



**ЖУРНАЛ  
ОРГАНИЧЕСКОЙ  
ХИМИИ**

**том 54  
выпуск 10  
2018**

## 3,28-БИС-О-ПОЛИФТОРБЕНЗОИЛБЕТУЛИН. СИНТЕЗ, МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА И ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ

© Ю.Г.Тришин<sup>1@</sup>, А.Н.Федоров<sup>1</sup>, К.А.Лысенко<sup>2</sup>,  
Д.С.Прокофьева<sup>3</sup>, Ю.С.Руденок<sup>1</sup>, В.В.Павлова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет промышленных технологий и дизайна,  
Высшая школа технологии и энергетики

198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 4; e-mail: trish@YT4470.spb.edu

<sup>2</sup>Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова РАН, Москва

<sup>3</sup>Институт экспериментальной фармакологии, Ленинградская область, г.п. Кузьмоловский

Поступила 7 мая 2018 г.

Взаимодействие бетулина с хлорангидридами 2,3,4,5-тетрафтор- и пентафторбензойной кислот в триэтилаmine приводит к 3,28-бис-О-полифторбензоилбетулину. По данным РСА, в молекуле 3,28-бис-О-пентафторбензоилбетулина все шестичленные циклы имеют конформацию кресла, а пятичленный цикл – конформацию конверта с отклонением атома C<sup>17</sup> от плоскости остальных четырёх атомов углерода. Синтезированные бисэфиры в отличие от бетулина не обнаружили цитотоксического действия на клеточных линиях аденокарциномы легкого человека A549 и глиобластомы человека U251.

DOI: 10.7868/S0514749218100072

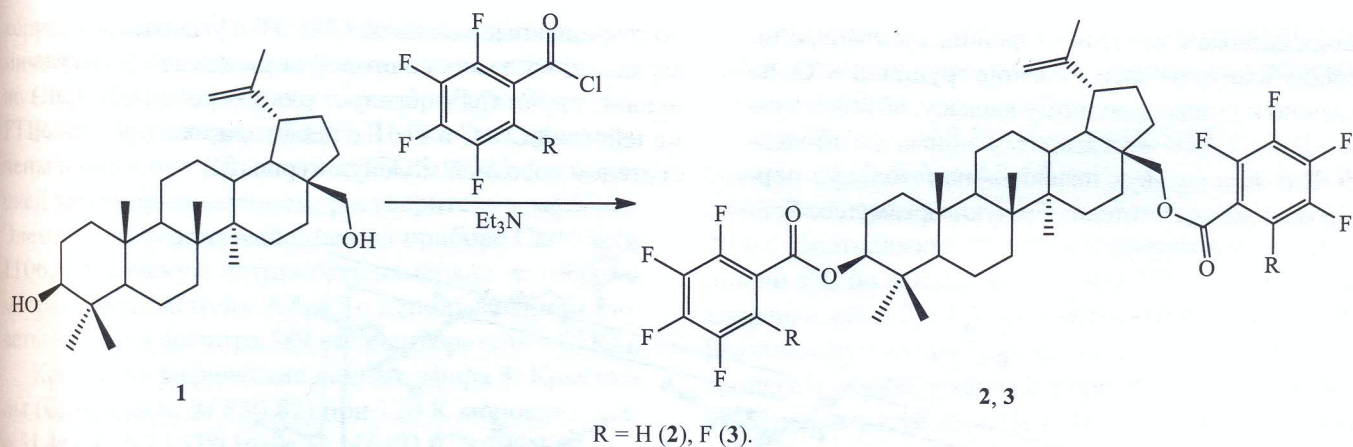
Химия терпеноидов в России имеет давнюю историю и значительные достижения [1]. В последнее время в научных центрах Новосибирска, Уфы, Перми, Москвы, Санкт-Петербурга интенсивно исследуется бетулин **1**, относящийся к пентациклическим тритерпеноидам лупановой группы. Бетулин характеризуется высокой и разнообразной биологической активностью (противовоспалительной, желчегонной, противовирусной, противоопухолевой, иммуномодулирующей и др.) [2, 3], в частности, он эффективно ингибирует химически индуцированный карциногенез в опытах *in vivo* [4]. Бетулин – один из самых доступных терпеноидов, в коре березы семейства *Betula Pendula Roth* он содержится в количестве до 35% [2]. Легкость выделения и очистки бетулина обуславливает возможность синтезировать на его основе новые биологически активные вещества. Этерификация бетулина, в молекуле которого присутствуют спиртовые группы OH у атомов C<sup>3</sup> и C<sup>28</sup>, позволила получить широкий спектр ацилатов, среди которых обнаружены перспективные гепатопротекторы, противовоспалительные, противоязвенные, иммуномодулирующие соединения и анти-ВИЧ-агенты [5–7].

