

УДК 54.05+547.91

СИНТЕЗ СМЕШАННЫХ КРИСТАЛЛОВ БЕТУЛИНА С СУБЕРИНОВОЙ КИСЛОТОЙ И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ СВОЙСТВ

© *А.В. Михайловская¹, С.А. Мызь¹, К.Б. Герасимов¹, С.А. Кузнецова², Т.П. Шахтинейдер^{1*}*

¹ *Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН,
ул. Кутателадзе, 18, Новосибирск, 630128, (Россия),
e-mail: shah@solid.nsc.ru*

² *Институт химии и химической технологии СО РАН, ФИЦ «Красноярский
научный центр СО РАН», Академгородок 50/24, Красноярск, 660036,
(Россия)*

Бетулин и его производные, относящиеся к ряду лупановых тритерпеноидов, привлекают огромный интерес из-за широкого спектра биологической и фармакологической активности. Однако плохая растворимость тритерпеноидов в водных средах существенно снижает их биодоступность. Получение смешанных кристаллов, то есть многокомпонентных кристаллических систем, содержащих в своей структуре активные фармацевтические ингредиенты и нетоксичные молекулы-партнеры, используется в фармации для изменения физико-химических свойств лекарственных веществ, в том числе скорости растворения и растворимости. В данной работе получены смешанные кристаллы бетулина с субериновой кислотой механохимической обработкой при добавлении небольших количеств органических растворителей различной полярности: этанола, ацетона, этилацетата, хлороформа, толуола, диоксана. Образование смешанных кристаллов подтверждено методами рентгенофазового анализа, ИК-спектроскопии, а также методами термического анализа. Показано, что смешанные кристаллы бетулина с субериновой кислотой содержат в своей структуре молекулы воды, в то время как безводные смешанные кристаллы могут быть получены при нагревании физической смеси реагентов до плавления кислоты. Результаты экспериментов по растворению смешанных кристаллов бетулина с субериновой кислотой в сравнении с данными для со-кристаллов бетулина с адипиновой кислотой показали, что увеличение длины алифатической цепи кислоты приводит к снижению скорости выделения бетулина в раствор.

Ключевые слова: механохимический синтез, бетулин, субериновая кислота, смешанные кристаллы.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИХТТМ СО РАН (проект № FWUS-2021-0009) и ИХХТ СО РАН (проект 0287-2021-0017).

Введение

В последние два десятилетия возрос интерес к тритерпеновым соединениям, содержащимся в боль-

Михайловская Анастасия Витальевна – младший научный сотрудник лаборатории синтеза и физико-химического анализа функциональных материалов, e-mail: mihailovskaya.a@list.ru

Мызь Светлана Анатольевна – кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории синтеза и физико-химического анализа функциональных материалов, e-mail: apenina79@gmail.com

Герасимов Константин Борисович – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории синтеза и физико-химического анализа функциональных материалов, e-mail: gerasimov@solid.nsc.ru

Кузнецова Светлана Алексеевна – доктор химических наук, доцент, главный научный сотрудник лаборатории химии природного органического сырья, e-mail: kuznetssvetl@yandex.ru

Шахтинейдер Татьяна Петровна – доктор химических наук, старший научный сотрудник, ученый секретарь, e-mail: shah@solid.nsc.ru

ших количествах в разных видах растительного сырья. Бетулин и его производные, относящиеся к ряду лупановых тритерпеноидов, привлекают огромный интерес из-за широкого спектра биологической и фармакологической активности. Установлено, что бетулин и его производные обладают противовирусной, противовоспалительной, противоопухолевой, антиоксидантной активностью, а также антисептическими свойствами, и могут быть использованы в медицине, ветеринарии, фармацевтической, парфюмерно-косметической и других отраслях промышленности [1–5].

Однако бетулин, как и многие его производные, обладает низкой растворимостью в водных

* Автор, с которым следует вести переписку.

средах, что снижает его биодоступность. Для повышения скорости растворения и растворимости бетулина и его производных используются различные способы, включая встраивание в органические и неорганические наносистемы [2, 6]. Недостатком используемых методов часто является низкая стабильность таких систем, поскольку лекарственное вещество, как правило, находится в аморфном состоянии и связано с носителем слабыми водородными или Ван-дер-Ваальсовыми связями.

Для улучшения растворимости активных фармацевтических ингредиентов (АФИ) возможно также получение их кристаллических форм. Это могут быть полиморфные модификации, солевые формы, сольваты и гидраты, а также смешанные кристаллы, обладающие повышенной скоростью растворения [7]. Получение смешанных кристаллов, то есть многокомпонентных кристаллических систем, содержащих в своей структуре АФИ и нетоксичные молекулы-партнеры, используется в фармации для изменения физико-химических свойств лекарственных веществ, в том числе скорости растворения и растворимости [8, 9].

Субериновая (пробковая) кислота ($C_4H_8(COOH)_2$) нередко используется в фармации для получения смешанных кристаллов [10]. На рисунке 1 представлены структурные формулы бетулина и субериновой кислоты. Функциональными группами бетулина являются первичная и вторичная гидроксильные группы. В соответствии с этим бетулин способен вступать в межмолекулярное взаимодействие с дикарбоновой кислотой с образованием водородных связей с функциональными группами кислоты.

