

БЕТУЛИН КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОТИВОВИРУСНЫХ ПРЕПАРАТОВ*



А.В. Переславцева,
Институт технической химии
УрО РАН



Н.В. Галайко,
Институт технической химии
УрО РАН

Обсуждается перспективность исследований по разработке эффективных противовирусных препаратов на основе полусинтетических производных пентациклического тритерпеноида растительного происхождения бетулина. При этом основное внимание уделено оценке возможности использования тритерпеновых производных для подавления размножения оболочечных вирусов, вызывающих социально опасные инфекционные заболевания – грипп, герпес и ВИЧ.

Ключевые слова: бетулин, 2,3-секотритерпеноиды, ВИЧ, герпес, грипп, политаргетные свойства.

Воздействие агрессивных химических, биологических и физических факторов, психоэмоциональные нагрузки, низкий уровень качества жизни способствуют снижению адаптационных возможностей человеческого организма и его способности сопротивляться негативному влиянию окружающей среды, что в значительной степени усугубляется легко передающимися инфекционными заболеваниями. Вследствие глобализации и мобильности населения ситуация, связанная с распространением инфекционных заболеваний в мире, становится все более напряженной. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ежегодно до 2 млрд. человек поражаются инфекциями различного рода. Поэтому одной из актуальных

задач современной медицины является разработка новых эффективных лекарственных средств для лечения и профилактики социально опасных вирусных инфекций. В связи с этим из года в год доклиническое и клиническое испытания непрерывно проходят тысячи соединений, проявляющих антивирусные свойства [5].

Следует отметить, что до начала 90-х годов XX века терапия вирусных инфекций сводилась в основном к применению препаратов патогенетического или симптоматического действия. При этом список эффективных антивирусных препаратов был незначителен [1]. В настоящее время наблюдается активизация поиска и создания новых антивирусных препаратов, подавляющее большинство которых

* Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» (грант № 12-Р-3-1009) и грантов РФФИ № 12-03-31060_мол_а, 10-03-96044-р_урал_а.

по химическому составу, механизму действия, спектру активности и длительности клинического эффекта могут быть отнесены к одной из трех указанных ниже групп [5–7]:

1. Химиопрепараты, специфически воздействующие на вирусные частицы.
2. Интерфероны и их индукторы.
3. Иммуномодуляторы.

Научные интересы исследователей направлены в первую очередь на поиск и изучение лекарственных средств специфического действия для лечения таких массовых и опасных вирусных заболеваний, как грипп и острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ), герпетические поражения и, безусловно, инфекции, вызванной вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ). Из перечня социально значимых болезней ВИЧ в последнее время отодвинул на второй план рак и сердечно-сосудистые заболевания, став проблемой номер один в мире. Современные препараты позволяют продлить социально активную жизнь ВИЧ-инфицированного, замедлить и практически остановить развитие заболевания, его переход в стадию СПИД. Однако до сих пор не существует эффективных препаратов для лечения ВИЧ-инфекции, способных полностью устранить вирус из организма человека. Длительный инкубационный период и разная скорость развития инфекционного процесса в организме, высокая частота генетических изменений в процессе самовоспроизведения вирионов ВИЧ и развивающаяся при этом устойчивость (резистентность) к используемым препаратам затрудняют разработку по созданию действенных анти-ВИЧ препаратов.

По оценкам ВОЗ, во время сезонных эпидемий гриппа в мире ежегодно умирает от 250 до 500 тыс. человек, в т.ч. от постинфекционных осложнений. В отличие от ВИЧ инкубационный период вируса гриппа незначителен и может колебаться от нескольких часов до 3 дней. Однако аэрозольный механизм передачи вируса приводит к чрезвычайно быстрому распространению инфекции в виде эпиде-

мий и пандемий. Периодичность эпидемий связана с частым изменением антигенной структуры вируса при пребывании его в естественных условиях. В качестве профилактики заболеваний гриппом в настоящее время используются вакцинация и противовирусные препараты. Однако некоторые из известных противовирусных препаратов имеют побочные эффекты (тошнота, рвота, диарея, психические расстройства). Кроме того, со временем развивается лекарственная резистентность штаммов вируса гриппа.

