

УДК 615.322

ПРОИЗВОДНЫЕ БЕТУЛИНА. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ПОВЫШЕНИЕ РАСТВОРИМОСТИ

© *О.А. Воробьева, Д.С. Малыгина, Е.В. Грубова, Н.Б. Мельникова**

*Приволжский исследовательский медицинский университет,
пл. Минина и Пожарского, 10/1, Нижний Новгород, 603950 (Россия),
e-mail: melnikovanb@gmail.com*

Обзор посвящен анализу биологических свойств – противоопухолевых, противовирусных, гипополидемических, противовоспалительных и др., производных бетулина и бетулиновой кислоты, выделяемых из различных природных источников, в том числе бересты березы (*Betula, Betulaceae*). Обсуждается взаимосвязь «структура-активность» в ряду наиболее изученных из этих соединений. В экспериментах *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo* продемонстрирована перспективность этой группы соединений в качестве фармацевтически активных субстанций. Спектр противоопухолевого действия зависит от заместителей, главным образом, при С-3- и С-28-углеродных атомах лупанового скелета, важным является сохранение карбоксильной группы бетулиновой кислоты в положении С-28. В этом случае цитотоксичность С-3 модифицированных производных является крайне высокой почти на всех испытываемых клеточных линиях.

Внедрение этих соединений в широкую медицинскую практику осложнено по причине их крайне низкой биодоступности и плохой растворимости в воде (от 1 до 100 мкг/л). В обзоре рассмотрены основные коллоидно-химические подходы и модификация соединений за счет прививки гидрофильных групп путем химического синтеза. Коллоидно-химические подходы улучшения биодоступности тритерпеноидов включают: 1) встраивание этих соединений в липосомы, везикулы и другие наночастицы; 2) получение мицелл на основе высокомолекулярных соединений; 3) коллоидно-химическое растворение за счет физического воздействия; 4) образование комплексов включения; 5) использование полимеров для прививки к тритерпеноидам.

Рассмотрена химическая функционализация бетулина и бетулиновой кислоты полярными группами, такими как фосфатная/фосфонатная, сульфатная, аминокислотная и др., улучшающая биодоступность.

Ключевые слова: бетулин, производные бетулина, биологическая активность, растворимость, биодоступность.

Введение

Тритерпеновые соединения являются важнейшим классом биологически активных веществ (БАВ), потенциальных фармацевтических активных субстанций (ФАС), лекарственных препаратов (ЛП) и фито-препаратов. Интерес к этим низкотоксичным природным соединениям не ослабевает, несмотря на появление новых препаратов – продуктов нано- и биотехнологии, а также биоинженерии.

Особое место в ряду тритерпеноидов занимают пентациклические тритерпеноиды лупанового ряда – производные бетулина и бетулиновой кислоты, выделяемые из возобновляемых природных источников, в том числе бересты березы (*Betula, Betulaceae*). В экспериментах *in vitro* и *in vivo* соединения этой группы продемонстрировали противоопухолевые, противовирусные, гипополидемические, гепатопротекторные, противовоспалительные и другие виды биологической активности. Механизм действия этой группы соединений мало изучен. Однако большинство исследователей пришли к одинаковым выводам в механизме про-

Воробьева Ольга Александровна – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель, e-mail: vorobeva_olga1990@mail.ru
Малыгина Дарина Сергеевна – старший преподаватель, e-mail: mds73@yandex.ru
Грубова Елизавета Владимировна – инженер, e-mail: chem-pharm@yandex.ru
Мельникова Нина Борисовна – доктор химических наук, профессор, заведующая кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии, e-mail: melnikovanb@gmail.com

тивоопухолевой активности бетулиновой кислоты и ее производных: эти вещества дестабилизируют митохондрии и индуцируют апоптоз опухолевых клеток, активируя каспазы и фрагментацию ДНК, а нормальные клетки не затрагивают [1]. В то же время сведения о проверке эффективности действия этих соединений *in vivo* на людях по причине

* Автор, с которым следует вести переписку.

их крайне низкой биодоступности и плохой растворимости в воде (от 1 до 100 мкг/л), крайне скудны за исключением бетулина и бетулиновой кислоты. В настоящее время только бетулиновая кислота находится на стадии клинических исследований для лечения новообразований в коже, а также большим достижением являются клинические испытания на III стадии (2017 г.) олеогеля бетулина в подсолнечном масле для лечения ожогов и буллезного эпидермолиза.

Для преодоления плохой растворимости в воде тритерпеноидов лупанового ряда были предприняты многочисленные исследования по улучшению этого показателя. Исторически они включали в себя модификацию исходных соединений синтезом производных с гидрофильными группами, поиск новых лекарственных форм, позволяющих обеспечить векторную доставку труднорастворимых соединений, нано- и биотехнологические приемы улучшения растворимости, а также выявление видов биологической активности, при которых более важным является проявление липофильности этих соединений. В литературе отсутствуют какие-либо серьезные обобщения о связи модифицированной структуры тритерпеноида или его коллоидно-химического состояния с его растворимостью. Особенно следует отметить, что в большинстве работ растворимость исследуется на качественном уровне (хорошая – плохая), при этом количественная характеристика не указана.

Настоящий обзор посвящен обоснованию потенциальной возможности использования производных бетулина и бетулиновой кислоты с требуемой биодоступностью в качестве фармацевтически активного ингредиента при создании новых лекарственных средств (ЛС).

Основные виды биологической активности производных бетулина и бетулиновой кислоты

Биологическая активность производных бетулина подтверждается многочисленными литературными данными. Информация о результатах действия этих соединений, методики их исследования, а также и механизм их действия в основном носят описательный характер.

1. *Противоопухолевая активность бетулина, бетулиновой кислоты и их производных.* На сегодняшний день наиболее изученной является противоопухолевая активность бетулина (Б), бетулиновой кислоты (БК) и их производных (БП). В 1995 году впервые было обнаружено, что БК проявляет высокую цитотоксичность по отношению к меланоме человека путем индукции апоптоза опухолевых клеток. Замечательным является факт высокой селективности БК, выражающийся в том, что при высокой цитотоксичности к злокачественным клеткам БК не затрагивает нормальные клетки. Позже многочисленные исследования продемонстрировали, что нормальные клетки, такие как фибробласты кожи человека, лимфоциты периферической крови и меланоциты более устойчивы к БК, чем раковые клетки.

В дальнейшем появились сообщения о противоопухолевой активности БК, Б и БП в отношении широкого круга онкологических заболеваний (остеосаркома, саркома Юинга, фибросаркома, эмбриональная нейробластома, глиома, лейкемия, карциномы легких, толстой кишки, молочной железы, простаты, мочевого пузыря, желудка, поджелудочной железы, яичников, шейки матки и т.д.) [2–23]. Высокий уровень цитотоксичности доказан в экспериментах *in vitro*, *in vivo* на моделях солидных опухолей, а также *ex vivo* на клеточных линиях (табл. 1). Бетулиновая кислота (БК) и ее производные (БП) обнаружили хорошую эффективность в опытах с трансплантированной опухолью поджелудочной железы, а также на моделях опухолей легкого и толстой кишки. В последнем случае вес опухоли значительно снижался, а продолжительность жизни животных увеличивалась [23].

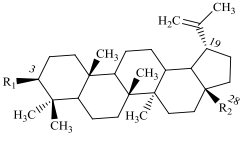
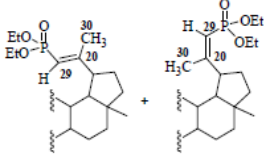
Сложные эфиры БК в отношении меланомы В16 и опухоли печени Н22, проявляли клинические эффекты, схожие с препаратами циклофосфамид и 5-фторурацил [23].

На клеточном уровне БК подавляет множественные деубиквитиназы, увеличивает количество полиубиквитинированных белков и снижает уровень онкопротеинов, вызывая тем самым апоптоз в клетках рака предстательной железы, но не в нормальных клетках простаты.

Бетулиновая кислота и ее синтетические БП дестабилизируют митохондрии (не затрагивая нормальные клетки), независимо от их р53 статуса [23, 24, 36]. Индукцию апоптоза под действием Б, БК и БП, как правило, связывают со следующим:

- 1) с прямой регуляцией митохондриального апоптотического пути и нарушениями потенциала митохондриальной мембраны [31, 32, 37];
- 2) высвобождением цитохрома *c* из митохондрий в цитозоль [12, 38, 39];
- 3) увеличением активированных форм полирибозной полимеразы, фрагментацией ДНК [3, 30];
- 4) активацией инициаторных и эффекторных каспаз (3, 8 и 9) [24, 28, 40].

Таблица 1. Противоопухолевая активность бетулиновой кислоты (БК) и ее производных

Активность	Соединение	Эксперимент	Ссылки
Противоопухолевая активность		Оценка IC ₅₀ Активность в отношении нейробластомы, глиобластомы, лейкемии <i>in vitro</i> , <i>in vivo</i> . IC ₅₀ < 10 µg/ml	[2]
1.1. Меланома	Бетулиновая кислота R ₁ -OH, R ₂ -CH ₂ COOH	Оценка IC ₅₀ <i>ex vivo</i> на клеточных линиях меланомы Me-45, A-375, MelDuWi и MellJess/HoMelZh, <i>in vivo</i> на лошадях. IC ₅₀ =2.6–13.3 µM	[24]
	Бетулин R ₁ -OH, R ₂ -CH ₂ OH	Оценка IC ₅₀ на клеточных линиях нейробластомы <i>ex vivo</i> IC ₅₀ =2.5 µM	[8, 10, 25]
1.1. Меланома	Фосфонаты бетулина  R ₁ -OH, -OCOR; R ₂ -CH ₂ OH, -CH ₂ OCOR	Клеточные линии меланомы человека G361 и SK-MEL-28 <i>ex vivo</i> IC ₅₀ =12.4–16.2 µM	[10, 26]
1.2. Рак груди	Бетулин	Оценка IC ₅₀ на клеточных линиях <i>ex vivo</i> MCF-7 и Vcap-37, IC ₅₀ =20 µM	[4, 10]
	Фосфонаты бетулина	Клеточные линии рака груди человека T47D <i>ex vivo</i> : IC ₅₀ < 80 µg/ml	[27]
1.3. Опухоли мозга	Бетулин	Оценка IC ₅₀ на первичной культуре мультиформной глиобластомы человека HPGBM <i>ex vivo</i> IC ₅₀ =2.8–3.4 µM	[10]
	Бетулиновая кислота	Оценка IC ₅₀ на клеточных линиях глиобластомы U87MG <i>ex vivo</i> IC ₅₀ ≈30 µM	[28]
	Фосфонаты бетулина	Клеточные линии глиобластомы человека SNB-19 <i>ex vivo</i> IC ₅₀ ≈23 µM	[27, 29]
Нейро-бластома	Бетулин	Оценка IC ₅₀ на клеточных линиях нейробластомы человека SK-N-SH <i>ex vivo</i> IC ₅₀ =8 µM	[10, 30]
Рак простаты	Бетулин	Оценка антиинвазивной и антипролиферативной активности на клеточных линиях карциномы простаты человека PC-3, LNCaP, Ep156T <i>ex vivo</i> IC ₅₀ =45 µM	[10, 31]
Рак яичников	Бетулиновая кислота	Были изучены увеличение скорости апоптоза клеток и морфологические изменения в митохондриальной мембране на клеточных линиях карциномы яичников OVCAR 432, RMS-13 и NIH-3T3 <i>ex vivo</i> IC ₅₀ =5–10 µM	[32]
	Бетулин	Оценка IC ₅₀ на клеточных линиях A2780 и на первичной культуре НРОС карциномы яичников человека <i>ex vivo</i> , IC ₅₀ =2.26–11.29 µM	[10, 33, 34]
Рак шейки матки	Бетулиновая кислота	Исследование механизма индукции апоптоза на клеточных линиях карциномы шейки матки человека HeLa <i>ex vivo</i> , IC ₅₀ =66 µmol/l после 24 ч	[35]
	Бетулин	Оценка IC ₅₀ на клеточных линиях HeLa <i>ex vivo</i> IC ₅₀ =75 µM после 24 ч	[10]

Влияние бетулина на пролиферацию и апоптоз клеток нейробластомы SK-N-SH, экспрессию или транслокацию связанных с апоптозом биомаркеров, включающих семейство протеинкиназ С (РКС), аналогично действию БК. В результате бетулин значительно ингибировал рост клеток SK-N-SH с полумаксимальной концентрацией ингибирования (IC₅₀) 8 мкмоль/мл. Кроме того, увеличивалась активность фермента РКС-δ, активирующего каспазы 3, 8 и 9, таким образом инициируя эндогенный апоптоз [30].

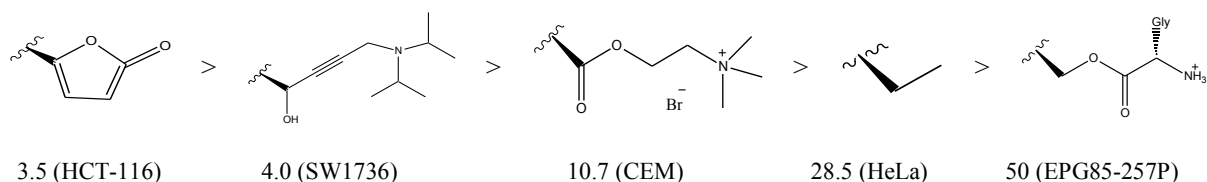
Некоторыми исследователями показано, что первичные опухолевые клетки (например, рака яичников) показали более высокую чувствительность к бетулину, чем к бетулиновой кислоте. Даже незначительные изменения в основной структуре бетулина могут быть достаточными для получения биологически и терапевтически важных производных.

Основные закономерности модификации структуры БК и противоопухолевой активности выражаются в следующем:

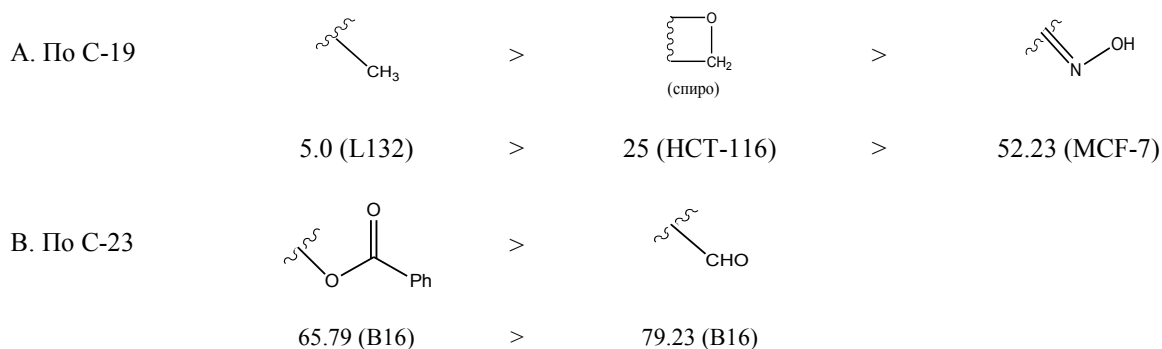
- прививка аминокислот или других гидрофильных фрагментов к бетулиновой кислоте усиливает ее растворимость в воде, снижает токсичность при сохранении цитостатической активности [41];
- гетероциклы, конденсированные с кольцом А (при С-3), а также введение азотистых заместителей, таких как пиразинный, пиразольный, оксазольный, индольный и пиридиновый фрагменты, усиливают подавление инвазивности клеток РС-3 [26, 42];
- производные дигидробетулиновой кислоты эффективнее, чем нативные соединения [26];
- окисление кратной связи при С-20 снижает цитостатическую активность [26];
- метаболиты БК снижают цитостатическую активность в отношении клеток меланомы [42];
- окисление до бетулонового или бетулинового альдегида усиливает антилейкемическую активность [2].