Существует много способов получения смешанных кристаллов [11]. Наиболее популярным способом является кристаллизация из раствора. Для неразлагающихся при нагревании компонентов применяется метод распылительной сушки. Совместное плавление может использоваться, когда компоненты плавятся без разложения. Альтернативным способом получения смешанных кристаллов является механическая обработка в шаровой мельнице с использованием небольших количеств растворителя [12]. Механохимический метод обладает рядом преимуществ, таких как быстрота осуществления, эффективность и экологическая безопасность. Кроме того, при механохимическом синтезе не происходит образования сольватов, как при сокристаллизации из раствора.

Поскольку бетулин может легко образовывать сольваты [13], механохимический метод является перспективным для приготовления со-кристаллов бетулина по сравнению с классической кристаллизацией из раствора. В предыдущих работах мы синтезировали смешанные кристаллы бетулина с адипиновой, субериновой и терефталевой кислотами механохимическим методом [14–16]. Показано, что скорость растворения и растворимость бетулина в случае смешанных кристаллов выше по сравнению с исходным бетулином.

Известно, что свойства смешанных кристаллов лекарственных веществ с дикарбоновыми кислотами зависят от длины цепи карбоновой кислоты. Так, в работе [17] был использован целый ряд алифатических дикарбоновых кислот для получения смешанных кристаллов с итраконазолом и выявлено максимальное число атомов углерода алифатической цепи – С7 – для успешной сокристаллизации лекарственного вещества. Поэтому представляло интерес выяснить влияние длины цепи дикарбоновых кислот на синтез и свойства смешанных кристаллов бетулина.

Смешанные кристаллы бетулина с субериновой кислотой в работе [14] были получены в присутствии небольших количеств диоксана. Целью настоящей работы было исследование возможности осуществления механохимического синтеза смешанных кристаллов бетулина с субериновой кислотой при использовании различных органических растворителей, а также изучение свойств, полученных сокристаллов в сравнении со смешанными кристаллами бетулина с другими кислотами.

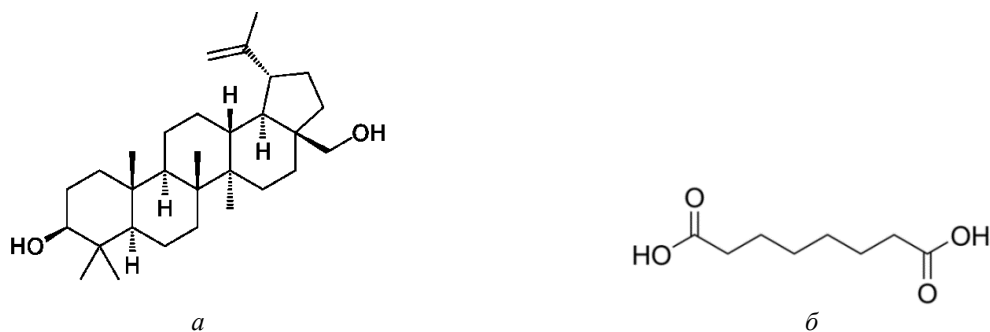


Рис. 1. Молекулярные структуры бетулина (а) и субериновой кислоты (б)

Экспериментальная часть

В работе использовали *бетулин*, полученный из коры березы в Институте химии и химической технологии СО РАН (Красноярск) по оригинальной методике [18]. Бетулин очищали путем перекристаллизации из этанола, содержание лупеола составляло менее 1% [13].

Субериновую кислоту (SubA) (Riedel-de Haen AG, Швейцария) использовали без предварительной очистки и сушки. Этилацетат и хлороформ (Reachim, ОАО, Россия) очищали перегонкой. Остальные растворители (табл. 1) (Reachim JSC, Россия или Sigma-Aldrich, США) были аналитического качества и использованы без дополнительной очистки.

Для приготовления смешанных кристаллов смеси бетулин – субериновая кислота в молярных соотношениях 1 : 2, 1 : 1, 2 : 1 измельчали в мельнице SPEX 8000 (CertiPrep Inc., США). При обработке в мельнице SPEX использовали стальной барабан емкостью 60 мл и стальные шары диаметром 6 мм. Соотношение массы образца к массе шаров составляло 1 : 40, ускорение шаров – 8–10 g. В дополнение к сухому помолу проводили обработку с добавлением жидкости: сначала смеси размалывали в сухом виде в течение 5 мин, затем добавляли 1 мл растворителя и пасту измельчали еще в течение 15, 20 или 25 мин.

Рентгенофазовый анализ (РФА) проводили на дифрактометре D8 Advance с детектором Lynx-Eye фирмы Bruker (Германия), $\text{CuK}\alpha$ – излучение, $2\theta = 5\text{--}70$.

ИК-спектры нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) в диапазоне частот 4000–580 cm^{-1} снимали с разрешением 4 cm^{-1} на Фурье ИК-спектрометре Digilab Excalibur 3100 (США) с использованием приставки НПВО фирмы Pike с кристаллом ZnSe без специальной подготовки образцов.

Калориметрические измерения (ДСК) выполняли с использованием калориметра DSC 200 F3 MAIA (Netzsch, Германия). Около 5 мг твердых образцов помещали в закрытые алюминиевые тигли объемом 40 мкл, сканировали в температурном интервале от 25 до 250 °С в атмосфере аргона со скоростью нагрева 6 °С/мин.

Высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) проводили на микроколоночном хроматографе Милихром А-02 (Эконова, Россия) с УФ-детектором. Условия хроматографирования: колонка N2301 2.0×75 мм, сорбент ProntoSIL 120-5C18 AQ, размер частиц 5.0 мкм, подвижная фаза $\text{H}_2\text{O}(\text{A})$ – $\text{CH}_3\text{CN}(\text{B})$, градиентный режим 80-100-100% В. Объем аликвоты составлял 2 мкл. Скорость потока – 100 мкл/мин, $T=35$ °С. Бетулин определяли на длине волны 200 нм. Хроматограммы обрабатывали с использованием программы МультиХром СПЕКТР.

Растворение смешанных кристаллов бетулина исследовали с помощью тестера растворимости Varian 705 DS (США). С использованием соответствующих сит отбирали фракцию механически обработанной смеси с размерами частиц 125–315 мкм. Навеску образца, содержащую бетулин в количестве, превышающем количество, необходимое для достижения насыщенного раствора, помещали в термостатированный при 37 ± 0.5 °С стеклянный стакан, в котором находилась механическая мешалка. Стакан заполняли дистиллированной водой в объеме 200 мл. Через промежутки времени 15, 30, 60 и 120 мин отбирали раствор, объем которого составлял 20 мл (объем раствора при этом не компенсировался). Далее раствор фильтровали через фильтровальную бумагу (синяя лента). Смесь экстрагировали гексаном три раза, фильтраты собирали и сушили над безводным сульфатом натрия Na_2SO_4 . После выпаривания остаток растворяли в этаноле. Содержание бетулина в этанольных растворах определяли с помощью ВЭЖХ. В качестве элюента использовали градиент ацетонитрила (от 80 до 100%) в фосфатном буфере при $\text{pH} = 6.5$. Перед экспериментами по растворению проводили хроматографический анализ четырех калибровочных растворов с определенной концентрацией (0.048–0.4 мг/мл) исходного образца в этаноле.

Результаты и обсуждение

На рисунке 2 представлены дифрактограммы исходного бетулина, субериновой кислоты и их смесей, измельченных в мельнице SPEX с добавлением диоксана с различным молярным соотношением исходных компонентов и с разным временем обработки. Анализ рентгенограмм смесей с различным соотношением исходных компонентов показал, что наиболее подходящим соотношением компонентов бетулин – субериновая кислота для получения смешанного кристалла механохимическим методом является молярное соотношение 1 : 1, при этом достаточным временем обработки является 20 мин (рис. 2, кривая 4). Через 20 мин обработки наблюдается исчезновение рефлексов исходных компонентов и появление новых, относящихся к смешанному кристаллу.

Изменения в ИК-спектрах механически обработанных смесей подтверждают образование смешанного кристалла. После механической обработки смеси бетулин – субериновая кислота наблюдается сдвиг валентных колебаний бетулина О-Н ($3600\text{--}3300\text{ см}^{-1}$) в низкочастотную область. При этом полоса валентных колебаний бетулина С-О (около 1020 см^{-1}) сдвигается в высокочастотную область (рис. 3). Это говорит о том, что гидроксильные группы бетулина участвуют в образовании межмолекулярной водородной связи с карбоксильными группами субериновой кислоты.

Чтобы изучить влияние растворителя на образование смешанного кристалла бетулин – субериновая кислота, кроме диоксана были использованы другие растворители: этанол, ацетон, хлороформ, этилацетат и толуол. Добавление этилацетата, ацетона и хлороформа в смеси, измельчаемые в мельнице SPEX, привело к изменениям на дифрактограммах (рис. 4), аналогично наблюдаемым при добавлении диоксана. При синтезе в присутствии этанола и толуола на дифрактограммах кроме рефлексов смешанного кристалла наблюдались пики исходных компонентов, которые исчезали с увеличением времени обработки до 25 мин.

В таблице приведены некоторые физико-химические свойства растворителей, использованных для синтеза смешанного кристалла бетулина с субериновой кислотой, а также результаты синтеза.

В предыдущих работах [16, 21] в случае растворителей, в которых ни один из компонентов не растворим, смешанные кристаллы не были получены. Возможным механизмом, объясняющим влияние жидкой фазы на протекание механохимического синтеза, может быть облегчение диффузионных процессов в присутствии растворителя [16, 21]. Субериновая кислота, благодаря увеличенной по сравнению с адипиновой кислотой гидрофобной частью, растворима не только в полярных, но и малополярных растворителях. В результате, в отличие от синтеза смешанных кристаллов бетулина с адипиновой кислотой [16], смешанные кристаллы с субериновой кислотой были получены при механической обработке в присутствии любого из использованных растворителей. В то же время медленная скорость взаимодействия может быть связана с низкой растворимостью компонентов в данном растворителе.

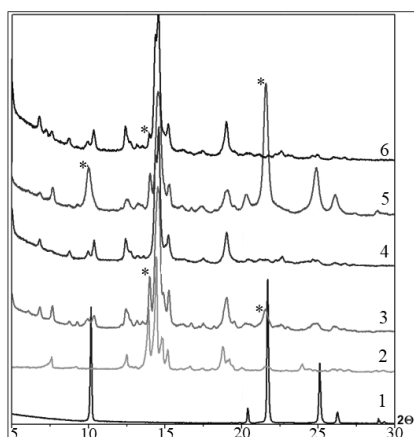


Рис. 2. Рентгеновские дифрактограммы субериновой кислоты (1); бетулина (2); смесей бетулина с субериновой кислотой, механически обработанных в различных молярных соотношениях и при различных временах обработки: 1 : 1, 15 мин (3), 1 : 1, 20 мин (4), 1 : 2, 20 мин (5), 2 : 1, 20 мин (6). Звездочками отмечены рефлексы исходных компонентов в механически обработанных смесях