Другая широко распространенная и плохо контролируемая инфекция человека – это герпес. К настоящему времени выявлено более 80 представителей семейства вирусов герпеса (*Herpesviridae*), из которых 8 типов патогенны для людей. При этом наиболее известны вирусы герпеса простого I и II типов, антитела к которым выявляются более чем у 90 % населения. Именно данные типы вируса являются возбудителями часто и острорецидивирующих тяжелых форм генитального и офтальмологического герпеса, эффективность лечения которых наружными средствами ограничивается низкой эффективностью известных препаратов в условиях слизистых оболочек. Современные противогерпетические средства подавляют репродукцию возбудителя при активной форме инфекции. Это позволяет облегчить симптомы заболевания, снизить частоту, продолжительность и выраженность рецидивов, особенно опасных при иммунодефицитных состояниях, например, ВИЧ-инфекции, опухолевых процессах. Персистирующая герпетическая инфекция может приводить к развитию хронического инфекционно-иммунного воспалительного процесса с сопутствующими структурными, морфологическими и метаболическими изменениями в организме человека и, кроме того, является источником вариантов вируса, резистентных к действующим лекарственным средствам.

На сегодняшний день актуальны разработки в области анти-ВИЧ, противогриппозной и противогерпетической хи-

миотерапии, направленные на поиск новых классов соединений и снижение побочных эффектов известных препаратов. Важное значение приобретают исследования, касающиеся создания препаратов с политаргетными свойствами, активных в отношении нескольких вирусов или воздействующих на разные стадии жизненного цикла вируса, минимально токсичных и получаемых из доступного возобновляемого сырья.

Многочисленные исследования по разработке противовирусных препаратов привели к появлению терапевтически активных агентов, полученных на базе природных биологически активных соединений (пентациклических тритерпеноидов и их полусинтетических производных, в частности). В качестве перспективного отечественного источника фармакологически активных соединений интерес представляет тритерпеновый спирт бетулин благодаря высокому (до 35 %) содержанию бетулина в бересте повсеместно распространенной березы, его низкой токсичности и разнообразной фармакологической активности (рис. 1).

Примером активного использования бетулинсодержащего сырья в фармацевтике является НЦ «Вектор» (г. Новосибирск), разрабатывающий иммуностиму-

лирующие препараты на основе экстрактивных веществ коры березы. Научным коллективом Химико-биологического объединения при РАН «ВИТА» (г. Санкт-Петербург) предложена оригинальная технология [3] получения бетулина пищевого качества с максимально полным извлечением суммарного количества тритерпеновых соединений. Эта технология легла в основу создания нового товарного продукта Бетулавит® (экстракт бересты) – эксклюзивного сырья для косметической и пищевой промышленности с ценными фармакологическими свойствами. Активно развивающаяся компания «Березовый мир» (г. Москва) выпустила на отечественный рынок широкий спектр БАДов общеукрепляющего действия на основе бетулина для профилактики заболеваний и преждевременного старения организма, средства для иммунопрофилактики, профилактики заболеваний желудочно-кишечного тракта и нарушений обменных процессов, профилактики и комплексного лечения инфекционных заболеваний (Бетулайн, Бетуланорм, Бетула-Хит, Бетула-Шарм, Суперантитокс, Бетулагепат и др.). В качестве основы существующих на фармацевтическом рынке бетулинсодержащих препаратов используется либо сумма экстрактивных ве-