Влияние производных бетулина на цитотоксичность различных клеточных линий опухолей определяется функциональными группами по положениям С-3, С-19, С-23, С-28 [2].

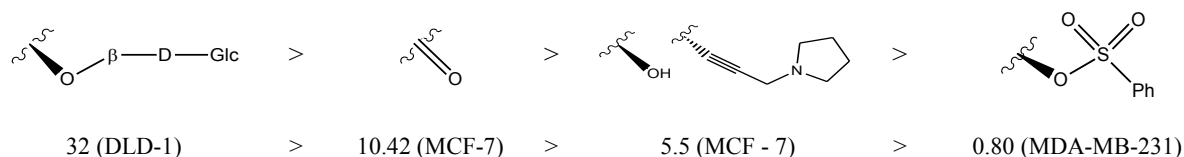
Цитотоксичность БП, модифицированных по С-28, выражаемая через IC_{50} , $\mu M/L$, зависит как от природы функциональной группы, так и от тестируемых клеточных линий:



Влияние модификации бетулиновой кислоты по С-19 и по С-23 на цитотоксичность клеточных линий мало изучено, IC_{50} , $\mu M/L$ и клеточные линии некоторых из них приведены ниже:



Крайне важным является сохранение карбоксильной группы бетулиновой кислоты в положении С-28. В этом случае цитотоксичность С-3 модифицированных производных является крайне высокой почти на всех испытываемых клеточных линиях. Ниже приведены заместители, позволяющие обеспечить минимальные значения IC_{50} , $\mu M/L$:



Обращает на себя внимание высокая цитотоксичность бетулоновой кислоты, которая часто является полупродуктом для синтетического получения природной бетулиновой кислоты, и нам представляется целесообразным разработку ФАС на ее основе.

В целом, анализ литературных данных показывает, что производные бетулиновой кислоты благодаря своей низкой токсичности и селективности воздействия на опухолевые клетки, а также широкому спектру действия являются многообещающими кандидатами на фармацевтически активные субстанции. В настоящее время лидером в этом направлении остается исходная бетулиновая кислота, поскольку синтез ее производных является очень дорогостоящим и экологически небезопасным.

2. *Противовирусная активность бетулиновой кислоты и ее производных.* Потенциальным препаратам с анти-ВИЧ активностью БК и ее производных, а также анализу взаимосвязи «структура-активность» посвящен ряд работ, наиболее полной из которых является обзор А.З. Абышева [25].


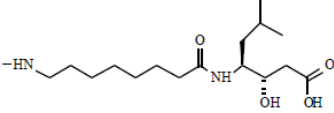
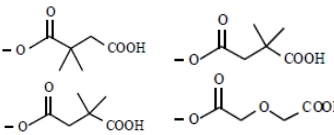
На анти-ВИЧ-активность влияют функциональные группы при атомах углерода С-3 и С-28 (заместители спиртового гидроксила):

1. Нецелесообразны 3 α -гидрокси-, 3-кето-, 3-алкиламидо-3-дезоксид-, 3-амино-2,3-ен-, 2,3-дикето- и 2-гидрокси- заместители. При этом С-3 сложноэфирные боковые цепи, содержащие 4–5 карбонных атома с 3'-метил-группой, значительно повышают активность.

2. Изопропенильный фрагмент также оптимален для проявления анти-ВИЧ активности, а дигидрирование по изопропенильному фрагменту или любое другое взаимодействие по С-30 приводит к повышению токсичности [25]. Авторы обзора также делают вывод, что все высокоактивные соединения этого ряда имеют в своей структуре как минимум одну свободную терминальную карбоксильную группу.

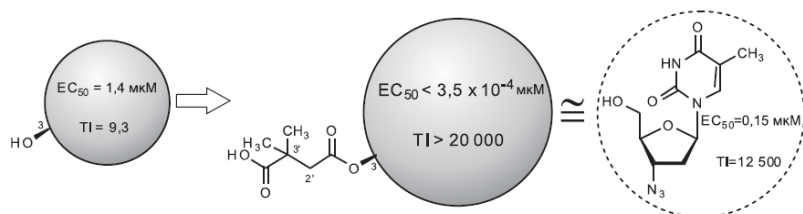
В таблице 2 систематизированы литературные данные о соединениях этого ряда с противовирусной активностью. На сегодняшний день оптимальным анти-ВИЧ производным БК считается **бевиримат**, действующий как на ВИЧ-1, так и на ВИЧ-2, аналогично зидовудину (рис. 1).

Таблица 2. Противовирусная активность бетулиновой кислоты (БК) и ее производных

Активность <i>1</i>	Соединение <i>2</i>	Эксперимент <i>3</i>	Ссылки <i>4</i>
2.1. Анти-ВИЧ активность	 <p>Бетулиновая кислота R₁ -OH, R₂ -CH₂COOH</p> <p>Дигидробетулиновая кислота</p> <p>Р₂: —H₂C—C(=O)—O—C(=O)—C₅H₄N</p> <p>Никотинат бетулиновой кислоты</p> <p>Диметилсукцинил-производные, амиды и пептиды бетулиновой и бетулоновой кислот. R₁ -OH, =O; R₂ -CH₂COOH</p>	<p>Подавление репродукции Н9-лимфоцитов <i>ex vivo</i>: EC₅₀=1.4 мкМ – БК. EC₅₀=0.9 мкМ Б – ниже активность, нужна карбонильная группа</p>	[48–50]
2.1. Анти-ВИЧ активность	<p>N²-{N-[36-гидрокси-20(29)ен-28-оил]-8-амино октаноил}-1-статин R₁ -OH</p>  <p>R₂</p> <p>Диметилсукцилаты бетулиновой кислоты</p>  <p>R₁ —O—C(=O)—C(CH₃)₂—C(=O)—O—R₁</p> <p>R₂ -CH₂COOH</p>	<p>Производные бетулиновой кислоты <i>ex vivo</i> блокируют слияние клеток и инфицирование ВИЧ-1 на стадии после связывания, препятствуя достижению gp41 его активной конформации</p>	[48, 49, 51]

Окончание таблицы 2

1	2	3	4
	<p>Бевиримат</p> <p>R₁</p> <p>R₂ -CH₂COOH</p>	<p>Проходит клинические испытания на пороге третьей фазы компанией Muirad Pharmaceuticals в США</p>	[52]
2.1. Анти-ВИЧ активность	<p>3-<i>O</i>-ацильные производные БК</p> <p>R₁</p> <p>и др.</p> <p>R₂ -OH, -CH₂COOH</p>	<p>Оценка EC₅₀ (мкМ) и IC₅₀ (мкМ) против ВИЧ-1 штаммов ПШВ/LAI <i>in vitro</i></p>	[2, 23, 51]
2.2. Активность против вируса простого герпеса 1 типа	<p>Бетулин и бетулиновая кислота, модифицированные по С-3 и С-28</p> <p>R₁ -OH, -OCOR;</p> <p>R₂ -CH₂OH, -CH₂OCOR</p> <p>Амиды, уреиды, замещенные бензальгидразины бетулина и бетулиновой кислоты</p> <p>R₁ -OH, -OCOR;</p> <p>R₂ -CH₂OH, -CH₂OCOR</p>	<p>Оценка EC₅₀ относительно вируса простого герпеса 1 типа HSV-2 <i>in vitro</i></p>	[49, 53]
2.3. Активность против вируса Эпштейна-Барр (вирус герпеса 4)	<p>Бетулиновая кислота</p>	<p>Показано, что исследуемое соединение подавляет репликацию вируса EBV посредством супрессии SOD с последующей генерацией активных форм кислорода (ROS) и повреждением ДНК в EBV-трансформированной лимфобластоидной клеточной линии <i>in vitro</i></p>	[43]



БК Бевиримат Зидовудин

Рис. 1. Схематическое сравнение анти-ВИЧ активности бетулиновой кислоты, бевиримата и зидовудина [16]

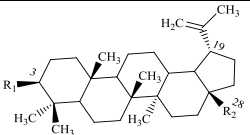
Таким образом, все производные бетулина и бетулиновой кислоты проявляют противовирусное действие, в том числе анти-ВИЧ активность. Однако так же, как и в случае с противоопухолевой активностью, синтез всех высокоэффективных БП является крайне дорогостоящим, протекающим с низким выходом и экологически небезопасным. Именно этим объясняется тот факт, что для наиболее перспективного анти-ВИЧ-соединения – Бевиримата, прошедшего III фазы клинических испытаний, в настоящее время дальнейшие клинические испытания приостановлены.

3. *Другие виды активности бетулиновой кислоты и ее производных.* Наиболее изученными для бетулина (Б), бетулиновой кислоты (БК) и их производных (БП) являются антибактериальное, противовоспалительное (противоаллергическое), противомаларийное, антигельминтное и гепатопротекторное действие и др. (табл. 3, [6, 31, 39, 51, 54–66]).

В настоящее время многие предлагаемые механизмы воздействия Б, БК и БП при лечении различных заболеваний переосмысляются [10, 32, 67]. Например, противоречивыми являются данные по механизму и подтверждению антибактериального действия Б и БК [67]. Антибактериальное действие в отношении *E. coli*,

P. aeruginosa, *St. aureus* Б, БК и БП обусловлено усилением оксидативного стресса за счет увеличения продукции супероксид-анионных радикалов и увеличения отношения $NAD^+/NADH$ в бактериальных клетках, что, в конечном счете, приводит к гибели бактерий [68]. Прооксидантный эффект подтверждался повышением уровня малонового диальдегида в бактериальных клетках, при этом соотношение восстановленного и окисленного глутатиона характеризует усиление антиоксидантной активности редокс-ферментов. Бетулин и БП проявляют противовоспалительное и противоязвенное действие благодаря ингибирующим эффектам по отношению к монооксиду азота [33].

Таблица 3. Прочие виды активности бетулиновой кислоты (БК) и ее производных

Активность	Соединение	Эксперимент	Ссылки
1	2	3	4
3.1. Антибактериальная	 <p>Бетулиновая кислота R₁ -OH, R₂ -CH₂COOH 28-O-(N-цетилантранилоил) бетулин</p>	<p>Влияет на штаммы <i>Enterobacter aerogenes</i>, <i>Escherichia coli</i>, <i>Enterococcus faecalis</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Staphylococcus aureus</i> и грибковый штамм <i>Candida albicans</i>. Активен против двух грамположительных бактерий, <i>E. faecalis</i> и <i>S. aureus</i></p>	[31, 33, 44, 56, 63, 73]
3.2. Противовоспалительная (противоаллергическая)	Бетулиновая кислота	<p>Показано, что производные бетулина избирательно ингибируют экспрессию индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS) посттранскрипционным способом, а также ингибируют образование оксида азота (NO), подавляют экспрессию цитокинов интерлейкина-6 (IL-6) и хемотаксического белка-1 моноцитов (MCP-1), а также экспрессию простагландин-синтазы-2 (ЦОГ-2)</p>	[33, 55, 62, 64, 66, 73, 74]
3.3. Анальгетическая	Бетулиновая кислота	<p>Выраженные антиноцицептивные свойства на модели «корчи» (writing test) и при инъекциях формалина у мышей <i>in vivo</i></p>	[55, 73]
3.4. Противомаларийная	<p>Бетулиновая кислота, Бетулин R₁ -OH, R₂ -CH₂OH (менее эффективен)</p>	<p>Антиплазмодная активность <i>ex vivo</i> (IC₅₀) против резистентного к хлорохину (K1) и чувствительного (T9-96) <i>Plasmodium falciparum</i>, против штаммов K1 и T9-96. Бетулиновая кислота <i>in vivo</i> в модели малярии на мышах (<i>P. berghi</i>), верхняя доза неэффективна и токсична при паразитемии</p>	[31, 33, 75]
3.5. Антигельминтная	<p>Метанольные, гексановые и этилацетатные экстракты <i>Berlina grandiflora</i>, содержащие бетулиновую кислоту (основной компонент)</p>	<p>Оценивали активность по количеству подвижных червей свободной живой нематоды <i>in vitro</i>. Сырые экстракты (500 ppm) показали антигельминтную активность в порядке этилацетат > метанол > гексан. Бетулиновая кислота из этилацетатной фракции имеет сильную антигельминтную активность при 100 ppm, сравнимую с пиперазином</p>	[31, 54]
3.6. Гепатопротекторная активность	Бетулин	<p>Подавление цитотоксического действия CdCl₂ в концентрации менее 0.1 мкг/мл (2.10⁻⁷M) на культуре раковых клеток печени человека <i>ex vivo</i></p>	[34, 39, 57]
3.7. Ингибитор фосфолипазы	<p>Производные бетулина и бетулиновой кислоты R₁ -OSO₂(OH) и их соли, -OP(O)(OH)₂ и их соли, -OCH₂COOH и их соли; R₂ -CH₂OSO₂(OH) и их соли, -CH₂OP(O)(OH)₂ и их соли, -CH₂OCH₂COOH и их соли</p>	<p>Определение антигемолитической активности в гемолитической системе <i>in vitro</i> (бараньи эритроциты, комплемент морской свинки): сенсibilизированные кроличьими антителами бараньи эритроциты, образец исследуемого вещества, комплемент морской свинки</p>	[76]

Окончание таблицы 3

1	2	3	4
3.8. Ингибитор остеокластогенеза	Бетулин Бетулиновая кислота	Ингибирование остеокластогенеза <i>ex vivo</i> (блокировка экспрессии NFATc1) на клеточной линии макрофагов костного мозга мышей	[69]
3.9 Антикоагулянтная, антитромботическая активность	Бетулиновая кислота R ₁ -OH R ₂ -CH ₂ COOH	Исследования <i>in vitro</i> на активность агрегации тромбоцитов в отношении тромбина, аденозиндифосфата (ADP) и индуцированной адреналином агрегации тромбоцитов у крыс. Тритерпены проявляли дозозависимую ингибирующую активность в отношении агрегации тромбоцитов	[77–79]
3.10 Ранозаживляющая активность	Бетулин	Олеогель-S10 – гель для местного применения, изготовленный из масла подсолнечника с 10% содержанием тритерпенового экстракта из бересты. Исследовался на острых и хронических ранах	[80]
3.11 Антидиабетическая и антигипертензивная активность	Бетулиновая кислота R ₁ -OH R ₂ -CH ₂ COOH Бетулин	Бетулиновая кислота продемонстрировала защитные эффекты на сердечнососудистую систему как на моделях <i>in vivo</i> , так и <i>in vitro</i> . У крыс с гипертонической болезнью, внутрибрюшинное введение бетулиновой кислоты (20 мг/кг) в течение 2 недель приводило к заметному повышению уровня АФК и снижению уровня NO и SOD, а также снижению активности eNOS в аорте	[39, 62]

Принципиально новым выявленным свойством БК и бетулина является способность этих соединений ингибировать остеокластогенез [69]. Это свойство чрезвычайно важно для медицинской практики, поскольку открывает новый путь для получения новых препаратов для лечения заболеваний костной ткани и может быть компонентом биомиметической кости.

Недавними исследованиями было показано антикоагуляционное и антиагрегационное действие бетулиновой кислоты и 3-ацетата бетулина [70–72].

Таким образом, анализ литературных данных показывает, что производные бетулиновой кислоты являются перспективными лекарственными веществами, спектр фармакологической активности которых зависит от заместителей, главным образом при С-3- и С-28-углеродных атомах лупанового скелета. Наиболее изученным видом биологической активности является противоопухолевое действие, при этом основным стандартом лекарственного вещества среди соединений лупанового ряда остается бетулиновая кислота. Поиск новых производных бетулиновой кислоты, сохраняющих ее главное свойство – высокую цитотоксичность по отношению к опухолевым клеткам и низкую токсичность для организма, является актуальной задачей фармацевтической химии.

