 mg, 0.234 mmol) i trichloroacetoimidanu D-galaktopiranozyłu **85** (123 mg, 0.249 mmol) rozpuściłam w mieszaninie dichlorometan/acetonytryl 3:2 (5 ml). Dodałam sita molekularne (4 Å, 250 mg, drobno zmielone). Po schłodzeniu mieszaniny do temperatury $-40\text{ }^\circ\text{C}$ dodałam $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (1.1 ekw.) Całość mieszałam do zaniku substratu na TLC (30 min, heksan/octan etylu 5:1). Reakcję zakończyłam dodając trietyloaminę (0.5 ml). Mieszaninę zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i rozdzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej (heksan/octan etylu 20:1 \rightarrow 10:1) otrzymując **88** (35.5 mg, 20%), i **89** (32 mg, 16%) jako białe piany.

3\beta-O-(2,3,4,6-Tetra-O-acetylo- β -D-galaktopiranozylo)lup-20(29)-en (**88**).



$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 19.2 (*c* 0.3, chloroform).

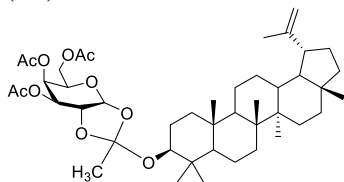
ν_{max} (film): 2943, 2871, 1753, 1368, 1222, 1078, 1051, 757 cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3) δ : 5.37 (dd, 1 H, $J_{4,3}$ 3.5, $J_{4,5}$ 0.9 Hz, H-4), 5.25 (dd, 1 H, $J_{2,1}$ 8.0, $J_{2,3}$ 10.5 Hz, H-2), 5.02 (dd, 1 H, $J_{3,2}$ 10.5, $J_{3,4}$ 3.5 Hz, H-3), 4.68-4.69 (m, 1 H, H-29 lupan), 4.56-4.57 (m, 1 H, H-29 lupan), 4.50 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 8.0 Hz, H-1), 4.20 (dd, 1 H, $J_{6,5}$ 6.8, $J_{6,6'}$ 11.2, H-6), 4.09 (dd, 1 H, $J_{6,5}$ 6.8, $J_{6,6'}$ 11.2 Hz, H-6'), 3.89 (ddd, 1 H, $J_{5,4}$ 0.9, $J_{5,6} = J_{5,6'} = 6.8$ Hz, H-5), 3.07 (dd, 1 H, $J_{4,8}$ and 11.6 Hz, H-3 lupan), 2.36-2.40 (m, 1 H, H-19 lupan), 2.14 (s, 3 H, CH_3), 2.04 (s, 6 H, 2 CH_3), 1.98 (s, 3 H, CH_3), 1.89-1.96 (m, 1 H), 1.68 (s, 3 H, H-30), 1.02 (s, 3 H, CH_3), 0.94 (s, 3 H, CH_3), 0.90 (s, 3 H, CH_3), 0.83 (s, 3 H, CH_3), 0.79 (s, 3 H, CH_3), 0.74 (s, 3 H, CH_3), 0.76-1.81 (m, 22 H, protony lupanowe), 0.67-0.69 (m, 1 H, H-5 lupan).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 170.4, 170.4, 170.2, 169.3, 150.9 (C-20 lupan), 109.3 (C-29 lupan), 103.6 (C-1), 90.9 (C-3 lupan), 71.0 (C-3), 70.4 (C-5), 69.2 (C-2), 67.1 (C-4), 61.4 (C-6), 55.6, 50.4, 48.3, 47.9, 43.0, 42.8, 40.8, 40.0, 38.9, 38.6, 38.0, 36.9, 35.6, 34.2, 29.8, 27.6, 27.4, 26.0, 25.1, 20.9, 20.8, 20.7, 20.7, 20.6, 19.3, 18.2, 18.0, 16.2, 16.0, 15.9, 14.5.

HR-MS (ESI) $\text{C}_{44}\text{H}_{68}\text{NaO}_{10}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 779.4710; zmierzona: 779.4715.

3,4,6-Tri-O-acetyl-1,2-O-[1-[[3\beta-lup-20(29)-en-3-yl]oksy]etylideno]-\alpha-D-galaktopiranoza (**89**).



Jako mieszanina dwóch izomerów w przybliżonym stosunku 5 : 1.

ν_{max} (film): 2945, 2872, 1754, 1454, 1370, 1230, 1158, 1078, 1027, 984, 948, 917, 885, 757 cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3) δ : główny komponent, wybrane sygnały: 5.82 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 4.7 Hz, H-1), 5.41 (dd, 1 H, $J_{4,3}$ 3.3, $J_{4,5}$ 2.3 Hz, H-4), 5.01 (dd, 1 H, $J_{3,2}$ 6.9, $J_{3,4}$ 3.3 Hz, H-3), 4.66-4.67 (m, 1 H, H-29 lupan), 4.55-4.56 (m, 1 H, H-29 lupan), 4.29 (ddd, 1 H, $J_{5,4}$ 2.3, $J_{5,6} = J_{5,6'} = 6.6$ Hz, H-5), 4.25 (dd, 1 H, $J_{2,1}$ 4.7, $J_{2,3}$ 6.9 Hz, H-2), 4.09-4.15 (m, 2 H, H-6, H-6'), 3.18 (dd, 1 H, J 11.5 Hz, 4.6 Hz, H-3 lupan), 2.33-2.38 (m, 1 H, H-19 lupan), 2.10 (s, 3 H, CH_3), 2.05 (s, 3 H, CH_3), 2.04 (s, 3 H, CH_3), 1.68 (s, 6 H, H-30, CH_3 dioksolan), 1.00 (s, 3 H, CH_3), 0.92 (s, 3 H, CH_3), 0.90 (s, 3 H, CH_3), 0.81 (s, 3 H, CH_3), 0.77 (s, 3 H, CH_3), 0.73 (s, 3 H, CH_3), 0.67-0.69 (m, 1 H, lupan

H-5). Drugi komponent, wybrane sygnały: 5.55 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 4.9 Hz, H-1), 5.48 (dd, 1 H, $J_{4,3}$ 3.0, $J_{4,5}$ 2.2 Hz, H-4), 5.39 (m, 1 H, H-3), 4.38 (ddd, 1 H, $J_{5,4}$ 2.2, $J_{5,6} = J_{5,6'}$ 6.7 Hz, H-5), 4.10-4.15 (m, 3 H, H-2, H-6, H-6'), 3.36 (dd, 1 H, J 11.7 Hz, 4.5 Hz, H-3 lupan).

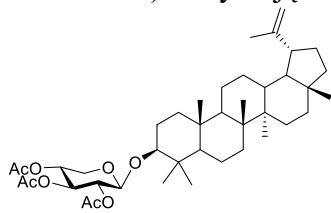
^{13}C NMR (CDCl_3) δ : główny komponent: 170.4, 170.1, 169.8, 150.9 (C-20 lupan), 121.7 (C dioxolan), 109.3 (C-29 lupan), 97.4 (C-1), 80.9 (C-3 lupan), 73.4 (C-2), 71.7 (C-3), 69.1 (C-5), 66.0 (C-4), 61.4 (C-6), 55.9, 50.5, 48.3, 47.9, 43.0, 42.8, 40.8, 40.0, 39.0, 38.6, 38.0, 36.9, 35.6, 34.3, 29.8, 28.2, 27.4, 25.6, 25.1, 25.1, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6, 19.3, 18.4, 18.0, 16.3, 16.1, 16.0, 14.5. drugi komponent, wybrane sygnały: 122.3 (C dioksolan), 97.0 (C-1), 81.5 (C-3 lupan), 73.2 (C-2), 71.8 (C-3), 69.1 (C-5), 66.3 (C-4), 55.9, 50.3.

HR-MS (ESI) $\text{C}_{44}\text{H}_{68}\text{NaO}_{10}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 779.4710; zmierzona: 779.4699.

Anal. Element. $\text{C}_{44}\text{H}_{68}\text{O}_{10}$ obliczona: C 69.81, H, 9.05; zmierzona: C 69.26, H, 8.93.

4.2.64 3β -O-(2,3,4-Tri-O-acetyl- β -D-ksylopiranozyl)lup-20(29)-en (90).

Reakcję prowadziłam w atmosferze argonu. Mieszaninę lupeolu (100 mg, 0.234 mmol) i trichloroacetoimidanu D-ksylopiranozylu **86** (101 mg, 0.249 mmol) rozpuściłam w mieszaninie dichlorometan/acetonitryl 3:2 (5 ml). Dodałam sita molekularne (4 Å, 250 mg, drobno zmielone). Po schłodzeniu mieszaniny do temperatury -40 °C wprowadziłam TMSOTf (1.1 ekw.) Całość mieszałam do zaniku substratu na TLC (30 min, heksan/octan etylu 5:1). Reakcję zakończyłam dodając trietyloaminę (0.5 ml). Mieszaninę zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i rozdzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej (heksan/octan etylu 20:1 \rightarrow 10:1) otrzymując **90** (73 mg; 41 %) w postaci białej piany.



$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 2.2 (c 0.3, chloroform).

ν_{max} (film): 2944, 2871, 1758, 1454, 1369, 1248, 1221, 1071, 1048, 879, 757 cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3) δ : 5.17 (t, 1 H, $J_{3,2} = J_{3,4}$ 9.0 Hz, H-3), 4.93-4.97 (m, 2 H, H-2, H-4), 4.68-4.69 (m, 1 H, H-29 lupan), 4.56-4.57 (m, 1 H, H-29 lupan), 4.50 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 7.3 Hz, H-1), 4.10 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 5.3, $J_{5,5'}$ 11.7, H-5), 3.31 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 9.5, $J_{5,5'}$ 11.7, H-5'), 3.05 (dd, 1 H, J 4.7 i 11.4 Hz, H-3 lupan), 2.35-2.40 (m, 1 H, H-19), 2.04 (s, 3 H, CH_3), 2.03 (s, 3 H, CH_3), 2.03 (s, 3 H, CH_3), 1.88-1.95 (m, 1 H), 1.68 (s, 3 H, H-30), 1.02 (s, 3 H, CH_3), 0.93 (s, 3 H, CH_3), 0.90 (s, 3 H, CH_3), 0.82 (s, 3 H, CH_3), 0.78 (s, 3 H, CH_3), 0.72 (s, 3 H, CH_3), 0.73-1.76 (m, 22 H, protony lupanowe), 0.66-0.68 (m, 1 H, H-5 lupan).

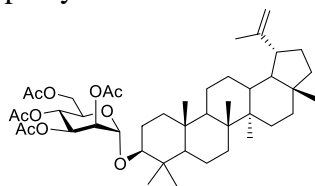
^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 170.2, 169.8, 169.3, 150.9 (C-20), 109.3 (C-29), 103.0 (C-1), 89.9 (C-3 lupan), 71.9 (C-3), 71.5 (C-2), 69.1 (C-4), 62.1 (C-5), 55.5, 50.4, 48.3, 47.9, 43.0, 42.8, 40.8, 40.0, 39.0, 38.6, 38.0, 36.9, 35.6, 34.2, 29.8, 27.6, 27.4, 25.9, 25.1, 20.9, 20.7, 20.7, 20.7, 19.3, 18.2, 18.0, 16.1, 16.1, 15.9, 14.5.

HR MS (ESI) $\text{C}_{41}\text{H}_{64}\text{NaO}_8$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 707.4499; zmierzona: 707.4509.

Anal. Element. $\text{C}_{41}\text{H}_{64}\text{O}_8 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ obliczona: C 70.96, H 9.44; zmierzona: C 70.89, H 9.13.

4.2.65 3β -O-(2,3,4,6-Tetra-O- β -O-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-mannopiranozyl)lup-20(29)-en (91).

Wychodząc z lupeolu **83** (100 mg, 0.234 mmol) i trichloroacetoimidanu D-mannopiranozylu **87** (123 mg, 0.249 mmol) stosując procedurę 4.2.64 otrzymałam **91** (124 mg, 70%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 60.6 (c 0.3, chloroform).

ν_{max} (film): 2945, 2871, 1752, 1454, 1370, 1227, 1133, 1051, 978, 884, 757 cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3) δ : 5.33 (dd, 1 H, $J_{3,2}$ 3.3, $J_{3,4}$ 10.1 Hz, H-3), 5.28 (t, 1 H, J 9.8 Hz, H-4), 5.15 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 3.3, $J_{2,1}$ 1.7 Hz, H-2), 4.97 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 1.7 Hz, H-1), 4.68-4.69 (m, 1 H, H-29), 4.56-4.57 (m, 1

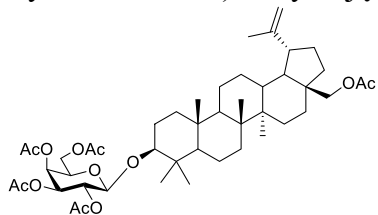
H, H-29), 4.25 (dd, 1 H, $J_{6,5}$ 5.8, $J_{6,6'}$ 12.6, H-6), 4.10-4.13 (m, 2 H, H-5, H-6), 3.20 (dd, 1 H, $J_{4,2}$ i 11.7 Hz, H-3 lupan), 2.35-2.40 (m, 1 H, H-19), 2.15 (s, 3 H, CH₃), 2.10 (s, 3 H, CH₃), 2.05 (s, 3 H, CH₃), 1.99 (s, 3 H, CH₃), 1.88-1.93 (m, 1 H), 1.68 (s, 3 H, H-30), 1.03 (s, 3 H, CH₃), 0.99 (s, 3 H, CH₃), 0.93 (s, 3 H, CH₃), 0.84 (s, 3 H, CH₃), 0.82 (s, 3 H, CH₃), 0.79 (s, 3 H, CH₃), 0.74-1.71 (m, 22 H, protony lupanowe), 0.67-0.69 (m, 1 H, H-5 lupan).

¹³C NMR (CDCl₃) δ : 170.6, 170.2, 169.8, 169.8, 150.9 (C-20), 109.3 (C-29), 94.6 (C-1), 84.6 (C-3 lupan), 70.7 (C-2), 69.2 (C-3), 69.0 (C-5), 66.2 (C-4), 62.6 (C-6), 55.7, 50.4, 48.3, 47.9, 43.0, 42.8, 40.8, 40.0, 38.5, 38.2, 38.0, 37.1, 35.6, 34.3, 29.8, 28.6, 27.4, 25.1, 22.3, 20.9, 20.7, 20.7, 19.3, 18.3, 18.0, 16.3, 16.1, 16.0, 14.5.

Anal. Element. C₄₄H₆₈O₁₀ obliczona: C 69.81, H 9.05; zmierzona: C 69.67, H 9.03.

4.2.66 28-O-Acetyl-3 β -O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galaktopiranozylo)lup-20(29)-en (93).

Reakcję prowadziłam w atmosferze argonu. Mieszaninę monoocetanu betuliny **50** (100 mg, 0.225 mmol) i trichloroacetoimidanu D-galaktopiranozylu **85** (103 mg; 0.210 mmol) rozpuściłam w mieszaninie dichlorometan/acetonitryl 3:2 (5 ml). Dodałam sита molekularne (4 Å, 250 mg, drobno zmielone). Po schłodzeniu mieszaniny do temperatury 0 °C wprowadziłam TMSOTf (1.5 ekw.) Całość mieszałam do zaniku substratu na TLC (30 min, heksan/octan etylu 5:1). Reakcję zakończyłam dodając trietyloaminę (0.5 ml). Mieszaninę zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i rozdzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej (heksan/octan etylu 20:1 \rightarrow 10:1) otrzymując **93** (145 mg; 86 %) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ 10.9 (c 0.3, chloroform).

ν_{\max} (film): 2945, 2871, 1753, 1367, 1225, 1078, 1048, 756 cm⁻¹.

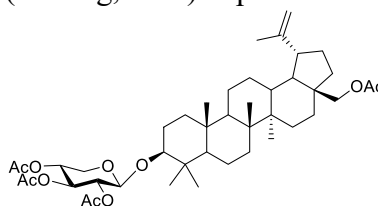
¹H NMR (CDCl₃ / CD₃OD, 3:1) δ : 5.37 (bd, 1 H, $J_{4,3}$ 3.5 Hz, H-4), 5.23 (dd, 1 H, $J_{2,1}$ 8.0, $J_{2,3}$ 10.5 Hz, H-2), 5.02 (dd, 1 H, $J_{3,2}$ 10.5, $J_{3,4}$ 3.5 Hz, H-3), 4.69 (bs, 1 H, H-29), 4.59 (bs, 1 H, H-29), 4.52 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 8.0 Hz, H-1), 4.25 (d, 1 H, J 10.9 Hz, H-28), 4.20 (dd, 1 H, $J_{6,5}$ 6.8, $J_{6,6'}$ 11.2, H-6), 4.09 (dd, 1 H, $J_{6,5}$ 6.8, $J_{6,6'}$ 11.2 Hz, H-6'), 3.91 (t, 1 H, $J_{5,6} = J_{5,6'}$ 6.8 Hz, H-5), 3.86 (d, 1 H, J 10.9 Hz, H-28), 3.08 (dd, 1 H, J 5.0 Hz, 11.5 Hz, H-3 lupan), 2.41-2.47 (m, 1 H, H-19 lupan), 2.15 (s, 3 H, CH₃), 2.07 (s, 3 H, CH₃), 2.05 (s, 6 H, 2' CH₃), 1.99 (s, 3 H, CH₃), 1.69 (s, 3 H, H-30), 1.03 (s, 3 H, CH₃), 0.97 (s, 3 H, CH₃), 0.90 (s, 3 H, CH₃), 0.82 (s, 3 H, CH₃), 0.74 (s, 3 H, CH₃), 0.85-2.00 (m, 22 H, protony lupanowe), 0.67-0.69 (m, 1 H, H-5 lupan).

¹³C NMR (CDCl₃ / CD₃OD, 3:1) δ : 171.9, 170.6, 170.6, 170.4, 169.5, 150.1 (C-20), 109.8 (C-29), 103.4 (C-1), 90.8 (C-3 lupan), 71.0 (C-3), 70.3 (C-5), 69.3 (C-2), 67.1 (C-4), 62.8 (C-28), 61.4 (C-6), 55.5, 50.3, 48.7, 47.6, 46.3, 42.6, 40.8, 38.9, 38.6, 37.5, 36.8, 34.5, 34.1, 29.7, 29.5, 27.5, 27.0, 25.9, 25.1, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6, 20.5, 19.1, 18.1, 16.1, 15.9, 14.6.

Anal. Element.: C₄₆H₇₀O₁₂ · ½H₂O obliczona: C 67.05, H 8.68; zmierzona: C 67.05, H 8.34.

4.2.67 28-O-Acetyl-3 β -O-(2,3,4-tri-O-acetyl- β -D-ksylopiranozylo)lup-20(29)-en (94).

Wychodząc z monoocetanu betuliny **50** (100 mg, 0.225 mmol) i trichloroacetoimidanu D-ksylopiranozylu **86** (85 mg, 0.210 mmol) i stosując procedurę 4.2.66 otrzymałam związek **94** (136 mg, 81%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ -8.5 (c 0.3, chloroform).

ν_{\max} (film): 2945, 2871, 1757, 1456, 1388, 1366, 1246, 1224, 1072, 1048, 1037, 975, 757 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ : 5.17 (t, 1 H, $J_{3,2} = J_{3,4}$ 9.0 Hz, H-3), 4.93-4.97 (m, 2 H, H-2, H-4), 4.68-4.69 (m, 1 H, H-29), 4.59 (bs, 1 H, H-29), 4.50 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 7.2 Hz, H-1), 4.24 (d, 1 H, J 10.9 Hz, H-28), 4.10 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 5.3, $J_{5,5'}$ 11.7 Hz, H-5), 3.85 (d, 1 H, J 10.9 Hz, H-28), 3.31 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 9.4, $J_{5,5'}$ 11.7 Hz, H-5'), 3.05 (dd, 1 H, J 4.7 Hz, 11.6 Hz, H-3 lupan), 2.42-2.46 (m, 1

H, H-19), 2.07 (s, 3H, CH₃), 2.04 (s, 3 H, CH₃), 2.04 (s, 3 H, CH₃), 2.03 (s, 3 H, CH₃), 1.92-2.00 (m, 1 H), 1.82-1.85 (m, 1 H), 1.68 (s, 3 H, H-30), 1.02 (s, 3 H, CH₃), 0.96 (s, 3 H, CH₃), 0.90 (s, 3 H, CH₃), 0.81 (s, 3 H, CH₃), 0.72 (s, 3H, CH₃), 0.83-1.78 (m, 20 H, protony lupanowe), 0.66-0.67 (m, 1 H, H-5 lupan).

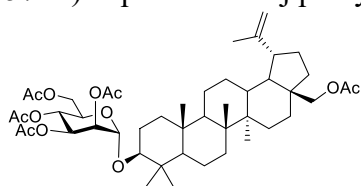
¹³C NMR (CDCl₃) δ: 171.6, 170.2, 169.8, 169.3, 150.1 (C-20), 109.8 (C-29), 102.9 (C-1), 89.9 (C-3 lupan), 71.8 (C-3), 71.4 (C-5), 69.1 (C-2), 62.8 (C-4), 62.1 (C-28), 55.5, 50.3, 48.8, 47.6, 46.3, 42.6, 40.9, 39.0, 38.6, 37.5, 36.8, 34.5, 34.1, 29.7, 29.6, 27.6, 27.0, 25.9, 25.2, 21.0, 20.8, 20.7, 20.7, 20.7, 19.1, 18.1, 16.1, 16.0, 16.0, 14.7.

HR-MS (ESI) C₄₃H₆₆NaO₁₀ [M+Na]⁺ obliczona: 765.4554; zmierzona: 765.4547.

Anal. Element. C₄₃H₆₆O₁₀·H₂O obliczona: C 67.87, H 9.01; zmierzona: C 68.00, H 8.93.

4.2.68 28-O-Acetyl-3β-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetylo-α-D-mannopiranozylo)lup-20(29)-en (95).

Wychodząc z monoocetanu betuliny **50** (100 mg, 0.225 mmol) i trichloroacetoimidanu D-mannopiranozylu **87** (104 mg, 0.210 mmol) i stosując procedurę 4.2.66 otrzymałam **95** (96 mg, 57 %) w postaci białej piany.



[α]_D²⁰ 43.8 (c 0.2, chloroform).

v_{max} (film): 2946, 2871, 1751, 1368, 1228, 1049, 757 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃ / CD₃OD, 3:1) δ: 5.32 (dd, 1 H, J_{3,2} 3.1, J_{3,4} 10.0 Hz, H-3), 5.28 (dd, 1 H, J_{4,3} 10.0, J_{4,5} 9.6 Hz, H-4), 5.14-5.15 (m, 1 H, H-2), 4.98 (bs, 1 H, H-1), 4.69 (bs, 1 H, H-29), 4.59 (bs, 1 H, H-29), 4.22-4.27 (m, 2 H, H-6, H-28), 4.11-4.14 (m, 2 H, H-

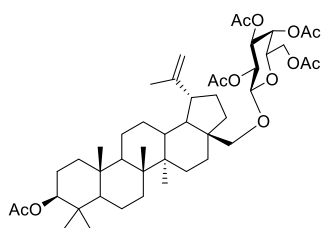
5, H-6), 3.86 (d, 1 H, J 10.9 Hz, H-28), 3.20 (dd, 1 H, J 4.0 Hz, 11.7 Hz, H-3 lupan), 2.42-2.47 (m, 1 H, H-19), 2.16 (s, 3 H, CH₃), 2.10 (s, 3 H, CH₃), 2.08 (s, 3 H, CH₃), 2.06 (s, 3 H, CH₃), 2.00 (s, 3 H, CH₃), 1.92-1.99 (m, 1 H), 1.83-1.86 (m, 1 H), 1.75-1.79 (m, 1 H), 1.68 (s, 3 H, H-30), 1.04 (s, 3 H, CH₃), 0.99 (s, 3 H, CH₃), 0.97 (s, 3 H, CH₃), 0.85 (s, 3 H, CH₃), 0.83 (s, 3 H, CH₃), 0.80-1.71 (m, 20 H, protony lupanowe), 0.68-0.70 (m, 1 H, H-5 lupan).