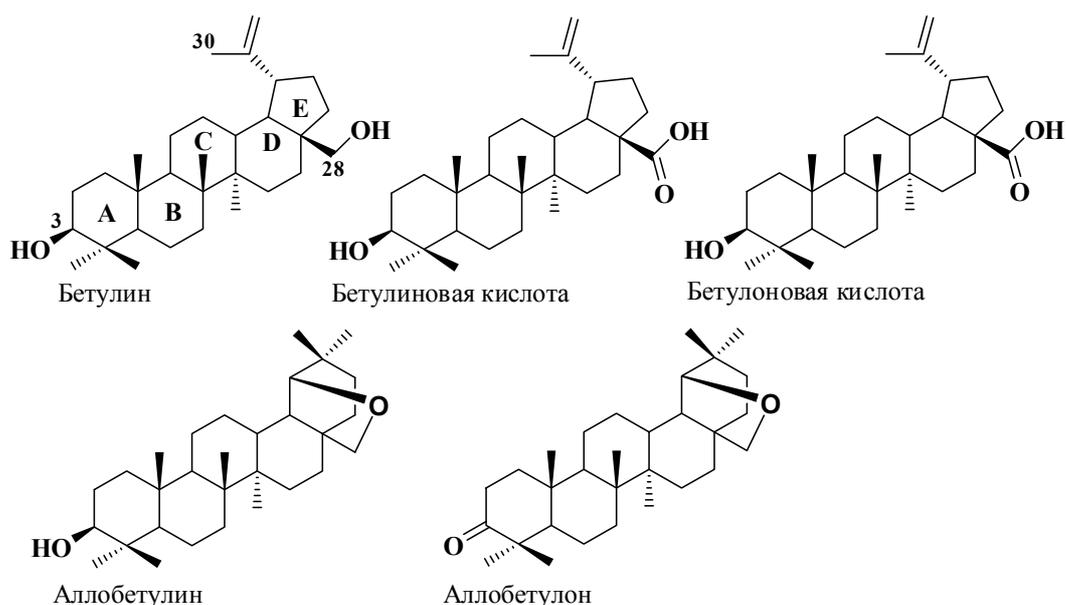


Рис. 1. Бетулин и его доступные полусинтетические производные

ществ березовой коры с содержанием бетулина 70 % и выше, либо высокоочищенный бетулин (до 95 %), технология получения которого заключается в обработке внешнего слоя коры березы различными способами [8–11, 14].

В настоящее время на фармацевтическом рынке отсутствуют лекарственные препараты, действующее начало которых представляет собой продукты дальнейшей модификации бетулина. Однако на стадии клинических испытаний находятся несколько производных бетулина противовирусного или противоопухолевого действия [19, 22].

Как показала практика, для разработки новых лекарственных средств наиболее перспективна химическая модификация доступных природных соединений с высоким уровнем биологической активности на основе подхода «структура–активность». Результативность данного подхода очевидна в случае химической функционализации бетулиновой кислоты, позволившей получить многочисленные полусинтетические производные с противовирусными свойствами [2, 15, 16].

В процессе исследований, связанных с разработкой на основе бетулиновой кислоты анти-ВИЧ препарата Бевирилат (Bevirimat (DSB, PA-457 или MPC-4326),

установлено, что эффективность потенциальных ингибиторов стадии созревания ВИЧ обусловлена введением ацильной группы в положение С-3 бетулиновой кислоты. При этом уровень анти-ВИЧ активности синтезируемого соединения напрямую зависит от природы заместителя [17, 21, 23]. Последующими экспериментами показано, что введение в молекулу бетулиновой кислоты аминоалкильных заместителей в положение С-28 способствует реализации механизма воздействия, препятствующего проникновению ВИЧ в клетку (IC9564) [18]. Так, для синтетического гибрида (A12-2), сочетающего в одной молекуле две фармакофорные группы (каждая – с собственным уникальным способом действия) – С-3-диметилсукцинильный и С-28-аминоалкильный заместители, одновременно реализуются два механизма воздействия на ВИЧ с проявлением в 20 раз более высокого ингибирующего эффекта по сравнению с производными бетулиновой кислоты, селективно замещенными только в С-3 или только в С-28 положение [20] (рис. 2).

Анализ данных по противовирусной активности тритерпеновых производных в отношении оболочечных вирусов (ВИЧ, вирусов гриппа А, герпеса простого I типа) позволил выработать стратегию созда-

