

УДК 547.597:541.64:615.277.3

## СИНТЕЗ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ПОЛИМЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ

© *М.Н. Горбунова\**, *Г.Ф. Крайнова*, *А.О. Воронина*

*Институт технической химии УрО РАН, ул. Академика Королева, 3,  
Пермь, 614013 (Россия), e-mail: mngorb@yandex.ru*

Пентациклические тритерпеноиды бетулин и бетулоновая кислота являются перспективными источниками новых биологически активных соединений. Привитие их на полимерные матрицы приводит к образованию эффективных лекарственных форм по сравнению с исходным препаратом. На основе бетулина и бетулоновой кислоты осуществлен синтез полимерных конструкций с фрагментом тритерпена в боковой цепи. Новые тритерпенсодержащие полимерные ансамбли получены методом полимераналогичных превращений сополимеров N-винилпирролидона с N-(*n*-карбокси)фенилмалеимидом и с *n*-аминостиролом. Сшиванием карбоксильных групп сополимера N-винилпирролидона с N-(*n*-карбокси)фенилмалеимидом с гидроксильными группами бетулина и реакцией аминогрупп сополимера N-винилпирролидона с *n*-аминостиролом с карбоксильными группами бетулоновой кислоты получены полимерные конструкции с полициклическими тритерпеновыми фрагментами. Полученные полимерные ансамбли обладают более высокой активностью в отношении меланомы по сравнению с исходными сополимерами. Полимер на основе сополимера N-винилпирролидона с N-(*n*-карбокси)фенилмалеимидом и бетулина в концентрации 40.48 мкМ ингибирует 50% клеток MS, в то время как 50% клеток MS гибнут под действием 68.29 мкМ бетулина. Новые тритерпенсодержащие полимерные ансамбли являются перспективными для разработки новых биологически активных полимерных биокопьюгатов.

*Ключевые слова:* бетулин, бетулоновая кислота, N-винилпирролидон, радикальная сополимеризация, цитотоксическая активность.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Комплексной программы УрО РАН «Фундаментальные науки – медицине» (№ 18-7-3-4).*

### **Введение**

В последние годы актуальным является поиск оригинальных путей трансформации известных низкомолекулярных природных метаболитов для получения эффективных лекарственных препаратов. Среди продуцируемых растениями соединений вторичного метаболизма тритерпеноиды – один из наиболее перспективных источников для разработки новых терапевтически активных агентов. Пентациклические тритерпеноиды бетулин и бетулоновая кислота являются ценными источниками новых биологически активных соединений, поскольку зачастую даже незначительная химическая модификация данных соединений оказывает существенное влияние на проявляемую ими биологическую активность. Выдающийся фармакологический потенциал бетулина раскрывается по мере расширения исследования его производных [1–5]. На его основе получены многочисленные производные с уникальными по механизмам действия противовирусным и противоопухолевым типами активности [3, 6]. Для полусинтетических производных бетулина обнаружено несколько путей инактивации ВИЧ [7, 8], в т.ч. уникальный по действию механизм ингибирования стадии созревания (maturation) вирусных частиц [9]. Изучение цитотоксической активности самого бетулина позволило констатировать невысокий уровень его эффективности в отношении опухолевых клеток, в то время как его производное – бетулиновая кислота – наиболее перспективный противоопухолевый агент в отношении

*Горбунова Марина Николаевна* – кандидат химических наук, старший научный сотрудник,  
e-mail: mngorb@yandex.ru

*Крайнова Гульназ Фаизовна* – кандидат химических наук, научный сотрудник, e-mail: gulja.perm@mail.ru

*Воронина Анна Олеговна* – младший научный сотрудник,  
e-mail: voroninaao@gmail.com

клеток глиобластом, медуллобластом и меланом, механизм действия которого связан с индукцией апоптоза, или программируемой смертью опухолевых клеток. Препарат на основе бетулиновой кислоты с антимеланомной активностью включен в

\* Автор, с которым следует вести переписку.

перечень Программы RAID Национального института рака США и в настоящее время проходит стадию клинических испытаний на человеке [10].

Однако при внедрении препаратов на основе тритерпеновых производных в практику существует проблема – их низкая растворимость в биологических жидкостях, высокая скорость выведения из организма и, как следствие, необходимость создания в организме высокой дозы дорогостоящего препарата. В последнее время перспективным направлением является введение тритерпеноидов в солюбилизирующие полимерные матрицы. Синтез полимерных производных низкомолекулярных биологически активных веществ дает возможность создавать более совершенные лекарственные формы, в которых снижается токсичность, повышается эффективность, достигается пролонгация действия препаратов.

Методом радикальной полимеризации получены полиуретаны на основе бетулина и изоцианата [11], полиакрилаты на основе бетулина и 2,3-эпоксипропилакрилата [12], эпоксиполимеры на основе диглицидилового эфира бетулина [13].

Для введения тритерпеноидов в солюбилизирующие полимерные матрицы в предыдущих работах нами был применен подход, основанный на первичном получении терпенсодержащего мономера, который затем вводится в радикальную сополимеризацию.

Синтезированы новые полифункциональные полимерные конструкции на основе 28-*O*-малеата бетулина, полученного взаимодействием бетулина с малеиновой кислотой в присутствии дициклогексилкарбодиимида при комнатной температуре, потенциально обладающие комплексом ценных свойств (низкая токсичность, биологическая активность) [14].