¹³C NMR (CDCl₃ / CD₃OD, 3:1) δ: 171.9, 170.9, 170.4, 170.1, 170.0, 150.0 (C-20), 109.8 (C-29), 94.5 (C-1), 84.6 (C-3 lupan), 70.6 (C-2), 69.2 (C-3), 68.9 (C-5), 66.2 (C-4), 62.9 (C-28), 62.6 (C-6), 55.6, 50.3, 48.7, 47.6, 46.2, 42.6, 40.8, 38.4, 38.2, 37.5, 37.0, 34.4, 34.1, 29.6, 29.5, 28.5, 27.0, 25.1, 22.2, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6, 20.6, 20.5, 19.0, 18.2, 16.2, 16.0, 15.9, 14.6.

Anal. Element. C₄₆H₇₀O₁₂·½H₂O obliczona: C 67.05, H 8.68; zmierzona: C 67.08, H 8.57.

4.2.69 Glikozydowanie monoocetanu betuliny (wolna grupa hydroksylowa w pocycji C-28. 3β-O-Acetyl-28-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-galaktopiranozylo)lup-20(29)-en (96).

Wychodząc z monoocetanu betuliny **92** (100 mg; 0.225 mmol) i trichloroacetoimidanu D-galaktopiranozylu **85** (104 mg; 0.210 mol) i stosując procedurę 4.2.66 otrzymałam **96** (48 mg, 29%) i **98** (64 mg; 38%) w postaci białych pian.



[α]_D²⁰ 4.0 (c 0.3, chloroform).

v_{max} (film): 2945, 2872, 1753, 1454, 1433, 1369, 1247, 1223, 1079, 1052, 756 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ: 5.39 (dd, 1 H, J_{4,3} 3.5, J_{4,5} 0.7 Hz, H-4), 5.21 (dd, 1 H, J_{2,1} 8.0, J_{2,3} 10.5 Hz, H-2), 5.04 (dd, 1 H, J_{3,2} 10.5, J_{3,4} 3.5 Hz, H-3), 4.67 (bs, 1 H, H-29), 4.57 (bs, 1 H, H-29), 4.47 (dd, 1 H, J 5.3 Hz 11.0 Hz, H-3 lupan), 4.42 (d, 1 H, J_{1,2} 8.0 Hz, H-1), 4.22

(dd, 1 H, J_{6,5} 6.2, J_{6,6'} 11.2, H-6), 4.13 (dd, 1H, J_{6,5} 7.4, J_{6,6'} 11.2 Hz, H-6'), 3.90-3.92 (m, 1 H, H-5), 3.63 (d, 1 H, J 9.2 Hz, H-28), 3.55 (d, 1 H, J 9.2 Hz, H-28), 2.33-2.38 (m, 1 H, H-19), 2.16 (s, 3 H, CH₃), 2.06 (s, 3 H, CH₃), 2.04 (s, 3 H, CH₃), 2.03 (s, 3 H, CH₃), 1.99 (s, 3 H, CH₃), 1.93-2.08 (m, 2 H), 1.88-1.92 (2, 1 H), 1.82-1.86 (m, 1 H), 1.67 (s, 3 H, H-30), 1.04 (s, 3 H,

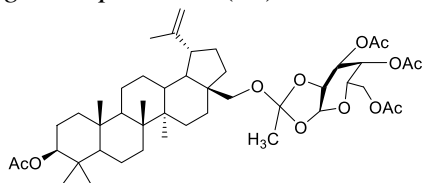
CH₃), 0.97 (s, 3 H, CH₃), 0.86 (s, 3 H, CH₃), 0.85 (s, 3 H, CH₃), 0.84 (s, 3 H, CH₃), 0.98-1.67 (m, 19 H, protony lupanowe), 0.79-0.80 (m, 1 H, H-5 lupan).

¹³C NMR (CDCl₃) δ: 171.0, 170.4, 170.3, 170.2, 169.3, 150.3 (C-20), 109.7 (C-29), 102.2 (C-1), 80.9 (C-3 lupan), 70.9 (C-3), 70.5 (C-5), 68.9 (C-2), 68.6 (C-28), 67.0 (C-4), 61.1 (C-6), 55.3, 50.2, 48.6, 47.9, 47.1, 42.7, 40.8, 38.3, 37.8, 37.6, 37.0, 34.6, 34.1, 29.6, 29.3, 27.9, 27.0, 25.1, 23.7, 21.3, 20.8, 20.7, 20.7, 20.7, 20.6, 19.0, 18.1, 16.5, 16.1, 16.1, 14.8.

HR-MS (ESI) C₄₆H₇₀NaO₁₂ [M+Na]⁺ obliczona: 837.4765; zmierzona: 837.4763.

Anal. Element. C₄₆H₇₀O₁₂·H₂O obliczona: C 66.32, H 8.71; zmierzona: C 66.25; H 8.73.

3,4,6-Tri-O-acetyl-1,2-O-[1-[[3β-O-acetyl-lup-20(29)-en-28-yl]oksy]etylideno]-α-D-galaktopiranoza (98).



Jako mieszanina dwóch izomerów w przybliżonym stosunku 2 : 1.

ν_{\max} (film): 2946, 2871, 1753, 1455, 1371, 1246, 1153, 1029, 756 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ: związek główny, wybrane sygnały: 5.80 (d, 1H, $J_{1,2}$ 4.8 Hz, H-1), 5.44 (dd, 1H, $J_{4,3}$ 3.4, $J_{4,5}$ 2.5

Hz, H-4), 5.08 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 6.7, $J_{3,4}$ 3.4 Hz, H-3), 4.68 (bs, 1H, H-29), 4.58 (bs, 1H, H-29), 4.45-4.48 (m, 1H, H-3 lupan), 4.28-4.34 (m, 2H, H-2, H-5), 4.07-4.19 (m, 2H, H-6, H-6'), 3.59 (d, 1H, J 8.6 Hz, H-28), 3.18 (d, 1H, J 8.6 Hz, H-28), 2.35-2.38 (m, 1H, lupan H-19), 1.69 (s, 3H, ortoester CH₃). Związek uboczny, wybrane sygnały: 5.65 (d, 1H, $J_{1,2}$ 4.8 Hz, H-1), 5.50 (dd, 1H, $J_{4,3}$ 3.2, $J_{4,5}$ 2.1 Hz, H-4), 5.37 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 7.1, $J_{3,4}$ 3.2 Hz, H-3), 4.68 (bs, 1H, H-29), 4.58 (bs, 1H, H-29), 4.45-4.48 (m, 1H, H-3 lupan), 4.36-4.38 (m, 1H, H-5), 4.21 (dd, 1H, $J_{2,1}$ 4.8, $J_{2,3}$ 7.1 Hz, H-2), 4.07-4.19 (m, 2H, H-6, H-6'), 3.72 (d, 1H, J 9.0 Hz, H-28), 3.29 (d, 1H, J 9.0 Hz, H-28), 2.35-2.38 (m, 1H, H-19), 1.71 (s, 3H, CH₃ ortoester).

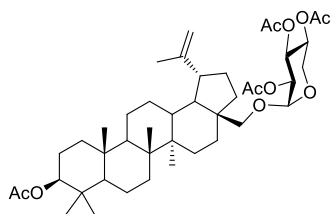
¹³C NMR (CDCl₃) δ d: związek główny: 171.1, 170.5, 170.1, 169.8, 150.4 (C-20), 121.5 (C dioksolan), 109.6 (C-29), 97.5 (C-1), 80.9 (C-3 lupan), 73.8 (C-2), 71.4 (C-3), 69.0 (C-5), 66.0 (C-4), 61.4 (C-6), 60.5 (C-28). Związek uboczny: wybrane sygnały: 150.5 (C-20), 122.1 (C dioksolan), 109.6 (C-29), 97.6 (C-1), 80.9 (C-3 lupan), 73.6 (C-2), 71.9 (C-3), 69.3 (C-5), 66.3 (C-4), 61.6 (C-28), 61.4 (C-6).

HR-MS (ESI) C₄₆H₇₀NaO₁₂ [M+Na]⁺ obliczona: 837.4765; zmierzona: 837.4757.

Anal. Element. C₄₆H₇₀O₁₂·½H₂O obliczona: C 67.05, H 8.68; zmierzona: C 67.16, H 8.84.

4.2.70 3β-O-Acetylo-28-O-(2,3,4-tri-O-acetylo-β-D-ksylopiranozylo)lup-20(29)-en (97).

Wychodząc z monoacetanu betuliny **92** (100 mg, 0.225 mmol) i trichloroacetimidanu D-ksylopiranozylu **86** (104 mg, 0.210) i stosując procedurę 4.2.66 otrzymałam **97** (87 mg, 52 %) w postaci białej piany.



$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -4.7 (c 0.3, chloroform).

ν_{\max} (film): 2946, 2871, 1758, 1369, 1248, 1223, 1075, 1049, 1038, 757 cm⁻¹.

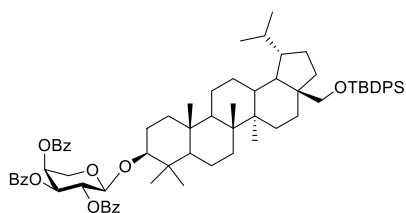
¹H NMR (CDCl₃ / CD₃OD, 3:1) δ: 5.17 (t, 1H, $J_{3,2} = J_{3,4} = 8.5$ Hz, H-3), 4.91-4.97 (m, 2H, H-2, H-4), 4.67 (bs, 1H, H-29), 4.57 (bs, 1H, H-29), 4.44-4.48 (m, 2H, H-1, H-3 lupan), 4.13 (dd, 1H, $J_{5,4}$ 5.1, $J_{5,5'}$ 11.8 Hz, H-5), 3.62 (d, 1H, J 9.2 Hz, H-28), 3.50 (d, 1H, J 9.2 Hz, H-28), 3.41 (dd, 1H, $J_{5,4}$ 8.8, $J_{5,5'}$ 11.8 Hz, H-5'), 2.35-2.41 (m, 1H, H-19), 2.07 (s, 3H, CH₃), 2.05 (s, 3H, CH₃), 2.05 (s, 3H, CH₃), 1.91-1.97 (m, 1H), 1.83-1.89 (m, 1H), 1.67 (s, 3H, H-30), 1.04 (s, 3H, CH₃), 0.98 (s, 3H, CH₃), 0.87 (s, 3H, CH₃), 0.85 (s, 6H, 2' CH₃), 0.99-1.69 (m, 21H, protony lupanowe), 0.79-0.81 (m, 1H, H-5 lupan).

^{13}C NMR ($\text{CDCl}_3 / \text{CD}_3\text{OD}$, 3:1) δ : 171.6, 170.3, 170.1, 169.6, 150.2 (C-20), 109.5 (C-29), 101.2 (C-1), 81.2 (C-3 lupan), 71.2 (C-3), 70.7 (C-2), 68.8 (C-4), 68.3 (C-28), 61.7 (C-5), 55.2, 50.1, 47.8, 46.9, 42.6, 40.7, 38.2, 37.6, 37.5, 36.9, 34.5, 34.0, 29.5, 29.3, 27.7, 26.9, 25.0, 24.0, 21.1, 20.7, 20.5, 20.4, 18.8, 18.0, 16.3, 16.0, 15.9, 14.6.

Anal. Element. $\text{C}_{43}\text{H}_{66}\text{O}_{10} \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ obliczona: C 68.68, H 8.98; zmierzona: C 68.88, H 8.98.

4.2.71 28-O-tert-Butylodifenylosilylo-3 β -O-(2,3,4-tri-O-benzoilo- α -L-arabinopiranozylo) dihydrobetulina (**102**)

Reakcję prowadziłam w atmosferze argonu. Mieszaninę **100** (400 mg, 0.586 mmol) i trichloroacetoimidanu L-arabinopiranozylu **101** (382 mg, 0.630 mmol) rozpuściłam w dichlorometanie (25 ml). Dodałam sita molekularne (4 Å, 400 mg, drobno zmielone). Po schłodzeniu mieszaniny do temperatury -40°C wprowadziłam TMSOTf (1.05 ekw.) Całość mieszałam do zaniku substratu na TLC (30 min, heksan/octan etylu 5:1). Reakcję zakończyłam dodając trietyloaminę (0.5 ml). Mieszaninę zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i rozdzieliłam za pomocą kolumny chromatograficznej (heksan/octan etylu 40:1 \rightarrow 20:1) uzyskując **102** (550 g, 83%) w postaci oleju.



ν_{max} (film): 2953, 2893, 2861, 1729, 1468, 1452, 1314, 1282, 1262, 1216, 1176, 1107, 1092, 1070, 1038, 1030, 1003. 977, 833, 758, 709, 615, 504, 490 cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3) δ : 8.06 (d, 2 H, J 8.3 Hz, Ar), 8.00 (d, 2 H, J 8.3 Hz, Ar), 7.92 (d, 2 H, J 8.3 Hz, Ar), 7.71-7.63 (m, 4 H, Ar), 7.61-7.50 (m, 2 H, Ar), 7.49-7.28 (m, 13 H, Ar), 5.76

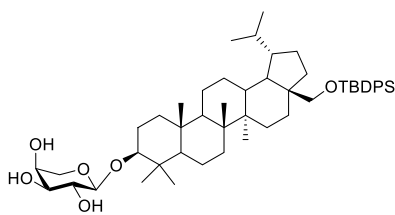
(dd, 1 H, $J_{2,1}$ 6.3 Hz, $J_{2,3}$ 8.9 Hz, H-2), 5.65-5.68 (m, 1 H, H-4), 5.59 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 8.9 Hz, $J_{3,4}$ 3.6 Hz, H-3), 4.77 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 6.3 Hz, H-1), 4.32 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 3.9 Hz, $J_{5,5}$ 12.9 Hz, H-5), 3.86 (d, 1 H, $J_{5,5}$ 12.9 Hz, H-5), 3.64 (d, 1 H, J 9.8 Hz, H-28 lupan), 3.28 (d, 1 H, J 9.8 Hz, H-28 lupan), 3.12 (dd, 1 H, J 11.7 Hz, 4.7 Hz, H-3 lupan), 1.04 (s, 9 H, 3 x CH_3), 0.89 (s, 3 H, CH_3), 0.78 (d, 3 H, J 6.9 Hz, CH_3), 0.76 (s, 3 H, CH_3), 0.74 (s, 3 H, CH_3), 0.73 (d, 3 H, J 6.9 Hz, CH_3), 0.64 (s, 3 H, CH_3), 0.63 (s, 3 H, CH_3), 0.50-2.11 (m, 26 H. protony lupanowe).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 165.8, 165.6, 165.2, 135.7, 135.7, 135.6, 135.6, 134.0, 133.9, 133.3, 133.2, 133.1, 129.9, 129.8, 129.8, 129.7, 129.7, 129.7, 129.7, 129.5, 129.5, 129.4, 129.1, 128.5, 128.5, 128.3, 128.3, 128.3, 128.3, 127.6, 127.6, 127.6, 127.6, 101.6 (CH, C-1), 90.2 (CH, C-3 lupan), 70.7 (CH, C-3), 70.2 (CH, C-2), 68.7 (CH, C-4), 62.5 (CH_2 , C-5), 61.1 (CH_2 , C-28 lupan), 55.4 (CH, C-5 lupan), 49.9, 48.5, 47.7, 44.6, 42.7, 40.8, 39.0, 38.6, 36.8, 34.5, 34.2, 29.6, 29.5, 27.7, 26.9, 26.9, 26.9, 26.9, 26.8, 26.0, 25.8, 22.9, 21.7, 20.7, 19.4, 18.1, 16.1, 15.9, 15.7, 14.9, 14.5.

Anal. Element. $\text{C}_{72}\text{H}_{90}\text{O}_9\text{Si}$ obliczona: C 76.69, H 8.05; zmierzona: C 76.47, H 8.10.

4.2.72 28-O-tert-Butylodifenylosilylo-3 β -O- α -L-arabinopiranozylo-dihydrobetulina (**103**)

Wychodząc z **102** (300 mg, 0.266 mmol) i stosując procedurę 4.2.29 otrzymałam **103** (200 mg 92%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -27.9 (c 0.2, chloroform)

ν_{max} (film): 3412, 2953, 2862, 1109, 1083, 1000, 982, 759, 703, 504 cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.65-7.71 (m, 4 H, Ar), 7.35-7.44 (m, 6 H, Ar), 4.38 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 5.8 Hz, H-1), 4.36-4.40 (m, 1 H), 3.86-3.95 (m, 1 H), 3.46-3.78 (m, 1 H), 3.69-3.71 (m, 1 H), 3.65 (dd, 1 H, J 1.5 Hz, 10.0 Hz, H-28 lupan), 3.55 (dd, 1 H,

$J_{5,5}$ 12.0 Hz, $J_{5,4}$ 2.3 Hz, H-5), 3.29 (d, 1 H, J 10.0 Hz, H-28 lupan), 3.11 (dd, 1 H, J 11.8 Hz, 4.6 Hz, H-3 lupan), 1.05 (s, 9 H, 3 x CH_3), 0.97 (s, 3 H, CH_3), 0.88 (s, 3 H, CH_3), 0.79 (s, 3 H,

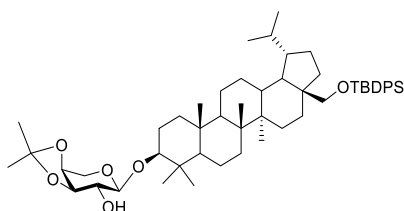
CH₃), 0.78 (d, 3 H, *J* 6.9 Hz, CH₃), 0.74 (d, 3 H, *J* 6.9 Hz, CH₃), 0.67 (s, 3 H, CH₃), 0.63 (s, 3 H, CH₃), 0.50-2.11 (m, 29 H, protony lupanowe).

¹³C NMR (CDCl₃) δ: 135.7, 135.7, 135.6, 135.6, 134.0, 133.9, 129.5, 129.4, 127.6, 127.6, 127.6, 127.6, 104.3 (CH, C-1), 89.9 (CH, C-3 lupan), 72.3, 71.6, 66.9, 64.0 (CH₂, C-5), 61.1 (CH₂, C-28 lupan), 60.4, 55.4, 50.0, 48.5, 47.8, 44.6, 42.7, 40.8, 39.1, 38.6, 36.7, 36.7, 34.5, 34.2, 29.6, 29.5, 28.2, 26.9, 26.9, 26.9, 26.8, 25.9, 22.9, 21.7, 20.7, 19.4, 18.2, 16.4, 16.0, 15.7, 14.9, 14.5.

LR-MS (ESI) C₅₁H₇₈O₆Si [M]⁺ obliczona: 814.56; zmierzona: 814.56.

4.2.73 28-O-*tert*-Butylodifenylosilylo-3β-(3,4-O-izopropylideno-α-L-arabinopiranozylo)-dihydrobetulina (104)

Do roztworu **103** (482 mg, 0.591 mmol) w DMF (10 ml), dodałam 2,2-dimetoksypropan (186 mg, 1.78 mmol) i *p*-TsOH (25 mg, 0.150 mmol). Roztwór mieszałam w temperaturze pokojowej do zaniku substratu na TLC (45 min., heksan/octan etylu 3:1). Reakcję zakończyłam dodając trietyloaminę (1 ml). Mieszaninę zateżyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i rozdzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej (heksan/octan etylu 20:1→10:1) otrzymałam **104** (465 mg, 92%) w postaci białej piany.



*v*_{max} (film): 3473, 2952, 2893, 2863, 1469, 1385, 1371, 1217, 1112, 1080, 1041, 833, 820, 758, 704, 504 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ: 7.64-7.71 (m, 4 H, Ar), 7.33-7.45 (m, 6 H, Ar), 4.15-4.22 (m, 3 H), 4.03-4.09 (m, 1 H), 3.73-3.79 (m, 1 H), 3.58-3.69 (m, 2 H), 3.26 (d, 1 H, *J* 9.9 Hz, H-28 lupan), 3.09 (dd, 1 H, *J* 6.4 Hz, 11.8 Hz, H-3), 1.53 (s, 3 H, CH₃), 1.36

(s, 3 H, CH₃), 1.05 (s, 9 H, 3 x CH₃), 0.97 (s, 3 H, CH₃), 0.87 (s, 3 H, CH₃), 0.80 (s, 3 H, CH₃), 0.79 (d, 3 H, *J* 6.9 Hz, CH₃), 0.77 (s, 3 H, CH₃), 0.74 (d, 3 H, *J* 6.9 Hz, CH₃), 0.67 (s, 3 H, CH₃), 0.64-2.30 (m, 27 H, protony lupanowe).

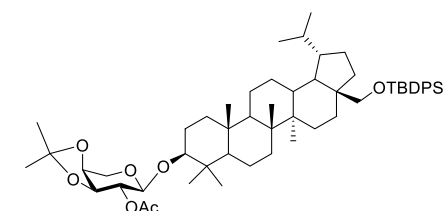
¹³C NMR (CDCl₃) δ: 135.7, 135.7, 135.6, 135.6, 134.0, 133.9, 129.5, 129.4, 127.6, 127.6, 127.6, 127.6, 110.0 (C), 104.3 (CH, C-1), 89.0 (CH, C-3 lupan), 78.2, 74.4, 72.2, 63.1 (CH₂, C-5), 61.1 (CH₂, C-28 lupan), 55.5, 50.0, 48.5, 47.8, 44.6, 42.7, 40.8, 39.1, 38.7, 36.8, 36.7, 34.5, 34.2, 29.6, 29.5, 28.2, 28.0, 26.9, 26.9, 26.6, 26.9, 26.8, 26.8, 26.1, 22.9, 21.7, 20.7, 19.4, 18.2, 16.5, 16.0, 15.7, 14.9, 14.6.

Anal. Element. C₅₄H₈₂O₆Si obliczona: C 75.83, H 9.66; zmierzona: C 75.68, H 9.42.

HR-MS (ESI) C₅₄H₈₂NaO₆Si [M+Na]⁺ obliczona: 877.5778; zmierzona: 877.5786.

4.2.74 28-O-*tert*-Butylodifenylosilylo-3β-O-(2-O-acetylo-3,4-O-izopropylideno-α-L-arabinopiranozylo) hydroksybetulina (105)

Wychodząc z **104** (405 mg, 0.474 mmol) i stosując procedurę 4.2.39 otrzymałam **105** (415 mg, 98%) w postaci białej piany.



[α]_D²⁰ -11.5 (c 0.3, chloroform).