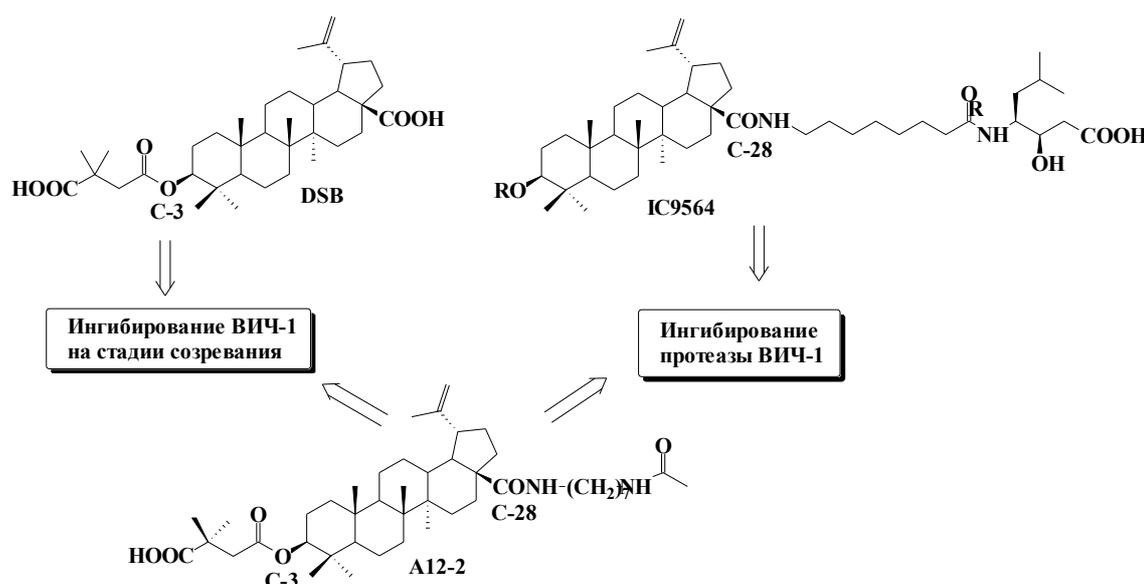


Рис. 2. Реализация механизмов анти-ВИЧ действия

ния терапевтически перспективных противовирусных агентов на основе 2,3-секотритерпеноидов (рис. 3), технология синтеза которых из экстракта бересты [4, 12, 13] предложена в Институте технической химии УрО РАН (ИТХ УрО РАН) и позволяет использовать возобновляемое растительное сырье для получения продуктов химической модификации бетулина с прогнозируемой противовирусной активностью. Отметим, что базовые 2,3-секотритерпеноиды (или тритерпеноиды с расщепленной углерод–углеродной связью в кольце А) обладают выраженной противовирусной активностью. Кроме того, в 2,3-секотритерпеновой молекуле, аналогично бетулиновой кислоте, имеются два перспективных для дальнейшей модификации центра – атомы С-3 и С-28 (рис. 4).

О практической значимости разрабатываемых химиками ИТХ УрО РАН (рис. 5) и вирусологами из «Республиканского научно-практического центра эпидемиологии и микробиологии» МЗ Республики Беларусь (рис. 6) 2,3-секотритерпеноидов свидетельствует выявление среди продуктов синтеза большого числа соединений с высокой противовирусной активностью, в т.ч. производных с анти-ВИЧ активностью на уровне нанограммовых концентраций (EC_{50} 30–300 нг/мл). При этом со-

четание противовирусной активности ВИЧ-герпес/ВИЧ-грипп А-секотритерпеноидов обуславливает их принципиальное преимущество перед препаратами известных производных бетулина, бетулиновой и бетулоновой кислот, обладающих селективным действием в отношении определенного вируса.

Проведение исследований, связанных с поиском и созданием противовирусных препаратов позволит расширить диапазон перспективных противогерпетических и противогриппозных агентов. Обнаружение анти-ВИЧ активных тритерпеновых соединений с политаргетными свойствами открывает новые возможности расширения спектра антиретровирусных препаратов, повышения эффективности химиотерапии лекарственно-устойчивых штаммов, снижения стоимости анти-ВИЧ химиотерапии за счет политаргетности разработанных анти-ВИЧ агентов, способных подавлять сопутствующие инфекции герпеса или гриппа. С другой стороны, богатая сырьевая база России позволит при разработке отечественных противовирусных средств сократить объем импорта зарубежных препаратов и расширить ассортимент отечественных средств общеукрепляющего, иммуностимулирующего и противовирусного действия.