Взаимодействием бетулина с винилуксусной и винилбензойной кислотами в дихлорметане в присутствии диметиламинопиридина и дициклогексилкарбодиимида с выходами 30–85% получены соответствующие С-28 сложноэфирные производные [15] и исследована возможность их вовлечения в реакции радикальной сополимеризации с акрилонитрилом и *N*-винилпирролидоном. Показано, что при сополимеризации 28-*O*-винилацетатлуп-20(29)-ен-3,28-диола и 28-*O*-винилбензоатлуп-20(29)-ен-3,28-диола с *N*-винилпирролидоном образуются сополимеры с высокой композиционной однородностью [16].

Путем фрагментации  $\alpha$ -кетоксима или  $\alpha$ -гидроксиоксима бетулоновой кислоты под действием оксалилхлорида или тионилхлорида и последующим амидированием образующихся *in situ* хлорангидридов 2,3-секотритерпеновых кислот аллиламином получены А-секолупановые С-3(28) моно- и диаллиламиды [17]. Установлено, что полученные аллиламиды с низкими скоростями сополимеризуются с акрилонитрилом и *N*-винилпирролидоном в присутствии радикальных инициаторов с образованием статистических сополимеров. Полученные сополимеры обладают цитотоксической активностью в отношении культуры MS и являются перспективными для разработки новых биологически активных полимерных конструкций [18].

В данной работе сложные полимерные ансамбли с тритерпеновыми фрагментами были получены методом полимераналогичных превращений сополимеров *N*-винилпирролидона (ВП) с *N*-(*n*-карбоксо)фенилмалеимидом и с *p*-аминостиролом.

### Экспериментальная часть

Бетулин получали экстракцией бересты березы (*Bétula*) по методике [19].

Бетулоновую кислоту получали окислением бетулина реактивом Джонса по известной методике [20].

*N*-Винилпирролидон (ВП) фирмы “Lancaster” сушили над КОН и перегоняли в вакууме, использовали фракцию с  $T_{\text{кип}}=65\text{ }^{\circ}\text{C} / 1.5\text{ мм рт.ст.}$ ,  $n_D^{20}=1.5117$ .

*N*-(*n*-карбоксо)фенилмалеимид синтезировали по методике [21] с заменой эфира на ацетон в качестве растворителя. Выход 69%,  $T_{\text{пл}}=240\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Найдено, %: С 57.99; Н 3.44; N 6.11.  $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{NO}_4$ . Вычислено, %: С 58.41; Н 3.10; N 6.19.

ИК спектр ( $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ ): 1600 (C=C), 1680, 1710 (C=O).

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 7.16 (2H, с, CH=CH), 7.44–8.02 (4H, м, Ar), 13.05 (1H, уш. с, OH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{DMSO}$ ,  $\delta$ , м.д.): 124.09, 127.58, 127.92, 132.84 (Ar), 133.50 (C=C), 164.7 (COOH), 167.51 (C=O).

Инициатор – динитрил азобисизомасляной кислоты (ДАК) и растворители, используемые в работе, после очистки общепринятыми методами по своим характеристикам соответствовали литературным данным.

Сополимеризацию ВП проводили при температуре 80 °С в массе в присутствии ДАК. По окончании реакции полученные сополимеры осаждали в воду. Очистку сополимеров проводили трехкратным переосаждением. Очищенные сополимеры сушили в вакууме до постоянной массы при 50 °С. Состав сополимеров рассчитывали по результатам элементного анализа.

Методика получения полимерных конструкций (III). 0.25 ммоль (0.082 г) сополимера (I) растворяли в 5 мл ДМСО и перемешивали в течение 1 ч до полного растворения. Продолжая перемешивание, порциями добавляли 0.75 ммоль (0.096 г, 0.06 мл) оксалилхлорида и перемешивали в течение 3 ч, затем дважды промывали дихлорметаном для удаления избытка оксалилхлорида. К полученному хлорангидриду при непрерывном перемешивании добавляли раствор 0.25 ммоль (0.111 г) бетулина в 10 мл  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Реакционную смесь перемешивали в течение 4 ч при комнатной температуре. Образование продуктов контролировали методом ТСХ. К раствору прибавляли 50 мл дистиллированной воды, полученный осадок отделяли центрифугированием. Конечный продукт сушили в вакуум-шкафу при 40–50 °С до постоянного веса. Светлый порошок, выход 34%.

Методика получения полимерных конструкций (IV). 0.62 ммоль (0.282 г) бетулоновой кислоты растворяли в 5 мл  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , добавляли порциями 1.24 ммоль (0.159 г, 0.1 мл) оксалилхлорида и перемешивали в течение 3 ч, затем дихлорметан упаривали. К полученному хлорангидриду бетулоновой кислоты при перемешивании добавляли раствор 0.62 ммоль (0.143 г) сополимера (II) в 10 мл ДМСО. Реакционную смесь перемешивали в течение 4 ч при комнатной температуре. Образование продуктов контролировали методом ТСХ. К раствору прибавляли 50 мл дистиллированной воды, полученный осадок отделяли центрифугированием. Конечный продукт сушили в вакуум-шкафу при 40–50 °С до постоянного веса. Светлый порошок, выход 65%.