Приемы увеличения растворимости производных бетулина и бетулиновой кислоты

Биодоступность труднорастворимых лекарственных препаратов может быть улучшена за счет различных коллоидно-химических подходов и модификацией бетулина и бетулиновой кислоты прививкой гидрофильных групп путем химического синтеза. Химическая модификация позволяет также увеличить растворимость индивидуальных соединений.

Коллоидно-химические подходы улучшения биодоступности тритерпеноидов

Используют пять основных приемов улучшения биодоступности, представленных ниже.

1. Встраивание этих соединений в липосомы, везикулы и другие наночастицы [22, 81]. Наиболее изучены везикулы или липосомы из водных дисперсий, содержащих лецитин (например, фосфатидилхолин) и тритерпеноид, растворенный в диметилсульфоксиде или спирте [82]. Поверхностно активные вещества, в том числе полимерной природы (поливинилпирролидон, проксанол и др.), увеличивают агрегационную стабильность липосом. Наночастицы с бетулиновой кислотой также получают из полимеров, при этом наиболее перспективным является легкодegradуруемый сополимер молочной и гликолиевой кислот (PLGA) [81].

2. Получение мицелл на основе высокомолекулярных соединений [21]. Примером полимеров, рекомендуемых к использованию в фармации, являются сополимеры водорастворимого, неиммуногенного и биосовместимого N-(2-гидроксипропил)метакриламида (пГПМА). На основе этого сополимера можно получать мицеллярные системы с бетулиновой и бетулоновой кислотами, в которых полимер будет выполнять роль вектора доставки [21, 82].

3. Коллоидно-химическое растворение за счет физического воздействия (ультразвуковое воздействие, механохимия и т.д. (табл. 4)). В работах С.А. Кузнецовой и др. Красноярского Института химии и химической технологии СО РАН предложена механическая активация бетулина и эфиров бетулиновой кислоты в присутствии полимеров (поливинилпирролидона, полиэтиленгликоля, арабингалактана и др.) [84]. В результате такого воздействия биологически активные (гастропротекторные и противоопухолевые) свойства тритерпеноидов возрастают по сравнению с чистыми веществами.

4. Образование комплексов включения [85]. Приемом увеличения растворимости тритерпеноидов может быть комплексобразование с γ -циклодекстрином, глицирризиновой кислотой и другими соединениями, способными образовывать комплексы включения за счет гидрофобного связывания [20]. В работе Falamas проведены детальные спектроскопические исследования комплексов «хозяин-гость» образованных бетулином и гидрокси-пропил- γ -циклодекстрином состава 1 : 1 и 1 : 2.

Таблица 4. Коллоидно-химические подходы улучшения биодоступности бетулина и его производных

Метод	Структура	Условия получения	Результат	Ссылки
1. Механохимический	Композиты: бетулин/ди-ацетат бетулина с ПЭГ/ПВП	Механическую активацию смесей проводили в планетарно-центрической мельнице в присутствии 5–10% этанола	Гомогенизация Б и ДАБ с полимерами С _(Б+ПВП 12600+5% ЕЮН) = (52.4±2.0) · 10 ⁻³ г/л	[88]
2. Образование комплексов и конъюгатов				
2.1. Получение комплексов производных бетулина с полисахаридами и др. полимерами	Комплексы диацетата бетулина с арабиногалактаном	Смесь арабиногалактана и диацетата бетулина в воде перемешивают при 37 °С в течение 48 ч. Из фильтрата при пониженном давлении при 35–40 °С получают тонкую гибкую пленку	Комплекс арабиногалактана и диацетата бетулина коллоидно растворим в воде	[89]
2.2. Получение устойчивых коллоидных дисперсий	Комплексы диацетата бетулина с аэросилом	Механическую активацию смесей ДАБ с аэросилом проводят в ударно-шаровой мельнице от 5 до 30 мин. Соотношение компонентов «диацетат бетулина–аэросил» составляет 1 : 9 (по массе)	Растворимость комплекса: 6.1 мг/л, что примерно в 8 раз выше, чем у исходных веществ	[84]

Анализ комплексов включения показал, во-первых, что молекула «гостя» находится в полости между внешними липофильными сторонами двух молекул бетулина. Во-вторых, молекулы бетулина связаны между собой водородными связями, так что в кристаллической структуре комплекса видны димеры, в которых молекулы бетулина связаны водородными связями по типу «голова к хвосту». Индивидуальный бетулин в кристалле, вероятно, существует в виде водородно-связанных димеров по типу «голова к голове», что на основании данных колебательных спектров и данных рентгеноструктурного анализа, характерно для всех карбоновых кислот [20].

Комплексы включения с циклодекстринами в воде диссоциируют на циклодекстрин и лекарственное вещество, проявляя биологические свойства последнего [17, 20, 86, 87].

Другими авторами предприняты попытки получить комплексы включения бетулина с лекарственными веществами типа пиразолов в растворе. Авторы работы [85] показали образование комплексов по типу «хозяин – гость» бетулина и его производных (аллобетулин, бетулиновая кислота, 3-кетобетулиновая кислота) с пиразолами.

5. Использование полимеров с привитыми тритерпеноидами как водорастворимых полимерных конструкций. В соответствии с этим подходом на первой стадии обычно получают терпенсодержащий мономер, который затем вводится в радикальную сополимеризацию. Например, при взаимодействии бетулина с малеиновой кислотой в присутствии дициклогексилпероксидикарбоната при комнатной температуре образующийся мономер 28-О-малеат бетулина вступает в реакцию сополимеризации с N-винилпирролидоном, акрилонитрилом,

винилацетатом в присутствии радикальных инициаторов. Полученные полимеры проявляют более высокую активность в отношении культуры рабдомиосаркомы RD TE32 по сравнению с малеатом бетулина [90].

Таким образом, можно отметить, что повышение биодоступности бетулина и его производных с использованием коллоидно-химических подходов, выражающихся в получении различных наночастиц, как везикулярных, так и мицеллярных, является очень плодотворным, но не решает проблему растворимости тритерпеноидов лупанового ряда.

Повышение растворимости путем химической модификации бетулина, бетулиновой кислоты и их производных

Улучшение не только биодоступности, но и растворимости тритерпеноидов, как и любых гидрофобных ЛВ, может быть достигнута химическим синтезом, приводящим к прививке функциональных групп, таких как карбоксильная, гидроксильная, аминогруппа, фосфатная/фосфонатная и карбонильная. Химическая модификация исходных соединений – ЛВ, включает в себя образование эфиров, карбонатов, карбаматов, амидов, фосфатов, оксимов и других производных, которые часто рассматривают как пролекарства (рис. 2).

Синтезу производных бетулина, обладающих биологической активностью, посвящено множество исследований, в том числе в обзорах [12, 16, 17, 92]. Российская научная школа является лидером в синтезе биологически активных производных бетулина и бетулиновой кислоты [93]. В работах ведущих исследователей [93–97] описаны синтезы новых функционализированных терпеноидов, однако детально растворимость в этих работах не изучена. Работы по целенаправленному синтезу производных бетулина и бетулиновой кислоты с улучшенной растворимостью начались в 2000-2012 годах [53]. Следует отметить следующие основные направления по синтезу гидрофильных производных бетулина:

1. Получение эфиров бетулина по положению С-3 и С-28 и бетулиновой кислоты по положению С-3 с L-аминокислотами [92] (рис. 3). Синтез проводился с использованием каплинг-агентов (наиболее часто используемые – N,N-дициклогексилкарбоимид и 4-диметиламинопиридин) и L-Вос защищенными аминокислотами (глицин, аланин, метионин, лизин и др.). На рисунке 3 показаны сайты расщепления эфиров эстеразами.

Растворимость оценивали методом ВЭЖХ после введения тритерпеноида в ДМСО (1 мг в 100 мкл) в дистиллированную воду.

2. Синтез фосфолипидов бетулина (например, 28-O-(1,2-диацил-sn-глицеро-3-фосфо)-бетулина) и их солей [98] (рис. 4). Синтезы были проведены с применением различных связующих веществ (2-мезитилсульфонил хлорид, p-толуолсульфонилхлорид и N,N'-дициклогексилкарбодимид) и в присутствии 4-диметиламинопиридина в пиридине.

3. Синтез эфиров бетулиновой кислоты с конъюгатами линолевой кислоты [99]. Этерификация как бетулина, так и бетулиновой кислоты проводилась с использованием связующих агентов N, N'-дициклогексилкарбодимида и 4-диметиламинопиридина (ДМАП) в дихлорметане (или пиридине). На рисунке 5 представлено получение эфиров бетулина. Для получения монозамещенных эфиров по положениям С-3 и С-28 гидролиз проводили либо уксусным ангидридом в пиридине, либо карбонатом калия в метаноле. Несмотря на то, что авторы ставили целью улучшение растворимости и биодоступности производных бетулина, в работе не приводятся количественные характеристики.

4. Синтез глицероловых эфиров бетулиновой кислоты и бетулина [19]. Реагентом для синтеза сложных эфиров бетулината глицерина из бетулиновой кислоты авторами был использован тозилированный (R)-2,3-O-изопропилиден-глицерин (рис. 6).

Для получения ацилглицерола бетулина авторы применяли (R)-2,3-O-изопропилиден-D-глицерилхлорид.

5. Конъюгаты полиэтиленгликоля и бетулиновой кислоты [100]. Разветвленные полиэтиленгликолевые карбоксильные кислоты с различной молекулярной массой прививались в присутствии каплинг-агента – ДМАП к бетулиновой кислоте (рис. 7). Полученный продукт в виде мицелл легко образует коллоидные растворы.

6. Сульфатирование с получением соответствующих сульфатов бетулина и их солей [101–102]. Впервые это прием был описан в работе С. Буревой [103]. Сульфатирование проводят либо смесью серной кислоты и серного ангидрида в неводной среде (пиридин и уксусный ангидрид), либо комплексом «серный

ангидрид–диметилсульфоксид». Более удобной схемой сульфатирования является обработка бетулина производными хлорсульфоновой кислоты в диоксане или диметилформамиде. Для достижения необходимой растворимости обычно получают натриевые соли.

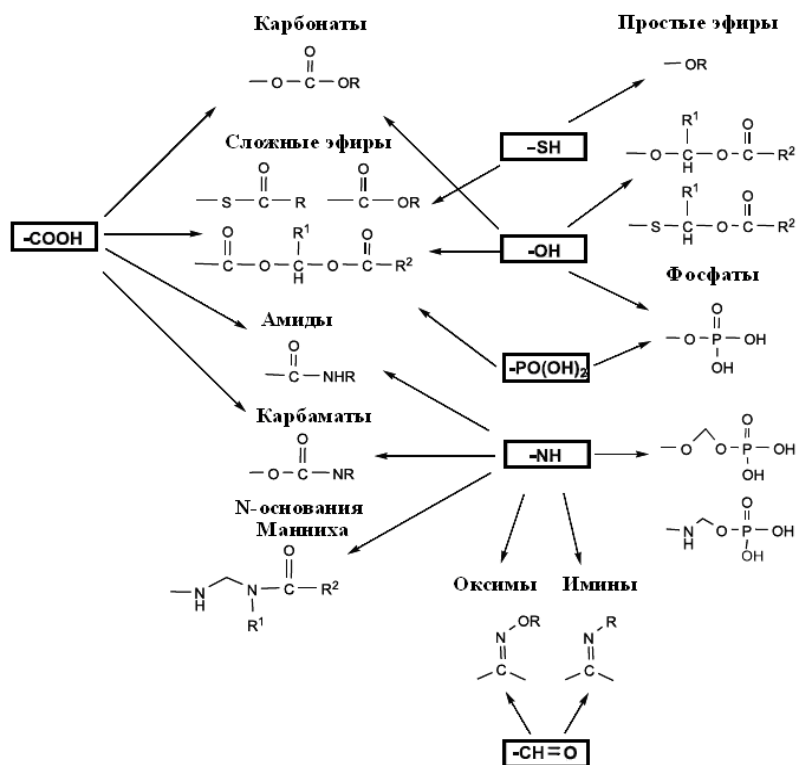


Рис. 2. Варианты модификации структуры лекарственных веществ [91]

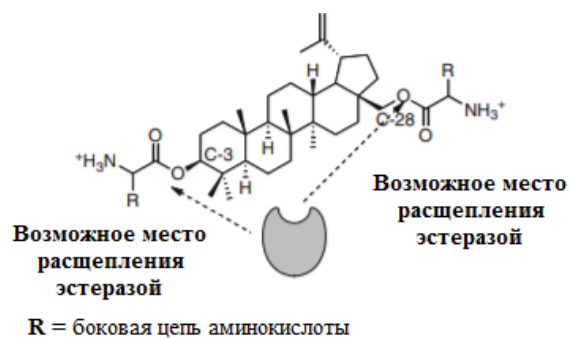


Рис. 3. Эфиры бетулина с аминокислотами и возможные сайты расщепления эстеразами [92]

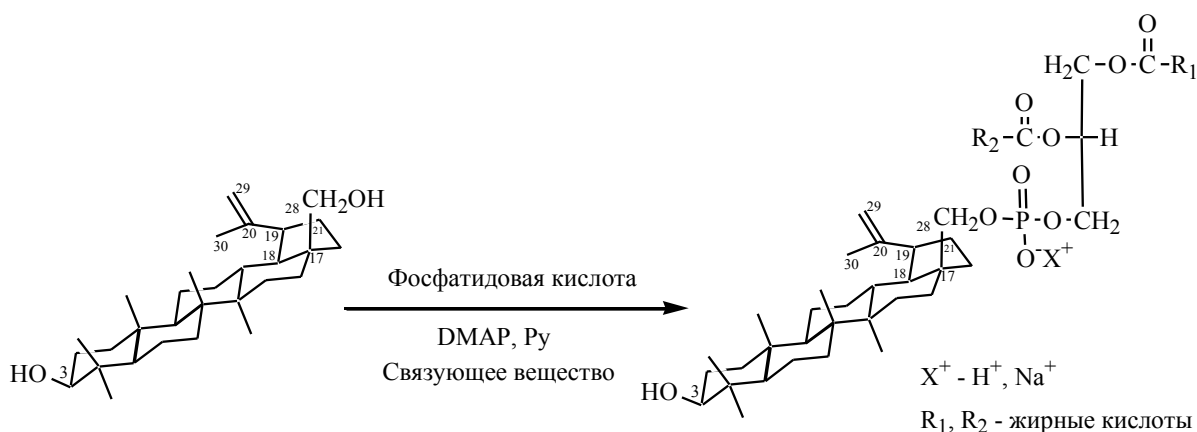


Рис. 4. Схема синтеза фосфолипидов бетулина и их солей

7. Получение фосфатных или фосфонатных производных бетулина [18]. Синтез ацетиленовых фосфонатов бетулина протекает через реакцию Михаэля-Арбузова с триэтилфосфином, является сложным и дорогостоящим (рис. 8).

Наибольший интерес представляют фосфатные производные ЛВ, поскольку фосфаты широко распространены в организме человека и участвуют в большинстве метаболических процессов [29]. Фосфор входит в состав нуклеотидов, нуклеиновых кислот, фосфопротеидов, фосфолипидов, фосфорных эфиров углеводов, многих коферментов и других органических соединений, а также атомы фосфора способны к образованию богатых энергией связей в макроэргических соединениях: аденозинтрифосфорной кислоте (АТФ), креатин-фосфате и других.