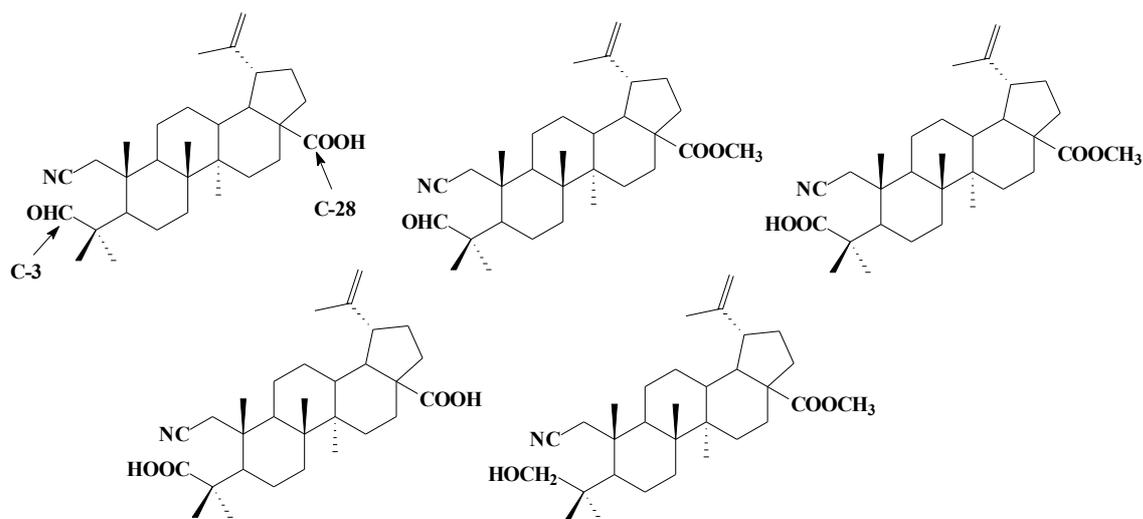


Рис. 3. Базовые 2,3-секотритерпеноиды

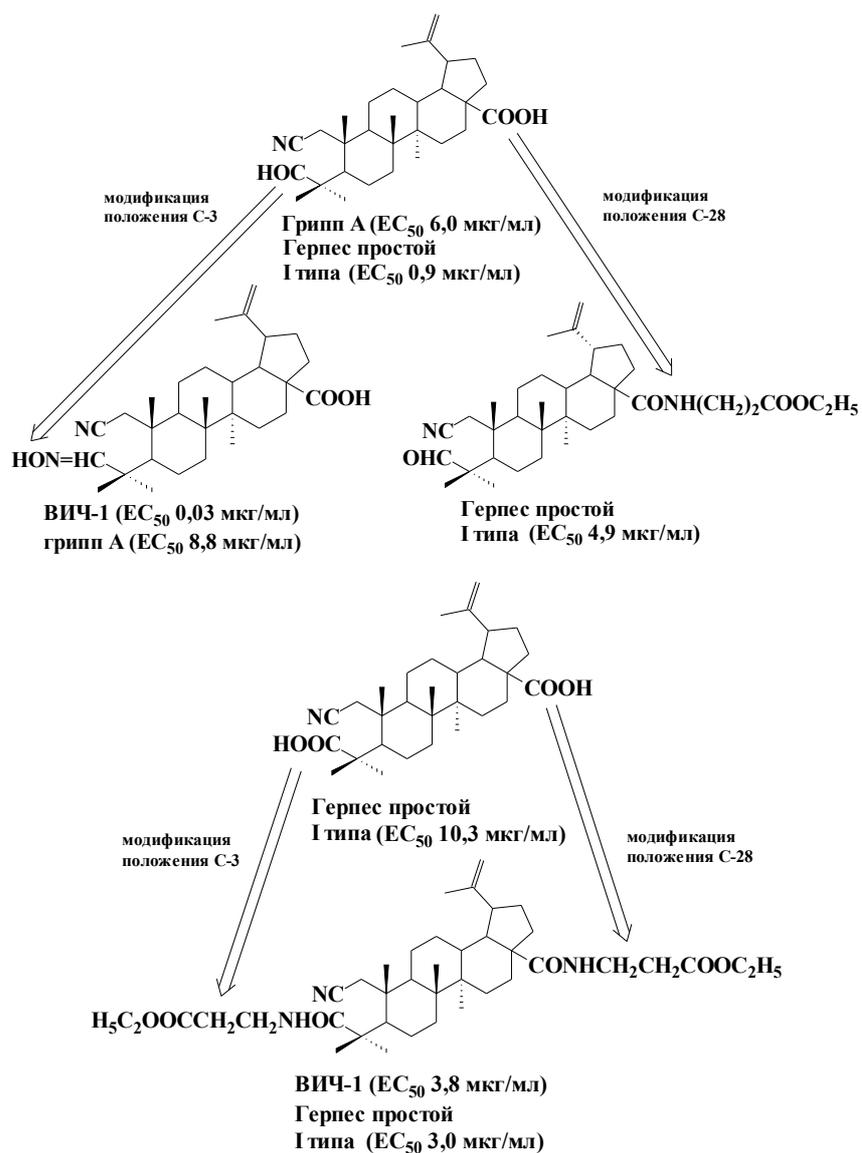


Рис. 4. Примеры химической модификации 2,3-секотритерпеноидов



Рис. 5. Работы по синтезу биологически активных тритерпеноидов, проводимые в ИТХ УрО РАН



Рис. 6. Исследования противовирусной активности в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии МЗ Республики Беларусь

Библиографический список

1. Анализ наиболее перспективных исследований по созданию новых лекарственных средств / В.П. Фисенко, А.П. Дрожжин, М.Т. Абидов [и др.] – НЦЭГКЛС, 2000. – 47 с.
2. Бетулин и его производные. химия и биологическая активность / Г.А. Толстиков, О.Б. Флехтер, Э.Э. Шульц, Л.А. Балтина, А.Г. Толстиков // Химия в интересах устойчивого развития. – 2005. – Т. 13. – С. 1–30.
3. Борц М.С., Николаева Е.Г., Лаевский И.С. // Способ выделения бетулинола. Патент РФ № 2206572, 20.06.2003.
4. Гришко В.В., Толмачева И.А., Крайнова Г.Ф., Назаров А.В. // Способ получения А-секотритерпеновых С-3(28) моно- и диамидов и их секо-интермедиатов. Заявка на патент РФ № 2013120593.
5. Еришов Ф.И. Антивирусные препараты. – М.: Медицина, 1998. – 187 с.
6. Еришов Ф.И. Система интерферона в норме и при патологии. – М.: Медицина, 1998, – 140 с.
7. Еришов Ф.И., Малиновская В.В. Иммуномодуляторы в профилактике и терапии вирусных инфекций // ЖМЭИ. – 1996. – № 3. – С. 122–125.
8. Кузнецов Б.Н., Левданский В.А., Шилкина Т.А., Репях С.М. // Способ получения бетулина. Патент РФ № 2074867, 10.03.1997.
9. Левданский В.А., Левданский А.В., Кузнецов Б.Н. // Способ получения бетулина. Патент РФ № 2340624, 11.07.2007.