Элементный анализ (С, Н, N) проведен на приборе «Leco CHNS-93213», Нидерланды.

Температуру плавления определяли на приборе OptiMelt MPA100 (Stanford Research Systems, США); за температуру плавления принимали пороговое значение температуры плавления при скорости нагрева 1 °С/1 мин.

ИК спектры сняты на ИК-Фурье спектрометре IFS 66ps «Bruker» (Германия) в суспензии вазелинового масла или в тонкой пленке, полученной испарением раствора вещества в  $\text{CHCl}_3$  на поверхности стекла NaCl.

Спектры  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР регистрировали на спектрометре Bruker AVANCE II (400 МГц и 100 МГц соответственно), при этом в качестве растворителя использовали ДМСО- $d_6$ . Спектры  $^{13}\text{C}$  ЯМР регистрировали с широкополосным подавлением по протонам и в режиме JMOD.

Для колоночной хроматографии использовали силикагель марки Merck (60–200  $\mu\text{m}$ ), соотношение вещества и сорбента ~1 : 50, элюент – петролейный эфир–этилацетат 7 : 3. Контроль за протеканием реакции и чистотой промежуточных и конечных продуктов синтеза проводили методом ТСХ на пластинках «Сорбфил» (Россия), которые обрабатывали 5%-ным водным раствором  $\text{H}_2\text{SO}_4$  с последующим прогревом до 100–120 °С.

Культуры клеток человека A549 (карцинома легкого), RD (рабдомиосаркома) и MS (меланома) выращивались в среде DMEM (для A549 и RD) и RPMI 1640 (для MS) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 2 мМ L-глутамин и 1% гентамицин в качестве антибиотика при 37 °С и 5%  $\text{CO}_2$  во влажной атмосфере.

Цитотоксическую активность исследовали в отношении клеточных линий A549, RD и MS, полученных из НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН (г. Москва). Клетки рассевали в 96-луночные микропланшеты и культивировали в питательной среде DMEM с добавлением 10% эмбриональной сыворотки телянка и 0.3% глутамин при 37 °С в атмосфере 5%  $\text{CO}_2$  в  $\text{CO}_2$ -инкубаторе Isotemp Barnstead (США). Через 24 ч в лунки планшета вносили испытуемые соединения в концентрации 100 мкМ раствора в ДМСО с последующим серийным разведением до 1.56 мкМ. Выживаемость клеток оценивали через 72 ч инкубации клеток с исследуемыми соединениями с помощью МТТ-теста [22] на спектрофотометре FLUOstar OPTIMA BMG Labtech GMBH (Германия).

### **Результаты и обсуждение**

Методом радикальной сополимеризации в массе в присутствии радикального инициатора динитрила 2,2-азо-ди-изомаляной кислоты (ДАК) при 80 °С были получены сополимеры ВП с N-(*n*-карбоксифенил) малеимидом (КФМИ) (I) и *n*-аминостиролом (АС) (II) (рис. 1). Основные спектральные характеристики сополимеров приведены в таблице 1.

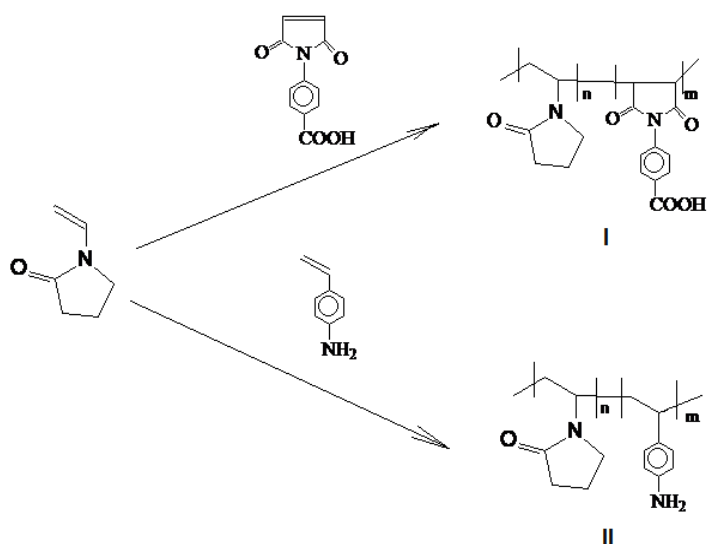


Рис. 1. Синтез сополимеров ВП с N-(*p*-карбоксифенил)малеимидом (КФМИ) (I) и *n*-аминостиролом (АС) (II)