*v*_{max} (film): 2952, 2893, 2862, 1746, 1385, 1371, 1220, 1113, 1051, 758, 703, 504 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ: 7.63-7.71 (m, 4 H, Ar), 7.33-7.44 (m, 6 H, Ar), 5.04 (t, 1 H, *J*_{2,1} 7.4 Hz, H-2), 4.35 (d, 1 H, *J*_{1,2} 7.4 Hz, H-1), 4.21-4.25 (m, 1 H, H-4), 4.06-4.19 (m, 2 H,

H-5, H-3), 3.74 (dd, 1 H, *J*_{5,5} 13.1 Hz, *J*_{5,4} 3.7 Hz, H-5), 3.65 (d, 1 H, *J* 9.9 Hz, H-28 lupan), 3.29 (d, 1 H, *J* 9.9 Hz, H-28 lupan), 2.99 (dd, 1 H, *J* 4.7 Hz, 11.5 Hz, H-3 lupan), 2.09 (s, 3 H, CH₃), 1.56 (s, 3 H, CH₃), 1.35 (s, 3 H, CH₃), 1.05 (s, 9 H, 3 x CH₃), 0.88 (s, 3 H, CH₃), 0.79 (d, 3 H, *J* 6.9 Hz, CH₃), 0.76 (s, 3 H, CH₃), 0.74 (d, 3 H, *J* 6.9 Hz, CH₃), 0.72 (s, 3 H, CH₃), 0.67 (s, 3 H, CH₃), 0.60-2.30 (m, 29 H, protony lupanowe).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 169.5 (C), 135.7, 135.7, 135.6, 135.6, 134.0, 133.9, 129.5, 129.4, 127.6, 127.6, 127.6, 110.0 (C), 102.4 (CH, C-1), 89.3 (CH, C-3 lupan), 77.2, 73.3, 73.0, 62.4 (CH₂, C-5), 61.1 (CH₂, C-28 lupan), 55.5, 50.0, 48.5, 47.8, 44.6, 42.7, 40.8, 39.0, 38.6, 37.8, 36.7, 34.5, 34.2, 29.6, 29.5, 27.8, 26.9, 26.9, 26.6, 26.9, 26.8, 26.8, 26.2, 26.0, 22.9, 21.7, 21.1, 20.7, 19.4, 18.2, 16.2, 16.0, 15.7, 14.9, 14.6.

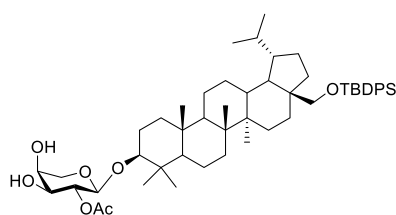
Anal. Element. C₅₆H₈₄O₇Si obliczona: C 74.95, H 9.44; oznaczona: C 74.87, H 9.23.

HR-MS (ESI) C₅₆H₈₄NaO₇Si [M+Na]⁺ obliczona: 919.5880; zmierzona: 919.5884.

4.2.75 28-O-tert-Butylodifenylosilylo-3 β -O-(2-O-acetylo- α -L-arabinopyranozylo)

hydroksybetulina (**106**)

Wychodząc z **105** (329 mg; 0.366 mmol) i stosując procedurę 4.2.53 otrzymałam **106** (302 mg 81%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -13.7 (*c* 0.3, chloroform).

ν_{max} (film): 3434, 2952, 2862, 1739, 1371, 1240, 1111, 1080, 1062, 759, 702, 504 cm⁻¹.

^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.64-7.71 (m, 4 H, Ar), 7.34-7.45 (m, 6 H, Ar), 4.97 (dd, 1 H, $J_{2,1}$ 3.9 Hz, $J_{2,3}$ 5.8 Hz, H-2), 4.63 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.9 Hz, H-1), 3.87-3.92 (m, 1 H, H-4), 3.79-3.84 (m,

2 H, H-5, H-3), 3.65 (d, 1 H, J 9.9 Hz, H-28 lupan), 3.59 (dd, 1 H, $J_{5,5}$ 11.9 Hz, $J_{5,4}$ 3.9 Hz, H-5), 3.29 (d, 1 H, J 9.9 Hz, H-28 lupan), 3.09 (dd, 1 H, J 4.6 Hz, 11.5 Hz, H-3 lupan), 2.11 (s, 3 H, CH₃), 1.05 (s, 9 H, 3 x CH₃), 0.95 (s, 3 H, CH₃), 0.89 (s, 3 H, CH₃), 0.79 (d, 3 H, J 6.9 Hz, CH₃), 0.77 (s, 3 H, CH₃), 0.76 (s, 3 H, CH₃), 0.74 (d, 3 H, J 6.9 Hz, CH₃), 0.67 (s, 3 H, CH₃), 0.63-2.32 (m, 28 H, protony lupanowe).

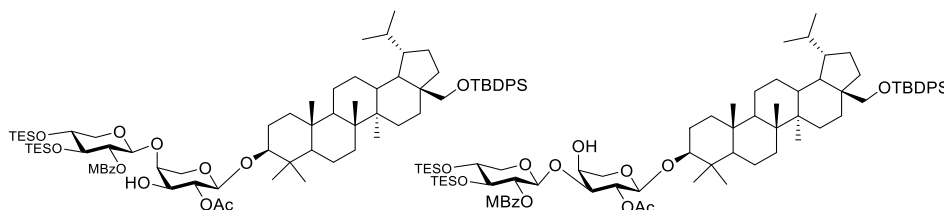
^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 170.3 (C), 135.7, 135.7, 135.6, 135.6, 134.0, 133.9, 129.5, 129.4, 127.6, 127.6, 127.6, 127.6, 100.7 (CH, C-1), 90.4 (CH, C-3 lupan), 71.4, 70.0, 65.7, 64.4, 61.5 (CH₂, C-5), 61.1 (CH₂, C-28 lupan), 55.4, 49.9, 48.5, 47.8, 44.6, 42.7, 40.8, 39.0, 38.6, 36.7, 36.7, 34.5, 34.2, 29.6, 29.5, 27.9, 26.9, 26.9, 26.9, 26.8, 25.8, 22.9, 21.7, 21.0, 20.7, 19.4, 18.2, 16.2, 15.9, 15.7, 14.9, 14.6.

Anal. Element. C₅₃H₈₀O₇Si obliczona: C 74.25, H 9.41; zmierzona: C 73.44, H 9.28.

HR-MS (ESI) C₅₃H₈₀NaO₇Si [M+Na]⁺ obliczona: 879.5583; zmierzona: 879.5571.

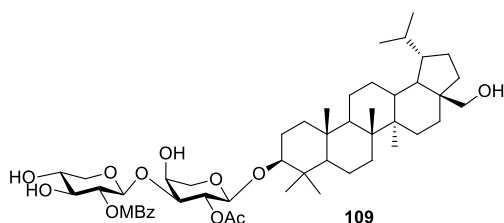
4.2.76 28-O-tert-Butylodifenylosilylo-3 β -O-[2-O-(4-metoksybenzoilo)-3,4-di-O-trietylosilylo- β -D-ksylopiranozylo-(1 \rightarrow 3)-2-O-acetylo- α -L-arabinopyranozylo] betulina (**108a**) i 28-O-tert-butylodifenylosilylo-3 β -O-[2-O-(4-metoksybenzoilo)-3,4-di-O-trietylosilylo- β -D-ksylopiranozylo-(1 \rightarrow 4)-2-O-acetylo- α -L-arabinopyranozylo] betulina (**108b**).

Reakcję prowadziłam w atmosferze argonu. Mieszaninę **106** (265 mg; 0.309 mmol) i trichloroacetoimidanu L-ksylopiranizylu **107** (250 mg; 0.38 mmol) rozpuściłam w dichlorometanie (15 ml). Dodałam sita molekularne (4 Å, 400 mg, drobno zmielone). Po ochłodzeniu mieszaniny do temperatury -40 °C wprowadziłam BF₃·Et₂O (11 μ l, 0.1 mmol). Całość mieszałam do zaniku substratu na TLC (30 min, heksan/octan etylu 5:1). Reakcję zakończyłam dodając trietyloaminę (0.5 ml). Mieszaninę zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem, otrzymałam mieszaninę **108a/108b** (253 mg), które bez oczyszczania użyłam w następnej reakcji.



4.2.77 28-*O*-*tert*-Butylo-difenylosilylo-3 β -*O*-[2-*O*-(4-metoksybenzoilo)- β -*D*-ksylopiranozylo-(1 \rightarrow 3)-2-*O*-acetylo- α -*L*-arabinopiranozylo] betulina (109) i 28-*O*-*tert*-Butylo-difenylosilylo-3 β -*O*-[2-*O*-(4-metoksybenzoilo)- β -*D*-ksylopiranozylo-(1 \rightarrow 4)-2-*O*-acetylo- α -*L*-arabinopiranozylo] betulina (110)

Reakcję prowadziłam w atmosferze argonu. Do roztworu **108a/108b** (100 mg, 0.0739 mmol) w THF (3 ml) wprowadziłam fluorek *tert*-butylo amoniowy (1M/THF, 0.40 mmol, 0.40 ml) oraz kwas octowy (0.40 mmol, 23 μ l). Całość mieszałam w temperaturze 60°C do zaniku substratu na TLC (24 h, heksan/octan etylu 1:1). Mieszaninę zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i oczyściłam za pomocą chromatografii kolumnowej (heksan/octan etylu 10:1 \rightarrow 1:1) otrzymując **109** (43 mg, 51 %) oraz **110** (40mg, 48%) w postaci białych pian.



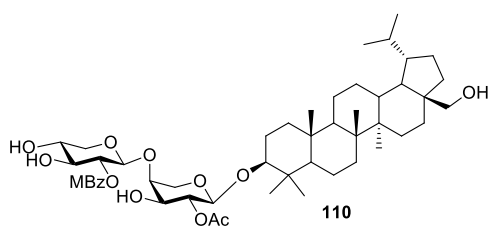
ν_{\max} (film): 3433, 2953, 2861, 1737, 1721, 1605, 1257, 1171, 1105, 1082, 1059, 759, 702 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.69-7.89 (m, 2 H, Ar), 6.86-6.92 (m, 2 H, Ar), 4.99-5.01 (m, 1 H, H-2), 4.95-4.98 (m, 1 H, H-2'), 4.64 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 6.5 Hz, H-1'), 4.28 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 7.3 Hz, H-1), 4.05-4.08 (m, 2 H, H-4, H-5'), 3.96 (br d, 1 H, $J_{5,5'}$ 12.0 Hz, H-5), 3.76-3.82 (m, 5 H,

H-4', H-28 lupan, OCH_3), 3.71-3.73 (m, 1 H, H-3'), 3.65 (br d, 1 H, J 9.4 Hz, H-3), 3.45 (br d, 1 H, $J_{5,5'}$ 12.0 Hz, H-5), 3.32-3.35 (m, 1 H, H-5'), 3.30 (d, 1 H, J 9.9 Hz, H-28 lupan), 2.95 (dd, 1 H, J 4.1, 11.3 Hz, H-3 lupan), 2.36-2.39 (m, 1 H, H-19 lupan), 1.83-1.97 (m, 3 H), 1.67 (s, 3 H, CH_3), 0.98 (s, 3 H, CH_3), 0.94 (s, 3 H, CH_3), 0.79 (d, 3 H, 6.7 Hz, CH_3), 0.76 (s, 3 H, CH_3), 0.74 (d, 3 H, 6.7 Hz, CH_3) 0.70 (s, 3 H, CH_3), 0.66 (s, 3 H, CH_3), 0.87-1.74 (m, 26 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 170.2 (C), 165.8 (C), 163.7 (Ar-OMe), 132.0 (Ar), 132.0 (Ar), 130.9 (Ar), 128.9 (Ar), 121.5 (Ar), 113.7 (Ar), 113.7 (Ar), 103.2 (C-1), 101.4 (C-1'), 90.1 (C-3 lupan), 80.4 (C-3), 74.0 (C-3'), 73.6 (C-2'), 70.8 (C-2), 69.6 (C-4'), 67.9 (C-4), 64.9 (C-5, C-5'), 60.5 (C-28 lupan), 55.6 (C-5 lupan), 55.5 (OCH_3), 50.5, 48.9, 47.8, 42.7, 40.8, 38.9, 38.7, 37.2, 36.8, 34.2, 34.1, 29.8, 29.2, 27.6, 27.0, 26.0, 25.2, 20.8, 20.4, 19.1, 18.1, 16.1, 16.1, 16.0, 15.0.

LR-MS (SI) $\text{C}_{50}\text{H}_{76}\text{O}_{13}$ $[\text{M}]^+$ obliczona: 884.53; zmierzona: 884.53.



ν_{\max} (film): 3433, 2953, 2936, 2861, 1739, 1714, 1605, 1257, 1171, 1105, 1082, 1059, 759, 702 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.68-7.90 (m, 2 H, Ar), 6.86-6.91 (m, 2 H, Ar), 4.99-5.01 (m, 1 H, H-2'), 4.78 (dd, 1 H, J 3.4, 9.3 Hz, H-3), 4.27 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 6.8 Hz, H-1), 4.04-4.08 (m, 1 H, H-5), 4.03 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 4.8, $J_{5,5'}$ 11.9 Hz, H-5'), 4.00 (br s, 1 H, H-4), 3.84 (s, 3 H,

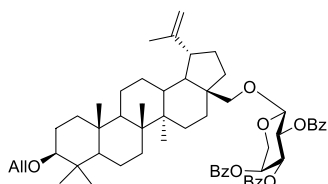
OCH_3), 3.70-3.78 (m, 3 H, H-2, H-3', H-4'), 3.56 (d, 1 H, J 9.9 Hz, H-28), 3.52 (d, 1 H, $J_{5,5'}$ 11.5 Hz, H-5), 3.20 (d, 1 H, J 9.9 Hz, H-28 lupan), 3.08 (dd, 1 H, J 4.5, 11.7 Hz, H-3 lupan), 1.72 (s, 3 H, CH_3), 0.89 (s, 3 H, CH_3), 0.88 (s, 3 H, CH_3), 0.78 (d, 3 H, J 6.7 Hz, CH_3), 0.75 (s, 3 H, CH_3), 0.74 (d, 3 H, J 6.7 Hz, CH_3) 0.69 (s, 3 H, CH_3), 0.65 (s, 3 H, CH_3), 0.80-2.00 (m, 32 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 170.1 (C), 166.2 (C), 163.1 (CH_3 , OCH_3), 132.1 (Ar), 132.1 (Ar), 130.92 (Ar), 121.7 (Ar), 114.0 (Ar), 114.0 (Ar), 104.3 (C-1), 102.6 (C-1'), 90.1 (C-3 lupan), 74.9 (C-3'), 74.6 (C-4), 73.9 (C-2'), 73.6 (C-3), 70.0 (C-4'), 69.8 (C-2), 64.9 (C-5'), 64.7 (C-5), 61.1 (C-28 lupan), 55.4, 55.2, 49.9, 48.5, 47.8, 44.6, 42.7, 40.1, 39.0, 38.6, 36.7, 36.6, 34.5, 34.2, 29.5, 27.7, 26.9, 26.8, 25.8, 22.9, 21.7, 20.9, 20.7, 19.4, 18.2, 16.2, 15.9, 15.7, 14.9.

LR-MS (SI) $\text{C}_{50}\text{H}_{76}\text{O}_{13}$ $[\text{M}]^+$ obliczona: 884.53; zmierzona: 884.53.

4.2.78 3 β -O-Allilo-28-O-(2,3,4-tri-O-benzoiolo- α -L-arabinopiranozylo) betulina (113).

Reakcję prowadziłam w atmosferze argonu. Mieszaninę **112** (720 mg, 1.49 mmol) i trichloroacetoimidanu L-arabinopiranozyłu **101** (985 mg, 1.58 mmol) rozpuściłam w dichlorometanie (25 ml). Dodałam sita molekularne (4 Å, 400 mg, drobno zmielone). Po schłodzeniu mieszaniny do temperatury -40 °C wprowadziłam TMSOTf (1.05 ekw.) Całość mieszałam do zaniku substratu na TLC (30 min, heksan/octan etylu 5:1). Reakcję zakończyłam dodając trietyloaminę (0.5 ml). Mieszaninę zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i rozdzieliłam za pomocą kolumny chromatograficznej (heksan/octan etylu 40:1→20:1) uzyskując **113** (1.57g, 82%) w postaci oleju.



$[\alpha]_D^{20}$ 96.2 (c 0.4, chloroform).

ν_{\max} (film): 2942, 2869, 1730, 1452, 1281, 1262, 1093, 1069, 1027, 710 cm^{-1} .

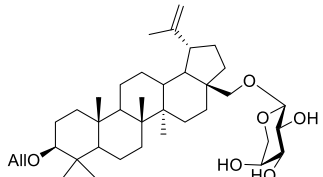
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.31-8.07 (m, 15 H, Ar), 5.89-5.96 (m, 1 H, allyl =CH), 5.73 (dd, 1 H, $J_{2,1}$ 6.3, $J_{2,3}$ 8.6 Hz, H-2), 5.68-5.69 (m, 1 H, H-4), 5.62 (dd, 1 H, $J_{3,2}$ 8.6, $J_{3,4}$ 3.6 Hz, H-3), 5.24-5.28 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.11-5.13 (m, 1 H, allyl =CH₂), 4.69 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 6.3 Hz, H-1), 4.65-4.66 (m, 1 H, H-29), 4.56 (br s, 1 H, H-29), 4.32 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 4.1, $J_{5,5'}$ 12.9 Hz, H-5), 4.10-4.13 (m, 1 H, allyl OCH₂), 3.86-3.92 (m, 2 H, H-5, allyl OCH₂), 3.67 (d, 1 H, J 9.0 Hz, H-28), 3.58 (d, 1 H, J 9.0 Hz, H-28), 2.78 (dd, 1 H, J 4.3, 11.7 Hz, H-3 lupan), 2.33-2.38 (m, 1 H, H-19), 1.95-2.01 (m, 2 H), 1.81-1.83 (m, 1 H), 1.68-1.72 (m, 1 H), 1.65 (s, 3 H, CH₃), 0.95 (s, 3 H, CH₃), 0.90 (s, 3 H, CH₃), 0.81 (s, 3 H, CH₃), 0.79 (s, 3 H, CH₃), 0.78-1.67 (m, 22 H, protony lupanowe), 0.62-0.64 (m, 1 H, H-5 lupan).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 165.7, 165.6, 165.1, 150.4 (C), 135.9, 128.3-133.4 (Ar), 115.9 (allyl CH₂), 109.6 (C-29), 101.7 (C-1), 86.3 (C-3 lupan), 70.6 (CH₂), 70.6, 70.0, 68.7 (CH₂), 68.5, 62.6 (C-5), 55.8, 50.3, 48.7, 47.9, 47.0 (C), 42.5 (C), 40.8 (C), 38.8 (C), 38.6 (CH₂), 37.6, 37.1 (C), 34.8 (CH₂), 33.9 (CH₂), 29.8 (CH₂), 29.2 (CH₂), 28.1, 27.0 (CH₂), 25.1 (CH₂), 23.1 (CH₂), 20.8 (CH₂), 19.0, 18.1 (CH₂), 16.3, 16.1, 15.9, 14.7.

Anal. Element. C₅₉H₇₄O₉ obliczona: C 76.43, H 8.04; zmierzona: C 76.33, H 8.23.

4.2.79 3 β -O-Allilo-28-O- α -L-arabinopiranozylo betulina (114).

Wychodząc z **113** (1.38 g, 1.49 mmol) i stosując procedurę 4.2.29 otrzymałam **114** (882 mg, 98%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ 7.7 (c 0.4, chloroform).

ν_{\max} (film): 3414, 2942, 2869, 1454, 1137, 1087, 1070, 999, 757 cm^{-1} .

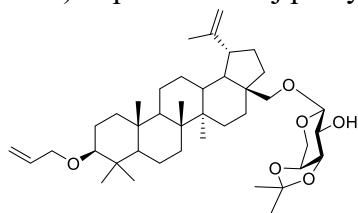
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.88-5.97 (m, 1 H, allyl =CH), 5.24-5.28 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.11-5.13 (m, 1 H, allyl =CH₂), 4.67 (br s, 1 H, H-29), 4.58 (s, 1 H, H-29), 4.27 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 5.5 Hz, H-1), 4.10-4.14 (m, 1 H, allyl OCH₂), 3.93-3.95 (m, 1 H, H-4), 3.86-3.92 (m, 2 H), 3.72-3.77 (m, 2 H), 3.64 (d, 1 H, J 9.4 Hz, H-28), 3.59 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 2.2, $J_{5,5'}$ 12.4 Hz, H-5), 3.53 (d, 1 H, J 9.4 Hz, H-28), 2.80 (dd, 1 H, J 4.1, 11.7 Hz, H-3 lupan), 2.36-2.44 (m, 1 H, H-19), 1.86-2.00 (m, 3 H), 1.68 (s, 3 H, CH₃), 1.02 (s, 3 H, CH₃), 0.97 (s, 3 H, CH₃), 0.96 (s, 3 H, CH₃), 0.83 (s, 3 H, CH₃), 0.78 (s, 3 H, CH₃), 0.79-1.73 (m, 23 H, protony lupanowe), 0.67-0.69 (m, 1 H, lupan H-5).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 150.3 (C), 135.9, 115.9 (CH₂), 109.7 (CH₂), 102.9 (C-1), 86.2 (C-3 lupan), 72.3, 71.4, 70.6 (CH₂), 68.0 (CH₂), 67.0, 64.3 (C-5), 55.8 (C-5 lupan), 50.3, 48.8, 47.7, 47.0 (C), 42.7 (C), 40.9 (C), 38.8 (C), 38.6 (CH₂), 37.6, 37.1 (C), 34.8 (CH₂), 34.2 (CH₂), 29.7 (CH₂), 29.7 (CH₂), 28.1, 27.1 (CH₂), 25.2 (CH₂), 23.1 (CH₂), 20.8 (CH₂), 19.1, 18.2 (CH₂), 16.3, 16.1, 16.1, 14.7.

Anal. Element. C₃₈H₆₂O₆·½ H₂O obliczona: C 73.15, H 10.18; zmierzona: C 72.94, H 10.22.

4.2.80 *3β-O-Allilo-28-O-(3,4-O-izopropylideno-α-L-arabinopiranozylo) betulina (115)*.

Wychodząc z **114** (797 mg, 1.30 mmol) i stosując procedurę 4.2.74 otrzymałam **115** (750mg, 89%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ 23.7 (c 0.4, chloroform).

ν_{\max} (film): 3466, 2942, 2870, 1455, 1374, 1218, 1123, 1086, 1070, 1042, 757 cm^{-1} .