Эфиры бетулина с атомом фтора в ацильном радикале в отличие от нефторированных аналогов исследованы в значительно меньшей степени. В настоящее

время синтезировано лишь несколько 28-О- и 3,28-бис-О-эфиров бетулина с фторацильными радикалами [8–11]. В связи с тем, что свыше 20% находящихся в настоящее время на фармацевтическом рынке лекарственных препаратов содержат фтор [12], нами синтезированы 3,28-бис-О-2,3,4,5-тетрафторбензоилбетулин **2** и 3,28-бис-О-пентафторбензоилбетулин **3** при взаимодействии бетулина с небольшим избытком хлорангидридов 2,3,4,5-тетрафтор- и пентафторбензойной кислот в триэтилаmine.

Соединения **2**, **3**, полученные с выходами 78 и 69% соответственно, представляют собой твердые светлорычневые вещества, хорошо растворимые в бензоле, хлороформе, хлористом метиле, плохо растворимые в гексане, этилацетате, ацетоне, спирте.

Строение соединений **2**, **3** подтверждено с помощью ИК, ЯМР <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>19</sup>F спектроскопии и масс-спектрометрии (ESI). Спектры ЯМР <sup>19</sup>F характеризуются двумя группами сигналов одинаковой интенсивности, что подтверждает наличие двух полифторбензоилокси-групп у атомов C<sup>3</sup> и C<sup>28</sup>. Химические сдвиги сигналов атомов фтора 2,3,4,5-тетрафторбензоилокси-группы при атоме C<sup>28</sup> в соединении **2**, δ<sub>F</sub>, м.д.: –133.79, –137.86, –147.44, –153.36, а при атоме C<sup>3</sup> – δ<sub>F</sub>, м.д.: –134.08, –138.11, –147.94, –153.57. Аналогично атомы фтора пентафторбензоилокси-группы при атоме C<sup>28</sup> соедине-



ния **3** представлены сигналами  $\delta_F$ , м.д.:  $-137.94, -148.67$  и  $-160.37$ , а при атоме  $C^3 - \delta_F$ , м.д.:  $-138.59, -149.43$  и  $-160.55$ . В спектрах ЯМР  $^1H$  сигналы протонов группы  $CH_2O$  проявляются двумя дублетами с химическими сдвигами  $\delta$ , м.д.:  $4.60, 4.14$  ( $^2J$  11.0 Гц) (**2**) и  $4.62, 4.17$  ( $^2J$  11.0 Гц) (**3**). Эти сигналы смещены в слабое поле по сравнению с их положением в исходном бетулине на 0.8 м.д., как и в спектре 3,28-бис-*O*-трифторацетилбетулина [9]. Дублет дублетов протона при атоме  $C^3$  смещен в слабое поле еще более значительно, чем в спектре 3,28-бис-*O*-трифторацетилбетулина [9]: на 1.57 м.д. ( $\delta$  4.75 м.д.,  $^3J$  10.8, 5.1 Гц) (**2**) и 1.63 м.д. ( $\delta$  4.81 м.д.,  $^3J$  11.3, 5.0 Гц) (**3**).

Химические сдвиги в спектрах ЯМР  $^{13}C$  практически не отличаются от сдвигов 3,28-бис-*O*-трифторацетилбетулина [10], за исключением атомов  $C^3$  и  $C^{28}$ , для которых химические сдвиги смещены на 2–3 м.д. в сильное поле.