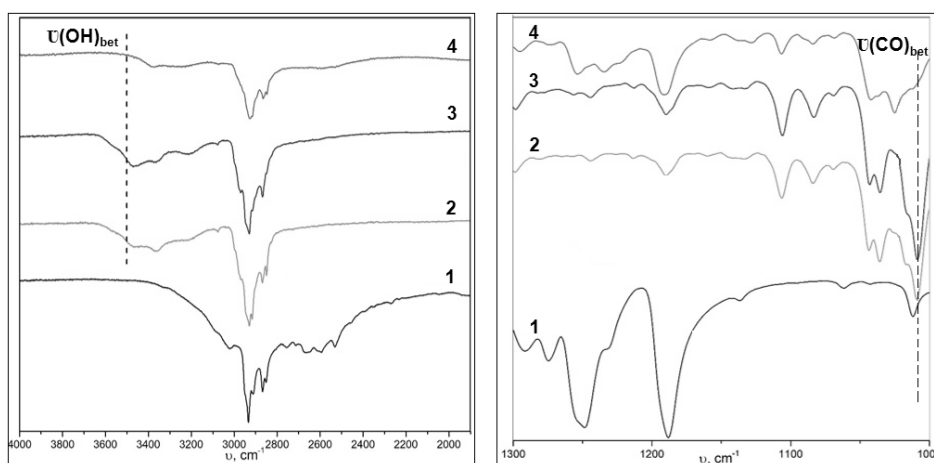


Рис. 3. ИК-спектры субериновой кислоты (1); бетулина (2); физической смеси бетулин – субериновая кислота 1 : 1 (3); механоактивированной смеси бетулин – субериновая кислота 1 : 1 при времени обработки 20 мин (4)

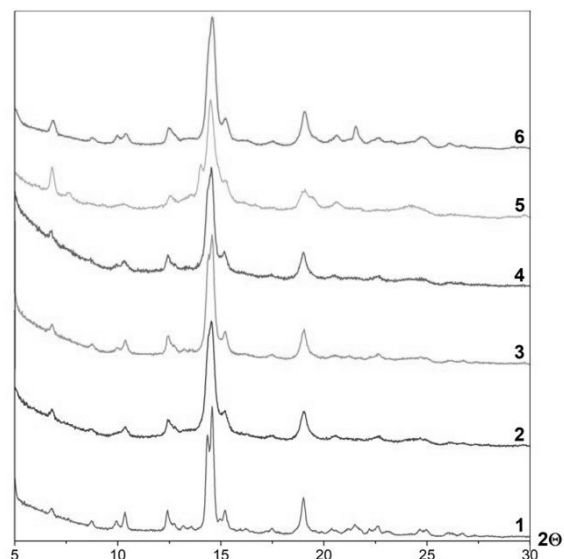


Рис. 4. Рентгеновские дифрактограммы смесей бетулина с субериновой кислотой (1 : 1), механически обработанных в течение 20 мин в присутствии диоксана (1), ацетона (2), этилацетата (3), хлороформа (4); в течение 25 мин в присутствии толуола (5), этанола (6)

На рисунке 5 приведены кривые ДСК исходного бетулина и субериновой кислоты, которые аналогичны представленным в работах [10, 22] и на которых наблюдаются тепловые эффекты, относящиеся к процессам удаления воды (в случае бетулина), плавлению и полиморфным переходам в данных веществах. На кривых ДСК механоактивированной смеси бетулина с субериновой кислотой (рис. 5, кривая 4) можно видеть, что после механической активации термические эффекты исходных компонентов отсутствуют, что подтверждает их полное взаимодействие при соотношении компонентов бетулин – субериновая кислота 1 : 1. При этом ДСК-кривые для механически активированной и физической смесей отличаются, что подтверждает образование при механической обработке новой кристаллической фазы – смешанного кристалла. Наличие эндо-эффектов в области 100–120 °С на ДСК-кривой механически активированной смеси может быть связано с удалением воды из структуры смешанного кристалла.

Физико-химические свойства растворителей, использованных для механохимического синтеза смешанных кристаллов бетулина с субериновой кислотой, и результат синтеза («+» означает, что смешанный кристалл был получен)

Растворитель	Диэлектрическая проницаемость	Смешиваемость с водой, масс. %	Растворимость субериновой кислоты [19], $10^2 x_i^*$	Растворимость бетулина [20], $10^4 x_i^*$	Результат синтеза
Этанол	24.3	смешивается	2.81	8.98	+ (медленно)
Ацетон	20.7	смешивается	не найдено	15.78	+
Этилацетат	6.02	9.7	0.31	20.66	+
Хлороформ	4.7	0.065	не найдено	43.70	+
Толуол	2.4	не смешивается	не найдено	~ 24	+ (медленно)
1,4-Диоксан	2.21	смешивается	не найдено	~ 289	+

* x_i – растворимость, мольные доли.