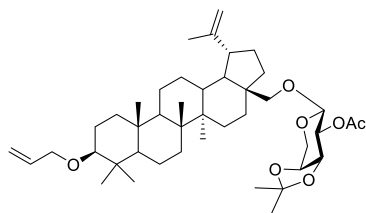
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.89-5.97 (m, 1 H, allyl =CH), 5.24-5.28 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.11-5.13 (m, 1 H, allyl =CH₂), 4.66-4.67 (m, 1 H, H-29), 4.57 (br s, 1 H, H-29), 4.18-4.24 (m, 2 H), 4.07-4.14 (m, 3 H), 3.86-3.90 (m, 1 H, allyl OCH₂), 3.79 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 3.2, $J_{5,5'}$ 13.2 Hz, H-5), 3.61-3.64 (m, 2 H), 3.51 (d, 1 H, J 9.2 Hz, H-28), 2.80 (dd, 1 H, J 4.1, 11.7 Hz, H-3 lupan), 2.37-2.43 (m, 1 H, H-19), 1.92-2.00 (m, 3 H), 1.67 (s, 3 H, CH₃), 1.55 (s, 3 H, CH₃), 1.37 (s, 3 H, CH₃), 1.01 (s, 3 H, CH₃), 0.97 (s, 3 H, CH₃), 0.96 (s, 3 H, CH₃), 0.83 (s, 3 H, CH₃), 0.78 (s, 3 H, CH₃), 0.79-1.73 (m, 21 H, protony lupanowe), 0.67-0.68 (m, 1 H, C-5 lupan).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 150.5, 135.9, 115.9 (CH₂), 110.1 (C), 109.6 (CH₂), 102.7 (C-1), 86.3 (C-3 lupan), 78.0, 73.8, 73.1, 70.6 (CH₂), 67.6 (CH₂), 63.1 (CH₂), 55.8, 50.4, 48.8, 47.8, 47.1 (C), 42.7 (C), 40.9 (C), 38.8 (C), 38.6 (CH₂), 37.6, 37.1, 34.7 (CH₂), 34.2 (CH₂), 29.7 (CH₂), 28.1, 28.0, 27.1 (CH₂), 26.0, 25.2 (CH₂), 23.1 (CH₂), 20.8 (CH₂), 19.1, 18.2 (CH₂), 16.3, 16.1, 16.1, 14.8.

Anal. Element. C₄₁H₆₆O₆ × ½ H₂O; obl. C 74.17, H 10.17; ozn. C 74.08, H 10.11.

4.2.81 *3β-O-Allilo-28-O-(2-O-acetylo-3,4-O-izopropylideno-α-L-arabinopiranozylo) betulina (116)*.

Wychodząc z **115** (714 mg, 1.09 mmol) stosując procedurę 4.2.39 otrzymałam **116** (697 mg, 92%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ 19.2 (c 0.3, chloroform).

ν_{\max} (film): 2942, 2870, 1755, 1372, 1221, 1124, 1090, 1055, 758 cm^{-1} .

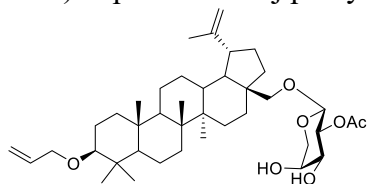
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.88-5.98 (m, 1 H, allyl =CH), 5.24-5.28 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.11-5.13 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.03 (t, 1 H, $J_{2,1} = J_{2,3}$ 6.6 Hz, H-2), 4.66 (br s, 1 H, H-29), 4.56 (br s, 1 H, H-29), 4.31 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 6.6 Hz, H-1), 4.24-4.27 (m, 1 H), 4.15-4.17 (m, 1 H), 4.10-4.14 (m, 2 H), 3.86-3.90 (m, 1 H, OCH₂), 3.77 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 3.9, $J_{5,5'}$ 13.0 Hz, H-5), 3.57 (d, 1 H, J 9.2 Hz, H-28), 3.42 (d, 1 H, J 9.2 Hz, H-28), 2.80 (dd, 1 H, J 4.1, 11.7 Hz, H-3 lupan), 2.35-4.40 (m, 1 H, H-19), 2.07 (s, 3 H, CH₃), 1.86-1.98 (m, 3 H), 1.66 (s, 3 H, CH₃), 1.56 (s, 3 H, CH₃), 1.36 (s, 3 H, CH₃), 1.02 (s, 3 H, CH₃), 0.96 (s, 3 H, CH₃), 0.96 (s, 3 H, CH₃), 0.83 (s, 3 H, CH₃), 0.78 (s, 3 H, CH₃), 0.79-1.73 (m, 20 H, protony lupanowe), 0.67-0.69 (m, 1 H, C-5 lupan).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 169.4, 150.6 (C), 135.9, 115.9 (CH₂), 110.3 (C), 109.5 (CH₂), 100.6 (C-1), 86.3 (C-3 lupan), 75.9, 72.5, 72.4, 70.6 (CH₂), 67.8 (CH₂), 62.1 (CH₂), 55.8 (C-5 lupan), 50.4, 48.7, 47.9, 47.0 (C), 42.7 (C), 40.9 (C), 38.8 (C), 38.6 (CH₂), 37.6, 37.1 (C), 34.7 (CH₂), 34.2 (CH₂), 29.7 (CH₂), 29.5 (CH₂), 28.1, 27.8, 27.1 (CH₂), 26.2, 25.2 (CH₂), 23.1 (CH₂), 20.9, 20.8 (CH₂), 19.1, 18.2 (CH₂), 16.3, 16.1, 16.1, 14.8.

Anal. Element. C₄₃H₆₈O₇ obliczona: C 74.10, H 9.83; zmierzona: C 74.17, H 9.71.

4.2.82 3β-O-Allilo-28-O-(2-O-acetylo-α-L-arabinopiranozylo) betulina (**117**).

Wychdząc z **116** (666 mg, 0.959 mmol) i stosując procedurę 4.2.53 otrzymałam **117** (493 mg, 79%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ 9.5 (c 0.3, chloroform).

ν_{\max} (film): 3410, 2943, 2869, 1739, 1455, 1371, 1238, 1137, 1068, 1014, 758 cm^{-1} .

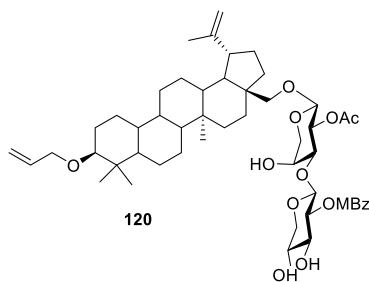
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.89-5.97 (m, 1 H, allyl =CH), 5.24-5.28 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.11-5.13 (m, 1 H, allyl =CH₂), 4.98 (dd, 1 H, $J_{2,1}$ 3.7, $J_{2,3}$ 5.6 Hz, H-2), 4.68-4.69 (m, 1 H, H-29), 4.58 (br s, 1 H, H-29), 4.55 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.7 Hz, H-1), 4.10-4.14 (m, 1 H, allyl O=CH₂), 3.84-3.91 (m, 3 H), 3.72 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 7.7, $J_{5,5'}$ 11.9 Hz, H-5), 3.65 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 4.3, $J_{5,5'}$ 11.9 Hz, H-5), 3.59 (d, 1 H, J 9.4 Hz, H-28 lupan), 3.49 (d, 1 H, J 9.4 Hz, H-28), 2.80 (dd, 1 H, J 4.1, 11.7 Hz, H-3 lupan), 2.35-2.42 (m, 1 H, H-19), 2.11 (s, 3 H, CH₃), 1.89-1.98 (m, 2 H), 1.75-1.79 (m, 1 H), 1.68 (s, 3 H, CH₃), 1.01 (s, 3 H, CH₃), 0.97 (s, 3 H, CH₃), 0.96 (s, 3 H, CH₃), 0.83 (s, 3 H, CH₃), 0.78 (s, 3 H, CH₃), 0.79-1.73 (m, 20 H, protony lupanowe), 0.67-0.69 (m, 1 H, C-5 lupan).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 170.2, 150.1 (C), 135.9, 115.9 (CH₂), 109.8 (CH₂), 99.0 (C-1), 86.3 (C-3 lupan), 71.0, 70.6 (CH₂), 69.6, 67.8 (CH₂), 65.3, 61.2 (CH₂), 55.8 (C-5 lupan), 50.3, 48.7, 47.7, 46.9 (C), 42.7 (C), 40.9 (C), 38.8 (C), 38.6 (CH₂), 37.6, 37.1 (C), 34.9 (CH₂), 34.2 (CH₂), 29.7 (CH₂), 29.5 (CH₂), 28.1, 27.0 (CH₂), 25.2 (CH₂), 23.1 (CH₂), 20.9, 20.8 (CH₂), 19.1, 18.2 (CH₂), 16.2, 16.1, 16.1, 14.8.

Anal. Element. C₄₀H₆₄O₇·½ H₂O obliczona: C 72.14, H 9.84; zmierzona: C 72.37, H 9.79.

4.2.83 3β-O-Allilo-28-O-[2-O-(4-metoksybenzoilo)-β-D-ksylopiranozylo-(1→3)-2-O-acetylo-α-L-arabinopiranozylo]-lup-20(29)en (**119**) i 3β-O-allilo-28-O-[2-O-(4-metoksybenzoilo)-β-D-ksylopiranozylo-(1→3)-2-O-acetylo-α-L-arabinopiranozylo]-lup-20(29)en (**120**).

Reakcję prowadziłam w atmosferze argonu. Mieszaninę **117** (220 mg, 0.326 mmol) i trichloroacetoimidanu D-ksylopiranozylu **107** (296 mg, 0.441 mmol) rozpuściłam w dichlorometanie (15 ml). Dodałam sita molekularne (4 Å, 400 mg, drobno zmielone). Po ochłodzeniu mieszaniny do temperatury -40 °C wprowadziłam BF₃·Et₂O (11 µl, 0.1 mmol). Całość mieszałam do zaniku substratu na TLC (30 min, heksan/octan etylu 5:1). Reakcję zakończyłam dodając trietyloaminę (0.5 ml). Mieszaninę zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i oczyściłam za pomocą kolumny chromatograficznej (heksan/octan etylu 40:1→20:1) uzyskując mieszaninę **108a/108b** (265 mg, 72%). Surowy produkt rozpuściłam w metanolu i dodałam kwas kamforosulfonowy (15 mg). Całość mieszałam do zaniku substratu na TLC (30 min, heksan/octan etylu 3:1). Mieszaninę zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i rozdzieliłam na płycie preparatywnej 0.5 mm (heksan/octan etylu/metanol 5:3:0.5 x4) uzyskując **119** (54 mg, 30%) oraz **120** (53 mg, 30%) w postaci białych pian.



$[\alpha]_D^{20}$ 0.1 (c 0.25, chloroform).

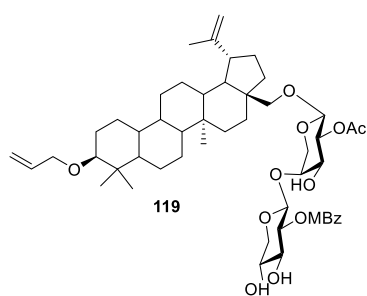
ν_{\max} (film): 3445, 2941, 2869, 1721, 1605, 1257, 1171, 1131, 1087, 1071, 1034, 757 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ : 7.96-7.97 (m, 2 H, Ar), 6.89-6.91 (m, 2 H, Ar), 5.89-5.96 (m, 1 H, allyl =CH), 5.24-5.27 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.11-5.13 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.06 (dd, 1 H, $J_{2,1}$ 6.0, $J_{2,3}$ 7.8 Hz, H-2), 4.97 (dd, 1 H, $J_{2,1}$ 6.6, $J_{2,3}$ 8.2 Hz, H-2'), 4.71 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 6.6 Hz, H-1'), 4.63 (br s, 1 H, H-29), 4.54 (br s, 1 H, H-29), 4.26 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 6.0 Hz, H-1), 4.10-4.14 (m, 2 H), 4.00 (br s, 1 H), 3.96 (dd, 1 H, J 4.4, 12.2 Hz), 3.86-3.89 (m, 1 H, allyl CH₂O), 3.82-3.85 (m, 4 H), 3.78 (dd, 1 H, J 3.2, 8.0 Hz), 3.73 (t, 1 H, J 8.2 Hz), 3.49-3.53 (m, 2 H), 3.38 (dd, 1 H, J 9.1, 11.6 Hz), 3.33 (d, 1 H, J 9.2 Hz), 2.79 (dd, 1 H, J 4.2, 11.7 Hz, H-3 lupan), 2.30-2.35 (m, 1 H, H-19), 1.87-1.94 (m, 1 H), 1.81-1.84 (m, 1 H), 1.71 (m, 3 H, CH₃), 1.64 (s, 3 H, CH₃), 0.96 (s,

3 H, CH₃), 0.95 (s, 3 H, CH₃), 0.90 (m, 3 H, CH₃), 0.81 (m, 3 H, CH₃), 0.78 (s, 3 H, CH₃), 0.82-1.67 (m, 24 H, protony lupanowe), 0.65-0.67 (m, 1 H, H-5 lupan).

¹³C NMR (CDCl₃) δ: 169.5, 166.1, 163.9, 150.6, 135.9, 132.2, 121.5, 115.9 (CH₂), 113.7, 109.5 (C-29), 101.8, 101.0 (C-1), 86.3 (C-3 lupan), 80.0, 74.6, 73.9, 70.6 (CH₂), 70.5, 69.8, 67.5 (CH₂), 66.9, 64.7 (CH₂), 63.7 (CH₂), 55.8, 55.5, 50.4, 48.6, 47.9, 46.9 (C), 42.6 (C), 40.9 (C), 38.8 (C), 38.6 (CH₂), 37.6, 37.1 (C), 34.6 (CH₂), 34.2 (CH₂), 29.7 (CH₂), 29.3 (CH₂), 28.1, 27.0 (CH₂), 25.2 (CH₂), 23.1 (CH₂), 20.8 (CH₂), 20.5, 19.1, 18.2 (CH₂), 16.3, 16.1, 16.0, 14.8.

Anal. Element. C₅₃H₇₈O₁₃ obliczona: C 68.25, H 8.50; zmierzona: C 68.13, H 8.44.



ν_{\max} (film): 3448, 2942, 2869, 1719, 1602, 1260, 1170, 1131, 1087, 1072, 1036, 757 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ: 7.94-8.00(m, 2 H, Ar), 6.87-6.90 (m, 2 H, Ar), 5.87-5.92 (m, 1 H, allyl =CH), 5.24-5.28 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.10-5.13 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.08 (d, 1 H, *J*_{2,1} 6.2, H-2), 4.93-5.03 (m, 1 H, H-2'), 4.81 (d, 1 H, *J*_{1,2} 6.2 Hz, H-1'), 4.65 (br s, 1 H, H-29), 4.52 (br s, 1 H, H-29), 4.22-4.26 (m, 1 H, H-1), 4.12-4.18 (m, 2 H), 4.02 (br s, 1 H), 3.86-3.95 (m, 3 H), 3.82-3.85 (m, 4 H), 3.79 (dd, 1 H, *J* 3.3, 8.2 Hz), 3.73 (t, 1 H, *J* 8.2

Hz), 3.50-3.57 (m, 2 H), 3.38-3.42 (m, 1 H), 2.79 (dd, 1 H, *J* 4.1, 11.8 Hz, H-3 lupan), 2.32-2.38 (m, 1 H, H-19), 1.88-1.94 (m, 1 H), 1.82-1.84 (m, 1 H), 2.03 (s, 3 H, CH₃), 1.70 (m, 3 H, CH₃), 1.65 (s, 3 H, CH₃), 0.96 (s, 3 H, CH₃), 0.95 (s, 3 H, CH₃), 0.90 (m, 3 H, CH₃), 0.81 (m, 3 H, CH₃), 0.76 (s, 3 H, CH₃), 0.82-1.67 (m, 21 H, protony lupanowe), 0.65-0.67 (m, 1 H, H-5 lupan).

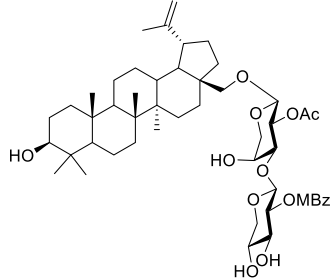
¹³C NMR (CDCl₃) δ: 170.0, 166.4, 163.9, 150.4, 135.9, 132.2, 121.8, 115.9 (CH₂), 113.8, 109.6 (C-29), 101.8, 101.4 (C-1), 86.3 (C-3 lupan), 75.6, 75.3, 74.0, 70.6 (CH₂), 70.6, 69.7, 67.5 (CH₂), 67.1, 64.4 (CH₂), 63.7 (CH₂), 55.8, 55.4, 50.3, 48.6, 47.9, 46.9 (C), 42.6 (C), 40.9 (C), 38.8 (C), 38.6 (CH₂), 37.5, 37.1 (C), 34.7 (CH₂), 34.2 (CH₂), 29.7 (CH₂), 29.4 (CH₂), 28.0, 27.0 (CH₂), 25.5 (CH₂), 23.1 (CH₂), 20.9 (CH₂), 20.8, 19.1, 18.2 (CH₂), 16.3, 16.1, 16.1, 14.8.

Anal. Element. C₅₃H₇₈O₁₃ obliczona: C 68.25, H 8.50; zmierzona: C 68.20, H 8.46.

4.2.84 3β-28-O-[2-O-(4-Metoksybenzoilo)-β-D-ksylopiarozylol-(1→3)-2-O-acetylo-α-L arabinopiranozylol] betulina (**121**).

Do kolby odważyłam katalizator Ir(COD)(PMePh₂) I⁺PF₆⁻ (5 mg), dodałam bezwodny THF (2 ml). Mieszałam ok 20 min w atmosferze argonu aż do odbarwienia roztworu.

Otrzymany roztwór dodałam do roztworu eteru allilowego **120** (28 mg, 0.0313 mmol) w THF (3 ml). Reakcję prowadziłam w temperaturze pokojowej do zaniku substratu na TLC (1 h, heksan/octan etylu/metanol 5:3:1). Mieszaninę zatężyłam i przesączyłam przez ciekłą warstwę żelu krzemionkowego. Surowy produkt rozpuściłam w metanolu (2 ml) i dodałam p-TsOH (30 mg). Całość mieszałam w temperaturze pokojowej monitorując przebieg reakcji za pomocą TLC (4 h, heksan/octan etylu/metanol 5:3:1). Mieszaninę zatężyłam pod zmniejszonym ciśnieniem i rozdzieliłam na płycie preparatywnej 0.5 mm (heksan/octan etylu/metanol 5:3:0.5 x 3) uzyskując **121** (10 mg, 40%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 16.6 (*c* 0.3, chloroform).

ν_{\max} (film): 3418, 2941, 2869, 1734, 1719, 1605, 1371, 1256, 1171, 1100, 1073, 1046, 757 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃/CD₃OD) δ: 8.01-8.03 (m, 2 H, Ar), 6.97-6.98 (m, 2 H, Ar), 5.05-5.08 (m, 1 H), 4.94 (t, 1 H, *J* 8.1 Hz), 4.54 (br s, 1 H), 4.20 (d, 1 H, *J* 7.6 Hz), 4.08 (br s, 1 H), 4.00 (dd, 1 H, *J* 4.2, 11.5 Hz), 3.97 (br s, 1 H), 3.89 (s, 3 H, OCH₃), 3.75 (dd, 1 H, *J* 3.0, 9.5 Hz), 3.63-3.71 (m, 2 H), 3.59 (d, 1 H, *J* 9.2 Hz), 3.55 (d, 1 H, *J*

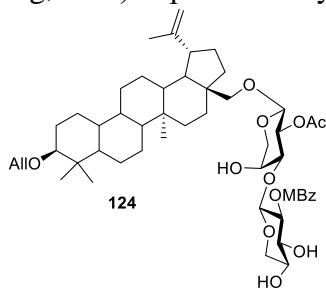
12.7 Hz), 3.31 (d, 1 H, *J* 11.5 Hz), 3.15 (dd, 1 H, *J* 5.8 Hz, 10.3 Hz, C-3 lupan), 2.31-2.33 (m,

1 H, C-19), 1.68-1.92 (m, 4 H), 1.65 (s, 3 H, CH₃), 1.53 (s, 3 H, CH₃), 1.01 (s, 3 H, CH₃), 0.96 (s, 3 H, CH₃), 0.95 (s, 3 H, CH₃), 0.84 (s, 3 H, CH₃), 0.76 (s, 3 H, CH₃), 0.85-1.63 (m, 26 H, protony lupanowe), 0.68-0.70 (m, 1 H, C-5 lupan).

HR-MS (ESI) C₅₀H₇₄NaO₁₃ [M+Na]⁺obliczona: 905.5027; zmierzona: 905.5021.

4.2.85 3β-O-Allilo-28-O-[2-O-(4-metoksybenzoilo)-β-L-ksylopiranozylo-(1→3)-2-O-acetylo-α-L-arabinopiranozylo]-lup-20(29)en (**124**) i 3β-O-allilo-28-O-[2-O-(4-metoksybenzoilo)-β-L-ksylopiranozylo-(1→4)-2-O-acetylo-α-L-arabinopiranozylo]-lup-20(29)en (**125**)

Wychodząc z **117** (220 mg, 0.326 mmol) i trichloroacetoimidanu L-ksylopiranozylu **122** (296 mg, 0.450 mmol) i stosując procedurę 4.2.83 otrzymałam **124** (100 mg, 35%) oraz **125** (116 mg, 40%) w postaci białych pian.



[α]_D²⁰ 30.2 (c 0.3, chloroform).

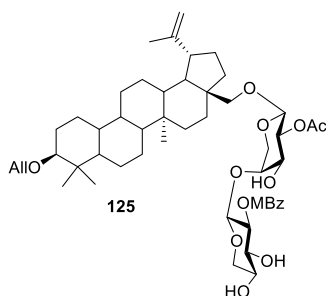
ν_{max} (film): 3413, 2942, 2869, 1727, 1605, 1372, 1171, 1088, 1069, 1039, 758 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ: 7.93-7.94 (m, 2 H, Ar), 6.87-6.86 (m, 2 H, Ar), 5.90-5.96 (m, 1 H, allyl =CH), 5.24-5.27 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.11-5.14 (m, 2 H, H-2, allyl =CH₂), 4.93-4.95 (m, 1 H, H-2'), 4.77-4.78 (m, 1 H, H-1'), 4.64 (br s, 1 H, H-29), 4.55 (br s, 1 H, H-29), 4.31-4.32 (d, 1 H, H-1), 4.09-4.13 (m, 2 H, H-5', allyl OCH₂), 3.87-3.93

(m, 3 H, H-4, H-5, allyl OCH₂), 3.82-3.85 (m, 4 H, H-3, OCH₃), 3.74-3.80 (m, 2 H, H-3', H-4'), 3.56 (d, 1 H, *J* 9.2 Hz, H-28), 3.42-3.44 (m, 3 H, H-5, H-5', H-28), 2.80 (dd, 1 H, *J* 4.2, 11.7 Hz, H-3 lupan), 2.32-2.37 (m, 1 H, H-19), 2.03 (s, 3 H, CH₃), 1.85-1.93 (m, 3 H), 1.68-1.73 (m, 2 H), 1.65 (s, 3 H, CH₃), 1.01 (s, 3 H, CH₃), 0.96 (s, 3 H, CH₃), 0.95 (s, 3 H, CH₃), 0.82 (s, 3 H, CH₃), 0.78 (s, 3 H, CH₃), 0.80-1.63 (m, 21 H, protony lupanowe); 0.67-0.68 (m, 1 H).

¹³C NMR (CDCl₃) δ: 169.8, 166.1, 163.9, 150.5, 135.9, 132.0, 121.3, 115.9 (CH₂), 113.9, 109.5 (CH₂), 101.1 (C-1), 99.7 (C-1'), 86.3 (C-3 lupan), 77.8 (C-3), 73.3 (C-2'), 72.9 (C-3'), 70.7 (OCH₂), 70.5 (C-2), 69.3 (C-4'), 67.8 (C-28), 65.7 (C-4), 64.0 (C-5'), 63.9 (C-5), 55.8 (C-5), 55.5 (OCH₃), 50.4, 48.7, 47.9, 47.0, 42.7, 40.9, 38.8, 38.6, 37.6, 37.1, 34.7, 34.3, 29.7, 29.4, 28.1, 27.1, 25.2, 23.1, 20.9, 20.8, 19.1, 18.3, 16.3, 16.1, 16.1, 14.8.