Таблица 1. Основные спектральные характеристики сополимеров

Сополимер	Основные пики ИК спектра ( $\nu$ , $\text{см}^{-1}$ )	Спектр ЯМР $^1\text{H}$ (400 МГц, $\text{DMSO-d}_6$ , $\delta$ , м.д., J/Гц)	Основные пики спектра ЯМР $^{13}\text{C}$ (100 МГц, $\text{DMSO}$ , $\delta$ , м.д.)
Сополимер ВП с N-( <i>p</i> -карбоксифенил)малеимидом (I)	1511, 1607 (Ar); 1672 уш, 1713, 1779 (C=O), 3476 (OH)	1.67 (2H, м, $\text{CH}_2\text{-CH}$ ), 1.95 (2H, м, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ ), 2.52 и 2.58 (2H, 2с, $\text{CO-CH}_2\text{-CH}_2$ ), 2.77 и 2.92 (4H, 2с, 2 -CH-CH-), 3.19 (2H, м, N- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ ), 3.41 (1H, м, $\text{CH}_2\text{-CH}$ ), 7.44-8.04 (4H, м, Ar), 11.99 (1H, уш. с, OH)	17.90; 29.55; 30.68; 34.31; 35.41; 41.48; 44.60; 126.4, 129.3, 131.1, 135.33 (Ar); 162.16 (COOH); 166.25 (C=O); 175.99 (C=O)
Сополимер ВП с <i>n</i> -аминостиролом (II)	1676 (C=O); 1512, 1618 (Ar); 3206, 3341, 3417 ( $\text{NH}_2$ )	1.43 (2H, с, $\text{CH}_2\text{-CH}$ ), 1.69 (2H, м, $\text{CH}_2\text{-CH}$ ), 1.98 (2H, м, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ ), 2.43 (2H, м, $\text{CO-CH}_2\text{-CH}_2$ ), 2.99 (2H, с, $\text{CH}_2\text{-CH}$ ), 3.34 (2H, м, N- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ ), 3.66 (1H, м, $\text{CH}_2\text{-CH}$ ), 5.25 (2H, т, J = 8.2 Гц, $\text{NH}_2$ ), 6.66-7.62 (4H, м, Ar)	19.18; 30.95; 34.18; 37.30; 40.66; 42.56; 47.53; 119.88, 127.10, 136.08, 141.3 (Ar); 176.3 (C=O)
Сополимер (III)	1513, 1619 (Ar); 1672-1713 уш, 1777 (C=O)	0.75, 0.79, 0.95, 1.01, 1.07 (5 x 3H, 5с, 5 $\text{CH}_3$ ); 1.42 (2H, м, $\text{CH}_2\text{-CH}$ ), 1.67 (3H, с, 3H-30); 1.86 (2H, м, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ ); 2.59 (2H, м, $\text{CO-CH}_2\text{-CH}_2$ ); 2.65 (1H, д, J=6.4 Гц, H-19); 2.85 и 2.96 (4H, 2с, 2 -CH-CH-); 3.11 (1H, дд, J=5.1, 10.8 Гц, H-3); 3.14 (2H, м, N- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ ); 3.37 (1H, м, $\text{CH}_2\text{-CH}$ ); 3.99 и 4.34 (2H, 2д, J=10.0 Гц, 2H-28); 4.59 и 4.71 (2H, 2с, 2H-29); 4.87 (1H, с, OH); 7.16-8.05 (4H, м, 4H <sub>Ar</sub> )	19.8 ( $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ ); 30.6 ( $\text{CO-CH}_2\text{-CH}_2$ ); 46.11 (N- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ ); 59.9 (C28); 78.6 (C3); 110.3 (C29); 127.68, 128.52, 130.84, 141.50 (Ar); 150.4 (C20); 161.5 (COO); 168.2 (C=O); 175.9 (C=O)
Сополимер (IV)	1642 (CONH), 1670, 1689, 1701 (C=O), 3389 (NH)	0.80, 0.88, 0.92, 1.01, 1.06 (5 x 3H, 5с, 5 $\text{CH}_3$ ); 1.43 (2H, с, $\text{CH}_2\text{-CH}$ ); 1.63 (3H, с, 3H-30); 1.69 (2H, м, $\text{CH}_2\text{-CH}$ ); 1.90 (2H, м, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ ); 2.26 (2H, м, $\text{CO-CH}_2\text{-CH}_2$ ); 2.43 (1H, д, J=8 Гц, H-19); 2.99 (2H, м, N- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ ); 3.34 (1H, уш. с, $\text{CH}_2\text{-CH}$ ); 3.66 (2H, м, $\text{CH}_2\text{-CH}$ ); 4.61 и 4.73 (2H, 2с, 2H-29); 6.65-7.58 (4H, м, 4H <sub>Ar</sub> ), 9.34 (1H, с, NH)	20.2 ( $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ ); 29.95 ( $\text{CO-CH}_2\text{-CH}_2$ ); 47.53 (N- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ ); 109.66 (C29); 119.82, 127.59, 135.96, 142.24 (Ar); 150.6 (C20); 176.32 (C=O); 179.7 (C28); 217.7 (C3)

Установлено, что сополимеры ВП с КФМИ обладают полиэлектролитным эффектом – значения приведенной вязкости растворов от концентрации растут с разбавлением (рис. 2). Снять влияние полиэлектролитного эффекта добавлением низкомолекулярного электролита (LiCl, NaCl) ввиду их низкой растворимости в ДМАА не представляется возможным.

Методом полимераналогичных превращений указанных сополимеров ВП синтезированы новые тритерпенсодержащие полимерные ансамбли.

Сшиванием карбоксильных групп сополимера (I) с гидроксильными группами бетулина получены полимерные конструкции с полициклическими тритерпеновыми фрагментами (III) (рис. 3).