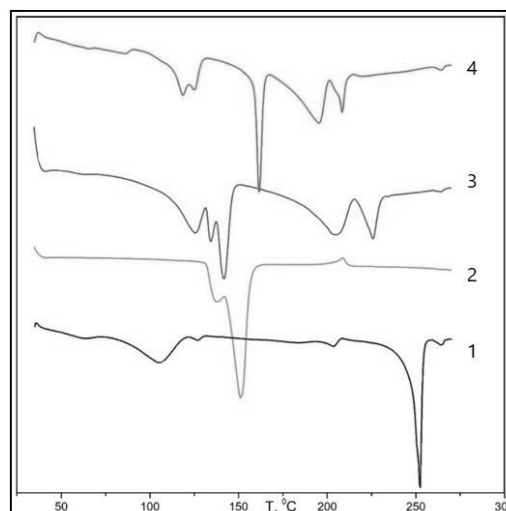


Рис. 5. Кривые ДСК исходного бетулина (1) и субериновой кислоты (2); физической смеси бетулин – субериновая кислота (1 : 1) (3); смеси бетулин – субериновая кислота (1 : 1), механически активированной в присутствии диоксана при времени обработки 20 мин (4)

На кривой ДСК физической смеси наблюдается пик плавления кислоты, но отсутствует пик плавления бетулина. Можно предположить, что бетулин взаимодействует с субериновой кислотой после плавления кислоты.

Образцы физической смеси бетулин – субериновая кислота в молярном соотношении 1 : 1 нагревали при 145–150 °С до момента плавления кислоты. Плавления бетулина при этом не наблюдали. После охлаждения полученные образцы анализировали с помощью метода ИК-спектроскопии. При сравнении ИК-спектров полученных образцов со спектрами механически активированной смеси бетулин-субериновая кислота (1 : 1) (рис. 6) видно одинаковое поведение спектров для механически активированной смеси и образца, полученного при нагревании смеси бетулин – субериновая кислота (1 : 1). При этом следует отметить отсутствие полосы при 3250 см⁻¹ в спектре смешанного кристалла, полученного при нагревании, а также небольшие сдвиги полос около 1020 см⁻¹, относящихся к валентным колебаниям С-О и деформационным колебаниям С-О, С-С и С-Н. Отличие спектров может быть связано с наличием воды в структуре смешанного кристалла, полученного при механохимическом синтезе. Очевидно, что при нагревании был получен безводный смешанный кристалл бетулин – субериновая кислота. Таким образом, можно сделать вывод, что сокристалл бетулин – субериновая кислота можно получить как методом механохимической активации, так и нагреванием смеси компонентов до расплавления кислоты.

На рисунке 7 представлены кривые растворения для физических и механически активированных смесей бетулина с субериновой кислотой. Для сравнения приведены данные для смесей с адипиновой кислотой [14]. Можно видеть, что в случае механической активации смеси бетулин – адипиновая кислота с молярным соотношением компонентов 1 : 1 происходит более резкое увеличение скорости выделения бетулина в раствор по сравнению с механоактивированной смесью бетулин – субериновая кислота. Ранее проведенные исследования по растворению смешанных кристаллов показали [21], что для скорости растворения имеет значение не только энергия межмолекулярных взаимодействий в кристалле, но и легкость атаки молекул в кристалле молекулами растворителя, определяемая кристаллической структурой. По-видимому, увеличение гидрофобной части молекулярного комплекса с ростом длины алифатической цепи кислоты приводит к уменьшению скорости растворения и более низкой концентрации вещества в растворе.

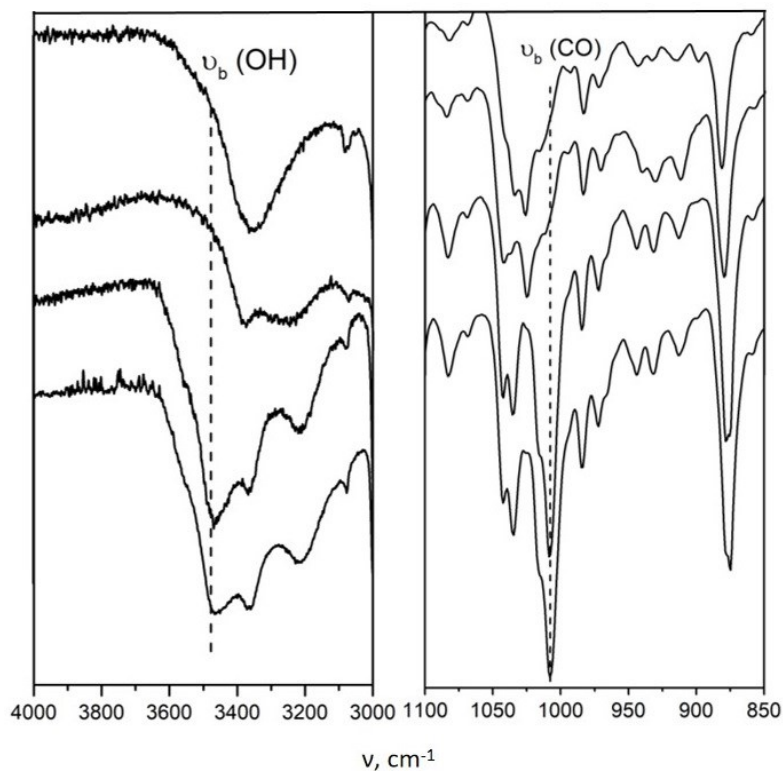
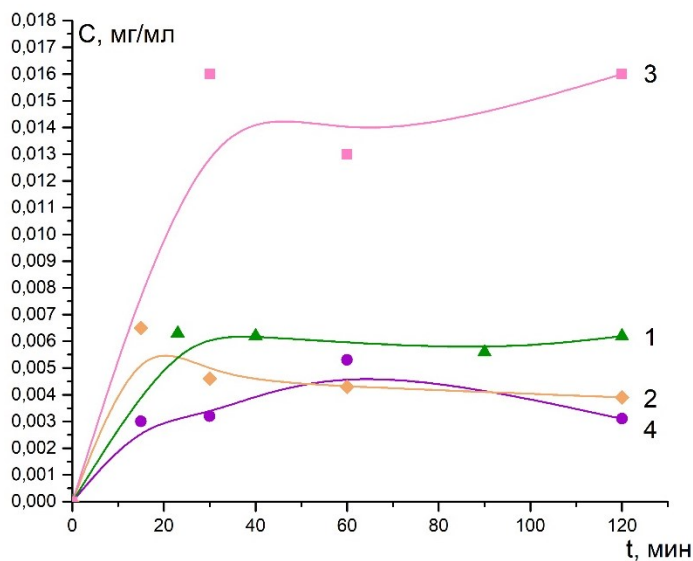