Anal. Element. C₅₃H₇₈O₁₃·H₂O obliczona: C 67.63, H 8.57; zmierzona: C 67.77, H 8.63.



[α]_D²⁰ (c 0.3, chloroform).

ν_{max} (film): 3453, 2942, 2869, 1714, 1605, 1370, 1257, 1171, 1085, 1070, 757 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ: 7.95-7.96 (m, 2 H, Ar), 6.87-6.89 (m, 2 H, Ar), 5.89-5.96 (m, 1 H, allyl =CH), 5.24-5.27 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.11-5.13 (m, 1 H, allyl =CH₂), 4.98-5.00 (m, 1 H, H-2'), 4.90 (dd, 1 H, *J*_{2,1} 5.5 Hz, H-2), 4.74 (d, 1 H, *J*_{1,2} 6.4 Hz, H-1'), 4.64 (br s, 1 H, H-29), 4.55 (br s, 1 H, H-29), 4.31 (d, 1 H, *J*_{1,2} 5.5 Hz, H-1), 4.10-4.14

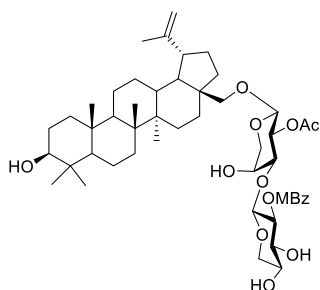
(m, 2 H, H-5', allyl OCH₂), 3.99-4.00 (m, 1 H, H-4), 3.85-3.89 (m, 2 H, H-5, allyl OCH₂), 3.74-3.83 (m, 6 H, H-3, H-3', H-4', OCH₃), 3.37-3.45 (m, 4 H, H-5, H-5', H-28), 2.79 (dd, 1 H, *J* 4.2, 11.7 Hz, H-3 lupan), 2.27-2.34 (m, 1 H, H-19), 2.07 (s, 3 H, CH₃), 1.78-1.84 (m, 2 H), 1.67-1.73 (m, 2 H), 1.65 (s, 3 H, CH₃), 0.98 (s, 3 H, CH₃), 0.95 (s, 3 H, CH₃), 0.94 (s, 3 H, CH₃), 0.81 (s, 3 H, CH₃), 0.78 (s, 3 H, CH₃), 0.76-1.86 (m, 22 H, protony lupanowe), 0.65-0.67 (m, 1 H).

¹³C NMR (CDCl₃) δ: 170.1, 166.2, 163.7, 150.4, 135.9, 131.9, 121.6, 115.9, 113.7, 109.5 (H-29), 100.8 (C-1), 99.8 (C-1'), 86.3 (H-3 lupan), 74.9 (C-4), 74.0 (C-3'), 73.5 (C-2'), 72.0 (C-2), 70.6 (OCH₃), 69.9 (C-3), 69.6 (C-4'), 67.9 (C-28), 64.6 (H-5'), 60.7 (C-5), 55.8 (C-5 lupan), 55.4 (OCH₃), 50.3, 48.6, 47.8, 46.9, 42.6, 40.9, 38.8, 38.6, 37.6, 37.1, 34.7, 34.2, 29.7, 29.4, 28.0, 27.0, 25.1, 23.1, 21.0, 20.8, 19.1, 18.2, 16.3, 16.1, 16.0, 14.8.

Anal. Element. $C_{53}H_{78}O_{13} \cdot \frac{1}{2}H_2O$ obliczona: C 68.29, H 8.54; oznaczona: C 68.28, H 8.54.

4.2.86 3β -28-O-[2-O-(4-Metoksybenzoilo)- β -L-ksylopiranozylo-(1 \rightarrow 3)-2-O-acetylo- α -L-arabinopiranozylo] betulina (**126**).

Wychodząc z **124** (60 mg; 0.0671 mmol) i stosując procedurę 4.2.84 otrzymałam **126** (25 mg 44%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ 12.9 (*c* 0.2, chloroform).

ν_{max} (film): 2942, 2870, 1735, 1712, 1605, 1371, 1257, 1171, 1138, 1082, 1045, 1035, 757 cm^{-1} .

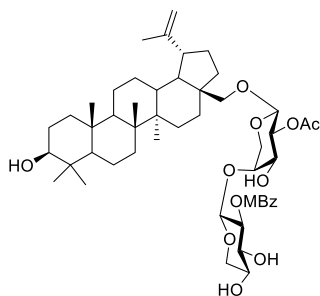
1H NMR ($CDCl_3/CD_3OD$) δ : 7.98-8.00 (m, 2 H, Ar), 6.92-6.94 (m, 2 H, Ar), 5.13 (dd, 1 H, $J_{2,1}$ 6.3 Hz, $J_{2,3}$ 8.1 Hz, H-2), 4.92-4.94 (m, 1 H, H-2'), 4.75 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 5.7 Hz, H-1'), 4.65 (br s, 1 H, H-29), 4.55 (br s, 1 H, H-29), 4.31 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 6.3 Hz, H-1), 4.08 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 3.9 Hz, $J_{5,5'}$ 11.8 Hz, H-5'), 3.92 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 4.1 Hz, $J_{5,5'}$ 12.3 Hz, H-5), 3.87 (br s, 4 H, H-4, OCH₃), 3.81 (dd, 1 H, $J_{3,2}$ 8.1 Hz, $J_{3,4}$ 3.4 Hz, H-3), 3.69-3.75 (m, 2 H, H-3', H-4'), 3.58 (d, 1 H, J 9.3 Hz, H-28), 3.38-3.45 (m, 3 H, H-5, H-5', H-28), 3.17 (dd, 1 H, J 5.4 Hz, 10.6 Hz, H-3 lupan), 2.32-2.38 (m, 1 H, H-19), 2.04 (s, 3 H, CH₃), 1.84-1.93 (m, 4 H), 1.66 (s, 3 H, CH₃), 1.01 (s, 3 H, CH₃), 0.96 (s, 6 H, CH₃), 0.82 (s, 3 H, CH₃), 0.76 (s, 3 H, CH₃), 0.85-1.64 (m, 24 H, protony lupanowe), 0.67-0.69 (m, 1 H).

^{13}C NMR ($CDCl_3/CD_3OD$) δ : 170.0, 166.1, 163.9, 150.5, 131.9, 121.4, 113.8, 109.4, 101.2, 100.1, 78.8, 78.1, 73.4, 73.0, 70.5, 69.1, 67.9, 65.7, 64.3, 64.1, 55.4, 55.2, 50.3, 48.6, 47.8, 46.9, 42.6, 40.8, 38.7, 38.6, 37.6, 37.0, 34.6, 34.2, 29.6, 29.4, 27.8, 27.0, 25.1, 20.8, 20.7, 19.0, 18.2, 16.0, 16.0, 15.3, 14.7.

Anal. Element. $C_{50}H_{74}O_{13} \cdot 2 H_2O$ obliczona: C 65.34, H 8.55; zmierzona: C 65.34, H 8.29.

4.2.87 3β -28-O-[2-O-(4-Metoksybenzoilo)- β -L-ksylopiranozylo-(1 \rightarrow 4)-2-O-acetylo- α -L-arabinopiranozylo] betulina (**127**).

Wychodząc z **125** (56 mg, 0.0625 mmol) i stosując procedurę 4.2.84 otrzymałam **127** (32 mg, 60%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ 35.2 (*c* 0.2, chloroform).

ν_{max} (film): 3419, 2939, 2869, 1724, 1605, 1372, 1254, 1171, 1074, 1038, 1011, 758 cm^{-1} .

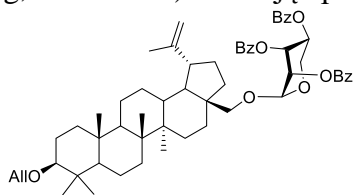
1H NMR ($CDCl_3/CD_3OD$) δ : 8.00-8.02 (m, 2 H, Ar), 6.91-6.93 (m, 2 H, Ar), 4.99 (dd, 1 H, $J_{2,1}$ 7.0 Hz, $J_{2,3}$ 8.3 Hz, H-2'), 4.87 (dd, 1 H, $J_{2,1}$ 6.1 Hz, $J_{2,3}$ 8.3 Hz, H-2), 4.69 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 7.0 Hz, H-1'), 4.64 (br s, 1 H, H-29), 4.56 (br s, 1 H, H-29), 4.24 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 6.1 Hz, H-1), 4.07 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 4.8 Hz, $J_{5,5'}$ 11.7 Hz, H-5'), 3.98-3.99 (m, 1 H, H-4), 3.86 (br s, 4 H, H-5, OCH₃), 3.71-3.75 (m, 2 H, H-3, H-4'), 3.68 (t, 1 H, J 8.3 Hz, H-3'), 3.33-3.42 (m, 4 H, H-5, H-5', H-28), 3.14-3.17 (m, 1 H, H-3 lupan), 2.26-2.30 (m, 1 H, H-19), 2.08 (s, 3 H, CH₃), 1.73-1.82 (m, 2 H), 1.65 (s, 3 H, CH₃), 0.99 (s, 3 H, CH₃), 0.95 (s, 6 H, 2 \times CH₃), 0.81 (s, 3 H, CH₃), 0.75 (s, 3 H, CH₃), 0.77-1.68 (m, 28 H, protony lupanowe), 0.66-0.68 (m, 1 H).

^{13}C NMR ($CDCl_3/CD_3OD$) δ : 170.2, 165.9, 163.4, 150.2, 131.6, 121.7, 113.4, 109.3 (C-29), 101.1 (C-1), 99.8 (C-1'), 78.5 (C-3 lupan), 75.1 (C-4), 74.0 (C-3'), 73.3 (C-2'), 72.1 (C-2), 69.8, 69.3, 67.8 (C-28), 65.0 (C-5'), 61.2 (C-5), 55.1 (OCH₃), 55.1 (C-5 lupan), 50.1, 47.6, 46.7, 42.4, 40.6, 38.6, 38.5, 37.4, 36.9, 34.3, 34.0, 29.4, 29.1, 27.6, 26.8, 26.7, 24.9, 20.6, 20.5, 18.7, 18.0, 15.8, 15.7, 15.1, 14.5.

HR-MS (ESI) $C_{50}H_{74}NaO_{13}$ $[M+Na]^+$ obliczona: 905.5027; zmierzona: 905.5020.

4.2.88 *3β-O-Allilo-28-O-(2,3,4-tri-O-benzoilo-α-D-arabinopiranozylo) betulina (129)*.

Wychodząc z **112** (2.00 g, 4.14 mmol) i trichloroacetoimidanu D-arabinopiranozyłu **128** (2.64 g, 4.35 mmol) i stosując procedurę 4.2.71 otrzymałam **129** (2.73 g, 72%) w postaci oleju.



ν_{\max} (film): 2944, 2865, 1731, 1456, 1282, 1262, 1093, 1069, 1027, 711 cm^{-1} .

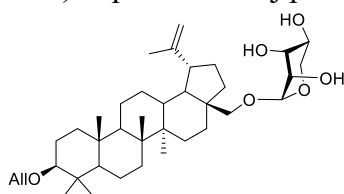
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.35-8.012 (m, 15 H, Ar), 5.90-5.98 (m, 1 H, allyl =CH), 5.74 (dd, 1 H, $J_{2,1}$ 6.4, $J_{2,3}$ 8.6 Hz, H-2), 5.68-5.70 (m, 1 H, H-4), 5.63 (dd, 1 H, $J_{3,2}$ 8.6, $J_{3,4}$ 3.5 Hz, H-3), 5.25-5.30 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.08-5.11 (m, 1 H, allyl =CH₂), 4.70 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 6.4 Hz, H-1), 4.62-4.68 (m, 1 H, H-29), 4.57 (br s, 1 H, H-29), 4.34 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 4.1, $J_{5,5'}$ 12.8 Hz, H-5), 4.10-4.13 (m, 1 H, allyl OCH₂), 3.84-3.90 (m, 2 H, H-5, allyl OCH₂), 3.70 (d, 1 H, J 9.4 Hz, H-28), 3.60 (d, 1 H, J 9.04 Hz, H-28), 2.78 (dd, 1 H, J 4.3, 11.7 Hz, H-3 lupan), 2.31-2.37 (m, 1 H, H-19), 1.95-2.02 (m, 2 H), 1.81-1.83 (m, 1 H), 1.68-1.72 (m, 1 H), 1.65 (s, 3 H, CH₃), 0.95 (s, 3 H, CH₃), 0.90 (s, 3 H, CH₃), 0.80 (s, 3 H, CH₃), 0.79 (s, 3 H, CH₃), 0.75-1.72 (m, 22 H, protony lupanowe), 0.60-0.64 (m, 1 H, H-5 lupan).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 165.8, 165.4, 165.2, 150.8 (C), 136.0, 128.4-133.6 (Ar), 116.1 (allyl CH₂), 109.8 (C-29), 101.6 (C-1), 86.5 (C-3 lupan), 70.9 (CH₂), 70.7, 70.2, 68.9 (CH₂), 68.7, 62.5 (C-5), 55.4, 50.8, 48.8, 47.9, 47.0 (C), 42.6 (C), 40.5 (C), 38.6 (C), 38.64 (CH₂), 37.8, 37.2 (C), 34.4 (CH₂), 34.0 (CH₂), 29.6 (CH₂), 29.2 (CH₂), 28.1, 27.2 (CH₂), 25.3 (CH₂), 23.4 (CH₂), 21.0 (CH₂), 19.02, 18.2 (CH₂), 16.5, 16.3, 15.9, 14.9.

Anal. Element. C₅₉H₇₄O₉ obliczona: C 76.43, H 8.04; zmierzona: C 76.35, H 8.10.

4.2.89 *3β-O-Allilo-28-O-α-D-arabinopiranozylo-betulina (130)*.

Wychodząc z **129** (2.73 g, 2.96 mmol) i stosując procedurę 4.2.29 otrzymałam **130** (1.27 g, 72%) w postaci białej piany.



ν_{\max} (film): 3418, 2942, 2870, 1450, 1137, 1087, 1070, 998, 757 cm^{-1} .

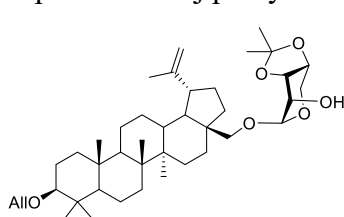
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.90-5.98 (m, 1 H, allyl =CH), 5.24-5.28 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.10-5.14 (m, 1 H, allyl =CH₂), 4.66 (br s, 1 H, H-29), 4.56 (s, 1 H, H-29), 4.26 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 5.6 Hz, H-1), 4.11-4.16 (m, 1 H, allyl OCH₂), 3.90-3.94 (m, 1 H, H-4), 3.88-3.96 (m, 2 H), 3.70-3.76 (m, 2 H), 3.66 (d, 1 H, J 9.4 Hz, H-28), 3.57 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 2.4, $J_{5,5'}$ 12.4 Hz, H-5), 3.55 (d, 1 H, J 9.4 Hz, H-28), 2.82 (dd, 1 H, J 4.2, 11.8 Hz, H-3 lupan), 2.34-2.42 (m, 1 H, H-19), 1.90-2.05 (m, 3 H), 1.64 (s, 3 H, CH₃), 1.01 (s, 3 H, CH₃), 0.99 (s, 3 H, CH₃), 0.98 (s, 3 H, CH₃), 0.85 (s, 3 H, CH₃), 0.78 (s, 3 H, CH₃), 0.78-1.75 (m, 23 H, protony lupanowe), 0.68-0.69 (m, 1 H, lupan H-5).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 151.3, 135.8, 115.8, 109.6, 103.9 (C-1), 86.4 (C-3 lupan), 72.0, 71.7, 70.2, 68.2, 67.3, 64.5, 55.5 (C-5 lupan), 50.5, 48.6, 47.8, 47.4, 43.0, 40.8, 38.8, 38.6, 37.8, 37.2, 34.6, 34.2, 29.9, 29.8, 28.1, 27.3, 26.0, 24.1, 21.8, 19.8, 18.6, 16.3, 16.2, 16.1, 14.6.

Anal. Element. C₃₈H₆₂O₆ obliczona: C 74.23, H 10.16; oznaczona: C 74.15, H 10.10.

4.2.90 *3β-O-Allilo-28-O-(3,4-O-izopropylideno-α-D-arabinopiranozylo) betulina (131)*.

Wychodząc z **130** (1.27 g, 2.06 mmol) i stosując metodę 4.2.74 otrzymałam **131** (1.12 g, 83%) w postaci białej piany.



ν_{\max} (film): 3464, 2944, 2872, 1455, 1374, 1216, 1130, 1086, 1070, 1044, 757 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.90-5.99 (m, 1 H, allyl =CH), 5.22-5.28 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.05-5.10 (m, 1 H, allyl =CH₂), 4.64-4.68 (m, 1 H, H-29), 4.62 (br s, 1 H, H-29), 4.20-4.30 (m, 2 H), 4.00-4.14 (m, 3 H), 3.82-3.86 (m, 1 H, allyl OCH₂), 3.70-3.77 (m, 1 H, H-5), 3.56-3.60 (m, 2 H), 3.47 (d, 1 H, J 9.8 Hz, H-28), 2.85 (dd, 1 H, J 4.4, 11.8 Hz, H-3 lupan),

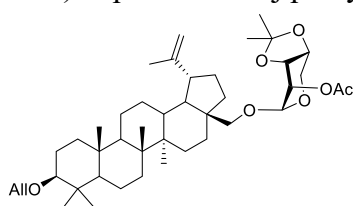
2.35-2.40 (m, 1 H, H-19), 1.96-2.05 (m, 3 H), 1.67 (s, 3 H, CH₃), 1.50 (s, 3 H, CH₃), 1.40 (s, 3 H, CH₃), 1.02 (s, 3 H, CH₃), 0.98 (s, 3 H, CH₃), 0.96 (s, 3 H, CH₃), 0.85 (s, 3 H, CH₃), 0.78 (s, 3 H, CH₃), 0.75-1.73 (m, 21 H, protony lupanowe), 0.67-0.68 (m, 1 H, C-5 lupan).

¹³C NMR (CDCl₃) δ: 151.5, 136.9, 116.0, 110.3, 109.4, 103.2 (C-1), 86.5 (C-3 lupan), 78.2, 73.8, 73.2, 71.0, 67.4, 64.2, 55.5, 51.4, 48.5, 47.8, 47.2, 42.8, 40.5, 38.8, 38.6, 37.8, 37.6, 34.6, 34.2, 29.8, 28.4, 28.2, 27.0, 26.0, 25.5, 22.1, 20.6, 19.8, 18.5, 16.3, 16.1, 16.1, 14.7.

Anal. Element. C₄₁H₆₆O₆·½ H₂O obliczona: C 74.17, H 10.17; zmierzona: C 74.12, H 10.09.

4.2.91 3β-O-Allilo-28-O-(2-O-acetylo-3,4-O-izopropylideno-α-D-arabinopiranozylo) betulina (132).

Wychodząc z **131** (1.12 g, 1.71 mmol) i stosując procedurę 4.2.39 otrzymałam **132** (1.09 g, 92%) w postaci białej piany.



[α]_D²⁰ 19.2 (c 0.3, chloroform).

ν_{\max} (film): 2942, 2870, 1755, 1372, 1221, 1124, 1090, 1055, 758 cm⁻¹.

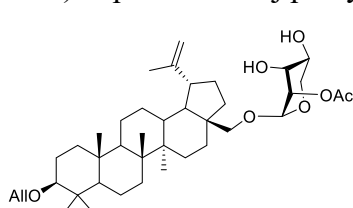
¹H NMR (CDCl₃) δ: 5.90-5.98 (m, 1 H, allyl =CH), 5.20-5.26 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.08-5.10 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.00-5.04 (m, 1 H, H-2), 4.65 (br s, 1 H, H-29), 4.58 (br s, 1 H, H-29), 4.30 (d, 1 H, *J*_{1,2} 6.5 Hz, H-1), 4.15-4.27 (m, 2 H), 4.06-4.10 (m, 2 H), 3.84-3.90 (m, 1 H, OCH₂), 3.74 (dd, 1 H, *J*_{5,4} 3.9, *J*_{5,5'} 12.8 Hz, H-5), 3.60 (d, 1 H, *J* 9.8 Hz, H-28), 3.35 (d, 1 H, *J* 9.8 Hz, H-28), 2.82 (dd, 1 H, *J* 4.4, 11.8 Hz, H-3 lupan), 2.30-4.35 (m, 1 H, H-19), 2.08 (s, 3 H, CH₃), 1.86-1.98 (m, 3 H), 1.68 (s, 3 H, CH₃), 1.54 (s, 3 H, CH₃), 1.40 (s, 3 H, CH₃), 1.02 (s, 3 H, CH₃), 0.98 (s, 3 H, CH₃), 0.96 (s, 3 H, CH₃), 0.85 (s, 3 H, CH₃), 0.80 (s, 3 H, CH₃), 0.79-1.76 (m, 20 H, protony lupanowe), 0.67-0.69 (m, 1 H, C-5 lupan).

¹³C NMR (CDCl₃) δ: 172.0, 152.8, 135.5, 116.0, 110.7, 109.3, 100.8 (C-1), 86.0 (C-3 lupan), 76.0, 73.5, 72.9, 71.6, 68.0, 62.5, 55.5 (C-5 lupan), 50.4, 48.4, 47.9, 47.0, 42.7, 40.9, 38.8, 38.6, 37.8, 37.1, 34.7, 34.2, 29.9, 29.8, 28.5, 27.3, 27.1, 26.8, 25.7, 23.8, 20.9, 20.4, 19.4, 18.9, 16.4, 16.1, 16.1, 14.8.

Anal. Element. C₄₃H₆₈O₇ obliczona: C 74.10, H 9.83; zmierzona: C 74.08, H 9.76.

4.2.92 3β-O-Allilo-28-O-(2-O-acetyl-α-D-arabinopiranozylo) betulina (133).

Wychodząc z **132** (1.09 g, 1.56 mmol) i stosując procedurę 4.2.53 otrzymałam **133** (999 mg, 98%) w postaci białej piany.



[α]_D²⁰ 29.4 (c 0.3, chloroform).

ν_{\max} (film): 3360, 2943, 2869, 1738, 1725, 1374, 1258, 1106, 1085, 1066, 1017, 756 cm⁻¹.