Молекулярная структура 3,28-бис-*O*-полифторбензоилбетулина **2, 3** исследована на примере соединения **3**. Кристаллы 3,28-бис-*O*-перфторбензоилбету-

лина **3** выращены из смеси этилацетат–ацетон, 1:1. Согласно данным рентгеноструктурного исследования, соединение **3** кристаллизуется в хиральной пространственной группе  $C2$  с двумя независимыми молекулами в элементарной ячейке (рис. 1). Строение двух независимых молекул фактически идентично за исключением взаимного расположения заместителей  $C_6F_5CO_2$  при атомах  $C^3$  и  $C^{28}$  по отношению к основному каркасу молекулы. Распределение длин связей, а также значения торсионных углов в углеводородном каркасе бетулина в двух независимых молекулах в пределах погрешностей совпадают и фактически не отличаются от других аналогичных производных бетулина, например, от 3,28-бис-*O*-трифторацетилбетулина [9] и 3,28-*O*-диацетилбетулина [13]. Все шестичленные циклы имеют конформацию *кресло*, однако более гибкий пятичленный цикл в отличие от указанных выше бисэфиров бетулина имеет конформацию *конверт* с отклонением атома  $C^{17}$  на  $\sim 0.7$  Å от плоскости атомов  $C^{18}, C^{19}, C^{21}$  и  $C^{22}$ .

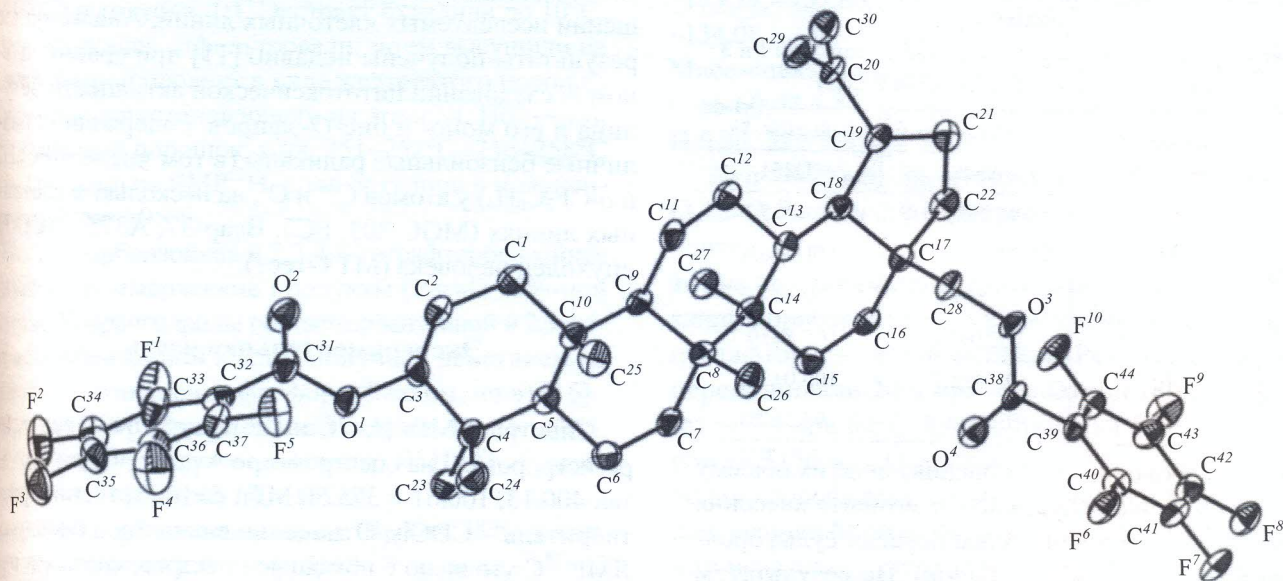


Рис. 1. Структура молекулы луп-20(29)-ен-3 $\beta$ ,28-диил биспентафторбензоата **3**.

Наблюдаемые изменения торсионных углов, описывающих взаимное расположение групп  $C_6F_5CO_2$  по отношению к углеводородному каркасу, обусловлены различиями в системе межмолекулярных взаимодействий. В одной из двух независимых молекул перфторированные заместители образуют преимущественно

сокращенные контакты  $C-H \cdots F$  с углеводородным каркасом, тогда как во второй независимой молекуле одна из групп  $C_6F_5$  образует ряд укороченных взаимодействий  $C \cdots C$  и  $F \cdots F$  с перфторированным заместителем соседней молекулы (рис. 2).