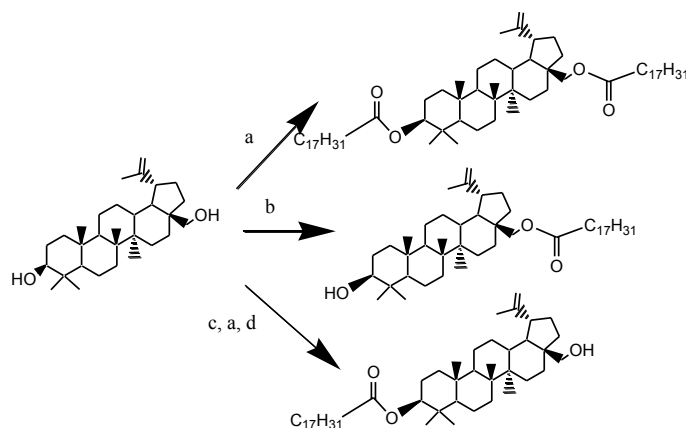


Рис. 5. Этерификация бетулина конъюгированной линолевой кислотой: а, б – в среде дихлорметана в присутствии связующих агентов – N,N'-дициклогексилкарбодиимида; ДМАП: (а) 4 экв. линолевой кислоты; (б) 2 экв. линолевой кислоты; (с) уксусным ангидридом (1 экв.) и пиридином; (д) K₂CO₃, CH₃OH [99]

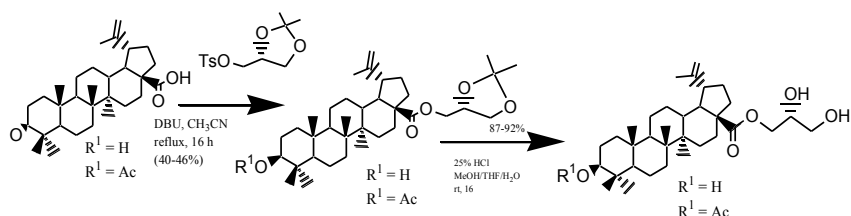


Рис. 6. Синтез глицерильных эфиров бетулиновой кислоты и бетулина

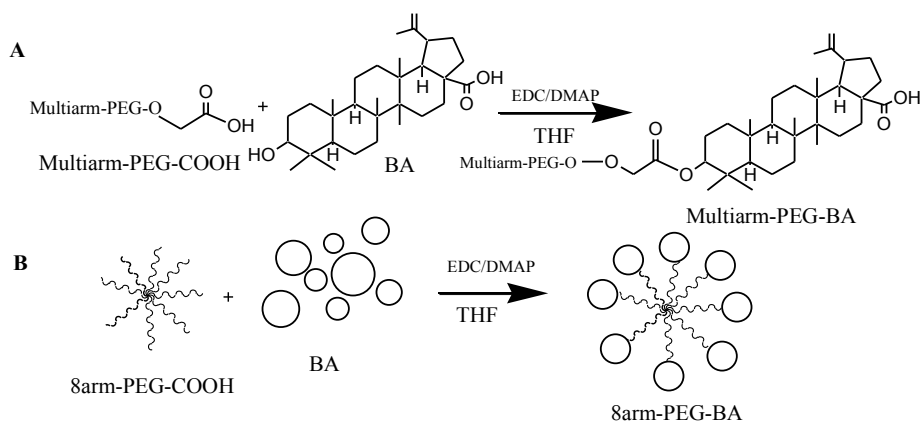


Рис. 7. Синтез конъюгатов ПЭГ-бетулиновая кислота [100]

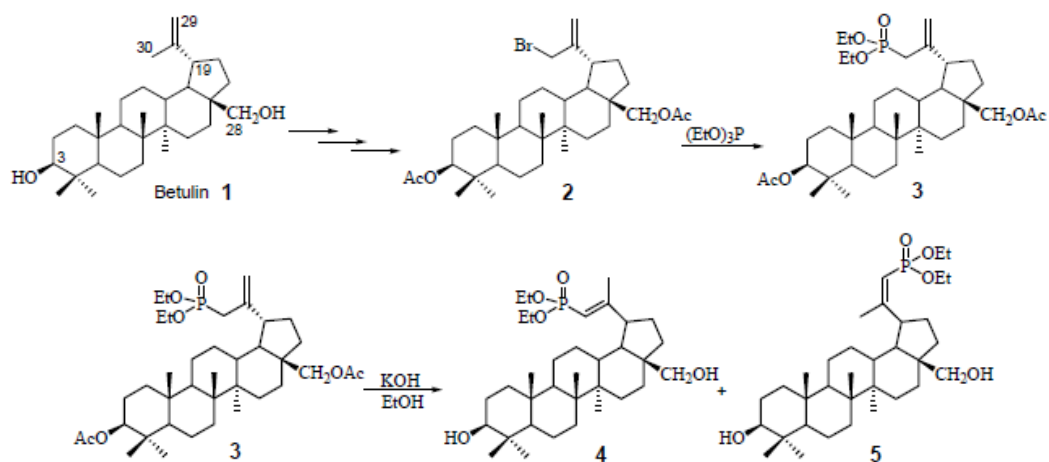


Рис. 8. Схема получения ацетиленовых фосфонатов бетулина [53]

Фосфаты ЛВ в виде солей существенно улучшают их растворимость и, соответственно, биодоступность в организме человека. Так, дексаметазона фосфата натриевая соль, в отличие от исходного стероида, хорошо растворима в воде. Однако в ряде случаев излишняя растворимость дексаметазона фосфата натриевой соли вредна, и это следует учитывать при разработке новых ЛС [104].

К важным преимуществам фосфатсодержащих молекул следует отнести их высокую способность связываться с аминами, аминокислотами, amino- и NH-группами белков, что, по выражению Коттона, является неотъемлемым свойством живых систем. Природа взаимодействия фосфатов с упомянутыми азотосодержащими фрагментами разнообразна и включает в себя как образование ковалентных и водородных связей, солеобразование, так и комплексообразование, обусловленное неспецифическим нековалентным связыванием.

Синтез фосфатных пролекарств довольно прост, и присутствие фосфатных групп обычно значительно повышает растворимость в воде. Фосфорные пролекарства, как правило, показывают прекрасную или адекватную химическую стабильность и быструю биотрансформацию до истинного ЛВ фосфатазами, присутствующими в кишечнике или в печени. В отличие от сложных эфиров карбоновых кислот, сложные эфиры фосфорной кислоты, как правило, легко гидролизуются щелочными фосфатазами, и нет никаких опубликованных данных о проблемах с фармакокинетикой в организме человека.

Улучшение растворимости в воде фосфатных пролекарств позволяет использовать их для парентерального введения в виде водных растворов, что имеет преимущества по сравнению с неинъекционными методами введения или по сравнению с масляными инъекциями, имеющими много сложностей и ограничений: подогревание, только внутримышечное введение, а также боль в месте инъекции. Боль в месте инъекции обусловлена осаждением препарата, которое вызывает клеточный лизис и повреждение тканей. Среди фосфатных пролекарств с улучшенной биодоступностью можно упомянуть фосампренавир [91, 105], эстрамустин фосфат [106–108], преднизолон фосфат [91], флудабрин фосфат [109] для энтерального введения и фосфлуконазол [110], фосфенитоин [111, 112] и фосфат пропофола [113] – для парентерального.

Удобной методикой получения фосфатов тритерпеноидов является фосфорилирование фосфорной кислотой, оксихлоридом фосфора, пятихлористым фосфором, пирооксихлоридом фосфора, ангидридом фосфорной кислоты, аналогично синтезу фосфатных производных стероидов.

Методики получения натриевой соли фосфата преднизолон основаны на фосфорилировании основания стероида в пиридине при низких температурах пирофосфохлоридом. Обычно стараются получать фосфат стероидных гормонов в виде их натриевых солей (рис. 9) [114].

Альтернативным вариантом получения фосфатов стероидов является фосфорилирование их йодосодержащего производного по С-21 (рис. 10) [115].

П.А. Красутским и др. описаны способы получения фосфата бетулина из дифосфодихлорида бетулина гидролизом водой с последующим переводом в натриевые соли [116]. В более ранней работе этой исследовательской группы был описан способ получения фосфата бетулина обработкой бетулина хлорокисью фосфора в неводной среде при -60 °С в течение 1.5 ч с последующим выдерживанием реакционной смеси при 5–8 °С в течение 10 ч и выделением продукта [117]. К сожалению, в литературе, как и в вышеупомянутых работах, практически отсутствуют данные по синтезу и свойствам как дифосфодихлорида бетулина, так и фосфатов бетулина.

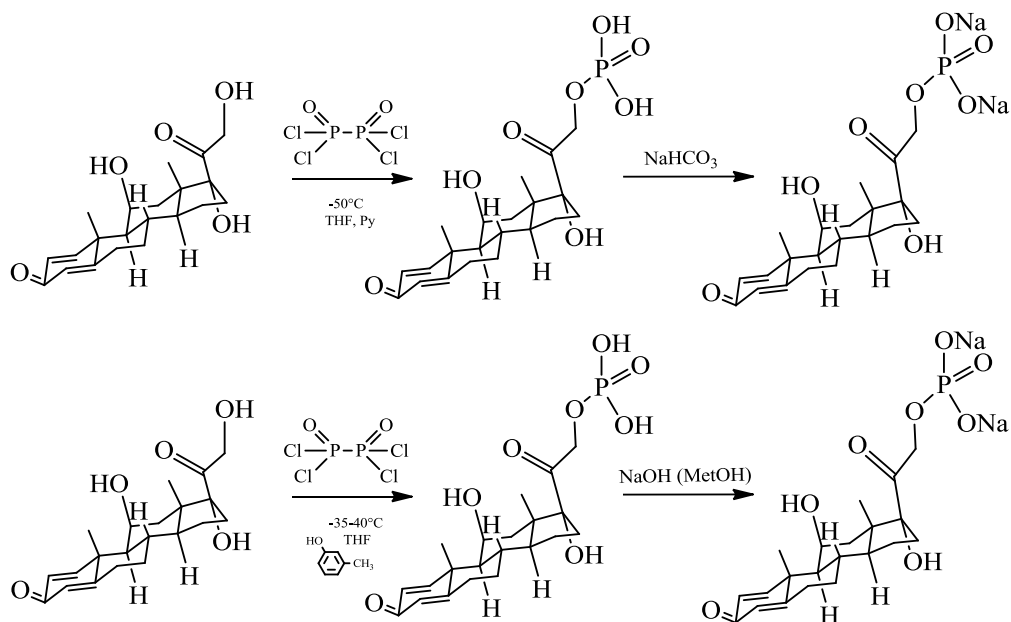


Рис. 9. Методики получения натриевой соли фосфата преднизолонa [114]

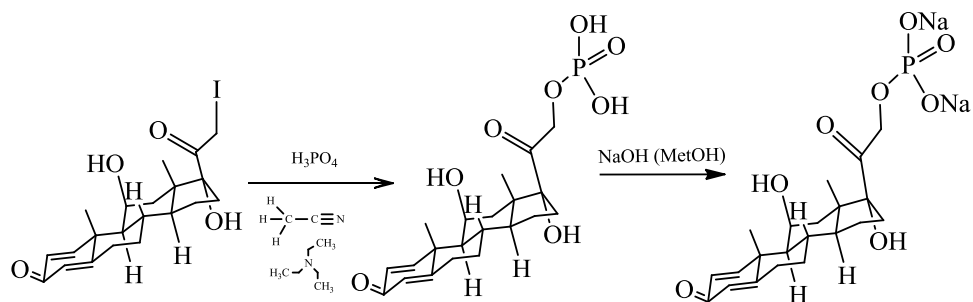


Рис. 10. Методики получения натриевой соли фосфата преднизолонa через йодпроизводное

Более трудоемкий и опасный способ получения фосфатов бетулина описан в патенте А.П. Каплуна и др. [118], в соответствии с которым бетулин обрабатывают хлорокисью фосфора и трихлоридом фосфора при 90–95 °С в течение 24 ч в атмосфере аргона с последующей сложной модификацией. В патенте приведены данные ¹H-ЯМР спектра дифосфата бетулина: (CDCl₃-CD₃OD, 1:1, δ, мд): 0.68–1.99 (42H, 6CH₃, (CH₂)_n, м.), 3.61 (1H=CHOP, т.), 3.90 (2H, CH₂OP, д.д.), 4.55, 4.70 (2H, CH₂=C, 2с.), которые недостаточны для идентификации этого соединения.

Можно отметить, что фосфатсодержащие производные ЛВ позволяют решить несколько важных задач: они улучшают растворимость, биодоступность, обеспечивают пролонгированное действие, расширяют спектр действия, облегчают болевые ощущения при введении, вследствие чего являются весьма перспективными для приготовления более эффективных лекарственных форм.

В целом, анализ исследований биологической активности бетулина и бетулиновой кислоты, а также их производных показал перспективность использования этих соединений в медицине и актуальность разработки новых производных и лекарственных форм, обеспечивающих их необходимую биодоступность.

Список литературы

1. Fulda S. Betulinic Acid for cancer treatment and prevention // *Int. J. Mol. Sci.* 2008. N9. Pp. 1096–1107. DOI: 10.3390/ijms9061096.
2. Zhang D.-M., Xu H.-G., Wang L., Li Y.-J., Sun P.-H., Wu X.-M., Wang G.-J., Chen W.-M., Ye W.-C. Betulinic Acid and its Derivatives as Potential Antitumor Agents // *Medicinal Research Reviews*. 2015. Vol. 35. N6. P. 1127. DOI: 10.1002/med.21353.
3. Chudzik M., Korzonek-Szlacheta I., Król W. Triterpenes as Potentially Cytotoxic Compounds // *Molecules*. 2015. N20. Article 1610. DOI: 10.3390/molecules20011610.
4. Damle A.A., Pawar Y.P., Narkar A.A. Anticancer activity of betulinic acid on MCF-7 tumors in nude mice // *Indian Journal of Experimental Biology*. 2013. N51. P. 485.