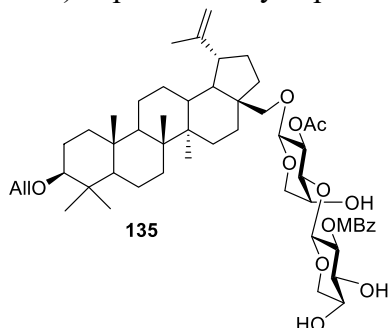
¹H NMR (CDCl₃) δ: 5.88-5.96 (m, 1 H, allyl =CH), 5.23-5.27 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.10-5.12 (m, 1 H, allyl =CH₂), 4.97 (dd, 1 H, *J*_{2,1} 3.6, *J*_{2,3} 5.6 Hz, H-2), 4.66 (br s, 1 H, H-29), 4.58 (br s, 1 H, H-29), 4.54 (d, 1 H, *J*_{1,2} 3.6 Hz, H-1), 4.09-4.13 (m, 1 H, allyl OCH₂), 4.02 (d, 1 H, *J* 9.3 Hz, H-28), 3.82-3.91 (m, 3 H, H-3, H-4, allyl OCH₂), 3.74 (dd, 1 H, *J*_{5,4} 7.9, *J*_{5,5'} 11.8 Hz, H-5), 3.64 (dd, 1 H, *J*_{5,4} 4.2, *J*_{5,5'} 11.8 Hz, H-5), 3.06 (d, 1 H, *J* 9.3 Hz, H-28), 2.79 (dd, 1 H, *J* 4.1, 11.7 Hz, H-3 lupan), 2.33-2.39 (m, 1 H, H-19), 2.11 (s, 3 H, CH₃), 1.67 (s, 3 H, CH₃), 1.02 (s, 3 H, CH₃), 0.96 (s, 3 H, CH₃), 0.95 (s, 3 H, CH₃), 0.82 (s, 3 H, CH₃), 0.78 (s, 3 H, CH₃), 0.84-1.72 (m, 25 H, protony lupanowe), 0.66-0.68 (m, 1 H, C-5 lupan).

¹³C NMR (CDCl₃) δ: 170.2, 150.1, 135.9, 115.9, 109.8, 99.0 (C-1), 86.3 (C-3 lupan), 71.0, 70.6, 69.7, 67.8, 65.3, 61.1, 55.8, 50.4, 48.8, 47.9, 46.9, 42.7, 40.9, 38.8, 38.6, 37.5, 37.1, 34.3, 34.2, 30.1, 29.7, 28.1, 27.1, 25.2, 23.1, 20.9, 20.8, 19.1, 18.2, 16.3, 16.1, 16.0, 14.8.

Anal. Element. C₄₀H₆₄O₇·2 H₂O obliczona: C 69.33, H 9.89; oznaczona: C 69.50, H 9.31.

4.2.93 *3β-O-Allilo-28-O-[2-O-(4-metoksybenzoilo)-β-L-ksylopiranozylo-(1→3)-2-O-acetylo-α-D-arabinopiranozylo]-lup-20(29)en* (**135**) i *3β-O-allilo-28-O-[2-O-(4-metoksybenzoilo)-β-L-ksylopiranozylo-(1→4)-2-O-acetylo-α-D-arabinopiranozylo]-lup-20(29)en* (**136**).

Wychodząc z **133** (273 mg, 0.420 mmol) i trichloroacetoimidanu L-ksylopiranozyłu **122** (290 mg, 0.441 mmol) i stosując procedurę 4.2.83 otrzymałam **135** (67 mg, 30%) oraz **136** (127 mg, 44%) w postaci białych pian.



$[\alpha]_D^{20}$ 34.3 (*c* 0.3, chloroform).

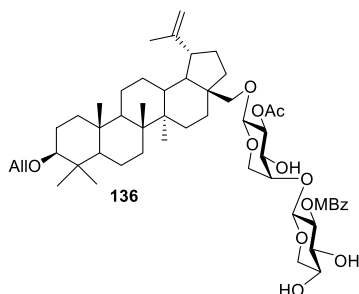
ν_{\max} (film): 3422, 2941, 2869, 1740, 1716, 1605, 1371, 1257, 1171, 1070, 1047, 757 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.92-7.94 (m, 2 H, Ar), 6.84-6.86 (m, 2 H, Ar), 5.89-5.96 (m, 1 H, allyl =CH), 5.24-5.27 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.10-5.12 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.04-5.07 (m, 1 H, H-2), 4.97-4.99 (m, 1 H, H-2'), 4.65 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 7.0 Hz, H-1'), 4.63 (br s, 1 H, H-29), 4.54 (br s, 1 H, H-29), 4.18 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 6.8 Hz, H-1), 4.09-4.12 (m, 1 H, allyl OCH₂), 4.04-4.06 (m, 2

H, H-4, H-5'), 3.96-4.01 (m, 2 H, H-5, H-28), 3.86-3.89 (m, 1 H, allyl OCH₂), 3.79-3.82 (m, 4 H, H-4', OCH₃), 3.69-3.73 (m, 2 H, H-3, H-3'), 3.47 (d, 1 H, J 11.6 Hz, H-5), 3.32-3.35 (m, 1 H, H-5'), 2.93 (d, 1 H, J 9.2 Hz, H-28), 2.78 (dd, 1 H, J 4.0, 11.6 Hz, H-3 lupan), 2.29-2.33 (m, 1 H, H-19), 1.76-1.84 (m, 2 H), 1.64 (m, 3 H, CH₃), 1.57 (s, 3 H, CH₃), 0.97 (s, 3 H, CH₃), 0.95 (s, 3 H, CH₃), 0.91 (s, 3 H, CH₃), 0.81 (s, 3 H, CH₃), 0.77 (s, 3 H, CH₃), 0.81-1.71 (m, 23 H, protony lupanowe), 0.64-0.66 (m, 1 H, H-5 lupan).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 169.5, 165.9, 163.7, 150.5, 135.9, 132.1, 121.7, 115.9, 113.6, 109.5 (C-29), 102.0 (C-1'), 101.7 (C-1), 86.3 (C-3 lupan), 80.4 (C-3), 74.5 (C-3'), 73.7 (C-2'), 70.6 (OCH₂), 70.5 (C-2), 69.6 (H-4'), 67.7 (C-28), 67.5 (C-4), 65.0 (C-5'), 64.5 (C-5), 55.8 (C-5 lupan), 55.4 (OCH₃), 50.3, 48.7, 47.9, 47.0, 42.6, 40.9, 38.8, 38.6, 37.4, 37.1, 34.2, 29.7, 29.5, 28.1, 26.9, 25.2, 23.1, 20.8, 20.3, 19.1, 18.2, 16.3, 16.1, 16.0, 14.7.

HR-MS (ESI) $\text{C}_{53}\text{H}_{78}\text{KO}_{13}$ $[\text{M}+\text{K}]^+$ obliczona: 961.5079; zmierzona: 961.5085.



$[\alpha]_D^{20}$ 46.8 (*c* 0.3, chloroform).

ν_{\max} (film): 3442, 2941, 2870, 1720, 1605, 1373, 1258, 1087, 1071, 1085, 1030, 757 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.95-7.97 (m, 2 H, Ar), 6.87-6.89 (m, 2 H, Ar), 5.89-5.96 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.24-5.27 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.11-5.13 (m, 1 H, allyl =CH₂), 4.99-5.01 (m, 1 H, H-2'), 4.88 (dd, 1 H, $J_{2,1}$ 5.2, $J_{2,3}$ 7.3 Hz, H-2), 4.77 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 6.4 Hz, H-1'), 4.66 (br s, 1 H, H-29), 4.56 (br s, 1 H, H-29), 4.33 (d, 1 H,

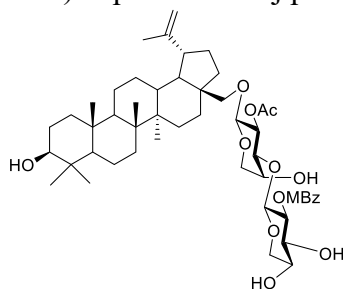
$J_{1,2}$ 5.2 Hz, H-1), 4.08-4.13 (m, 2 H, H-5', allyl OCH₂), 4.03 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 5.4, $J_{5,5'}$ 12.2 Hz, H-5), 3.98 (d, 1 H, J 9.5 Hz, H-28), 3.92-3.93 (m, 1 H, H-4), 3.86-3.90 (m, 1 H, allyl OCH₂), 3.83 (s, 3 H, OCH₃), 3.71-3.79 (m, 3 H, H-3, H-3', H-4'), 3.54 (dd 1 H, $J_{5,4}$ 2.2, $J_{5,5'}$ 12.2 Hz, H-5), 3.37 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 8.6, $J_{5,5'}$ 11.4 Hz, H-5'), 3.02 (d, 1 H, J 9.5 Hz, H-28), 2.79 (dd, 1 H, J 4.2, 11.6 Hz, H-3 lupan), 2.32-2.37 (m, 1 H, H-19), 2.03 (s, 3 H, CH₃), 1.79-1.94 (m, 3 H), 1.66 (m, 3 H, CH₃), 0.98 (m, 3 H, CH₃), 0.96 (m, 3 H, CH₃), 0.93 (m, 3 H, CH₃), 0.82 (s, 3 H, CH₃), 0.78 (s, 3 H, CH₃), 0.80-1.73 (m, 23 H, protony lupanowe), 0.65-0.67 (m, 1 H, C-5 lupan).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 170.1, 166.4, 163.8, 150.3, 135.9, 132.0, 121.5, 115.9, 113.8, 109.6 (C-29), 101.5 (C-1'), 100.7 (C-1), 86.3 (C-3 lupan), 75.5 (C-4), 74.1 (C-3'), 73.8 (C-2'), 72.0 (C-2), 70.6 (OCH₂), 69.6 (C-3, C-4'), 68.1 (lupan C-28), 64.6 (C-5'), 62.0 (C-5), 55.8 (C-5 lupan), 55.4 (OCH₃), 50.3, 48.8, 47.9, 47.0, 42.6, 40.9, 38.6, 37.4, 37.1, 34.2, 34.2, 29.8, 29.7, 28.1, 27.0, 25.2, 23.1, 20.9, 19.1, 18.2, 16.3, 16.1, 16.0, 14.7.

HR-MS (ESI) $\text{C}_{53}\text{H}_{78}\text{NaO}_{13}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 945.5340, zmierzona: 945.5347.

4.2.94 β -28-O-[2-O-(4-Metoksybenzoilo)- β -L-ksylopiranozylo-(1 \rightarrow 3)-2-O-acetylo- α -D-arabinopiranozylo] betulina (**137**).

Wychodząc z **135** (30 mg, 0.0335 mmol) i stosując procedurę 4.2.86 otrzymałam **137** (20 mg, 77%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ 20.0 (*c* 0.4, chloroform).

ν_{\max} (film): 2927, 2867, 1709, 1603, 1369, 1254, 1170, 1078, 1032, 1010, 980, 766, 755 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) δ : 8.00-8.01 (m, 2 H, Ar), 6.93-6.95 (m, 2 H, Ar), 5.06 (dd, 1 H, $J_{2,1}$ 7.2 Hz, $J_{2,3}$ 9.1 Hz, H-2), 4.93 (dd, 1 H, $J_{2,1}$ 7.2 Hz, $J_{2,3}$ 8.6 Hz, H-2'), 4.63-4.65 (m, 2 H, H-1', H-29), 4.55 (s, 1 H, H-29), 4.18 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 7.2 Hz, H-1), 3.98-4.04 (m, 4 H, H-4, H-5, H-5', H-28), 3.87 (s, 3 H, OCH_3), 3.68-3.72 (m, 2

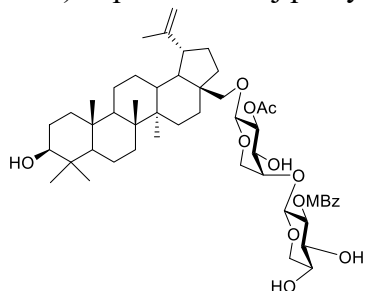
H, H-3, H-4'), 3.65 (t, 1 H, J 8.5 Hz, H-3'), 3.49 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 1.3, $J_{5,5'}$ 12.6 Hz, H-5), 3.32 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 9.5, $J_{5,5'}$ 11.7 Hz, H-5'), 3.14-3.17 (m, 1 H, H-3 lupan), 2.95 (d, 1 H, J 9.4 Hz, H-28), 2.30-2.35 (m, 1 H, H-19), 1.76-1.84 (m, 2 H), 1.65 (s, 3 H, CH_3), 1.60 (s, 3 H, CH_3), 0.98 (s, 3 H, CH_3), 0.95 (s, 3 H, CH_3), 0.92 (s, 3 H, CH_3), 0.81 (s, 3 H, CH_3), 0.75 (s, 3 H, CH_3), 0.83-1.68 (m, 25 H, protony lupanowe), 0.65-0.67 (m, 1 H, H-5 lupan).

$^{13}\text{C NMR}$ ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) δ : 169.5, 165.7, 163.7, 150.4, 131.9, 121.8, 113.6, 109.5 (C-29), 102.2 (C-1'), 102.0 (C-1), 79.9 (C-3), 78.7 (C-3 lupan), 74.2 (C-3'), 73.4 (C-2'), 70.5 (C-2), 69.4 (C-4'), 67.9 (C-4), 67.8 (C-28), 65.1 (C-5'), 64.8 (C-5), 55.3 (OCH_3), 55.2 (C-5 lupan), 50.3, 47.9, 47.0, 42.5, 40.8, 38.7, 38.7, 37.4, 37.0, 34.1, 34.0, 29.6, 29.4, 27.8, 26.9, 26.8, 25.1, 20.1, 18.9, 18.2, 15.9, 15.8, 15.2, 14.6.

HR-MS (ESI) $\text{C}_{50}\text{H}_{74}\text{NaO}_{13}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 905.5027; zmierzona: 905.5026.

4.2.95 β -28-O-[2-O-(4-Metoksybenzoilo)- β -L-ksylopiranozylo-(1 \rightarrow 4)-2-O-acetylo- α -D-arabinopiranozylo] betulina (**138**).

Wychodząc z **148** (50 mg, 0.0558 mmol) i stosując procedurę 4.2.86 otrzymałam **151** (20 mg, 42%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ 1.3 (*c* 0.4, chloroform).

ν_{\max} (film): 3361, 4942, 2867, 1717, 1605, 1373, 1257, 1170, 1101, 1081, 1041, 755 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) δ : 8.00-8.02 (m, 2 H, Ar), 6.92-6.93 (m, 2 H, Ar), 5.01 (dd, 1 H, $J_{2,1}$ 6.5, $J_{2,3}$ 8.0 Hz, H-2'), 4.88 (dd, 1 H, $J_{2,1}$ 5.5 Hz, $J_{2,3}$ 7.6 Hz, H-2), 4.77 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 6.5 Hz, H-1'), 4.66 (br s, 1 H, 29), 4.57 (br s, 1 H, H-29), 4.32 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 5.5 Hz, H-1), 4.10-4.14 (m, 1 H, H-5'), 4.02-4.06 (m, 1 H, H-5), 3.99

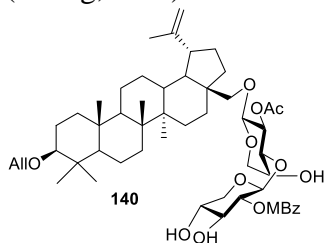
(d, 1 H, J 9.8 Hz, H-28), 3.90-3.93 (m, 1 H, H-4), 3.86 (s, 3 H, OCH_3), 3.69-3.75 (m, 3 H, H-3, H-3', H-4'), 3.54 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 2.5 Hz, $J_{5,5'}$ 12.3 Hz, H-5), 3.38 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 8.5 Hz, $J_{5,5'}$ 11.7 Hz, H-5'), 3.17 (dd, 1 H, J 5.7 Hz, 10.4 Hz, H-3 lupan), 3.02 (d, 1 H, J 9.8 Hz, H-28), 2.33-2.38 (m, 1 H, H-19), 2.05 (s, 3 H, CH_3), 1.78-1.95 (m, 4 H), 1.66 (s, 3 H, CH_3), 1.00 (s, 3 H, CH_3), 0.96 (s, 3 H, CH_3), 0.94 (s, 3 H, CH_3), 0.81 (s, 3 H, CH_3), 0.76 (s, 3 H, CH_3), 0.78-1.70 (m, 23 H, protony lupanowe), 0.66-0.68 (m, 1 H, H-5 lupan).

$^{13}\text{C NMR}$ ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) δ : 170.4, 166.4, 163.9, 150.5, 132.0, 121.7, 113.8, 109.7 (C-29), 101.8 (C-1'), 101.0 (C-1), 78.9 (C-3 lupan), 75.9 (C-4), 74.1 (C-3'), 73.8 (C-2'), 72.2 (C-2), 69.5 (C-3), 68.2 (C-28), 64.9 (C-5'), 62.4 (C-5), 55.5, 55.4, 50.4, 48.8, 48.0, 47.1, 42.7, 40.9, 38.9, 38.8, 37.6, 37.2, 34.3, 34.2, 29.8, 28.0, 27.1, 27.0, 25.3, 20.9, 20.9, 19.1, 18.3, 16.1, 16.0, 15.4, 14.8.

HR-MS (ESI) $\text{C}_{50}\text{H}_{74}\text{NaO}_{13}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 905.5027; zmierzona: 905.5031.

4.2.96 3β -O-Allilo-28-O-[2-O-(4-metoksybenzoilo)- β -D-ksylopiranozylo-(1 \rightarrow 3)-2-O-acetylo- α -D-arabinopiranozylo]-lup-20(29)en (**140**) i 3β -O-allilo-28-O-[2-O-(4-metoksybenzoilo)- β -D-ksylopiranozylo-(1 \rightarrow 4)-2-O-acetylo- α -D-arabinopiranozylo]-lup-20(29)en (**141**).

Wychodząc z **133** (493 mg, 0.75 mmol) i trichloroacetoimidanu D-ksylopiranozydu **107** (520 mg, 0.79 mmol; 1.05 ekw.) i stosując procedurę 4.2.83 otrzymałam **140** (47 mg, 24%) oraz **141** (57 mg, 30%).



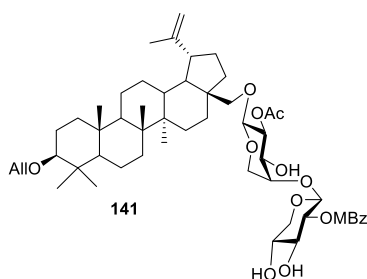
$[\alpha]_D^{20}$ 0.4 (c 0.3, chloroform).

ν_{\max} (film): 3424, 2941, 2870, 1723, 1605, 1256, 1171, 1086, 1069, 1038, 758 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.88-8.00 (m, 2 H, Ar), 6.83-6.91 (m, 2 H, Ar), 5.89-5.97 (m, 1 H, allyl =CH), 5.22-5.29 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.08-5.12 (m, 2 H, allyl =CH₂, H-2), 4.90-4.96 (m, 1 H, H-2'), 4.75 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 5.3 Hz, H-1'), 4.66 (bs, 1 H, lupan H-29), 4.56 (s, 1 H, lupan

H-29), 4.29 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 6.0 Hz, H-1), 4.09-4.16 (m, 1 H, allyl O=CH₂), 4.03-4.08 (m, 1 H, H-5'), 3.94-4.02 (m, 1 H, H-5), 3.85-3.93 (m, 2 H, H-28, H-4), 3.88-3.81 (m, 3 H), 3.81 (m, 1 H, H-4'), 3.71-3.80 (m, 2 H, H-3, H-3'), 3.35-3.46 (m, 2 H, H-28, H-5'), 2.98-3.02 (m, 1 H, H-5), 2.74-2.82 (m, 1 H, H-3 lupan), 2.29-2.40 (m, 1 H, H-19), 2.03 (s, 3 H, CH₃), 1.66 (s, 3 H, CH₃), 0.90-1.05 (m, 9 H), 0.76-0.86 (m, 6 H), 0.70-2.10 (m, 24 H, protony lupanowe), 0.62-0.70 (m, 1 H).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 169.85, 166.12, 163.88, 150.50, 135.89, 131.94, 121.27, 115.88, 113.85, 109.57, 101.10, 100.00, 86.32, 73.53, 73.15, 700.63, 70.55, 69.30, 67.75, 65.77, 64.20, 63.79, 55.80, 55.43, 50.34, 48.71, 47.94, 47.09, 42.59, 40.89, 38.82, 38.59, 37.45, 37.07, 34.31, 34.15, 29.77, 26.66, 28.06, 26.93, 25.19, 23.10, 20.90, 20.81, 19.08, 18.21, 16.29, 16.06, 15.94, 14.69. HR MS (ESI) C₅₃H₇₈O₁₃ [M+K]⁺ obliczona: 961.5079; zmierzona: 961.5085.



$[\alpha]_D^{20}$ -11.5 (c 0.3, chloroform).

ν_{\max} (film): 3454, 2941, 2869, 1715, 1605, 1370, 1257, 1171, 1071, 757 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.96-7.98 (m, 2 H, Ar), 6.89-6.91 (m, 2 H, Ar), 5.90-5.96 (m, 1 H, allyl =CH), 5.24-5.27 (m, 1 H, allyl =CH₂), 5.11-5.13 (m, 1 H, allyl =CH₂), 4.98-5.01 (m, 1 H, H-2'), 4.92 (dd, 1 H, $J_{2,1}$ 5.1, $J_{2,3}$ 7.2 Hz H-2), 4.77 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 6.2 Hz H-1'), 4.65 (br s, 1 H, H-29), 4.56 (br s, 1 H, H-29), 4.34 (d, 1 H,

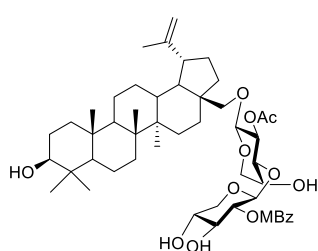
$J_{1,2}$ 5.1 Hz, H-1), 4.10-4.15 (m, 2 H, H-5', allyl OCH₂), 3.99-4.00 (m, 1 H, H-4), 3.85-3.90 (m, 6 H, H-5, allyl OCH₂, H-28, OCH₃), 3.75-3.81 (m, 3 H, H-3, H-3', H-4'), 3.45 (d, 1 H, J 9.9 Hz, H-5), 3.41 (dd, 1 H, J 8.3, 11.6 Hz, H-5'), 3.01 (d, 1 H, J 9.5 Hz, lupane H-28), 2.79 (dd, 1 H, J 4.2, 11.6 Hz, H-3 lupan), 2.31-2.35 (m, 1 H, H-19), 2.09 (m, 3 H, CH₃), 1.69-1.89 (m, 4 H), 1.66 (m, 3 H, CH₃), 0.96 (m, 3 H, CH₃), 0.94 (m, 3 H, CH₃), 0.92 (s, 3 H, CH₃), 0.81 (m, 3 H, CH₃), 0.79 (m, 3 H, CH₃), 0.83-1.60 (m, 21 H, protony lupanowe), 0.65-0.67 (m, 1 H, lupan C-5).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 170.1, 166.2, 163.8, 150.4, 135.9, 131.9, 121.6, 115.9, 113.7, 109.6 (C-29), 100.6 (C-1), 99.9 (C-1'), 86.3 (C-3 lupan), 74.8 (C-4), 73.8 (C-3'), 73.4 (C-2'), 71.8 (C-2), 70.6 (OCH₂), 69.8, 69.6, 68.0 (C-28), 64.4 (C-5'), 60.4 (C-5), 55.8, 55.4, 50.3, 48.7, 47.9, 47.0, 42.6, 40.9, 38.8, 38.6, 37.4, 37.1, 34.3, 34.1, 29.7, 28.1, 26.9, 25.2, 23.1, 21.0, 20.8, 19.1, 18.2, 16.3, 16.0, 15.9, 14.7.

HR-MS (ESI) C₅₃H₇₈KO₁₃ [M+K]⁺ obliczona: 961.5079; zmierzona: 961.5075.

4.2.97 β -28-O-[2-O-(4-Metoksybenzoilo)- β -D-ksylopiranozylo-(1 \rightarrow 3)-2-O-acetylo- α -D-arabinopiranozylo]betulina (**142**).