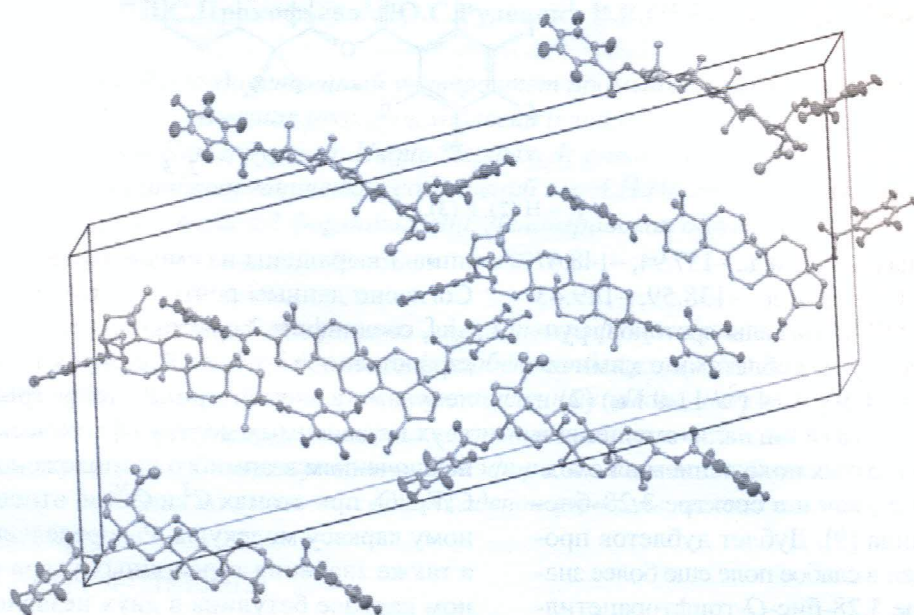


Рис. 2. Фрагмент кристаллической упаковки луп-20(29)-ен-3 $\beta$ ,28-диил биспентафторбензоата 3.

Цитотоксическая активность 3,28-бисполифторбензоатов 2, 3 оценена на примере 3,28-бисперфторбензоата 3 в сравнении с бетулином 1 *in vitro* на клеточных линиях аденокарциномы легкого человека A549 и глиобластомы человека U251. В качестве количественного критерия использован показатель жизнеспособности клеток при концентрациях исследуемых веществ 5, 10 и 15 мкмоль/л (см. таблицу).

Таблица

Эффект влияния различных концентраций соединений 1 и 3 на жизнеспособность клеток A549 и U251

№ соединения	Концентрация, мкмоль/л	Жизнеспособность клеток, %	
		A549	U251
1	5	95.1 $\pm$ 7.2	93.2 $\pm$ 5.7
	10	75.5 $\pm$ 4.5	51.0 $\pm$ 6.8
	15	32.8 $\pm$ 1.1	20.4 $\pm$ 4.0
3	5	102.0 $\pm$ 7.6	105.8 $\pm$ 10.7
	10	93.9 $\pm$ 8.7	100.0 $\pm$ 13.1
	15	101.0 $\pm$ 1.9	94.5 $\pm$ 7.0

Жизнеспособность клеток оценивали по их общему количеству в лунках спустя 48 ч с момента внесения исследуемых соединений путем окраски сульфородамином Б (проба на общий белок). По результатам экспериментов не выявлено влияния соединения 3

на жизнеспособность двух клеточных линий (A549 и U251) вплоть до концентрации 15 мкмоль/л. Дальнейшее повышение концентрации невозможно из-за низкой растворимости соединений 2, 3. В то же время бетулин в выбранном диапазоне концентраций оказывает существенное цитотоксическое действие уже при концентрации 10 мкмоль/л. Таким образом, перфторбензоилирование бетулина по положениям  $C^2$  и  $C^{28}$  подавляет цитотоксическую активность в отношении исследуемых клеточных линий. Аналогичные результаты получены недавно [11] при сравнительном исследовании цитотоксической активности бетулина и его моно- и бис-*O*-эфиров, содержащих различные бензоильные радикалы (в том числе *n*- $FC_6H_4$  и *o*- $CF_3C_6H_4$ ) у атомов  $C^{28}$  и  $C^3$ , на нескольких клеточных линиях (MGC-803, PC3, Всар-37, A375, MCF-7) опухолей человека (МТТ-тест).