5. Spivak A., Khalitova R., Nedopekina D., Dzhemileva L., Yunusbaeva M., Odinokov V., D'yakonov V., Dzhemilev U. Synthesis and Evaluation of Anticancer Activities of Novel C-28 Guanidine-Functionalized Triterpene Acid Derivatives // *Molecules*. 2018. N23. Article 3000. DOI: 10.3390/molecules23113000.
6. Wozniak L., Skańska S., Marszałek K. Ursolic Acid – A Pentacyclic Triterpenoid with a Wide Spectrum of Pharmacological Activities // *Molecules*. 2015. N20. Article 20614. DOI: 10.3390/molecules201119721.
7. Kahnt M., Fischer L., Al-Harrasi A., Csuk R. Ethylenediamine Derived Carboxamides of Betulinic and Ursolic Acid as Potential Cytotoxic Agents // *Molecules*. 2018. N23. Article 2558. DOI: 10.3390/molecules23102558.
8. Drąg-Zalesińska M., Drąg M., Poreba M., Borska S., Kulbacka J., Saczko J. Anticancer properties of ester derivatives of betulin in human metastatic melanoma cells (Me-45) // *Cancer Cell International*. 2017. N17. Article 4. DOI: 10.1186/s12935-016-0369-3.
9. Sidova V., Zoufaly P., Pokorny J., Dzubak P., Hajduch M., Popa I., Urba M. Cytotoxic conjugates of betulinic acid and substituted triazoles prepared by Huisgen Cycloaddition from 30-azidoderivatives // *PLoS ONE*. 2017. N3. e0171621. DOI: 10.1371/journal.pone.0171621.
10. Król S.K., Kielbus M., Rivero-Müller A., Stepulak A. Comprehensive Review on Betulin as a Potent Anticancer Agent // *BioMed Research International*. 2015. N11. Article 584189. DOI: 10.1155/2015/584189.
11. Hordyjewska A., Ostapiuk A., Horecka A. Betulin and betulinic acid in cancer research // *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*. 2018. Vol. 2. N12. Pp. 72–75. DOI: 10.26444/jpcr/92743.
12. Boryczka S., Bębenek E., Wietrzyk J., Kempieńska K., Jastrzębska M., Kusz J., Nowak M. Synthesis, Structure and Cytotoxic Activity of New Acetylenic Derivatives of Betulin // *Molecules*. 2013. N18. Article 4526. DOI: 10.3390/molecules18044526.
13. Selim Y.A., Litinas K.E. Cytotoxic and antimicrobial activities of two new triterpenoids from the peels of local Egyptian *Malus domestica* L. // *Journal of the Chilean Chemical Society*. 2015. Vol. 60. N2. Pp. 2896–2899. DOI: 10.4067/S0717-97072015000200007.
14. Zehra B., Ahmed A., Sarwar R., Khan A., Farooq U., Ali S.A., Al-Harrasi A. Apoptotic and antimetastatic activities of betulin isolated from *Quercus incana* against non-small cell lung cancer cells // *Cancer Management and Research*. 2019. N11. Pp. 1667–1683. DOI: 10.2147/CMAR.S186956.
15. An-Qi Z., Yan Y., Yu-Qin Y., Fang-Fang Y., Mengya L., Lin-Jiang S., Ya-Li L., Yang Y., Yu-Jue L., Yuan-Le D., Shu-Ping Y., Chen-Juan Z., Ping L., Yong-Mei X., Jin-Liang Y., Yi-Wen Z., Ting-Hong Y., Yu-Quan W. Betulinic acid impairs metastasis and reduces immunosuppressive cells in breast cancer models // *Oncotarget*. 2018. Vol. 9. N3. Pp. 3794–3804. DOI: 10.18632/oncotarget.23376.
16. Cai Y., Zheng Y., Gu J., Wang S., Wang N., Yang B., Zhang F., Wang D., Fu W., Wang Z. Betulinic acid chemosensitizes breast cancer by triggering ER stress-mediated apoptosis by directly targeting GRP78 // *Cell Death and Disease*. 2018. N9. Article 636. DOI: 10.1038/s41419-018-0669-8.
17. Şoica C., Dehelean C., Danciu C., Wang H., Wenz G., Ambrus R., Bojin F., Anghel M. Betulin Complex in γ -Cyclodextrin Derivatives: Properties and Antineoplastic Activities in In Vitro and In Vivo Tumor Models // *International Journal of Molecular Sciences*. 2012. Vol. 12. N13. Pp. 14992–15011. DOI: 10.3390/ijms131114992.
18. Drag-Zalesinska M., Kulbacka J., Saczko J., Wysocka T., Zabel M., Surowiak P., Drag M. Esters of betulin and betulinic acid with amino acids have improved water solubility and are selectively cytotoxic toward cancer cells // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2009. Vol. 16. N19. Pp. 4814–4817. DOI: 10.1016/j.bmcl.2009.06.046.
19. Thibeault D., Gauthier C., Legault J., Bouchard J., Gagné L., Pichette A. Synthesis and cytotoxicity of lupane-type triterpenoid glyceryl esters // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2012. Vol. 14. N22. Pp. 4735–4739. DOI: 10.1016/j.bmcl.2012.05.073.
20. Falamaş A., Pinzaru S.C., Chiş V., Dehelean C. Spectroscopic investigations of newly formed betulin-cyclodextrin guest–host type complexes as potential anti skin cancer candidates // *Journal of Molecular Structure*. 2011. Pp. 297–301. DOI: 10.1016/j.molstruc.2010.11.044.
21. Lomkova E.A., Chytil P., Janoušková O., Mueller T., Lucas H., Filippov S.K., Trhliková O., Aleshunin P.A., Skorik Y.A., Ulbrich K., Etrych T. Biodegradable Micellar HPMA-Based Polymer–Drug Conjugates with Betulinic Acid for Passive Tumor Targeting // *Biomacromolecules*. 2016. Vol. 11. N17. Pp. 3493–3507. DOI: 10.1021/acs-biomac.6b00947.
22. Mullauer F.B., van Bloois L., Daalhuisen J.B., Ten Brink M.S., Storm G., Medema J.P., Schiffelers R.M., Kessler J.H. Betulinic acid delivered in liposomes reduces growth of human lung and colon cancers in mice without causing systemic toxicity // *Anticancer Drugs*. 2011. Vol. 3. N22. P. 223. DOI: 10.1097/CAD.0b013e3283421035.
23. Saeed M.E.M., Mahmoud N., Sugimoto Y., Efferth T., Abdel-Aziz H. Betulinic Acid Exerts Cytotoxic Activity Against Multidrug-Resistant Tumor Cells via Targeting Autocrine Motility Factor Receptor (AMFR) // *Frontiers in Pharmacology*. 2018. N9. P. 481. DOI: 10.3389/fphar.2018.00481.
24. Liebscher G., Vanchangiri K., Mueller T., Feige K., Cavalleri J.M., Paschke R. In vitro anticancer activity of Betulinic acid and derivatives thereof on equine melanoma cell lines from grey horses and in vivo safety assessment of the compound NVX-207 in two horses // *Chemico-Biological Interactions*. 2016. N20. P. 246. DOI: 10.1016/j.cbi.2016.01.002.
25. Abyshev A.Z., Abyshev R.A., Nguyen V.H., Morozova V.A. Betulenol derivatives as potential anti-HIV agents // *Medical Academic Journal*. 2013. Vol. 2. N13. P. 15. DOI: 10.17816/MAJ13215-32.

26. Periasamy G., Teketelew G., Gebrelibanos M., Sintayehu B., Gebrehiwot M., Karim A., Geremedhin G. Betulinic acid and its derivatives as anti-cancer agent: A review // *Archives of Applied Science Research*. 2014. Vol. 6. N3. P. 47.
27. Chrobak E., Bebenek E., Kadela-Tomanek M., Latocha M., Jelsch Ch., Wenger E., Boryczka S. Betulin phosphonates; Synthesis, structure, and cytotoxic activity // *Molecules*. 2016. N21. Article 1123. DOI: 10.3390/molecules21091123.
28. Zhao J., Li R., Pawlak A., Henklewska M., Sysak A., Wen L., Yi J.-E., Obmińska-Mrukowicz B. Antitumor Activity of Betulinic Acid and Betulin in Canine Cancer Cell Lines // *In vivo*. 2018. N32. P. 1081. DOI: 10.21873/invivo.11349.
29. Pradere U., Garnier-Amblard E.C., Coats S.J., Amblard F., Schinazi R.F. Synthesis of nucleoside phosphate and phosphonate prodrugs // *Chemical Reviews*. 2014. N114. P. 9154. DOI: 10.1021/cr5002035.
30. Feng J.-h., Duan X.-z., Pan J.-y., Li W.-m., Zhang X.-d., Zhang Y.-s. Involvement of protein kinase C δ activation in betulin-induced apoptosis of neuroblastoma // *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2017. Vol. 16. N9. P. 2097. DOI: 10.4314/tjpr.v16i9.8.
31. Lee S.Y., Kim H.H., Park S.U. Recent studies on betulinic acid and its biological and pharmacological activity // *Experimental and Clinical Sciences*. 2015. N14. P. 199. DOI: 10.17179/excli2015-150.
32. Wang Y.-J., Liu J.-B., Dou Y.-C. Sequential treatment with betulinic acid followed by 5-fluorouracil shows synergistic cytotoxic activity in ovarian cancer cells // *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 2015. Vol. 8. N1. P. 252.
33. Boparai A., Niazi J., Bajwa N., et al. Betulin a pentacyclic triterpenoid: an hour to rethink the compound // *Journal of Translational Medicine*. 2017. Vol. 1. N2. P. 53. DOI: 10.15406/oajtmr.2017.01.00012.
34. Yi J., Xia W., Wu J., Yuan L., Wu J., Tu D., Fang J., Tan Zh. Betulinic acid prevents alcohol-induced liver damage by improving the antioxidant system in mice // *Journal of Veterinary Science*. 2014. Vol. 1. N15. P. 141. DOI: 10.4142/jvs.2014.15.1.141.
35. Xu T., Pang Q., Wang Y., Yan X. Betulinic acid induces apoptosis by regulating PI3K/Akt signaling and mitochondrial pathways in human cervical cancer cells // *International journal of molecular medicine*. 2017. N40. P. 1669. DOI: 10.3892/ijmm.2017.3163.
36. Cháirez-Ramírez M.H., Moreno-Jiménez M.R., González-Laredo R.F., Gallegos-Infante J.A., Rocha-Guzmán N.E. Lupane-type triterpenes and their anti-cancer activities against most common malignant tumors: a review // *Experimental and Clinical Sciences*. 2016. N15. P. 758. DOI: 10.17179/excli2016-642.
37. Zhan X.K., Li J.L., Zhang S., Xing P.Y., Xia M.F. Betulinic acid exerts potent antitumor effects on paclitaxel-resistant human lung carcinoma cells (H460) via G2/M phase cell cycle arrest and induction of mitochondrial apoptosis // *Oncology letters*. 2018. N16. Pp. 3628–3634. DOI: 10.3892/ol.2018.9097.
38. Zhou Z., Zhu C., Cai Z., Zhao F., He L., Lou X., Qi X. Betulin induces cytochrome c release and apoptosis in colon cancer cells via NOXA // *Oncology letters*. 2018. N15. P. 7319. DOI: 10.3892/ol.2018.8183.
39. Alqahtani A., Hamid K., Kam A., Wong K.H., Abdelhak Z., Razmovski-Naumovski V., Chan K., Li K.M., Groundwater P.W., Li G.Q. The Pentacyclic Triterpenoids in Herbal Medicines and Their Pharmacological Activities in Diabetes and Diabetic Complications // *Current Medicinal Chemistry*. 2013. N20. P. 908. DOI: 10.2174/0929867311320070007.
40. So H.M., Eom H.J., Lee D., Kim S., Kang K.S., Lee I.K., Baek K.H., Park J.Y., Kim K.H. Bioactivity evaluations of betulin identified from the bark of *Betula platyphylla* var. *japonica* for cancer therapy // *Archives of Pharmacol Research*. 2018. Vol. 8. N41. P. 815. DOI: 10.1007/s12272-018-1064-9.
41. Bebenek E., Jastrzebska M., Kadela-Tomanek M., Chrobak E., Orzechowska B., Zwolinska K., Latocha M., Mertas A., Czuba Z., Boryczk S. Novel Triazole Hybrids of Betulin: Synthesis and Biological Activity Profile // *Molecules*. 2017. N22. Article 1876. DOI: 10.3390/molecules22111876.
42. Härmä V., Haavikko R., Virtanen J., Ahonen I., Schukov H.-P., Alakurtti S., et al. Optimization of Invasion-Specific Effects of Betulin Derivatives on Prostate Cancer Cells through Lead Development // *PLoS ONE*. 2015. Vol. 5. N10. e0126111. DOI: 10.1371/journal.pone.0126111.
43. Yu H., Zhang H., Chu Z., Ruan Q., Chen X., Kong D., Huang X., Li H., Tang H., Wu H., Wang Y., Xie W., Ding Y., Yao P. Combination of betulinic acid and chidamide synergistically inhibits Epstein-Barr virus replication through over-generation of reactive oxygen species // *Oncotarget*. 2017. Vol. 8. N37. Pp. 61646–61661. DOI: 10.18632/oncotarget.18661.
44. Haque S., Nawrot D.A., Alakurtti S., Ghemtio L., Yli-Kauhaluoma J. et al. Screening and Characterisation of Antimicrobial Properties of Semisynthetic Betulin Derivatives // *PLoS ONE*. 2014. Vol. 7. N9. e0102696. DOI: 10.1371/journal.pone.0102696.
45. Shi W., Tang N., Yan W. Research and Development in Betulin and Betulinic Acid Derived Triterpenoids // *Mini-Reviews in Organic Chemistry*. 2014. N11. Pp. 343–354. DOI: 10.2174/1570193X1103140915112124.
46. Bellampallia S.S., Jia Y., Moutala A., Caia S., Wijeratne E.M.K., Gandinid M.A., Yua J., Chefdevillea A., Doramea A., Chewa L.A., Maduraa C.L., Luoa S., Molnara G., Khannaa M., Streichera J.M., Zamponid G.W., Gunatilakac A.L., Khanna R. Betulinic acid, derived from the desert lavender *Hyptis emoryi*, attenuates paclitaxel-, HIV-, and nerve injury-associated peripheral sensory neuropathy via block of N- and T-type calcium channels S. // *Pain*. 2019. N160. Pp. 117–135. DOI: 10.1097/j.pain.0000000000001385.
47. Khwaza V., Oyedeji O.O., Aderibigbe B.A. Antiviral Activities of Oleanolic Acid and Its Analogues // *Molecules*. 2018. N23. Article 2300. DOI: 10.3390/molecules23092300.
48. Huang Q.-x., Chen H.-f., Luo X.-r., Zhang Y.-x., Yao X., Zheng X. Structure and Anti-HIV Activity of Betulinic Acid Analogues // *Current Medical Science*. 2018. Vol. 3. N38. P. 387. DOI: 10.1007/s11596-018-1891-4.