Wychodząc z **140** (40 mg, 0.0447 mmol) i stosując procedurę 4.2.84 otrzymałam **142** (20 mg, 56%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ -9.0 (c 0.4, chloroform).

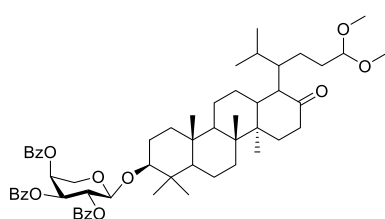
ν_{\max} (film): 3442, 2941, 2870, 1734, 1713, 1605, 1371, 1256, 1171, 1082, 1044, 1035, 757 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.96-7.97 (m, 2 H, Ar), 6.91-6.92 (m, 2 H, Ar), 5.13 (dd, 1 H, J 5.2 Hz, 7.0 Hz), 4.93 (m, 1 H), 4.85 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 5.2 Hz, H-1'), 4.66 (br s, 1 H, H-29), 4.57 (br s, 1 H, H-29), 4.36 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 5.2 Hz, H-1), 4.15 (dd, 1 H, J 3.4 Hz, 11.9 Hz), 3.95-3.97 (m, 2 H), 3.92 (dd, 1 H, J 5.6 Hz, 11.8 Hz), 3.86-3.88 (m, 4 H), 3.77-3.81 (m, 2 H), 3.45-3.48 (m, 2 H), 3.18 (dd, 1 H, J 4.6 Hz, 11.4 Hz, H-3 lupan), 3.02 (d, 1 H, J 9.4 Hz), 2.33-2.38 (m, 1 H, H-19), 2.06 (s, 3 H, CH_3), 1.81-1.93 (m, 4 H), 1.67 (s, 3 H, CH_3), 0.98 (s, 3 H, CH_3), 0.97 (s, 3 H, CH_3), 0.94 (s, 3 H, CH_3), 0.80 (s, 3 H, CH_3), 0.76 (s, 3 H, CH_3), 0.87-1.65 (m, 23 H, protony lupanowe), 0.66-0.68 (m, 1 H, H-5 lupan).

HR-MS (ESI) $\text{C}_{50}\text{H}_{74}\text{O}_{13}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 905.5027; zmierzona: 905.5029.

4.2.98 Związek **152**

Wychodząc z **70** (200 mg, 0.396 mmol) i trichloroacetoimidanu L-arabinopiranozylu **101** (267 mg, 0.441 mmol) i stosując procedurę 4.2.66 otrzymałam **152** (325 mg, 75%) w postaci oleju.



$[\alpha]_D^{20}$ -8.5 (c 0.3, chloroform).

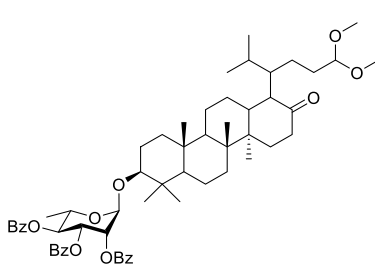
ν_{\max} (film): 2946, 2871, 1729, 1451, 1315, 1111, 1070, 1028, 1028, 757, 712 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.88-8.10 (m, 6 H, Ar), 7.24-7.61 (m, 9 H, Ar), 5.76 (dd, 1 H, $J_{2,1}$ 6.4 Hz, $J_{2,3}$ 8.9 Hz, H-2), 5.65-5.69 (m, 1 H, H-4), 5.60 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 8.8 Hz, $J_{3,4}$ 3.6 Hz, H-3), 4.79 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 6.4 Hz, H-1), 4.33 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 4.0 Hz, $J_{5,5}$ 12.9 Hz, H-5), 4.26-4.28 (m, 1 H, H-28), 3.87 (d, 1 H, $J_{5,5}$ 12.9 Hz, H-5), 3.30 (s, 3 H, OCH_3), 3.29 (s, 3 H, OCH_3), 3.16 (dd, 1 H, J 11.6 Hz, 4.9 Hz, H-3 lupan), 1.03 (s, 3 H, CH_3), 0.97 (s, 3 H, CH_3), 0.92 (d, 3 H, J 6.7 Hz, CH_3), 0.84 (s, 3 H, CH_3), 0.82 (d, 3 H, J 6.7 Hz, CH_3), 0.78 (s, 3 H, CH_3), 0.65 (s, 3 H, CH_3), 0.63-2.39 (m, 26 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 214.2 (C, C-17), 165.8 (C), 165.6 (C), 165.2 (C), 133.3 - 128.3 (Ar), 104.7 (C-28 lupan), 103.1 (C-1), 90.0 (C-3 lupan), 70.7, 70.2, 68.7, 55.7, 53.0, 52.9, 52.8, 52.5, 50.8, 45.2, 41.4, 41.1, 40.6, 39.0, 38.9, 38.7, 36.9, 34.1, 33.8, 31.1, 30.5, 27.7, 27.7, 26.1, 25.5, 21.9, 21.1, 18.0, 16.4, 16.0, 15.6, 14.8.

4.2.99 Związek **153**

Wychodząc z **70** (317 mg, 0.627 mmol) i trichloroacetoimidanu L-ramnopiranozylu **149** (449 mg, 0.742) stosując procedurę 4.2.66 otrzymałam produkt **153** (423 mg, 72%) w postaci oleju.



$[\alpha]_D^{20}$ 67.3 (c 0.4, chloroform).

ν_{\max} (film): 2947, 1729, 1451, 1264, 1111, 1069, 1028, 713 cm^{-1} .

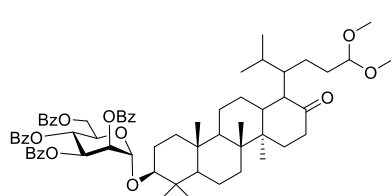
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.80-8.15 (m, 6 H, Ar), 7.21-7.65 (m, 9 H, Ar), 5.83 (dd, 1 H, J 10.0 Hz, 3.3 Hz, H-2), 5.58-5.72 (m, 2 H), 5.07-5.10 (m, 1 H), 4.23-4.35 (m, 2 H), 3.31 (s, 3 H, OCH_3), 3.30 (s, 3 H, OCH_3), 3.31-3.26 (m, 1 H, H-3 lupan), 1.34 (d, 3 H, J 6.3 Hz, CH_3), 1.07 (s, 3 H, CH_3), 1.06 (s, 3 H, CH_3), 1.03 (s, 3 H, CH_3), 0.95 (s, 3 H, CH_3), 0.94 (s, 3 H, CH_3), 0.93 (d, 3 H, J 6.7 Hz, CH_3), 0.82 (d, 3 H, J 6.7 Hz, CH_3), 0.63-2.39 (m, 28 H, protony lupanowe).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 214.1 (C, C-17), 165.8 (C), 165.7 (C), 165.6 (C), 133.4 - 128.3 (Ar), 104.8 (C-28 lupan), 99.8 (C-1), 89.9 (C-3 lupan), 77.2, 72.0, 71.2, 70.2, 66.8, 55.7, 53.0, 52.9, 52.6, 50.8, 45.2, 41.5, 41.1, 40.7, 39.2, 38.9, 38.7, 37.0, 34.2, 33.9, 31.2, 30.6, 28.2, 27.6, 25.6, 25.5, 21.9, 21.9, 21.2, 18.2, 17.5, 16.5, 16.4, 15.6, 14.8.

HR-MS $\text{C}_{60}\text{H}_{80}\text{O}_{11}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 985.5442; zmierzona: 985.5454.

4.2.100 Związek 154

Wychodząc z **70** (420 mg, 0.832 mmol) i trichloroacetoimidanu D-mannopiranozyli **154** (622 mg; 0.858 mmol) i stosując procedurę 4.2.66 otrzymałam **154** (587 mg, 70%) w postaci oleju.



$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -3.0 (c 0.2 chloroform).

ν_{max} (film): 2948, 1728, 1451, 1315, 1266, 1109, 1069, 1028, 712 cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.23-8.13 (m, 20 H, Ar), 6.03-6.13 (m, 1 H, H-1), 5.90-5.92 (m, 1 H), 5.61 (br s, 1 H), 5.25-5.27 (m, 1 H), 4.64-4.72 (m, 1 H), 4.50-4.55 (m, 1 H), 4.47 (dd, 1 H,

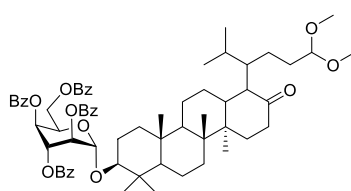
J 5.0 Hz, 12.0 Hz, H-5), 4.31-4.25 (m, 1 H, H-28), 3.31-3.37 (m, 3 H), 3.30 (s, 3 H, CH_3), 3.28 (s, 3 H, CH_3), 1.12 (s, 3 H, CH_3), 1.04 (s, 3 H, CH_3), 1.01 (s, 3 H, CH_3), 0.94 (s, 3 H, CH_3), 0.91 (d, 3 H, J 6.7 Hz, CH_3), 0.90 (s, 3 H, CH_3), 0.80 (d, 3 H, J 6.7 Hz, CH_3), 0.7-2.40 (m, 24 H, protony lupanowe).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 214.1 (C, C-17), 166.1 (C), 165.1 (C), 165.3 (C), 164.7 (C), 133.5 - 128.2 (Ar), 104.7 (C-28 lupan), 94.5 (C-1), 84.1 (C-3 lupan), 71.6, 70.2, 69.5, 67.0, 63.1, 55.8, 53.0, 52.8, 52.5, 50.8, 45.3, 41.4, 41.1, 40.6, 38.7, 38.7, 38.6, 38.4, 37.1, 35.4, 34.2, 33.8, 31.1, 28.7, 27.9, 27.6, 25.5, 21.9, 21.9, 21.1, 18.2, 16.5, 15.6, 14.8.

HR-MS (ESI) $\text{C}_{66}\text{H}_{82}\text{NaO}_{13}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 1105.5653; zmierzona: 1105.5666.

4.2.101 Związek 155

Wychodząc z **70** (420 mg, 1.12 mmol) i trichloroacetoimidanu L-idopiranozyli **151** (622 mg, 0.857 mmol) i stosując procedurę 4.2.66 otrzymałam **155** (747 mg, 84%) w postaci oleju.



$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 53.2 (c 0.2 chloroform).

ν_{max} (film): 2948, 2873, 1726, 1265, 1452, 1313, 1265, 1105, 1069, 1029, 756, 712 cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.09-8.20 (m, 20 H, Ar), 5.57-5.61 (m, 1 H, H-1), 5.40-5.45 (m, 1 H), 5.32 (s, 1 H), 5.18-5.22 (m, 1 H), 4.94-5.01 (m, 1 H), 4.64-4.72 (m, 1 H), 4.56-4.62 (m, 1 H), 4.30

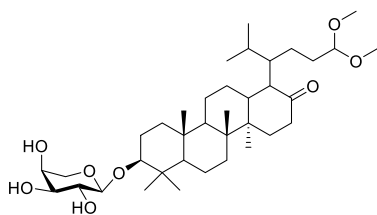
(t, 1 H, J 5.3 Hz, H-28), 3.30 (s, 3 H, CH_3), 3.29 (s, 3 H, CH_3), 3.31-3.34 (m, 3 H), 1.05 (s, 3 H, CH_3), 1.03 (s, 3 H, CH_3), 0.98 (s, 3 H, CH_3), 0.94 (s, 3 H, CH_3), 0.93 (s, 3 H, CH_3), 0.82 (s, 3 H, CH_3), 0.71 (s, 3 H, CH_3), 0.60-2.30 (m, 24 H, protony lupanowe).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 214.1 (C, C-17), 166.1 (C), 165.1 (C), 165.3 (C), 164.7 (C), 133.5 - 128.2 (Ar), 104.8 (C-28 lupan), 94.0 (C-1), 83.1 (C-3 lupan), 68.2, 67.3, 66.8, 64.7, 63.6, 55.79, 53.0, 52.9, 52.6, 50.8, 45.3, 41.5, 41.1, 40.6, 38.6, 38.4, 37.5, 34.1, 33.8, 31.1, 30.5, 28.5, 27.7, 25.5, 22.7, 21.8, 21.7, 21.7, 21.1, 18.2, 16.5, 16.4, 15.6, 14.8.

HR-MS (ESI) $\text{C}_{66}\text{H}_{82}\text{NaO}_{13}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 1105.5653; zmierzona: 1105.5677.

4.2.102 Związek 156

Wychodząc z **152** (263 mg, 0.277 mmol) i stosując procedurę 4.2.29 otrzymałam **160** (141 mg, 80%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ 19.6 (*c* 0.4, chloroform).

ν_{\max} (film): 3408, 2947, 1701, 1387, 1125, 1071, 999, 755 cm^{-1} .

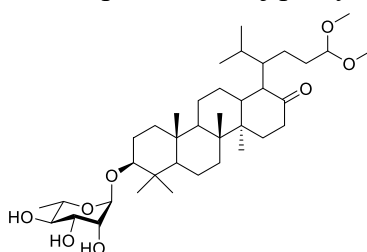
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 4.33 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 6.3 Hz, H-1), 4.31-4.27 (m, 1 H, H-28), 3.87-3.98 (m, 2 H), 3.79 (dd, 1 H, $J_{2,1}$ 6.3 Hz, $J_{2,3}$ 8.3 Hz, H-2), 3.67-7.74 (m, 1 H, H-3), 3.52 (d, 1 H, J 11.9 Hz, H-5), 3.31 (s, 3 H, CH_3), 3.30 (s, 3 H, CH_3), 3.13 (dd, 1 H, J 4.7 Hz, 11.7 Hz, H-3 lupan), 1.04 (s, 3 H, CH_3), 1.00 (s, 3 H, CH_3), 0.99 (s, 3 H, CH_3), 0.92 (d, 3 H, J 6.8 Hz, CH_3), 0.86 (s, 3 H, CH_3), 0.82 (d, 3 H, J 6.8 Hz, CH_3), 0.80 (s, 3 H, CH_3), 0.70-2.40 (m, 29 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 214.2 (C, C-17), 104.9 (CH, C-28), 104.7 (CH, C-1), 39.6 (CH, C-3 lupan), 72.6, 71.6, 67.5, 64.7 (CH_2 , C-5), 55.7 (CH, C-5 lupan), 52.9, 52.5, 50.9, 45.2, 41.4, 41.4, 40.6, 39.15, 38.9, 38.7, 36.9, 34.1, 33.8, 31.3, 30.5, 28.0, 37.7, 26.0, 25.6, 21.9, 21.9, 21.1, 18.1, 16.4, 15.6, 14.8.

HR-MS (ESI) $\text{C}_{37}\text{H}_{64}\text{NaO}_8$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 659.4494; zmierzona: 659.4499.

4.2.103 Związek 157

Wychodząc z **153** (392 mg, 0.407 mmol) i stosując procedurę 4.2.29 otrzymałam **157** (232 mg, 90%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ -13.7 (*c* 0.2, chloroform).

ν_{\max} (film): 3386, 2946, 1693, 1675, 1451, 1387, 1336, 1126, 1055, 983, 756 cm^{-1} .

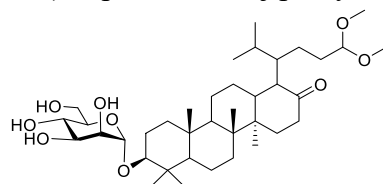
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 4.80 (br s, 1 H, H-1), 4.29 (t, 1 H, J 5.2 Hz, H-28), 3.95-4.00 (m, 1 H), 3.82-3.86 (m, 1 H), 3.79 (dd, 1 H, J 6.2 Hz, 9.5 Hz), 3.86-3.82 (m, 1 H), 3.30 (s, 3 H, CH_3), 3.11 (dd, 1 H, J 4.7 Hz, 11.7 Hz, H-3 lupan), 1.27 (d, 3 H, J 6.2 Hz, CH_3), 1.05 (s, 3 H, CH_3), 1.00 (s, 3 H, CH_3), 0.93 (d, 3 H, J 6.7 Hz, CH_3), 0.90 (s, 3 H, CH_3), 0.86 (s, 3 H, CH_3), 0.82 (d, 3 H, J 6.7 Hz, CH_3), 0.75 (s, 3 H, CH_3), 0.68-2.40 (m, 32 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 214.2 (C, C-17), 104.8 (C-28), 104.2 (C-1), 89.5 (C-3 lupan), 73.0, 71.6, 71.4, 68.0, 55.7, 52.9, 52.9, 52.6, 50.8, 45.3, 41.4, 41.1, 40.6, 39.0, 38.8, 38.6, 36.9, 33.9, 31.1, 30.5, 28.2, 27.7, 25.5, 25.4, 25.4, 21.9, 21.2, 18.2, 18.2, 17.3, 16.5, 16.3, 15.6, 14.8.

HR-MS (ESI) $\text{C}_{38}\text{H}_{66}\text{O}_8\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 673.4655; zmierzona: 673.4641.

4.2.104 Związek 158

Wychodząc z **154** (600 mg, 0.558 mmol) i stosując procedurę 4.2.29 otrzymałam **158** (349 mg, 95%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ 60.8 (*c*, 0.4 chloroform).

ν_{\max} (film): 3385, 2945, 2873, 1700, 1453, 1385, 1238, 1125, 1061, 976, 736 cm^{-1} .

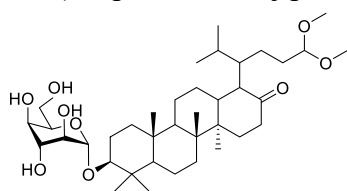
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 4.97-5.04 (m, 1 H, H-1), 4.29 (t, 1 H, J 5.2 Hz, H-28), 3.92-4.03 (m, 2 H), 3.81-3.90 (m, 2 H), 3.72-3.80 (m, 1 H), 3.62-3.70 (m, 1 H), 3.26-3.38 (m, 1 H), 3.30 (s, 3 H, CH_3), 3.29 (s, 3 H, CH_3), 3.14-3.22 (m, 1 H, H-3 lupan), 1.04 (s, 3 H, CH_3), 1.00 (s, 3 H, CH_3), 0.90-0.97 (m, 6 H, 2 x CH_3), 0.86 (s, 3 H, CH_3), 0.83 (d, 3 H, J 6.7 Hz, CH_3), 0.76 (s, 3 H, CH_3), 0.67-2.40 (m, 29H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 214.6 (C-17), 104.8 (C-28), 94.5 (C-1), 82.6 (C-3 lupan), 72.7, 71.9, 71.8, 66.3, 59.1, 56.1, 55.7, 53.0, 52.9, 52.6, 50.9, 45.3, 41.4, 41.1, 40.8, 40.6, 38.6, 38.5, 37.1, 34.1, 33.9, 31.1, 30.4, 28.5, 27.7, 25.5, 22.0, 21.9, 21.1, 20.3, 16.5, 16.3, 15.6, 14.8.

HR-MS (ESI) $\text{C}_{38}\text{H}_{66}\text{NaO}_9$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 689.4605, zmierzona: 689.4606.

4.2.105 Związek 159

Wychodząc z **155** (600 mg; 0.553 mmol) i stosując procedurę 4.2.29 otrzymałam **159** (364 mg, 99%) w postaci białej piany.



$[\alpha]_D^{20}$ 72.5 (0.4 c, chloroform).

ν_{\max} (film): 3410, 2945, 1698, 1451, 1385, 1268, 1195, 1124, 1056, 1018, 977, 736 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.13 (m, 1 H, H-1), 4.29 (t, 1 H, J 5.3 Hz, H-28), 4.17 (s, 1 H), 3.99-4.08 (m, 3 H), 3.93 (br s, 1 H), 3.66 (br s, 1 H), 3.39-3.57 (m, 1 H), 3.31 (s, 3 H, CH_3), 3.30 (s, 3 H, CH_3),

3.29-3.40 (m, 1 H, H-3 lupan), 1.05 (s, 3 H, CH_3), 1.01 (s, 3 H, CH_3), 0.98 (s, 3 H, CH_3), 0.93 (d, 3 H, J 6.7 Hz, CH_3), 0.88 (s, 3 H, CH_3), 0.82 (d, 3 H, J 6.7 Hz, CH_3), 0.78 (s, 3 H, CH_3), 0.67-2.40 (m, 29 H, protony lupanowe).

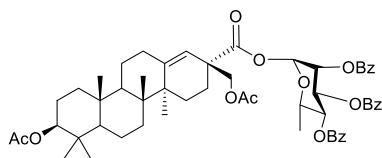
$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 214.2 (C-17), 104.8 (C-28), 98.3 (C-1), 84.6 (C-3 lupan), 77.2, 72.4, 68.5, 68.4, 65.3, 65.0, 55.7, 53.0, 52.9, 52.6, 50.8, 45.2, 41.4, 41.1, 40.7, 38.7, 38.4, 38.3, 37.1, 34.1, 33.8, 31.1, 30.5, 28.7, 27.6, 25.5, 22.3, 21.9, 21.2, 18.2, 16.5, 16.3, 15.6, 14.8.

HR-MS(ESI): $\text{C}_{38}\text{H}_{66}\text{NaO}_9$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 689.4605, zmierzona: 689.4599.

4.2.106 Związek 160

Wychodząc z **35** (200 mg, 0.410 mmol) i trichloroacetoimidu L-ramnopiranozyli **149** (267 mg, 0.441 mmol) i stosując procedurę 4.2.66 otrzymałam **160** (420 mg, 91%) w postaci oleju.

$[\alpha]_D^{20}$ 62.7 (c 0.3, chloroform).

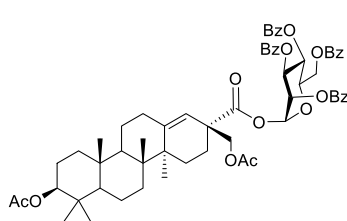


$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.24-8.15 (m, 15 H, Ar), 6.31 (d, 1 H, J 1.9 Hz, H-1), 5.79 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 10.2 Hz, $J_{3,2}$ 3.4 Hz, H-3), 5.72 (d, 1 H, $J_{4,5}$ 9.9 Hz, H-4), 5.70 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 3.4 Hz, $J_{2,1}$ 1.9 Hz, H-2), 5.41 (br s, 1 H, H-18), 4.52 (dd, 1 H, J 5.4 Hz, 11.1 Hz, H-3 lupan), 4.37 (d, 1 H, J 11.2 Hz, H-28 lupan), 4.29 (d, 1 H, J 11.2 Hz, H-28 lupan), 4.20 (dd, 1 H, $J_{5,4}$ 9.9 Hz, H-5), 2.10 (s, 3 H, CH_3), 2.06 (s, 3 H, CH_3), 1.37 (d, 3 H, J 6.3 Hz, CH_3), 1.24 (s, 3 H, CH_3 , H-27), 0.97 (s, 3 H, CH_3 , H-26), 0.93 (s, 3 H, CH_3 , H-25), 0.89 (s, 3 H, CH_3 , H-24), 0.86 (s, 3 H, CH_3 , H-23), 0.85-2.41 (m, 18 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 171.7 (C), 171.0 (C), 170.8 (C), 165.6 (C), 165.5 (C), 165.3 (C), 149.0 (C, C-13), 133.6-128.3 (Ar), 117.0 (C-18), 91.1 (C-1), 80.7 (C-3 lupan), 71.0 (C-4), 69.7 (C-3), 69.5 (C-2), 69.2 (C-5), 66.2 (C-28), 55.5 (C-5 lupan), 50.7 (C-9), 48.3 (C-17), 43.5 (C-14), 40.5 (C-8), 38.6 (C-1 lupan), 37.8 (C-4 lupan), 37.3 (C-10), 34.4 (C-7), 32.4 (C-12), 28.0 (C-23), 25.6 (C-15), 23.6 (C-2), 22.9 (C-16), 21.7 (C-11), 21.3 (CH_3), 21.0 (C-27), 20.8 (CH_3), 18.1 (C-26), 18.1 (C-6), 17.7 (OMe), 16.6 (C-24), 16.5 (C-25).