Путем взаимодействия карбоксильной группы сополимера с оксалилхлоридом получен хлорангидрид, который затем вступает в реакцию этерификации с гидроксильной группой бетулина. Реакция этерификации протекает региоселективно с вовлечением первичной гидроксильной группы при атоме С-28. Основные спектральные характеристики сополимеров (III) приведены в таблице 1.

В ИК-спектрах соединения (III) присутствуют характерные полосы поглощения не этерифицированной вторичной гидроксильной группы в области  $3365\text{ см}^{-1}$ . Широкий сигнал в области  $1672\text{--}1713\text{ см}^{-1}$  является результатом наложения пиков карбониллов винилпирролидинового и малеимидного звеньев, а также образованного сложноэфирного карбонила. Отличительной особенностью спектров ЯМР  $^1\text{H}$  соединения (III) является характерный для бетулина сигнал протона при С-3 в области 3.11–3.19 м.д. и сдвиг дублетных сигналов метиленовых протонов при атоме С-28 в слабополюную область – 3.99 и 4.34 м.д. по сравнению с исходным бетулином (3.78 и 3.31 м.д.), что свидетельствует об образовании сложноэфирной связи. Кроме того в спектре ЯМР  $^1\text{H}$  соединения (III) исчезает сигнал протона карбоксильной группы малеимида. В спектре ЯМР  $^{13}\text{C}$  соединения (III) наблюдается появление пиков, характерных для бетулинового фрагмента, и происходит сдвиг сигнала углерода сложноэфирной группы малеимида в сильнополюную область – 161.5 м.д. по сравнению с исходным сополимером, что свидетельствует об образовании сложноэфирной связи. Образование сложноэфирной связи также подтверждено сдвигом сигнала углерода С-28 в сильнополюную область – 59.9 м.д. по сравнению с исходным бетулином (60.5 м.д.).

Тритерпенсодержащие сополимеры (IV) получены реакцией аминогрупп сополимера (II) с карбоксильными группами бетулоновой кислоты (рис. 4). Основные спектральные характеристики сополимеров (IV) приведены в таблице 1.

Образование амидных связей доказывали исчезновением в ИК спектре соединения (IV) двух валентных колебаний групп  $\text{NH}_2$  при  $3341$  и  $3417\text{ см}^{-1}$  и появлением одной полосы при  $3389\text{ см}^{-1}$ , характерной для валентных колебаний  $\text{CONH}$  группы. В спектре ЯМР  $^1\text{H}$  соединения (IV) исчезает сигнал  $\text{NH}_2$  группы при 5.25 м.д. и появляется пик, характерный для амидного протона в области 9.34 м.д.

Исследование цитотоксической активности новых сополимеров показало, что тритерпенсодержащие сополимеры (III) и (IV) проявляют более высокую активность в отношении меланомы по сравнению с исходными сополимерами (I) и (II) соответственно (табл. 2). Более того можно заметить, что сополимер (III) в концентрации 40.48 мкМ ингибирует 50% клеток MS, т.е. обладает более высокой активностью в отношении клеток MS по сравнению с бетулином, при действии которого в концентрации 68.29 мкМ наблюдается гибель 50% клеток меланомы.

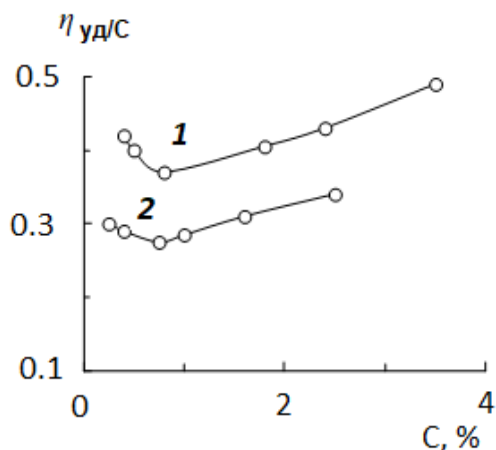


Рис. 2. Зависимость приведенной вязкости сополимеров ВП с КФМИ от концентрации (ДМАА, 25 °С) с 0.4 N LiCl. Содержание звеньев КФМИ в сополимере 48.47 (1) и 31.39 мол.% (2)