49. Visalli R.J., Ziobrowski H., Badri K.R., He J.J., Zhang X., Arumugam S.R., Zhao H. Ionic Derivatives of Betulinic Acid Exhibit Strong Antiviral Activity Against Herpes Simplex Virus Type-2 (HSV-2), But Not HIV-1 Reverse Transcriptase // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2015. Vol. 16. N25. P. 3168. DOI: 10.1016/j.bmcl.2015.05.099.
50. Paduch R., Kandefer-Szerszeń M. Antitumor and Antiviral Activity of Pentacyclic Triterpenes // *Mini-Reviews in Organic Chemistry*. 2014. N11. P. 262. DOI: 10.2174/1570193X1103140915105240.
51. Moghaddam M.G., Ahmad F.B.H., Samzadeh-Kermani A. Biological Activity of Betulinic Acid: A Review // *Pharmacology & Pharmacy*. 2012. N3. P. 119. DOI: 10.4236/pp.2012.32018.
52. Dang Z., Ho P., Zhu L., Qian K., Lee K.-H., Huang L., Chen C.-H. New Betulinic Acid Derivatives for Bevirimat-Resistant Human Immunodeficiency Virus Type-1 // *Journal of Medicinal Chemistry*. 2013. Vol. 5. N56. P. 2029. DOI: 10.1021/jm3016969.
53. Csuk R. Betulinic acid and its derivatives: a patent review (2008-2013) // *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 2014. Vol. 8. N8. P. 913. DOI: 10.1517/13543776.2014.927441.
54. Yadav V.A.K. In vitro anthelmintic assessment of selected phytochemicals against *Hymenolepis diminuta*, a zoonotic tapeworm // *Journal of parasitic diseases*. 2016. Vol. 3. N40. P. 1082. DOI: 10.1007/s12639-014-0560-1.
55. Oyebanji B.O., Saba A.B., Oridupa O.A. Studies on the anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of betulinic acid derived from *Tetracera potatoria* // *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines*. 2014. Vol. 1. N11. P. 30.
56. Haque S., Nawrot D.A., Alakurtti S., Ghemtio L., Yli-Kauhaluoma J. et al. Screening and Characterisation of Antimicrobial Properties of Semisynthetic Betulin Derivatives // *PLoS ONE*. 2014. Vol. 7. N9. e0102696. DOI: 10.1371/journal.pone.0102696.
57. Zou L.-W., Dou T.-Y., Wang P., Lei W., Weng Z.-M., Hou J., Wang D.-D., Fan Y.-M., Zhang W.-D., Ge G.-B., Yang L. Structure-Activity Relationships of Pentacyclic Triterpenoids as Potent and Selective Inhibitors against Human Carboxylesterase 1 // *Frontiers in Pharmacology*. 2017. N8. P. 435. DOI: 10.3389/fphar.2017.00435.
58. Meng Q., Zhou X., Liu L., Fu S. Research Progress in the Promising Natural Product-Betulin // *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*. 2018. Vol. 2. N8. Pp. 1–6. DOI: 10.26717/BJSTR.2018.08.001619.
59. Sousa J.L.C., Freire C.S.R., Silvestre A.J.D., Silva A.M.S. Recent Developments in the Functionalization of Betulinic Acid and Its Natural Analogues: A Route to New Bioactive Compounds // *Molecules*. 2019. N24. Article 355. DOI: 10.3390/molecules24020355.
60. Schwiebs A., Radeke H.H. Immunopharmacological Activity of Betulin in Inflammation-associated Carcinogenesis // *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*. 2018. N18. Pp. 645–651. DOI: 10.2174/1871520617666171012124820.
61. Osunsanmi F.O., Zharare G.E., Mosa R.A., Ikhile M.I., Shode F.O., Opoku A.R. Anti-oxidant, anti-inflammatory and antiacetylcholinesterase activity of betulinic acid and 3 β -acetoxybetulinic acid from *Melaleuca bracteata* 'Revolution Gold' // *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2019. Vol. 2. N18. Pp. 303–309. DOI: 10.4314/tjpr.v18i2.12.
62. Ríos J.L., Máñez S. New Pharmacological Opportunities for Betulinic Acid // *Planta Med*. 2018. N84. Pp. 8–19. DOI: 10.1055/s-0043-123472.
63. Huang T., Chen C., Li D., Ek M. Hydrophobic and antibacterial textile fibres prepared by covalently attaching betulin to cellulose // *Cellulose*. 2019. N26. Pp. 665–677. DOI: 10.1007/s10570-019-02265-8.
64. Laavola M., Haavikko R., Hämäläinen M., Leppänen T., Nieminen R., Alakurtti S., Moreira V.M., Yli-Kauhaluoma J., Moilanen E. Betulin Derivatives Effectively Suppress Inflammation in Vitro and in Vivo // *J Nat Prod*. 2016. Vol. 2. N79. Pp. 274–280. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.5b00709.
65. Wang J., Zhao Q. Betulinic acid inhibits cell proliferation, migration, and inflammatory response in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes // *J Cell Biochem*. 2018. Pp. 1–8. DOI: 10.1002/jcb.27523.
66. Kim K.-S., Lee D.-S., Kim D.-Ch., Yoon Ch.-S., Ko W., Oh H., Kim Y.-Ch. Anti-Inflammatory Effects and Mechanisms of Action of Coussaric and Betulinic Acids Isolated from *Diospyros kaki* in Lipopolysaccharide-Stimulated RAW 264.7 Macrophages // *Molecules*. 2016. N21. Article 1206. DOI: 10.3390/molecules21091206.
67. Li Y., Liu X., Jiang D., Lin Y., Wang Y., Li Q., Liu L., Hua Y. Betulin induces reactive oxygen species-dependent apoptosis in human gastric cancer SGC7901 cells Jin // *Archives of Pharmacal Research*. 2016. N39. P. 1257. DOI: 10.1007/s12272-016-0761-5.
68. Oloyede H.O.B., Ajiboye H.O., Salawu M.O., Ajiboye T.O. Influence of oxidative stress on the antibacterial activity of betulin, betulinic acid and ursolic acid // *Microbial Pathogenesis*. 2017. N111. P. 338. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.08.012.
69. Kim K.-J., Lee Y., Hwang H.-G., Sung S.H., Lee M., Son Y.-J. Betulin Suppresses Osteoclast Formation via Down-Regulating NFATc1 // *Journal of Clinical Medicine*. 2018. Vol. 6. N7. DOI: 10.3390/jcm7060154.
70. Babalola I.T., Shode F.O., Adelakun E., Opoku A.R., Mosa R.A. Platelet-Aggregation Inhibitory Activity of Oleanolic Acid, Ursolic Acid, Betulinic Acid, and Maslinic Acid // *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2013. Vol. 1. N6. P. 54.
71. Habila A.J., Habila J.D., Shode F.O., Opoku A.R., Atawodi S.E., Umar I.A. Inhibitory effect of betulinic acid and 3 β -acetoxybetulinic acid on rat platelet aggregation // *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2013. Vol. 43. N7. P. 2881. DOI: 10.5897/AJPP2013.3851.
72. Osunsanmi F.O., Zaharare G.E., Oyinloye B.E., Mosa R.A., Ikhile M.I., Shode F.O., Ogunyinka I.B., Opoku A.R. Antithrombotic, anticoagulant and antiplatelet activity of betulinic acid and 3 β -acetoxybetulinic acid from *Melaleuca*

- bracteata 'Revolution Gold' (Myrtaceae) Muell leaf // *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2018. Vol. 10. N17. P. 1983. DOI: 10.4314/tjpr.v17i10.13.
73. Siddiqui S.A., Rahman A., Rahman M.O., Akbar M.A., Ali M.A., Al-Hemaid F.M.A., Elshikh M.S., Farah M.A. A novel triterpenoid 16-hydroxy betulinic acid isolated from *Mikania cordata* attributes multi-faced pharmacological activities // *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2019. Vol. 26. N3. Pp. 554–562. DOI: 10.1016/j.sjbs.2018.03.002.
74. Ekuadzi E., Biney R.P., Benneh C.K., Amankwaa B.O., Jato J. Antiinflammatory properties of betulinic acid and xylopic acid in the carrageenan-induced pleurisy model of lung inflammation in mice // *Phytotherapy Research*. 2018. Vol. 3. N32. P. 480. DOI: 10.1002/ptr.5993.
75. Innocente A.M., Silva G.N.S., Cruz L.N., Moraes M.S., Nakabashi M., Sonnet P., Gosmann G., Garcia C.R.S., Gnoatto S.C.B. Synthesis and Antiplasmodial Activity of Betulinic Acid and Ursolic Acid Analogues // *Molecules*. 2012. N17. Article 12003. DOI: 10.3390/molecules171012003.
76. Khan M.F., Nahar N., Rashid R.B., Chowdhury A., Rashid M.A. Computational investigations of physicochemical, pharmacokinetic, toxicological properties and molecular docking of betulinic acid, a constituent of *Corypha taliera* (Roxb.) with Phospholipase A2 (PLA2) // *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2018. Vol. 48. N18. DOI: 10.1186/s12906-018-2116-x.
77. Babalola I.T., Shode F.O., Adelakun E., Opoku A.R., Mosa R.A. Platelet-Aggregation Inhibitory Activity of Oleanolic Acid, Ursolic Acid, Betulinic Acid, and Maslinic Acid // *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2013. Vol. 1. N6. P. 54.
78. Habila A.J., Habila J.D., Shode F.O., Opoku A.R., Atawodi S.E., Umar I.A. Inhibitory effect of betulinic acid and 3 β -acetoxybetulinic acid on rat platelet aggregation // *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2013. Vol. 43. N7. P. 2881. DOI: 10.5897/AJPP2013.3851.
79. Osunsami F.O., Zaharare G.E., Oyinloye B.E., Mosa R.A., Ikhile M.I., Shode F.O., Ogunyinka I.B., Opoku A.R. Antithrombotic, anticoagulant and antiplatelet activity of betulinic acid and 3 β -acetoxybetulinic acid from *Melaleuca bracteata* 'Revolution Gold' (Myrtaceae) Muell leaf // *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2018. Vol. 10. N17. P. 1983. DOI: 10.4314/tjpr.v17i10.13.
80. Schwieger-Briel A., Kiritsi D., Schempp C., Has C., Schumann H. Betulin-Based Oleogel to Improve Wound Healing in Dystrophic Epidermolysis Bullosa: A Prospective Controlled Proof-of-Concept Study // *Dermatology Research and Practice*. 2017. Vol. 2017. Article 506896. DOI: 10.1155/2017/5068969.
81. Halder A., Shukla D., Das S., Roy P., Mukherjee A., Saha B. Lactoferrin-modified Betulinic Acid-loaded PLGA nanoparticles are strong anti-leishmanials // *Cytokine*. 2018. Vol. 110. Pp. 412–415.
82. Son L.B., Kaplun A.P., Shpilevskii A.A., Andiya-Pravdiviy Y.E., Alekseeva S.G., Gribor'ev V.B., Shvets V.I. The synthesis of betulinic acid from betulin and its solubilization with liposomes // *Russ Rev Bioorg Chem*. 1998. Vol. 10. N24. Pp. 700–705.
83. Filippov S.K., Vishnevetskaya N.S., Niebuur B.-J., Koziolová E., Lomkova E.A., Chytil P., Etrych T., Papadakis C.M. Influence of molar mass, dispersity, and type and location of hydrophobic side chain moieties on the critical micellar concentration and stability of amphiphilic HPMA-based polymer drug carriers // *Colloid and Polymer Science*. 2017. Vol. 295. N8. P. 1313. DOI: 10.1007/s00396-017-4027-7.
84. Malyar Y.N., Kuznetsova S.A., Shakhshneider T.P., Mikhailenko M.A. Obtaining of Betulin Diacetate and Betulin Dipropionate Composites with Aerosil // *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*. 2015. N2. P. 277. DOI: 10.17516/1998-2836-2015-8-2-277-286.
85. Popova O.V., Sursyakova V.V., Burmakina G.V., Levdansky V.A., Rubaylo A.I. Determination of stability constants of inclusion complexes of betulin derivatives with β -cyclodextrin by capillary electrophoresis // *Doklady Chemistry*. 2015. Vol. 1. N461. P. 67. DOI: 10.1134/S0012500815030039.
86. Wang H.M., Soica C., Wenz G. A Comparison Investigation on the Solubilization of Betulin and Betulinic Acid in Cyclodextrin Derivatives // *Natural product communications*. 2012. Vol. 3. N7. P. 289.
87. Dehelean C.A., Soica C., Peev C., Ciurlea S., Feflea S., Kasa P. A pharmacotoxicological evaluation of betulinic acid mixed with hydroxypropylgamma cyclodextrin on in vitro and in vivo models // *Farmacia*. 2009. Vol. 1. N59. P. 51.
88. Михайленко М.А., Шахтшнейдер Т.П., Дребушак В.А., Кузнецова С.А., Скворцова Г.П., Болдырев В.В. Влияние механической обработки на свойства бегулина, диацетата бегулина и их смеси с водорастворимыми полимерами // *Химия природных соединений*. 2011. №2. С. 211.
89. Dai L., Li D., Cheng J., Liu J., Deng L.-H., Wang L.-Y., Lei J.-D., He J. Water soluble multiarm-polyethylene glycol-betulinic acid prodrugs: design, synthesis, and in vivo effectiveness // *Polymer Chemistry*. 2014. N5. P. 5775. DOI: 10.1039/C4PY00648H.
90. Горбунова М.Н., Крайнова Г.Ф. Тритерпенсодержащие полимерные конструкции: синтез и биологическая активность // *Вестник пермского научного центра УРО РАН*. 2014. №2. С. 44.
91. Zawilska J.B., Wojcieszak J., Olejniczak A.B. Prodrugs: A challenge for the drug development // *Pharmacological Reports*. 2013. Vol. 65. N1. Pp. 1–14.
92. Jonnalagadda S.C., Suman P., Morgan D.C., Seay J.N. Chapter 2 - Recent Developments on the Synthesis and Applications of Betulin and Betulinic Acid Derivatives as Therapeutic Agents Studies // *In Natural Products Chemistry*. 2017. Vol. 53. N45. DOI: 10.1016/B978-0-444-63930-1.00002-8.
93. Толстикова Г.А., Флехтер О.Б., Шульц Э.Э., Балтина Л.А., Толстикова А.Г. Бегулин и его производные. Химия и биологическая активность // *Химия в интересах устойчивого развития*. 2005. №1. С. 1–30.

94. Кузнецова С.А., Скворцов Г.П., Маляр Ю.Н., Скурыдина Е.С., Веселова О.Ф. Выделение бетулина из бересты березы и изучение его физико-химических и фармакологических свойств // *Химия растительного сырья*. 2013. №2. С. 93–100. DOI: 10.14258/jcprm.1302093.
95. Флехтер О.Б., Карачурина Л.Т., Нигматуллина Л.Р. Синтез и гепатопротекторная активность 2-арилиденовых производных метилбетулоната // *Химико-фармацевтический журнал*. 2000. Т. 34. №2. С. 3–5.
96. Флехтер О.Б., Нигматуллина Л.Р., Балтина Л.А. Получение бетулиновой кислоты из экстракта бетулина: противовирусная и противоязвенная активность некоторых родственных терпеноидов // *Химико-фармацевтический журнал*. 2002. Т. 36. №9. С. 26–28.
97. Шахтшнейдер Т.П., Кузнецова С.А., Михайленко М.А., Маляр Ю.Н., Болдырев В.В. Получение нетоксичных композитов бетулина с поливинилпирролидоном и полиэтиленгликолем // *Журнал Сибирского федерального университета. Химия*. 2012. Т. 1. №5. С. 52–60.
98. Tubek V., Smuga D., Smuga M., Wawrzęczyk C. Synthesis of 28-O-(1,2-Diacetyl-SN-glycero-3-phospho)-betulin // *Synthetic Communications*. 2012. N42. P. 3648. DOI: 10.1080/00397911.2011.588817.
99. Tubek V., Miłuta P., Niezgoda N., Kempńska K., Wietrzyk J., Wawrzęczyk C. Synthesis and Cytotoxic Activity of New Betulin and Betulinic Acid Esters with Conjugated Linoleic Acid (CLA) // *April Natural product communications*. 2013. Vol. 4. N8. P. 435. DOI: 10.1055/s-0031-1282284.
100. Dai L., Cao X., Liu K.-F., Li C.-X., Zhang G.-F., Deng L.-H., Si C.-L., He J., Lei J.-D. Self-assembled targeted folate-conjugated eight-arm-polyethylene glycol–betulinic acid nanoparticles for co-delivery of anticancer drugs // *Journal of Materials Chemistry B*. 2015. Vol. 18. N3. Pp. 3754–3766. DOI: 10.1039/c5tb00042d.
101. Левданский В.А., Левданский А.В., Кузнецов Б.Н. Сульфатирование бетулина хлорсульфоново́й кислотой в диоксане и диметилформамиде // *Химия растительного сырья*. 2013. №1. С. 107. DOI.org/10.14258/jcprm.1301107.
102. Левданский В.А., Левданский А.В., Кузнецов Б.Н. Синтез 3-сульфата бетулиновой кислоты сульфатированием в среде диоксана и диметилформамида // *Химия растительного сырья*. 2012. №4. С. 79.
103. Bureeva S., Andia-Pravdivy J., Symon A., Bichucher A., Moskaleva V., Popenko V., Shpak A., Shvets V., Kozlov L., Kaplun A. Selective inhibition of the interaction of C1q with immunoglobulins and the classical pathway of the complement activation by steroids and triterpenoids sulfates // *J. Bioorganic and medicinal chemistry*. 2007. Vol. 15. N10. Pp. 3489–3498. DOI: 10.1016/j.bmc.2007.03.002.
104. Salt A.N., Hartsock J.J., Piu F., Hou J. Dexamethasone and Dexamethasone Phosphate Entry into Perilymph Compared for Middle Ear Applications in Guinea Pigs // *Audiology and Neurotology*. 2018. N23. Pp. 245–257. DOI: 10.1159/000493846.
105. Subbaiah M.A.M., Meanwell N.A., Kadow J.F. Design strategies in the prodrugs of HIV-1 protease inhibitors to improve the pharmaceutical properties // *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2017. N139. P. 865. DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.07.044.
106. Fukui T., Nakamura K., Sakatani T., Atsuta T., Kato T., Fukumoto T., Ito M., Inoue K., Terai A. Low-Dose Estramustine Phosphate Monotherapy in Castration-Resistant Prostate Cancer Patients // *Hinyokika Kyo*. 2017. Vol. 2. N63. P. 57. DOI: 10.14989/ActaUrolJap_63_2_57.
107. Inoue T., Ogura K., Kawakita M., Tsukino H., Akamatsu S., Yamasaki T., Matsui Y., Segawa T., Sugino Y., Kamoto T., Kamba T., Tanaka S., Ogawa O. Effective and Safe Administration of Low-Dose Estramustine Phosphate for Castration-Resistant Prostate Cancer // *Clinical Genitourinary Cancer*. 2016. Vol. 14. N1. e9–e17. DOI: 10.1016/j.clgc.2015.08.008.
108. Aurilio G., Graffeo R., Bagnardi V., Nolè F., Adamoli L., Pagani O., Gallerani E., Ferrari B., Pruneri G., Goldhirsch A. Estramustine phosphate sodium in heavily pretreated patients with metastatic breast cancer: a retrospective consecutive case series // *International Journal of Clinical Oncology*. 2015. Vol. 1. N20. P. 90. DOI: 10.1007/s10147-014-0694-2.
109. Sorscher E.J., Hong J.S., Allan P.W., Waud W.R., Parker W.B. In vivo antitumor activity of intratumoral fludarabine phosphate in refractory tumors expressing E. coli purine nucleoside phosphorylase // *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. 2012. Vol. 2. N70. P. 321. DOI: 10.1007/s00280-012-1908-9.
110. Aoyama T., Hirata K., Hirata R., Yamazaki H., Yamamoto Y., Hayashi H., Matsumoto Y. Population pharmacokinetics of fluconazole after administration of fosfluconazole and fluconazole in critically ill patients // *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2012. Vol. 3. N37. P. 356. DOI: 10.1111/j.1365-2710.2011.01297.x.
111. Popławska M., Borowicz K.K., Czuczwar S.J. The safety and efficacy of fosphenytoin for the treatment of status epilepticus // *Expert Review of Neurotherapeutics*. 2015. Vol. 9. N15. P. 983. DOI: 10.1586/14737175.2015.1074523.
112. Inoue Y., Usui N., Hiroki T., Shimizu K., Kobayashi S., Shimasaki S. Bioavailability of intravenous fosphenytoin sodium in healthy Japanese volunteers // *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 2013. Vol. 2. N38. P. 139. DOI: 10.1007/s13318-012-0105-x.
113. Juluri A., Peddikotla P., Repka M.A., Murthy S.N. Transdermal iontophoretic delivery of propofol: a general anaesthetic in the form of its phosphate salt // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013. Vol. 2. N102. P. 500. DOI: 10.1002/jps.23373.
114. Patent 3966778 (US). Production of 21-phosphate corticoids having unprotected hydroxyl radicals at least at the 17 α - and 21-position / H. Masuya, T. Miki / 1974.
115. Patent 2936313 (US). Preparation of steroidal 21-phosphate derivatives / E.J. Phillipps, G. Hanley / 1958.
116. Patent 6689767B2 (US). Triterpenes having antibacterial activity / P.A. Krasutsky, R.M. Carlson, R. Karim / 2001.