Рис. 6. ИК-спектры бетулина (1); физической смеси бетулин – субериновая кислота 1 : 1 (2); механоактивированной смеси бетулин – субериновая кислота 1 : 1 (3); образца, полученного при нагревании физической смеси бетулин – субериновая кислота 1 : 1 (4)

Рис. 7. Кривые растворения образцов физических смесей бетулина с адипиновой кислотой (1), с субериновой кислотой (2); со-кристаллов бетулина, полученных механохимической обработкой с добавлением диоксана: с адипиновой кислотой (молярное соотношение реагентов 1 : 1, время обработки 15 мин) (3), с субериновой кислотой (молярное соотношение реагентов 1 : 1, время обработки 20 мин) (4)



Выводы

Механохимической обработкой при добавлении небольших количеств органических растворителей получены смешанные кристаллы бетулина с субериновой кислотой. Образование смешанных кристаллов подтверждено методами рентгенофазового анализа, ИК-спектроскопии, а также методами термического анализа. Показано, что смешанные кристаллы могут быть также получены при нагревании физической смеси реагентов до плавления кислоты. Эксперименты по растворению смешанных кристаллов бетулина с субериновой кислотой в сравнении с данными для со-кристаллов бетулин – адипиновая кислота показали, что увеличение длины алифатической цепи кислоты приводит к снижению скорости выделения бетулина в раствор, что позволяет проводить целенаправленный выбор молекул-партнеров для солюбилизации лекарственных форм на основе бетулина путем сокристаллизации.

Список литературы

- Amiri S., Dastghaib S., Ahmadi M., Mehrbod P., Khademe F., Behroujb H., Aghanoorif M-R., Machajg F., Ghamsaric M., Rosikg J., Hudeckih A., Afkhamic A., Hashemii M., Los M.J., Mokarram P., Madrakianc T., Ghavamia S. Betulin and its derivatives as novel compounds with different pharmacological effects // *Biotechnology Advances*. 2020. Vol. 38. Art. 107409. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2019.06.008.
- 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.
- Shakhtshneider T.P., Kuznetsova S.A., Zamay A.S., Zamay T.N., Spivak E.A., Mikhailenko M.M., Malyar Yu.N., Kuznetsov B.N., Chesnokov N.V., Boldyrev V.V. New composites of betulin esters with arabinogalactan as highly potent anti-cancer agents // *Natural Product Research*. 2016. Vol. 30. Pp. 1382–1387. DOI: 10.1080/14786419.2015.1060591.
- Król S.K., Kielbus M., Rivero-Müller A., Stepulak A. Comprehensive review on betulin as a potent anticancer agent // *BioMed Research International*. 2015. Vol. 2015. Pp. 1–11. DOI: 10.1155/2015/584189.
- Кузнецова С.А., Скворцова 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.
- Mierina I., Vilskersts R., Turks M. Delivery systems for birch-bark triterpenoids and their derivatives in anticancer research // *Current Medicinal Chemistry*. 2018. Vol. 25. Pp. 1–29.
- Healy A.M., Worku Z.A., Kumar D., Madi A.M. Pharmaceutical solvates, hydrates and amorphous forms: A special emphasis on cocrystals // *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2017. Vol. 117. Pp. 25–46. DOI: 10.1016/j.addr.2017.03.002.
- Jones W., Motherwell W.D.S., Trask A.V. Pharmaceutical cocrystals: An emerging approach to physical property enhancement // *MRS Bulletin*. 2006. Vol. 31. Pp. 875–879. DOI: 10.1557/mrs2006.206.
- Qiao N., Li M., Schindwein W., Malek N., Davies A., Trappitt G. Pharmaceutical cocrystals: An overview // *International Journal of Pharmaceutics*. 2011. Vol. 419. Pp. 1–11. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2011.07.037.