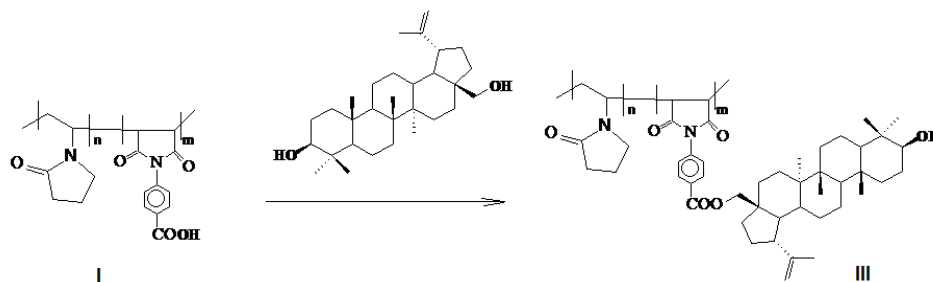


Рис. 3. Синтез полимерных конструкций на основе сополимера ВП с КФМИ

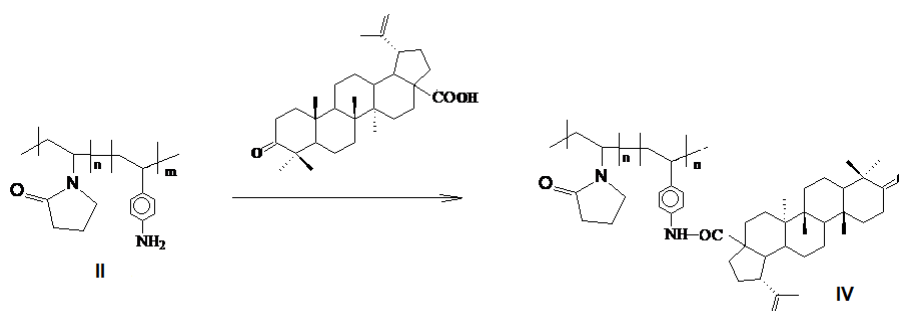


Рис. 4. Синтез полимерных конструкций на основе сополимера ВП с АС

Таблица 2. Цитотоксическая активность новых сополимеров

	Концентрация соединения, которая вызывает гибель 50% клеток (IC <sub>50</sub> ), мкМ		
	Меланома MS	Рабдомиосаркома RD	Карцинома легкого A549
(I)	Нет эффекта	Нет эффекта	Нет эффекта
(II)	187.38±8.77	Нет эффекта	Нет эффекта
(III)	40.48±7.19	171.90±1.11	Нет эффекта
(IV)	91.25±0.03	101.26±0.36	147.11±6.08
Бетулин	68.29±2.47	74.92±5.81	73.89±0.85

Таким образом, в результате проведенных исследований получены новые тритерпенсодержащие полимерные конструкции, обладающие цитотоксической активностью и представляющие интерес в качестве потенциальных биологически активных агентов.

### Список литературы

1. Толстиков Г.А., Флехтер О.Б., Шульц Э.Э., Балтина Л.А., Толстиков А.Г. Бетулин и его производные. Химия и биологическая активность // Химия в интересах устойчивого развития. 2005. Т. 13. С. 1–30.
2. Yogeewari P., Sriram D. Betulinic acid and its derivatives: a review on their biological properties // *Curr. Med. Chem.* 2005. Vol. 12. Pp. 657–666.
3. Tolstikova T.G., Sorokina I.V., Tolstikov G.A., Tolstikov A.G., Flekhter O.B. Biological activity and pharmacological prospects of lupane terpenoids: II. Semisynthetic lupane derivatives // *Rus. J. Bioorg. Chem.* 2006. Vol. 32. N3. Pp. 261–276. DOI: 10.1134/S1068162006030083.
4. Alakurtti S., Mäkelä T., Koskimies S., Yli-Kauhaluoma J. Pharmacological properties of the ubiquitous natural product betulin // *Europ. J. Pharm. Sciences.* 2006. Vol. 29. N1. Pp. 1–13. DOI: 10.1016/j.ejps.2006.04.006.
5. Krasutsky P.A. Birch bark research and development // *Nat. prod. rep.* 2006. Vol. 23. N6. Pp. 919–942.
6. Tolstikova T.G., Sorokina I.V., Tolstikov G.A., Tolstikov A.G., Flekhter O.B. Biological Activity and Pharmacological Prospects of Lupane Terpenoids: I. Natural Lupane Derivatives // *Rus. J. Bioorg. Chem.* 2006. Vol. 32. N1. Pp. 37–49. DOI: 10.1134/S1068162006010031.
7. Yu D., Wild C.T., Martin D.E., Morris-Natschke S.L., Chen C.H., Allaway G.P., Lee K.H. The discovery of a class of novel HIV-1 maturation inhibitors and their potential in the therapy of HIV // *Expert Opin. Investig. Drugs.* 2005. Vol. 14. Pp. 681–693. DOI: 10.1517/13543784.14.6.681