117. Amjad M., Carlson R.M., Krasutsky P., Karim M.R.U. Inhibition of Epstein-Barr Virus by the triterpenoid betulin diphosphate and uvaol // *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2004. Vol. 5. N14. Pp. 1086–1088.
118. Патент № 2539297 (РФ). Способ получения производных 3,28-дисульфата бетулина / А.В. Левданский, Н.И. Полежаева, В.А. Левданский / 2015.

Поступила в редакцию 4 апреля 2019 г.

После переработки 16 апреля 2019 г.

Принята к публикации 19 апреля 2019 г.

Для цитирования: Воробьева О.А., Малыгина Д.С., Грубова Е.В., Мельникова Н.Б. Производные бетулина. биологическая активность и повышение растворимости // *Химия растительного сырья*. 2019. №4. С. 407–430. DOI: 10.14258/jcrpm.2019045419.

Vorobyeva O.A., Malygina D.S., Grubova E.V., Melnikova N.B. * BETULIN DERIVATIVES. BIOLOGICAL ACTIVITY AND SOLUBILITY IMPROVEMENT

Privolzhsky Research Medical University, pl. Minina i Pozharskogo, 10/1, Nizhny Novgorod, 603950 (Russia), e-mail: melnikovanb@gmail.com

In the review the biological properties (antitumor, antiviral, hypolipidemic, anti-inflammatory, etc.) and bioavailability of betulin and betulinic acid derivatives were discussed. These compounds are isolated from various natural sources, including birch bark (*Betula*, *Betulaceae*). The structure-activity correlation was considered for well-known betulinic acid derivatives. The perspective of these compounds as active pharmaceutical ingredients was demonstrated by *in vitro*, *in vivo*, and *ex vivo* experiments. The type of antitumor actions, generally, depends on substituents at the C-3 and C-28 carbon atoms of the lupane skeleton. It is very important that the carboxyl group of betulinic acid in the C-28 position was present. In this case, the cytotoxicity of C-3 modified derivatives is extremely high for all tested cell lines.

The use of these compounds in the medical practice is complicated because they have low bioavailability and poor water solubility (from 1 to 100 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$). The main chemical syntheses for solubility improvement of betulin derivatives by grafting of hydrophilic groups were discussed. Moreover, the colloid-chemical approaches for the bioavailability improving of triterpenoids include: 1) including of these compounds in liposomes, vesicles and other nanoparticles; 2) obtaining of micelles with high-molecular compounds; 3) colloid-chemical dissolution due to physico-mechanical action; 4) inclusion complexes formation; 5) using of polymers for triterpenoids grafting. Chemical modification of betulin and betulinic acid by polar groups, such as phosphate/phosphonate, sulfate, amino acids, etc. has been shown for bioavailability improving.

Keywords: betulin, betulin derivatives, biological activity, water solubility, bioavailability.

* Corresponding author.

References

1. Fulda S. *Int J Mol Sci.*, 2008, no. 9, pp. 1096–1107, DOI: 10.3390/ijms9061096.
2. Zhang D.-M., Xu H.-G., Wang L., Li Y.-J., Sun P.-H., Wu X.-M., Wang G.-J., Chen W.-M., Ye W.-C. *Medicinal Research Reviews*, 2015, vol. 35, no. 6, p. 1127, DOI: 10.1002/med.21353.
3. Chudzik M., Korzonek-Szlacheta I., Król W. *Molecules*, 2015, no. 20, article 1610, DOI: 10.3390/molecules20011610.
4. Damle A.A., Pawar Y.P., Narkar A.A. *Indian Journal of Experimental Biology*, 2013, no. 51, p. 485.
5. Spivak A., Khalitova R., Nedopekina D., Dzhemileva L., Yunusbaeva M., Odinokov V., D'yakonov V., Dzhemilev U. *Molecules*, 2018, no. 23, article 3000, DOI: 10.3390/molecules23113000.
6. Woz'niak Ł., Ska'pska S., Marszałek K. *Molecules*, 2015, no. 20, article 20614, DOI: 10.3390/molecules201119721.
7. Kahnt M., Fischer L., Al-Harrasi A., Csuk R. *Molecules*, 2018, no. 23, article 2558, DOI: 10.3390/molecules23102558.
8. Drąg-Zalesińska M., Drąg M., Poreba M., Borska S., Kulbacka J., Saczko J. *Cancer Cell International*, 2017, no. 17, article 4, DOI: 10.1186/s12935-016-0369-3.
9. Sidova V., Zoufaly P., Pokorny J., Dzubak P., Hajdich M., Popa I., Urba M. *PLoS ONE*, 2017, no. 3, e0171621, DOI: 10.1371/journal.pone.0171621.
10. Król S.K., Kielbus M., Rivero-Müller A., Stepulak A. *BioMed Research International*, 2015, no. 11, article 584189, DOI: 10.1155/2015/584189.
11. Hordyjewska A., Ostapiuk A., Horecka A. *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*, 2018, vol. 2, no. 12, pp. 72–75, DOI: 10.26444/jpcr/92743.
12. Boryczka S., Bębenek E., Wietrzyk J., Kempieńska K., Jastrzębska M., Kusz J., Nowak M. *Molecules*, 2013, no. 18, article 4526, DOI: 10.3390/molecules18044526.
13. Selim Y.A., Litinas K.E. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 2015, vol. 60, no. 2, pp. 2896–2899, DOI: 10.4067/S0717-97072015000200007.
14. Zehra B., Ahmed A., Sarwar R., Khan A., Farooq U., Ali S.A., Al-Harrasi A. *Cancer Management and Research*, 2019, no. 11, pp. 1667–1683, DOI: 10.2147/CMAR.S186956.
15. An-Qi Z., Yan Y., Yu-Qin Y., Fang-Fang Y., Mengya L., Lin-Jiang S., Ya-Li L., Yang Y., Yu-Jue L., Yuan-Le D., Shu-Ping Y., Chen-Juan Z., Ping L., Yong-Mei X., Jin-Liang Y., Yi-Wen Z., Ting-Hong Y., Yu-Quan W. *Oncotarget*, 2018, vol. 9, no. 3, pp. 3794–3804, DOI: 10.18632/oncotarget.23376.
16. Cai Y., Zheng Y., Gu J., Wang S., Wang N., Yang B., Zhang F., Wang D., Fu W., Wang Z. *Cell Death and Disease*, 2018, no. 9, article 636, DOI: 10.1038/s41419-018-0669-8.
17. Şoica C., Dehelean C., Danciu C., Wang H., Wenz G., Ambrus R. Bojin F., Anghel M. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, vol. 12, no. 13, pp. 14992–15011, DOI: 10.3390/ijms131114992.
18. Drag-Zalesinska M., Kulbacka J., Saczko J., Wysocka T., Zabel M., Surowiak P., Drag M. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2009, vol. 16, no. 19, pp. 4814–4817, DOI: 10.1016/j.bmcl.2009.06.046.
19. Thibeault D., Gauthier C., Legault J., Bouchard J., Gagné L., Pichette A. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2012, vol. 14, no. 22, pp. 4735–4739, DOI: 10.1016/j.bmcl.2012.05.073.
20. Falamaş A., Pînzaru S.C., Chiş V., Dehelean C. *Journal of Molecular Structure*, 2011, pp. 297–301, DOI: 10.1016/j.molstruc.2010.11.044.
21. Lomkova E.A., Chytil P., Janoušková O., Mueller T., Lucas H., Filippov S.K., Trhliková O., Aleshunin P.A., Skorik Y.A., Ulbrich K., Etrych T. *Biomacromolecules*, 2016, vol. 11, no. 17, pp. 3493–3507, DOI: 10.1021/acs-biomac.6b00947.
22. Mullauer F.B., van Bloois L., Daalhuisen J.B., Ten Brink M.S., Storm G., Medema J.P., Schifffers R.M., Kessler J.H. *Anticancer Drugs*, 2011, vol. 3, no. 22, p. 223, DOI: 10.1097/CAD.0b013e3283421035.
23. Saeed M.E.M., Mahmoud N., Sugimoto Y., Efferth T., Abdel-Aziz H. *Frontiers in Pharmacology*, 2018, no. 9, p. 481, DOI: 10.3389/fphar.2018.00481.
24. Liebscher G., Vanchangiri K., Mueller T., Feige K., Cavalleri J.M., Paschke R. *Chemico-Biological Interactions*, 2016, no. 20, p. 246 DOI: 10.1016/j.cbi.2016.01.002.
25. Abyshev A.Z., Abyshev R.A., Nguyen V.H., Morozova V.A. *Medical Academic Journal*, 2013, vol. 2, no. 13, p. 15, DOI: 10.17816/MAJ13215-32.
26. Periasamy G., Teketelew G., Gebrelibanos M., Sintayehu B., Gebrehiwot M., Karim A., Geremedhin G. *Archives of Applied Science Research*, 2014, vol. 6, no. 3, p. 47.
27. Chrobak E., Bębenek E., Kadela-Tomanek M., Latocha M., Jelsch Ch., Wenger E., Boryczka S. *Molecules*, 2016, no. 21, article 1123, DOI: 10.3390/molecules21091123.
28. Zhao J., Li R., Pawlak A., Henklewska M., Sysak A., Wen L., Yi J.-E., Obmińska-Mrukowicz B. *In vivo*, 2018, no. 32, p. 1081, DOI: 10.21873/invivo.11349.
29. Pradere U., Garnier-Amblard E.C., Coats S.J., Amblard F., Schinazi R.F. *Chemical Reviews*, 2014, no. 114, p. 9154, DOI: 10.1021/cr5002035.
30. Feng J.-h., Duan X.-z., Pan J.-y., Li W.-m., Zhang X.-d., Zhang Y.-s. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2017, vol. 16, no. 9, p. 2097, DOI: 10.4314/tjpr.v16i9.8.
31. Lee S.Y., Kim H.H., Park S.U. *Experimental and Clinical Sciences*, 2015, no. 14, p. 199, DOI: 10.17179/excli2015-150.
32. Wang Y.-J., Liu J.-B., Dou Y.-C. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2015, vol. 8, no. 1, p. 252.