10. Weng J.W., Wong S.N., Xu X.Y., Xuan B.F., Wang C.G., Chen R.P., Sun C.C., Lakerveld R., Kwok P.C.L., Chow S.F. Cocrystal engineering of itraconazole with suberic acid via rotary evaporation and spray drying // *Crystal Growth and Design*. 2019. Vol. 19. Pp. 2736–2745. DOI: 10.1021/acs.cgd.8b01873.
11. Rodrigues M., Baptista B., Lopes J.A., Sarraguça M.C. Pharmaceutical cocrystallization techniques. Advances and challenges // *International Journal of Pharmaceutics*. 2018. Vol. 547. Pp. 404–420. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2018.06.024.
12. Hasa D., Jones W. Screening for new pharmaceutical solid forms using mechanochemistry: A practical guide // *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2017. Vol. 117. Pp. 147–161. DOI: 10.1016/j.addr.2017.05.001.
13. Михайленко М.А., Шахтшнейдер Т.П., Брезгунова М.Е., Дребушак В.А., Кузнецова С.А., Болдырев В.В. Получение и исследование физико-химических свойств сольватов бетулина // *Химия растительного сырья*. 2010. №2. С. 63–70.
14. Myz S.A., Mikhailovskaya A.V., Mikhailenko M.A., Bulina N.V., Kuznetsova S.A., Shakhtshneider T.P. New crystalline betulin-based materials: improving betulin solubility via cocrystal formation // *Materials Today: Proceedings*. 2019. Vol. 12. Pp. 82–85. DOI: 10.1016/j.matpr.2019.03.069.
15. Mikhailovskaya A.V., Myz S.A., Bulina N.V., Gerasimov K.B., Kuznetsova S.A., Shakhtshneider T.P. Screening and characterization of cocrystal formation between betulin and terephthalic acid // *Materials Today: Proceedings*. 2020. Vol. 25. Pp. 381–383. DOI: 10.1016/j.matpr.2019.12.096.
16. Мызь С.А., Михайленко М.А., Михайловская А.В., Политов А.А., Кузнецова С.А., Шахтшнейдер Т.П. Механохимический синтез смешанных кристаллов бетулина с адипиновой кислотой // *Журнал Сибирского Федерального университета. Химия*. 2020. Т. 13. №4. С. 511–524.
17. Shevchenko A., Miroshnyk I., Pietilä L.-O., Naarala J., Salmia J., Sinervo K., Mirza S., van Veen B., Kolehmainen E., Yliruusi J. Diversity in itraconazole cocrystals with aliphatic dicarboxylic acids of varying chain length // *Crystal Growth and Design*. 2013. Vol. 13. Pp. 4877–4884. DOI: 10.1021/cg401061t.
18. Патент №2264411 (РФ). Способ получения бетулина / С.А. Кузнецова, Б.Н. Кузнецов, А.Г. Михайлов, В.А. Левданский. – 20.11.2005.
19. Qiushuo Y., Xiaoxun M., Wenyu G. Determination of the solubility, dissolution enthalpy and entropy of suberic acid in different solvents // *Fluid Phase Equilibria*. 2012. Vol. 330. Pp. 44–47. DOI: 10.1016/j.fluid.2012.06.012.
20. Cao D., Zhao G., Yan W. Solubilities of betulin in fourteen organic solvents at different temperatures // *Journal of Chemical and Engineering Data*. 2007. Vol. 52. Pp. 1366–1368. DOI: 10.1021/jc700069g.
21. Мызь С.А., Шахтшнейдер Т.П., Туманов Н.А., Болдырева Е.В. Получение и исследование смешанных кристаллов мелоксикама с карбоновыми кислотами // *Известия Академии наук. Серия химическая*. 2012. №9. С. 1782–1793.
22. Дребушак Т.Н., Михайловская А.В., Дребушак В.А., Михайленко М.А., Мызь С.А., Шахтшнейдер Т.П., Кузнецова С.А. Кристаллические формы бетулина. Полиморфизм или псевдополиморфизм? // *Журнал структурной химии*. 2020. №8. С. 1328–1334.

Поступила в редакцию 18 июня 2021 г.

После переработки 4 августа 2021 г.

Принята к публикации 12 августа 2021 г.

Для цитирования: Михайловская А.В., Мызь С.А., Герасимов К.Б., Кузнецова С.А., Шахтшнейдер Т.П. Синтез смешанных кристаллов бетулина с субериновой кислотой и исследование их свойств // *Химия растительного сырья*. 2021. №4. С. 183–192. DOI: 10.14258/jcprgm.2021049736.

Mikhailovskaya A.V.¹, Myz S.A.¹, Gerasimov K.B.¹, Kuznetsova S.A.², Shakhtshneider T.P.^{1}* SYNTHESIS OF COCRYSTALS OF BETULIN WITH SUBERIC ACID AND STUDY OF THEIR PROPERTIES

¹ Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry SB RAS, ul. Kutateladze, 18, Novosibirsk, 630128 (Russia), e mail: shah@solid.nsc.ru

² Institute of Chemistry and Chemical Technology SB RAS, Federal Research Center Krasnoyarsk Scientific Center of SB RAS, Akademgorodok, 50/24, Krasnoyarsk, 660036 (Russia)

Lupane triterpenoids, betulin and its derivatives, are attracting great interest due to their wide range of biological and pharmacological activities. However, the poor solubility of betulin and its derivatives in aqueous media significantly reduces their bioavailability. Obtaining cocrystals, that is, multicomponent crystal systems containing active pharmaceutical ingredients and non-toxic partner molecules in their structure, is used in pharmacy to change the physicochemical properties of drugs, including the rate of dissolution and solubility. In this study, cocrystals of betulin with suberic acid were obtained by liquid-assisted grinding method using organic solvents of different polarity: ethanol, acetone, ethyl acetate, chloroform, toluene, dioxane. The formation of cocrystals was confirmed by X-ray diffraction analysis, IR spectroscopy, and thermal analysis. It has been shown that cocrystals of betulin with suberic acid contain water molecules in their structure; anhydrous cocrystals can be obtained by heating a physical mixture of reagents until the acid melts. The results of experiments on the dissolution of cocrystals of betulin with suberic acid in comparison with the data for cocrystals of betulin with adipic acid showed that an increase in the length of the aliphatic acid chain leads to a decrease in the rate of betulin release into solution.

Keywords: mechanochemical synthesis, betulin, suberic acid, cocrystals.