4.2.107 Związek 161

Wychodząc z **35** (200 mg; 0.410 mmol) i trichloroacetoimidanu D-mannopiranozyli **150** (267 mg, 0.369 mmol) i stosując procedurę 4.2.66 otrzymałam surowy **161** (418 mg) w postaci oleju.



$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.25-8.17 (m, 20 H, Ar), 6.38 (d, 1 H, J 2.0 Hz, H-1), 6.16 (t, 1 H, J 9.9 Hz), 5.84 (dd, 1 H, J 10.2, $J_{3,2}$ 3.4 Hz, H-3), 5.73 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 3.4 Hz, H-2), 5.42 (br s, 1 H, H-18), 4.74-4.67 (m, 1 H), 4.51 (dd, 1 H, J 11.2 Hz, 5.5 Hz, H-3 lupan), 4.49-4.44 (m, 2 H), 4.40 (d, 1 H, J 11.1 Hz, H-28), 4.30 (d, 1 H, J 11.1 Hz, H-28), 2.05-2.32 (m, 3 H), 2.12 (s, 3 H, CH_3), 2.06 (s, 3 H, CH_3), 1.20 (s, 3 H, CH_3), 0.97 (s, 3 H, CH_3), 0.93 (s, 3 H, CH_3),

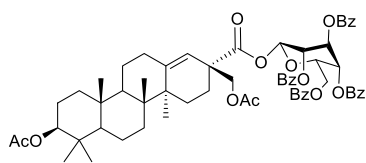
0.89 (s, 3 H, CH_3), 0.86 (s, 3 H, CH_3 , H-23), 0.85-2.02 (m, 25 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (15CDCl_3) δ : 171.7 (C), 171.1 (C), 170.9 (C), 166.0 (C), 165.4 (C), 165.3 (C), 165.1 (C), 148.7 (C-13), 133.7 - 128.3 (Ar), 117.0 (C-18), 91.3 (C-1), 80.8 (C-3 lupan), 71.4, 69.8,

69.1, 66.6, 66.1, 62.4, 55.5, 50.7, 48.1, 43.4, 40.6, 38.6, 37.8, 37.3, 34.3, 32.4, 28.0, 25.8, 23.6, 23.5, 21.7, 21.3, 21.2, 20.9, 18.1, 18.1, 16.6, 16.5.

4.2.108 Związek 162

Wychodząc z **35** (200 mg, 0.410 mmol) i trichloroacetoimidanu D-idopiranozylu **151** (267 mg, 0.368 mmol) i stosując procedurę 4.2.66 otrzymałam surowy **162** (418 mg) w postaci oleju.

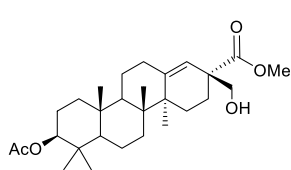


$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.13-8.25 (m, 20 H, Ar), 6.47 (d, 1 H, J 2.4 Hz, H-1), 6.39 (s, 1H), 5.92-6.00 (m, 1 H), 5.65-5.68 (m, 1 H), 5.48-5.55 (m, 1 H), 5.25-5.33 (m, 2 H), 4.88-4.94 (m, 1 H), 4.68-4.73 (m, 1H), 4.59-4.65 (m, 2 H), 4.50 (dd, 1 H, J 5.4 Hz, 10.7Hz, H-3 lupan), 4.05 (d, 1 H, J 10.7 Hz, H-28), 3.98 (d, 1 H, J 10.7 Hz, H-28), 2.07 (s, 3 H, CH_3), 1.94 (s, 3 H, CH_3), 1.04 (s, 3 H, CH_3), 0.94 (s, 3 H, CH_3), 0.91 (s, 3 H, CH_3), 0.87 (s, 3 H, CH_3), 0.85(s, 3 H, CH_3), 0.84(s, 3 H, CH_3), 0.79-2.12 (m, 22 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 171.9 (C), 171.1 (C), 170.6 (C), 166.1 (C), 165.4 (C), 165.3 (C), 164.8 (C), 148.8 (C-13), 133.8 - 128.2 (Ar), 117.5 (C-18), 90.9 (C-1), 80.8 (C-3 lupan), 72.6, 67.8, 67.6, 66.8, 66.8, 66.6, 66.4, 66.3, 63.4, 55.4, 50.6, 48.2, 43.3, 40.3, 38.6, 37.7, 37.2, 34.2, 32.3, 28.0, 25.9, 23.6, 23.3, 21.6, 21.3, 20.9, 20.6, 18.1, 18.0, 16.6, 16.5

4.2.109 Związek 163

Wychodząc z **160** (50 mg, 0.053 mmol) i stosując procedurę 4.2.29 otrzymałam surowy **163** (17.5 mg, 72 %) w postaci oleju.



$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -3.8 (c 0.3, chloroform).
 $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 4.47-4.53 (d, 1 H, J 11.27 Hz), 3.71 (s, 3 H, CH_3), 3.56 (d, 1 H, J 11.27 Hz), 2.04 (s, 3 H, CH_3), 1.16 (s, 3 H, CH_3), 0.91 (s, 3 H, CH_3), 0.90 (s, 3 H, CH_3), 0.86 (s, 3 H, CH_3), 0.84 (s, 3 H, CH_3), 0.82-2.34 (m, 21 H, protony lupanowe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 177.3, 170.9, 146.3, 118.5, 80.8, 65.9, 55.4, 52.1, 50.8, 49.5, 43.3, 40.5, 38.6, 37.8, 37.3, 34.4, 32.4, 28.0, 25.8, 23.6, 23.0, 21.7, 21.3, 21.1, 18.1, 16.6, 16.5.

HR-MS (ESI) $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{NaO}_5$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ obliczona: 483.3086, zmierzona: 483.3088.

4 SUPLEMENT

Część wyników zawartych w niniejszej rozprawie ukazała się w formie publikacji:

- Kuczynska, K.; Pakulski, Z. *Tetrahedron* **2015**, 71, 19, 2900-2905
- Kuczynska, K.; Rárová, L.; Okleštková, J.; Cmoch, P.; Korda, A.; Pakulski, Z.; Strnad, M. *Carbohydr. Res.* **2016**, 423, 49-69.

Ponadto prezentowane były na konferencjach:

- Anatolian Conference on Synthetic Organic Chemistry (ACSOC), 16–19 marzec 2015, Antalya, poster.
- Ogólnopolskie Sympozjum Chemii Organicznej (OSCO-X), 16–18 kwiecień 2015, Łódź, poster.
- 19th European Symposium of Organic Chemistry (ESOC2015), 12–16 lipiec 2015, Lizbona, poster.
- 58 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, 21–25 wrzesień 2015, Gdańsk, poster.
- 17th Tetrahedron Symposium, 28 czerwiec– 1 lipiec 2016, Sitges, Hiszpania, poster.
- Balticum Organicum Syntheticum Conference (BOS), 3–6 lipiec 2016, Ryga, Litwa, poster.
- The Polish-German Conference on Organic Chemistry, 9-14 październik 2016, Warszawa, komunikat ustny.
- 19th European Carbohydrate Symposium (Eurocarb 19), 2–6 czerwiec 2017, Barcelona, Hiszpania, poster.
- 60 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, 17–21 wrzesień 2017, Wrocław, komunikat ustny.
- XI Ogólnopolskie Sympozjum Chemii Organicznej (XI OSCO), 8-11 kwiecień 2018, Warszawa, poster.
- German-Polish-Baltic Conference on Organic Chemistry, 15-19 maj 2018, Hamburg, Niemcy, komunikat ustny.
- 29th International Carbohydrate Symposium, 14–19 lipiec 2018, Lizbona, Portugalia, poster.
- 24th Conference on Isoprenoids, 9-12 wrzesień 2018, Białystok, komunikat ustny.
- 20th European Carbohydrate Symposium (Eurocarb 20), 29 czerwiec – 5 lipiec 2019, Leiden, poster.

Nagrody:

Główna nagroda za najlepszą prezentację ustną ogłoszoną podczas 24th Conference on Isoprenoids (Białystok) ufundowaną przez Phytochemical Society of Europe

5 LITERATURA

- 1 Pisha, E. et al. *Nature Med.* **1995**, 1, 1046 – 1051.
- 2 Newman, A. A. *Chemistry of Terpens and Terpenoids*, Academic Press, London, New York, **1972**.
- 3 Ruzicka, L. *J. Chem. Soc.* **1932**, 2833 – 2840
- 4 Ruzicka, L. *Proc. Chem. Soc.* **1959**, 341-360.
- 5 Breitmaier, E. *Terpenes*, Wiley-VCH, **2006**.
- 6 Connolly, J. D. et al. *Nat. Prod. Rep.* **2001**, 18, 560 – 578.
- 7 Xu, R. et al. *Phytochemistry*, **2004**, 65, 261 – 291.
- 8 Wendt, K. et al. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2000**, 39, 2812 – 2833.
- 9 Phillips, D. et al. *J. M. Curr. Opin. Plant Biol.* **2006**, 9, 305 – 314.
- 10 Yürüker, A. et al. *Phytochemistry*. **1998**, 48, 863 – 866.
- 11 Kushiuro, T et al. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41(40), 7705 – 7710.
- 12 Shibuya, M. et al. *Euro. J. Biochem.* **1999**, 302 – 307.
- 13 Ekman, R. *Holzforschung*, **1983**, 37(4), 205 – 211.
- 14 Lehn, L. et al. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1962**, 1133 – 1136.
- 15 Protiva, J. et al. *Coll. Czech. Chem. Commun.* **1981**, 46, 2734 – 2741.
- 16 Hiroya, K. et al. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, 10, 3229 – 3236.
- 17 Allison, J. et al. *J. Chem. Soc.* **1961**, 3353 – 3361.
- 18 Macias, F. et al. *Phytochem.* **1994**, 36, 1369 – 1379.
- 19 Klinot, J. et al. *Coll. Czech. Chem. Commun.* **1970**, 35, 1105 – 1119.
- 20 Okamoto, I. et al. *Chem. Pharm. Bull.* **2000**, 48, 120 – 125.
- 21 Pramanick, S. et al. *Synth. Commun.* **2005**, 35(16), 2143 – 2148.
- 22 Dinda, B. Hajra, A. *Indian J. Chem.* **1995**, 34B, 624 – 628.
- 23 Ashavina, O. et al. *Mendelejev Commun.* **2004**, 14 (5), 221 – 223.
- 24 Callies, O. et al. *J. Nat. Prod.* **2015**, 78, 5, 1045 – 1055.
- 25 Jastrzębska, I. et al. *J. Org. Chem.* **2015**, 80, 6052 – 6061.
- 26 Rybina, A. V. et al. *Rus. J. Bioorg. Chem.* **2008**, 34, 4, 480 – 482.
- 27 Kim, J. Y. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, 11 2405.
- 28 a) Bodrikova, I. V. et al. *Rus. J. Org. Chem.* **2013**, 49, 1, 78 – 82.
b) Bodrikova, I. V. et al. *Rus. J. Org. Chem.* **2018**, 54, 1, 131 – 138.
- 29 Kurskii, A. et al. *Rus. J. Org. Chem.* **2017**, 53, 2, p. 303 – 304.
- 30 Yemets, S.V. et al. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, 11, 2891 – 2897.
- 31 Komissarova, N. G. et al. *Rus. J. Org. Chem.* **2004**, 40, 10, 1462 – 1468.
- 32 Kazakova, O. B. et al. *Rus. J. Org. Chem.* **2011**, 47, 3, 456 – 460.
- 33 Kazakova, O. B. et al. *Mendelejev Commun.* **2010**, 20, 4, 234 – 236.
- 34 Hanson, J. R. *Comprehensive Org. Synt.*, PERGAMON **1991**, 705 – 719.
- 35 King, J. F. et al. *Molecular Rearrangements*, Academic Press, London, **1968**, 771 – 840.
- 36 Dischendorfer, O. *Monatsh. Chem.* **1923**, 44, 123 – 139.
- 37 Barton, D.H.R. et al. *J. Chem. Soc.* **1952**, 78 – 92.
- 38 Errington, S.G. et al. *Aust. J. Chem.* **1976**, 29, 1809 – 1814.
- 39 Linkowska, E. *Pol. J. Chem.* **1994**, 68, 875–876.
- 40 Li, T.S. et al. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1998**, 3957 – 3965.
- 41 Lavoie S. et al. *Synth. Commun.* **2001**, 31, 1565 – 1571.
- 42 Salvador, J.A.R. et al. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 508 – 517.
- 43 Medvedeva, N.I. et al. *Russ. Chem. Bull.* **2007**, 56, 835 – 837.
- 44 Levanskii, V.A. et al. *Russ. Patent RU 2374261*, 2009, [CA 2009, 151, 571219].
- 45 Kuznetsova, S.A. et al. *Russ. Patent RU 2334759*, 2008, [CA 2008, 149, 378906].
- 46 Lezhneva, M.Y. et al. *Chem. Nat. Comp.* **2006**, 42, 186 – 188
- 47 Thibeault, D et al. *Synth. Commun.* **2010**, 40, 2, 213 – 221.
- 48 Flekhter, O. B. et al. *Rus. J. Bioorg. Chem.* **2007**, 33, 6, 584 – 588.
- 49 Protiva, J. et al. *Coll. Czech. Chem. Commun.* **1983**, 48, 928 – 936.
- 50 Sejbál, J. et al. *Coll. Czech. Chem. Commun.* **1987**, 52, 2, 487 – 492.
- 51 Suokas, E. et al. *Acta Chem. Scand. B*, **1975**, 29, 139–140.
- 52 Suokas, E. et al. *Acta. Chem. Scand B.* **1977**, 31, 231–234.
- 53 Denisenko, M. V. et al. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 5187.

-
- 54 Denisenko V. A. et al. *Khim. Prirod. Soyed.* **1989**, 5, 655.
55 Denisenko, M. V. et al. *Khim. Prirod. Soyed.* **1991**, 3 128.
56 Vystrcil, A. et al *Coll. Czech. Chem. Commun.* **1974**, 39, 3131 – 3143.
57 Sarek, J. et al. *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 25, 5402 – 5415.
58 Urban, M. et al. *Synthesis* **2006**, 23, 3979 – 3986.
59 Sahu, N. P. et al. *Curr. Org. Chem.* **2001**, 5, 315 – 334.
60 Sparg, S. G. et al. *J. Ethnopharmacol.* **2004**, 94, 219 – 243.
61 Vincken, J.P. et al. *Phytochem.* **2007**, 68, 275 – 297.
62 Osbourn, A. *Trends Plant Sci.* **1996**, 1, 4 – 9.
63 a) Lacaille-Dubois, M. A. *Saponins in Food, Feedstuffs and Medicinal Plants*, Springer Science+Business Media B.V. **2000**, 205 – 218.
b) Rao A. V. et al. *Drug Metabol. Drug Interact.*, **2000**, 17, 211 – 235.
c) Podolak, I. et al. *Phytochem. Rev.* **2010**, 9, 425 – 474.
d) Osbourn, A. et al. *Nat. Prod. Rep.* **2011**, 28, 1261 – 1268.
64 a) Waller, G. R. et al. *Adv. Experim. Med. Biol.* **1996**, 404.
b) Qin, G.W. *Curr. Org. Chem.* **1998**, 2, 613 – 625;
c) Liu, J. et al. *Curr. Med. Chem.* **2002**, 9, 1483 – 1485.
d) Fiore, C. et al. *Ethnopharmacol.* **2005**, 99, 317 – 324.
65 Yang, Y.; Laval, S. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **2014**, 71, 137-226.
66 a) Gauthier, C.; Legault, J. *Mini-Rev. Org. Chem.* **2009**, 6, 321 – 344;
b) Gauthier, C. et al. *J. Phytochem. Rev.* **2011**, 10, 521 – 544.
67 Uvarova, N. I. et al. *Carbohydr. Res.* **1973**, 27, 79 – 87.
68 Uvarova N. I. et al. *Carbohydr. Res.* **1980**, 83, 33 – 42.
69 Klinotova, E. et al. *Coll. Czech. Chem. Commun.* **1997**, 62, 1776 – 1798.
70 Bliard, C. et al. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 6107 – 6108.
71 Cmoch, P. et al. *Carbohydr. Res.* **2008**, 343, 995 – 1003.
72 (a) Fujikawa, K. et al. *Glycobiology* **1998**, 8, 407 – 414;
b) Astoul, C. H. et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2000**, 274, 455 – 460;
c) Jain, N.U. et al. *J. Mol. Biol.* **2003**, 328, 451 – 462;
d) Ramachandraiah, G. et al. *Glycobiology* **2003**, 13, 765 – 775;
e) Nomura, K. et al. *Carbohydr. Res.* **2005**, 340, 2004 – 2009.
73 a) Gauthier, C. et al. *J. Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 6713 – 6725;
b) Thibeault D. et al. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 6144 – 6157.
74 Gauthier, C. et al. *J. Nat. Prod.* **2009**, 72, 72 – 81.
75 Vasilenko, Yu. K. et al. *Farmakol.* **1993**, 56, 53 – 55.
76 a) Fulda, S. et al. *J. Biol. Chem.* **1998**, 273, 33942;
b) Schmidt, M. L. et al. *Eur. J. Cancer.* **1997**, 33, 2007.
c) Wick, W. et al. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1999**, 289, 1306 – 1312.
77 Król, S. K. et al. *Biomed. Res. Int.* **2015**, 2015, 584189.
78 Borycza, S. et al. *Molecules*, **2013**, 18, 4, 4526 – 4543.
79 Rzeski, W. et al. *Toxicol.* **2009**, 105, 5, 425 – 432.
80 Hata, K. et al. *Toxicol. Lett.* **2003**, 143, 1, 1 – 7.
81 Kim, L. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 1707 – 1712.
82 Serek, J. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 16, 4196 – 4200.
83 Li, Y. et al. *Molecul. Carcinogen.* **2010**, 48, 7, 630 – 640.
84 Dehelean, C.A. et al. *Nat. Prod. Commun.* **2012**, 7, 8, 981 – 985.
85 Hwang, B. Y. et al. *Phytochemistry.* **2003**, 62, 2, 197 – 201.
86 Jae S. P. et al. *Planta Medica.* **2009**, 75, 2, 127–131.
87 Prakash, V. S. C. et al. *J. Nat. Prod.* **2009**, 72, 1, 72 – 81.
88 Wang, D. et al. *Tumor.* **2012**, 32, 234 – 238.
89 Drag M. et al. *Molecules.* 2009, 14, 1639 – 1651.
90 Hata, K. et al. *J. Nat. Prod.* **2002**, 65, 645 – 648.
91 Jeong, H. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 1201 – 1204.
92 Chowdhury, A.R.; Mandal, S. *Med. Sci. Monit.* **2002**, 8, 254 – 260.
93 Mukherjee, R. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 3169 – 3172.
94 Urban, M. et al. *J. Nat. Prod.* **2004**, 67, 1100 – 1105.
95 Mukherjee, R. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 4087 – 4091.
96 Symon, A.V. et al. *Russ. J. Bioorg. Chem.* **2005**, 31, 286 – 291.
97 Baglin, I. et al. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2003**, 18, 111 – 117.
98 Mukherjee, R. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 2181 – 2184.
-

- 99 Deng, Y. et al. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 2864 – 2873.
100 You, Y. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 3137 – 3140.
101 Oda, K. et al. *Biol. Chem.* **2000**, 381, 67–74.
102 Jordinson, M. et al. *Exp. Opin. Vest. Drugs* **1998**, 7, 1389 – 1403.
103 Hostettmann et al. *Saponins*, **1995**, Phillipson, J.D. Cambridge University Press.
104 Reutrakul, V.; *Planta Med.* **2006**, 72:1433 – 1435
105 Sun, I.C. et al. *J. Med. Chem.*, **1998**, 41, 4648.
106 Ramirez-Apan, A.A. et al. *Naturforsch*, **2004**, 237 – 243.
107 Klinot, J. et al. *Coll. Czech. Chem. Commun* **1970**, 35, 1105 -
108 Vystrcil, A. et al. *Coll. Czech. Chem. Commun.* **1974**, 39, 3131 – 3143.
109 Zhu, X. et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 1900 – 1934.
110 Pellissier, H. et al. *Tetrahedron* **2004**, 60, 5123 – 5162.
111 Cmoch, P. et al. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 4089 – 4098.
112 Gauthier, C. et al. *Tetrahedron* **2008**, 64, 7386 – 7399.
113 Mimaki Y. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett* **1997**, 7, 633 – 6.
114 (a) Tang Y. et al. *Chem. Rev.* **2013**, 113, 5480–514.
(b) Morzycki J. W. et al. *Phytochem. Rev.* **2005**, 4, 259 – 77.
115 (a) Shi, B. et al. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 10354 – 10367.
(b) Matsuya, Y. et al. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 803 – 808.
(c) Deng, L. et al. *Chin. J. Chem.* **2004**, 22, 994 – 998.
(d) Shi, B. et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 4324 – 4327.
116 Kuczynska, K. et al. *Carbohydr. Res.* **2016**, 423, 49–69
117 Gauthier, C. et al. *Tetrahedron* **2008**, 64, 30-31, 7386 – 7399.
118 Cmoch, P. et al. *Tetrahedron* **2014**, 70, 17, 2717 – 2730.
119 Pakulski, Z. et al. *Tetrahedron* **2015**, 71, 4757 – 4769.
120 (a) Wang, B. et al. *J. Org. Biomol. Chem.* **2012**, 10, 8822 – 8834.
(b) Zang, J. et al. *Chin. J. Chem.* **2006**, 24, 509 – 517.
121 Tanaka, H. et al. *J. Carbohydr. Chem.* **2000**, 19, 413 – 418.
122 Ching Chang, L. et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1998**, 242, 21 – 25.
123 Okamoto, I. et al. *Chem. Pharm. Bull.* **2000**, 48, 120 – 125.
124 Gonzalez, A. et al. *Phytochemistry* **1992**, 31, 6, 2069 – 2072.
125 Chen, I. et al. *J. Nat. Prod.* **2008**, 71, 8, 1352 – 1357.
126 Kahnt, M. et al. *Med. Chem. Res.* **2018**, 27, 7, 1757 – 1769.
127 Vystrcil, A. et al. *Coll. Czech. Chem. Commun.* **1973**, 38, 3648 – 3661.
128 Changkun, L. et al. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 21, 2533 – 2535.
129 Uzenkova, P. *Chem. Nat. Commun.* **2005**, 41, 6, 692 – 700.
130 Pohajala, L. et al. *J. Nat. Prod.* **2009**, 72, 11, 1917 – 1926.
131 Odinokova, L. E. et al. *Chem. Nat. Commun.* **1988**, 24, 2, 178 – 183.
132 Suokas, E. *Acta Chem. Scand. B:* **1974**, 28, 793 – 796.



B. Org. 415/19

Biblioteka Instytutu Chemii Organicznej PAN

O-B.415/19



10000000105719