10. Левданский В.А., Полежаева Н.И., Еськин А.П., Винк В.А., Кузнецов Б.Н. // Способ получения бетулина. Патент РФ № 2131882, 20.06.1999.
11. Роцин В.И., Шабанова Н.Ю., Ведерников Д.Н. // Способ получения бетулина. Патент РФ № 2184120, 27.06.2002.
12. Синтез и противовирусная активность 2,3-секо-производных бетулоновой кислоты / И.А. Толмачева, В.В. Гришко, Е.И. Бореко, О.В. Савинова, Н.И. Павлова // Химия природ. соед. – 2009. – Т. 45. – С. 566–568.
13. Синтез лупановых и 19 β ,28-эпокси-18 α -олеанановых 2,3-секо-производных на основе бетулина / И.А. Толмачева, А.В. Назаров, О.А. Майорова, В.В. Гришко // Химия природ. соед. – 2008. – Т. 44. – С. 491–494.
14. Сироткин Г.В., Стернин Ю.И. // Способ получения бетулина. Патент РФ № 2172178, 20.08.2001.
15. Терпеноиды лупана – биологическая активность и фармакологические перспективы. 1. Природные производные лупана. 1 часть / Т.Г. Толстикова, КВ. Сорокина, Г.А. Толстиков [и др.] // Биоорг. химия. – 2006. – Т. 32. – С. 42–55.
16. Терпеноиды лупана – биологическая активность и фармакологические перспективы. 1. Полусинтетические производные лупана. 2 часть / Т.Г. Толстикова, КВ. Сорокина, Г.А. Толстиков [и др.] // Биоорг. химия. – 2006. – Т. 32. – С. 291–307.
17. Anti-AIDS agents–XXVII. Synthesis and anti-HIV activity of betulinic acid and dihydrobetulinic acid derivatives / F. Hashimoto, Y. Kashiwada, L.M. Cosentino, C.H. Chen, P.E. Garrett, K.H. Lee // Bioorg. Med. Chem. – 1997. – Vol. 5. – P. 2133–2143.
18. Betulinic acid derivatives: a new class of specific inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 entry