References

1. Amiri S., Dastghaib S., Ahmadi M., Mehrbod P., Khademe F., Behroujb H., Aghanoorif M-R., Machajg F., Ghamsaric M., Rosikg J., Hudeckih A., Afkhamic A., Hashemii M., Los M.J., Mokarram P., Madrakianc T., Ghavamia S. *Biotechnology Advances*, 2020, vol. 38, art. 107409. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2019.06.008.
2. Vorob'yeva O.A., Malygina D.S., Grubova Ye.V., Mel'nikova N.B. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2019, no. 4, pp. 407–430. (in Russ.).
3. Shakhtshneider T.P., Kuznetsova S.A., Zamay A.S., Zamay T.N., Spivak E.A., Mikhailenko M.M., Malyar Yu.N., Kuznetsov B.N., Chesnokov N.V., Boldyrev V.V. *Natural Product Research*, 2016, vol. 30, pp. 1382–1387. DOI: 10.1080/14786419.2015.1060591.
4. Król S.K., Kielbus M., Rivero-Müller A., Stepulak A. *BioMed Research International*, 2015, vol. 2015, pp. 1–11. DOI: 10.1155/2015/584189.
5. Kuznetsova S.A., Skvortsova 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/jcpr.1302093. (in Russ.).
6. Mierina I., Vilskersts R., Turks M. *Current Medicinal Chemistry*, 2018, vol. 25, pp. 1–29.
7. Healy A.M., Worku Z.A., Kumar D., Madi A.M. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2017, vol. 117, pp. 25–46. DOI: 10.1016/j.addr.2017.03.002.
8. Jones W., Motherwell W.D.S., Trask A.V. *MRS Bulletin*, 2006, vol. 31, pp. 875–879. DOI: 10.1557/mrs2006.206.
9. Qiao N., Li M., Schlindwein W., Malek N., Davies A., Trappitt G. *International Journal of Pharmaceutics*, 2011, vol. 419, pp. 1–11. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2011.07.037.
10. Weng J.W., Wong S.N., Xu X.Y., Xuan B.F., Wang C.G., Chen R.P., Sun C.C., Lakerveld R., Kwok P.C.L., Chow S.F. *Crystal Growth and Design*, 2019, vol. 19, pp. 2736–2745. DOI: 10.1021/acs.cgd.8b01873.
11. Rodrigues M., Baptista B., Lopes J.A., Sarraguça M.C. *International Journal of Pharmaceutics*, 2018, vol. 547, pp. 404–420. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2018.06.024.
12. Hasa D., Jones W. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2017, vol. 117, pp. 147–161. DOI: 10.1016/j.addr.2017.05.001.
13. Mikhaylenko M.A., Shakhtshneyder T.P., Brezgunova M.Ye., Drebuschak V.A., Kuznetsova S.A., Boldyrev V.V. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2010, no. 2, pp. 63–70. (in Russ.).
14. Myz S.A., Mikhailovskaya A.V., Mikhailenko M.A., Bulina N.V., Kuznetsova S.A., Shakhtshneider T.P. *Materials Today: Proceedings*, 2019, vol. 12, pp. 82–85. DOI: 10.1016/j.matpr.2019.03.069.
15. Mikhailovskaya A.V., Myz S.A., Bulina N.V., Gerasimov K.B., Kuznetsova S.A., Shakhtshneider T.P. *Materials Today: Proceedings*, 2020, vol. 25, pp. 381–383. DOI: 10.1016/j.matpr.2019.12.096.
16. Myz' S.A., Mikhaylenko M.A., Mikhaylovskaya A.V., Politov A.A., Kuznetsova S.A., Shakhtshneyder T.P. *Zhurnal Sibirskogo Federal'nogo universiteta. Khimiya*, 2020, vol. 13, no. 4, pp. 511–524. (in Russ.).
17. Shevchenko A., Miroshnyk I., Pietilä L-O., Haara J., Salmia J., Sinervo K., Mirza S., van Veen B., Kolehmainen E., Yliruusi J. *Crystal Growth and Design*, 2013, vol. 13, pp. 4877–4884. DOI: 10.1021/cg401061t.
18. Patent 2264411 (RU). 20.11.2005. (in Russ.).
19. Qiushuo Y., Xiaoxun M., Wenyu G. *Fluid Phase Equilibria*, 2012, vol. 330, pp. 44–47. DOI: 10.1016/j.fluid.2012.06.012.
20. Cao D., Zhao G., Yan W. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 2007, vol. 52, pp. 1366–1368. DOI: 10.1021/jc700069g.

* Corresponding author.

21. Myz' S.A., Shakhtshneyder T.P., Tumanov N.A., Boldyreva Ye.V. *Izvestiya Akademii nauk. Seriya khimicheskaya*, 2012, no. 9, pp. 1782–1793. (in Russ.).
22. Drebuschak T.N., Mikhaylovskaya A.V., Drebuschak V.A., Mikhaylenko M.A., Myz' S.A., Shakhtshneyder T.P., Kuznetsova S.A. *Zhurnal strukturnoy khimii*, 2020, no. 8, pp. 1328–1334. (in Russ.).

Received June 18, 2021

Revised August 4, 2021

Accepted August 12, 2021

For citing: Mikhailovskaya A.V., Myz S.A., Gerasimov K.B., Kuznetsova S.A., Shakhtshneider T.P. *Khimiya Ras-titel'nogo Syr'ya*, 2021, no. 4, pp. 183–192. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2021049736.