8. Lee K.-H. Discovery and Development of Natural Product-Derived Chemotherapeutic Agents Based on a Medicinal Chemistry Approach // J. Nat. Prod. 2010. Vol. 73. Pp. 500–516. DOI: 10.1021/np900821e.
9. Qian K., Morris-Natschke S.L., Lee K.H. HIV Entry Inhibitors and Their Potential in HIV Therapy // Med. Res. Rev. 2009. Vol. 29. Pp. 369–393. DOI: 10.1002/med.20138.
10. Pichette A., Liu H., Roy C., Tanguay S., Simard F., Lavoie S. Selective Oxidation of Betulin for the Preparation of Betulinic Acid, an Antitumoral Compound // Synth. Commun. 2004. Vol. 34. N21. Pp. 3925–3937. DOI: 10.1081/SCC-200034788.
11. Era V., Jaaskelainen P., Ukkonen K. Fatty acid esters from betulinol // J. Amer. Oil Chem. Soc. 1981. Vol. 58. N1. Pp. 20–23.
12. Era V., Mustonen T., Jaaskelainen P. Polyakrylates from betulinol // Mackromol. Chem. Rapid Commun. 1981. Vol. 2. Pp. 283–286. DOI: 10.1002/marc.1981.030020407.
13. А.с. № 1671666 (СССР). Диглицидиловый эфир на основе бетулина в качестве мономера для получения эпокси-полимеров с высокими диэлектрическими свойствами / М.С. Клебанов, В.А. Алдошин, И.П. Педько / 1991.
14. Gorbunova M.N., Krainova G.F., Tolmacheva I.A., Grishko V.V. New polymeric derivatives of betulin // Russ. J. Appl. Chem. 2012. Vol. 85. N7. Pp. 1137–1141. DOI: 10.1134/S1070427212070269.
15. Krainova G.F., Tolmacheva I.A., El'tsov O.S., Gorbunova M.N., Grishko V.V. Synthesis of vinyl-containing lupane- and A-secolupane-type triterpene esters // Chem. Nat. Compd. 2016. Vol. 52. N2. Pp. 256–261. DOI: 10.1007/s10600-016-1608-5.
16. Gorbunova M.N., Krainova G.F., Kisel'kov D.M., Nebogatikov V.O. Copolymers of betulin esters and silver nanocomposites based on them // Russ. J. Appl. Chem. 2016. Vol. 89. N3. Pp. 437–444. DOI: 10.1134/S1070427216030149.
17. Krainova G.F., Tolmacheva I.A., Gorbunova M.N., Grishko V.V. Synthesis of lupane and A-secolupane allylamides // Chem. Nat. Compd. 2013. Vol. 49. N2. Pp. 281–285. DOI: 10.1007/s10600-013-0582-4.
18. Gorbunova M.N., Krainova G.F., Tolmacheva I. A., Grishko V.V. Synthesis of new biologically active polymer bioconjugates based on lupane allylamides // Russ. J. Bioorg. Chem. 2015. Vol. 41. N7. Pp. 732–738. DOI: 10.1134/S1068162015070043.
19. Флехтер О.Б., Нигматуллина Л.Р., Балтина Л.А., Карачурина Л.Т., Галин Ф.З., Зарудий Ф.С., Толстикова Г.А., Бореко Е.И., Павлова Н.И., Николаева С.Н., Савинова О.В. Получение бетулиновой кислоты из экстракта бетулина. Противовирусная и противовозвненная активность некоторых родственных терпеноидов // Химико-фармацевтический журнал. 2002. Т. 36. №9. С. 26–28.
20. Флехтер О.Б., Ашавина О.Ю., Бореко Е.И., Карачурина Л.Т., Павлова Н.И., Кабальнова Н.Н., Савинова О.В., Галин Ф.З., Николаева С.Н., Зарудий Ф.С., Балтина Л.А., Толстикова Г.А. Синтез 3-О-ацетилбетулинового и бетулонового альдегидов по сверну и фармакологическая активность их оксимов // Химико-фармацевтический журнал. 2002. Т. 36. №6. С. 21–24.
21. Физер Л., Физер М. Реагенты для органического синтеза. М.: Мир, 1971. Т. 4. С. 49.
22. Scudiero D.A., Shoemaker R.H., Paull K.D., Monks A., Tierney S., Notzinger T.H., Currens M.T., Seniff D., Boyd M.K. Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines // Cancer Res. 1988. Vol. 48. Pp. 4827–4833.

*Поступила в редакцию 29 мая 2019 г.*

*После переработки 17 июля 2019 г.*

*Принята к публикации 7 ноября 2019 г.*

**Для цитирования:** Горбунова М.Н., Крайнова Г.Ф., Воронина А.О. Синтез тритерпеновых полимерных конструкций // Химия растительного сырья. 2020. №1. С. 49–56. DOI: 10.14258/jcrpm.2020015609.

Gorbunova M.N.\*, Krainova G.F., Voronina A.O. SYNTHESIS OF TRITERPENE POLYMER CONSTRUCTIONS  
Institute of Technical Chemistry, Ural Branch of RAS, ul. Akademika Koroleva, 3, Perm, 614013 (Russia),  
e-mail: mngorb@yandex.ru

The pentacyclic triterpenoids betulin and betulonic acid are promising sources of new biologically active compounds. Grafting them onto polymer matrices leads to the formation of effective dosage forms compared to the original drug. On the basis of betulin and betulonic acid, the synthesis of polymer structures with a fragment of triterpene in the side chain was carried out. New triterpene-containing polymer ensembles were obtained by the method of polymer-analogous transformations of copolymers of N-vinylpyrrolidone with N-(*n*-carboxy) phenylmaleimide and p-aminostyrene. By crosslinking the carboxyl groups of the copolymer of N-vinylpyrrolidone with N-(*n*-carboxy) phenylmaleimide with betulin hydroxyl groups and the reaction of the amino groups of the copolymer of N-vinyl pyrrolidone with p-aminopyrrol with carboxyl groups of betulonic acid, polymer structures with polycyclic triterpene fragments are obtained. The resulting polymer ensembles have higher activity against melanoma compared to the original copolymers. A polymer based on a copolymer of N-vinylpyrrolidone with N-(*n*-carboxy) phenylmaleimide and betulin at a concentration of 40.48  $\mu\text{M}$  inhibits 50% of MS cells, while 50% of MS cells die under the influence of 68.29  $\mu\text{M}$  betulin. New triterpene-containing polymer ensembles are promising for the development of new biologically active polymer bioconjugates.