- / F. Soler, C. Poujade, M. Evers, J.C. Carry, Y. Henin, A. Bousseau, T. Huet, R. Pauwels, E. De Clercq, J.F. Mayaux, J.B. Le Perq, N. Dereu // *J. Med. Chem.* – 1996. – Vol. 39. – P. 1069–1083.
19. Cichewicz R.H., Kouzi S.A. Chemistry, biological activity, and chemotherapeutic potential of betulinic acid for the prevention and treatment of cancer and HIV infection // *Med. Res. Rev.* – 2004. – Vol. 24. – P. 90–114.
 20. Huang L., Ho P., Lee K.H., Chen C.H. Synthesis and anti-HIV activity of bi-functional betulinic acid derivatives // *Bioorg. Med. Chem.* – 2006. – Vol. 14. – P. 2279–2289.
 21. PA457: a potent HIV inhibitor that disrupts core condensation by targeting a late step in Gag processing / F. Li, R. Goila-Gaur, K. Salzwedel, N.R. Kilgore, M. Reddick, C. Matallana, A. Castillo, D. Zoumplis, D.E. Martin, J.M. Orenstein, G.P. Allaway, E.O. Freed, C.T. Wild // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* – 2003. – Vol. 100. – P. 13555–13560.
 22. Pharmacokinetic properties and tolerability of bevirimat and atazanavir in healthy volunteers: an open-label, parallel-group study / D.E. Martin, H. Galbraith, J. Schettler, C. Ellis, J. Doto // *Clin. Ther.* – 2008. – Vol. 30. – P. 1794–1805.
 23. The discovery of a class of novel HIV-1 maturation inhibitors and their potential in the therapy of HIV / D. Yu, C.T. Wild, D.E. Martin, S.L. Morris-Natschke, C.H. Chen, G.P. Allaway, K.H. Lee // *Expert Opin. Inv. Drugs.* – 2005. – Vol. 14. – P. 681–693.

BETULIN AS A PROMISING SOURCE FOR OBTAINING ANTIVIRAL DRUGS

A.V. Pereslavl'tseva, N.V. Galaiko

The perspective of researching the development of effective antiviral drugs on the basis of semi-synthetic derivatives of natural origin pentacyclic triterpenoid betulin is discussed in the article. Significant attention is paid to estimating the possibility of using the triterpene derivatives to suppress the multiplication of enveloped viruses that cause socially dangerous infectious diseases – influenza, herpes, and HIV.

Keywords: betulin, 2,3-secotriterpenoids, HIV, herpes, influenza, polytarget properties.

Сведения об авторах

Переславцева Анастасия Владимировна, аспирант, Институт технической химии УрО РАН (ИТХ УрО РАН), 614013, г. Пермь, ул. Академика Королева, 3; e-mail: pereslavceva89@mail.ru
Галайко Наталья Владимировна, кандидат химических наук, младший научный сотрудник, ИТХ УрО РАН; e-mail: lady-n@mail.ru

Материал поступил в редакцию 09.09.2013 г.