33. Boparai A., Niazi J., Bajwa N. et al. *Journal of Translational Medicine*, 2017, vol. 1, no. 2, p. 53, DOI: 10.15406/oajtmr.2017.01.00012.
34. Yi J., Xia W., Wu J., Yuan L., Wu J., Tu D., Fang J., Tan Zh. *Journal of Veterinary Science*, 2014, vol. 1, no. 15, p. 141, DOI: 10.4142/jvs.2014.15.1.141.
35. Xu T., Pang Q., Wang Y., Yan X. *International journal of molecular medicine*, 2017, no. 40, p. 1669, DOI: 10.3892/ijmm.2017.3163.
36. Cháirez-Ramírez M.H., Moreno-Jiménez M.R., González-Laredo R.F., Gallegos-Infante J.A., Rocha-Guzmán N.E. *Experimental and Clinical Sciences*, 2016, no. 15, p. 758, DOI: 10.17179/excli2016-642.
37. Zhan X.K., Li J.L., Zhang S., Xing P.Y., Xia M.F. *Oncology letters*, 2018, no. 16, pp. 3628–3634, DOI: 10.3892/ol.2018.9097.
38. Zhou Z., Zhu C., Cai Z., Zhao F., He L., Lou X., Qi X. *Oncology letters*, 2018, no. 15, p. 7319, DOI: 10.3892/ol.2018.8183.
39. Alqahtani A., Hamid K., Kam A., Wong K.H., Abdelhak Z., Razmovski-Naumovski V., Chan K., Li K.M., Groundwater P.W., Li G.Q. *Current Medicinal Chemistry*, 2013, no. 20, p. 908, DOI: 10.2174/0929867311320070007.
40. So H.M., Eom H.J., Lee D., Kim S., Kang K.S., Lee I.K., Baek K.H., Park J.Y., Kim K.H. *Archives of Pharmacol Research*, 2018, vol. 8, no. 41, p. 815, DOI: 10.1007/s12272-018-1064-9.
41. Bebenek E., Jastrzebska M., Kadela-Tomanek M., Chrobak E., Orzechowska B., Zwolinska K., Latocha M., Mertas A., Czuba Z., Boryczk S. *Molecules*, 2017, no. 22, article 1876, DOI: 10.3390/molecules22111876.
42. Härmä V., Haavikko R., Virtanen J., Ahonen I., Schukov H.-P., Alakurtti S. et al. *PLoS ONE*, 2015, vol. 5, no. 10, e0126111, DOI: 10.1371/journal.pone.0126111.
43. Yu H., Zhang H., Chu Z., Ruan Q., Chen X., Kong D., Huang X., Li H., Tang H., Wu H., Wang Y., Xie W., Ding Y., Yao P. *Oncotarget*, 2017, vol. 8, no. 37, pp. 61646–61661, DOI: 10.18632/oncotarget.18661.
44. Haque S., Nawrot D.A., Alakurtti S., Ghemtio L., Yli-Kauhaluoma J. et al. *PLoS ONE*, 2014, vol. 7, no. 9, e0102696, DOI: 10.1371/journal.pone.0102696.
45. Shi W., Tang N., Yan W. *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, 2014, no. 11, pp. 343–354, DOI: 10.2174/1570193X1103140915112124.
46. Bellampallia S.S., Jia Y., Moutala A., Caia S., Wijeratne E.M.K., Gandinid M.A., Yua J., Chefdevillea A., Doramea A., Chewa L.A., Maduraa C.L., Luoa S., Molnara G., Khanna M., Streichera J.M., Zamponid G.W., Gunatilakac A.L., Khanna R. *Pain*, 2019, no. 160, pp. 117–135, DOI: 10.1097/j.pain.0000000000001385.
47. Khwaza V., Oyedeji O.O., Aderibigbe B.A. *Molecules*, 2018, no. 23, article 2300, DOI: 10.3390/molecules23092300.
48. Huang Q.-x., Chen H.-f., Luo X.-r., Zhang Y.-x., Yao X., Zheng X. *Current Medical Science*, 2018, vol. 3, no. 38, p. 387, DOI: 10.1007/s11596-018-1891-4.
49. Visalli R.J., Ziobrowski H., Badri K.R., He J.J., Zhang X., Arumugam S.R., Zhao H. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2015, vol. 16, no. 25, p. 3168, DOI: 10.1016/j.bmcl.2015.05.099.
50. Paduch R., Kandefer-Szerszeń M. *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, 2014, no. 11, p. 262, DOI: 10.2174/1570193X1103140915105240.
51. Moghaddam M.G., Ahmad F.B.H., Samzadeh-Kermani A. *Pharmacology & Pharmacy*, 2012, no. 3, p. 119, DOI: 10.4236/pp.2012.32018.
52. Dang Z., Ho P., Zhu L., Qian K., Lee K.-H., Huang L., Chen C.-H. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2013, vol. 5, no. 56, p. 2029, DOI: 10.1021/jm3016969.
53. Csuk R. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 2014, vol. 8, no. 8, p. 913, DOI: 10.1517/13543776.2014.927441.
54. Yadav V.A.K. *Journal of parasitic diseases*, 2016, vol. 3, no. 40, p. 1082, DOI: 10.1007/s12639-014-0560-1.
55. Oyebanji B.O., Saba A.B., Oridupa O.A. *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines*. 2014, vol. 1, no. 11, p. 30.
56. Haque S., Nawrot D.A., Alakurtti S., Ghemtio L., Yli-Kauhaluoma J. et al. *PLoS ONE*, 2014, vol. 7, no. 9, e0102696, DOI: 10.1371/journal.pone.0102696.
57. Zou L.-W., Dou T.-Y., Wang P., Lei W., Weng Z.-M., Hou J., Wang D.-D., Fan Y.-M., Zhang W.-D., Ge G.-B., Yang L. *Frontiers in Pharmacology*, 2017, no. 8, p. 435, DOI: 10.3389/fphar.2017.00435.
58. Meng Q., Zhou X., Liu L., Fu S. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 2018, vol. 2, no. 8, pp. 1–6, DOI: 10.26717/BJSTR.2018.08.001619.
59. Sousa J.L.C., Freire C.S.R., Silvestre A.J.D., Silva A.M.S. *Molecules*, 2019, no. 24, article 355, DOI: 10.3390/molecules24020355.
60. Schwiebs A., Radeke H.H. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2018, no. 18, pp. 645–651, DOI: 10.2174/1871520617666171012124820.
61. Osunsanmi F.O., Zharare G.E., Mosa R.A., Ikhile M.I., Shode F.O., Opoku A.R. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2019, vol. 2, no. 18, pp. 303–309, DOI: 10.4314/tjpr.v18i2.12.
62. Ríos J.L., Máñez S. *Planta Med*, 2018, no. 84, pp. 8–19, DOI: 10.1055/s-0043-123472.
63. Huang T., Chen C., Li D., Ek M. *Cellulose*, 2019, no. 26, pp. 665–677, DOI: 10.1007/s10570-019-02265-8.
64. Laavola M., Haavikko R., Hämäläinen M., Leppänen T., Nieminen R., Alakurtti S., Moreira V.M., Yli-Kauhaluoma J., Moilanen E. *J Nat Prod.*, 2016, vol. 2, no. 79, pp. 274–280, DOI: 10.1021/acs.jnatprod.5b00709.
65. Wang J., Zhao Q. *J Cell Biochem.*, 2018, pp. 1–8, DOI: 10.1002/jcb.27523.
66. Kim K.-S., Lee D.-S., Kim D.-Ch., Yoon Ch.-S., Ko W., Oh H., Kim Y.-Ch. *Molecules*, 2016, no. 21, article 1206, DOI: 10.3390/molecules21091206.

67. Li Y., Liu X., Jiang D., Lin Y., Wang Y., Li Q., Liu L., Hua Y. *Archives of Pharmacal Research*, 2016, no. 39, p. 1257, DOI: 10.1007/s12272-016-0761-5.
68. Oloyede H.O.B., Ajiboye H.O., Salawu M.O., Ajiboye T.O. *Microbial Pathogenesis*, 2017, no. 111, p. 338, DOI: 10.1016/j.micpath.2017.08.012.
69. Kim K.-J., Lee Y., Hwang H.-G., Sung S.H., Lee M., Son Y.-J. *Journal of Clinical Medicine*, 2018, vol. 6, no. 7, DOI: 10.3390/jcm7060154.
70. Babalola I.T., Shode F.O., Adelakun E., Opoku A.R., Mosa R.A. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2013, vol. 1, no. 6, p. 54.
71. Habila A.J., Habila J.D., Shode F.O., Opoku A.R., Atawodi S.E., Umar I.A. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2013, vol. 43, no. 7, p. 2881, DOI: 10.5897/AJPP2013.3851.
72. Osunsanmi F.O., Zaharare G.E., Oyinloye B.E., Mosa R.A., Ikhile M.I., Shode F.O., Ogunyinka I.B., Opoku A.R. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2018, vol. 10, no. 17, p. 1983, DOI: 10.4314/tjpr.v17i10.13.
73. Siddiqui S.A., Rahman A., Rahman M.O., Akbar M.A., Ali M.A., Al-Hemaid F.M.A., Elshikh M.S., Farah M.A. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2019, vol. 26, no. 3, pp. 554–562, DOI: 10.1016/j.sjbs.2018.03.002.
74. Ekuadzi E., Biney R.P., Benneh C.K., Amankwa B.O., Jato J. *Phytotherapy Research*, 2018, vol. 3, no. 32, p. 480, DOI: 10.1002/ptr.5993.
75. Innocente A.M., Silva G.N.S., Cruz L.N., Moraes M.S., Nakabashi M., Sonnet P., Gosmann G., Garcia C.R.S., Gnoatto S.C.B. *Molecules*, 2012, no. 17, article 12003, DOI: 10.3390/molecules171012003.
76. Khan M.F., Nahar N., Rashid R.B., Chowdhury A., Rashid M.A. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2018, vol. 48, no. 18, DOI: 10.1186/s12906-018-2116-x.
77. Babalola I.T., Shode F.O., Adelakun E., Opoku A.R., Mosa R.A. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2013, vol. 1, no. 6, p. 54.
78. Habila A.J., Habila J.D., Shode F.O., Opoku A.R., Atawodi S.E., Umar I.A. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2013, vol. 43, no. 7, p. 2881, DOI: 10.5897/AJPP2013.3851.
79. Osunsanmi F.O., Zaharare G.E., Oyinloye B.E., Mosa R.A., Ikhile M.I., Shode F.O., Ogunyinka I.B., Opoku A.R. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2018, vol. 10, no. 17, p. 1983, DOI: 10.4314/tjpr.v17i10.13.
80. Schwieger-Briel A., Kiritsi D., Schempp C., Has C., Schumann H. *Dermatology Research and Practice*, 2017, vol. 2017, article 506896, DOI: 10.1155/2017/5068969.
81. Halder A., Shukla D., Das S., Roy P., Mukherjee A., Saha B. *Cytokine*, 2018, vol. 110, pp. 412–415.
82. Son L.B., Kaplun A.P., Shpilevskii A.A., Andiya-Pravdivyi Y.E., Alekseeva S.G., Gribov'ev V.B., Shvets V.I. *Russ Rev Bioorg Chem.*, 1998, vol. 10, no. 24, pp. 700–705.
83. Filippov S.K., Vishnevetskaya N.S., Niebuur B.-J., Koziolová E., Lomkova E.A., Chytil P., Etrych T., Papadakis C.M. *Colloid and Polymer Science*, 2017, vol. 295, no. 8, p. 1313, DOI: 10.1007/s00396-017-4027-7.
84. Malyar Y.N., Kuznetsova S.A., Shakhtshneider T.P., Mikhailenko M.A. *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*, 2015, no. 2, p. 277, DOI: 10.17516/1998-2836-2015-8-2-277-286.
85. Popova O.V., Sursyakova V.V., Burmakina G.V., Levdansky V.A., Rubaylo A.I. *Doklady Chemistry*, 2015, vol. 1, no. 461, p. 67, DOI: 10.1134/S0012500815030039.
86. Wang H.M., Soica C., Wenz G. *Natural product communications*, 2012, vol. 3, no. 7, p. 289.
87. Dehelean C.A., Soica C., Peev C., Ciurlea S., Feflea S., Kasa P. *Farmacia*, 2009, vol. 1, no. 59, p. 51.
88. Mikhaylenko M.A., Shakhtshneyder T.P., Drebuschak V.A., Kuznetsova S.A., Skvortsova G.P., Boldyrev V.V. *Khimiya prirodnykh soyedineniy*, 2011, no. 2, p. 211. (in Russ.).
89. Dai L., Li D., Cheng J., Liu J., Deng L.-H., Wang L.-Y., Lei J.-D., He J. *Polymer Chemistry*. 2014, no. 5, p. 5775, DOI: 10.1039/C4PY00648H.
90. Gorbunova M.N., Kraynova G.F. *Vestnik permskogo nauchnogo tsentra URO RAN*, 2014, no. 2, p. 44. (in Russ.).
91. Zawilska J.B., Wojcieszak J., Olejniczak A.B. *Pharmacological Reports*, 2013, vol. 65, no. 1, pp. 1–14.
92. Jonnalagadda S.C., Suman P., Morgan D.C., Seay J.N. *In Natural Products Chemistry*, 2017, vol. 53, no. 45, DOI: 10.1016/B978-0-444-63930-1.00002-8.
93. Tolstikov G.A., Flekhter O.B., Shul'ts E.E., Baltina J.I.A., Tolstikov A.G. *Khimiya v interesakh ustoychivogo razvitiya*, 2005, no. 1, pp. 1–30. (in Russ.).
94. Kuznetsova S.A., Skvortsov G.P., Malyar YU.N., Skurydina Ye.S., Veselova O.F. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2013, no. 2, pp. 93–100, DOI: 10.14258/jcprm.1302093. (in Russ.).
95. Flekhter O.B., Karachurina L.T., Nigmatullina L.R. *Khim.-farmats. zhur.*, 2000, vol. 34, no. 2, pp. 3–5. (in Russ.).
96. Flekhter O.B., Nigmatullina L.R., Baltina L.A. *Khim.-farmats. zhur.*, 2002, vol. 36, no. 9, pp. 26–28. (in Russ.).
97. Shakhtshneyder T.P., Kuznetsova S.A., Mikhaylenko M.A., Malyar Yu.N., Boldyrev V.V. *Zhurnal Sibirskogo federal'nogo universiteta. Khimiya*, 2012, vol. 1, no. 5, pp. 52–60. (in Russ.).
98. Tubek B., Smuga D., Smuga M., Wawrzeńczyk C. *Synthetic Communications*, 2012, no. 42, p. 3648, DOI: 10.1080/00397911.2011.588817.
99. Tubek B., Miłula P., Niezgodna N., Kempieńska K., Wietrzyk J., Wawrzeńczyk C. *April Natural product communications*, 2013, vol. 4, no. 8, p. 435, DOI: 10.1055/s-0031-1282284.
100. Dai L., Cao X., Liu K.-F., Li C.-X., Zhang G.-F., Deng L.-H., Si C.-L., He J., Lei J.-D. *Journal of Materials Chemistry B*, 2015, vol. 18, no. 3, pp. 3754–3766, DOI: 10.1039/c5tb00042d.
101. Levdanskiy V.A., Levdanskiy A.V., Kuznetsov B.N. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2013, no. 1, pp. 107, DOI.org/10.14258/jcprm.1301107. (in Russ.).

102. Levdanskiy V.A., Levdanskiy A.V., Kuznetsov B.N. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2012, no. 4, pp. 79. (in Russ.).
103. Bureeva S., Andia-Pravdivy J., Symon A., Bichucher A., Moskaleva V., Popenko V., Shpak A., Shvets V., Kozlov L., Kaplun A. *J. Bioorganic and medicinal chemistry*, 2007, vol. 15, no. 10, pp. 3489–3498, DOI: 10.1016/j.bmc.2007.03.002.
104. Salt A.N., Hartsock J.J., Piu F., Hou J. *Audiology and Neurotology*, 2018, no. 23, pp. 245–257, DOI: 10.1159/000493846.
105. Subbaiah M.A.M., Meanwell N.A., Kadow J.F. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2017, no. 139, p. 865, DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.07.044.
106. Fukui T., Nakamura K., Sakatani T., Atsuta T., Kato T., Fukumoto T., Ito M., Inoue K., Terai A. *Hinyokika Kyo*, 2017, vol. 2, no. 63, p. 57, DOI: 10.14989/ActaUrolJap_63_2_57.
107. Inoue T., Ogura K., Kawakita M., Tsukino H., Akamatsu S., Yamasaki T., Matsui Y., Segawa T., Sugino Y., Kamoto T., Kamba T., Tanaka S., Ogawa O. *Clinical Genitourinary Cancer*, 2016, vol. 14, no. 1, e9–e17, DOI: 10.1016/j.clgc.2015.08.008.
108. Aurilio G., Graffeo R., Bagnardi V., Nolè F., Adamoli L., Pagani O., Gallerani E., Ferrari B., Pruneri G., Goldhirsch A. *International Journal of Clinical Oncology*, 2015, vol. 1, no. 20, p. 90, DOI: 10.1007/s10147-014-0694-2.
109. Sorscher E.J., Hong J.S., Allan P.W., Waud W.R., Parker W.B. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2012, vol. 2, no. 70, p. 321, DOI: 10.1007/s00280-012-1908-9.
110. Aoyama T., Hirata K., Hirata R., Yamazaki H., Yamamoto Y., Hayashi H., Matsumoto Y. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2012, vol. 3, no. 37, p. 356, DOI: 10.1111/j.1365-2710.2011.01297.x.
111. Popławska M., Borowicz K.K., Czuczwar S.J. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 2015, vol. 9, no. 15, p. 983, DOI: 10.1586/14737175.2015.1074523.
112. Inoue Y., Usui N., Hiroki T., Shimizu K., Kobayashi S., Shimasaki S. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 2013, vol. 2, no. 38, p. 139, DOI: 10.1007/s13318-012-0105-x.
113. Juluri A., Peddikotla P., Repka M.A., Murthy S.N. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2013, vol. 2, no. 102, p. 500, DOI: 10.1002/jps.23373.
114. Patent 3966778 (US). 1974.
115. Patent 2936313 (US). 1958.
116. Patent 6689767B2 (US). 2001.
117. Amjad M., Carlson R. M., Krasutsky P., Karim M.R.U. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2004, vol. 5, no. 14, pp. 1086–1088.
118. Patent 2539297 (RU). 2015. (in Russ.).

Received April 4, 2019

Revised April 16, 2019

Accepted April 19, 2019

For citing: Vorobyeva O.A., Malygina D.S., Grubova E.V., Melnikova N.B. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2019, no. 4, pp. 407–430. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2019045419.