**Keywords:** betulin, betulonic acid, N-vinylpyrrolidone, radical copolymerization, cytotoxic activity.

## References

1. Tolstikov G.A., Flekhter O.B., Shul'ts E.E., Baltina L.A., Tolstikov A.G. *Khimiya v interesakh ustoychivogo razvitiya*, 2005, vol. 13, pp. 1–30. (in Russ.).
2. Yogeewari P., Sriram D. *Curr. Med. Chem.*, 2005, vol. 12, pp. 657–666.
3. Tolstikova T.G., Sorokina I.V., Tolstikov G.A., Tolstikov A.G., Flekhter O.B. *Rus. J. Bioorg. Chem.*, 2006, vol. 32, no. 3, pp. 261–276. DOI: 10.1134/S1068162006030083.
4. Alakurtti S., Mäkelä T., Koskimies S., Yli-Kauhaluoma J. *Europ. J. Pharm. Sciences*, 2006, vol. 29, no. 1, pp. 1–13. DOI: 10.1016/j.ejps.2006.04.006.
5. Krasutsky P.A. *Nat. prod. rep.*, 2006, vol. 23, no. 6, pp. 919–942.
6. Tolstikova T.G., Sorokina I.V., Tolstikov G.A., Tolstikov A.G., Flekhter O.B. *Rus. J. Bioorg. Chem.*, 2006, vol. 32, no. 1, pp. 37–49. DOI: 10.1134/S1068162006010031.
7. Yu D., Wild C.T., Martin D.E., Morris-Natschke S.L., Chen C.H., Allaway G.P., Lee K.H. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 2005, vol. 14, pp. 681–693. DOI: 10.1517/13543784.14.6.681
8. Lee K.-H. *J. Nat. Prod.*, 2010, vol. 73, pp. 500–516. DOI: 10.1021/np900821e.
9. Qian K., Morris-Natschke S.L., Lee K.H. *Med. Res. Rev.*, 2009, vol. 29, pp. 369–393. DOI: 10.1002/med.20138.
10. Pichette A., Liu H., Roy C., Tanguay S., Simard F., Lavoie S. *Synth. Commun.*, 2004, vol. 34, no. 21, pp. 3925–3937. DOI: 10.1081/SCC-200034788.
11. Era V., Jaaskelamen P., Ukkonen K. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 1981, vol. 58, no. 1, pp. 20–23.
12. Era V., Mustonen T., Jaaskelainen P. *Mackromol. Chem. Rapid Commun.*, 1981, vol. 2, pp. 283–286. DOI: 10.1002/marc.1981.030020407.
13. Patent 1671666 (USSR). 1991. (in Russ.).
14. Gorbunova M.N., Krainova G.F., Tolmacheva I.A., Grishko V.V. *Russ. J. Appl. Chem.*, 2012, vol. 85, no. 7, pp. 1137–1141. DOI: 10.1134/S1070427212070269.
15. Krainova G.F., Tolmacheva I.A., El'tsov O.S., Gorbunova M.N., Grishko V.V. *Chem. Nat. Compd.*, 2016, vol. 52, no. 2, pp. 256–261. DOI: 10.1007/s10600-016-1608-5.
16. Gorbunova M.N., Krainova G.F., Kisel'kov D.M., Nebogatikov V.O. *Russ. J. Appl. Chem.*, 2016, vol. 89, no. 3, pp. 437–444. DOI: 10.1134/S1070427216030149.
17. Krainova G.F., Tolmacheva I.A., Gorbunova M.N., Grishko V.V. *Chem. Nat. Compd.*, 2013, vol. 49, no. 2, pp. 281–285. DOI: 10.1007/s10600-013-0582-4.
18. Gorbunova M.N., Krainova G.F., Tolmacheva I. A., Grishko V.V. *Russ. J. Bioorg. Chem.*, 2015, vol. 41, no. 7, pp. 732–738. DOI: 10.1134/S1068162015070043.
19. Flekhter O.B., Nigmatullina L.R., Baltina L.A., Karachurina L.T., Galin F.Z., Zarudiy F.S., Tolstikov G.A., Boreko Ye.I., Pavlova N.I., Nikolayeva S.N., Savinova O.V. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*, 2002, vol. 36, no. 9, pp. 26–28. (in Russ.).
20. Flekhter O.B., Ashavina O.Yu., Boreko Ye.I., Karachurina L.T., Pavlova N.I., Kabal'nova N.N., Savinova O.V., Galin F.Z., Nikolayeva S.N., Zarudiy F.S., Baltina L.A., Tolstikov G.A. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*, 2002, vol. 36, no. 6, pp. 21–24. (in Russ.).
21. Fizer L., Fizer M. *Reagenty dlya organicheskogo sinteza*. [Reagents for organic synthesis]. Moscow, 1971, vol. 4, p. 49. (in Russ.).
22. Scudiero D.A., Shoemaker R.H., Paull K.D., Monks A., Tierney S., Notzinger T.H., Currens M.T., Seniff D., Boyd M.K. *Cancer Res.*, 1988, vol. 48, pp. 4827–4833.

Received May 29, 2019

Revised July 17, 2019

Accepted November 7, 2019

**For citing:** Gorbunova M.N., Krainova G.F., Voronina A.O. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2020, no. 1, pp. 49–56. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2020015609.

\* Corresponding author.