### Экспериментальная часть

Спектры ЯМР  $^1H$ ,  $^{13}C$  и  $^{19}F$  полученных веществ регистрировали на спектрометре Avance 400 на частотах 400.13, 100.61 и 375.50 МГц соответственно, растворитель –  $CDCl_3$ . Отнесение сигналов в спектрах ЯМР  $^{13}C$  уточнено с помощью спектров, снятых в режиме DEPT, а также по данным двумерного гетеро-

корреляционного  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  НМРС эксперимента. Химические сдвиги ядер фтора приведены относительно  $\text{CFCl}_3$ . ИК спектры сняты на приборе Shimadzu FTIR-8400S (растворы в  $\text{CHCl}_3$ ). Масс-спектры получены на приборе Bruker micrOTOF 10223 с ионизацией электрораспылением, растворитель – метанол. Элементный анализ выполнен на приборе Carlo Erba 1106. Оптическую активность измеряли на поляриметре Optical Activity AA-55 с использованием кюветы на 3 мл и фильтра 589 нм, растворитель –  $\text{CDCl}_3$ .

Кристаллографические данные эфира **3**. Кристаллы ( $\text{C}_{44}\text{H}_{48}\text{F}_{10}\text{O}_4$ ,  $M$  830.82) при 120 К моноклинные:  $a$  51.449(9),  $b$  7.1538(14),  $c$  22.116 (3) Å;  $\beta$  105.379(13)°,  $V$  7848(2) Å<sup>3</sup>,  $d_{\text{выч.}}$  1.406 г/см<sup>3</sup>, пространственная группа  $C2$ ,  $Z(Z')$  8(2). Интенсивности 27321 ( $R_{\text{int}}$  0.0793) отражения измерены на автоматическом дифрактометре Bruker Smart APEX II CCD при 120 К (MoK $\alpha$ -излучение, графитовый монохроматор,  $\omega$ -сканирование,  $2\theta_{\text{макс.}}$  58°), 17170 наблюдаемых отражений использованы в дальнейших расчетах. Структура расшифрована прямым методом и уточнена полноматричным МНК в анизотропно-изотропном приближении по  $F^2$ . Атомы водорода локализованы в разностных синтезах электронной плотности и уточнены по модели *наездника*. Окончательные факторы расходимости:  $wR_2$  0.1630,  $GOF$  0.951 [ $R_1$  0.0707 по 8342 отражениям с  $I > 2\sigma(I)$ ] рассчитаны по комплексу программ SHELXTL PLUS [14]. Структура депонирована в Кембриджском банке структурных данных (CCDC 1834265).

**Бетулин (1)** получали экстракцией из коры березы (*Betula Pendula Roth*). Тонко измельченный верхний слой коры с влажностью <5% экстрагировали в аппарате Сокслета смесью петролейного эфира (т.кип. 70–100°C) и толуола, 1:1. Экстракт охладили до 10°C, выпавший осадок отфильтровали, затем высушили на воздухе. Сырой продукт в виде желтоватого порошка дважды перекристаллизовали из этанола. Получили рыхлый белый порошок, т.пл. 251–252°C (256–258°C [15]). По данным ЯМР  $^1\text{H}$ , доля бетулина в полученном веществе  $\geq 95\%$ .

Пентафторбензойная и 2,3,4,5-тетрафторбензойная кислоты – коммерческие продукты (P&M) 99%-ной чистоты. Хлорангидриды пентафторбензойной и 2,3,4,5-тетрафторбензойной кислот получали действием на кислоты пентахлорида фосфора (Реахим, «ч.») [16].

**2,3,4,5-Тетрафторбензоилхлорид**. Выход 69%, т.кип. 63°C (13 мм рт.ст.). Спектр ЯМР  $^{19}\text{F}$ ,  $\delta$ , м.д.: –133.79, –136.80, –143.14, –152.59.

**Пентафторбензоилхлорид**. Выход 78%, т.кип. 60°C (20 мм рт.ст.). Спектр ЯМР  $^{19}\text{F}$ ,  $\delta$ , м.д.: –137.62 (2F), –145.14 (1F), –159.10 (2F).

Триэтиламин перед использованием сушили гидроксидом натрия, перегоняли и хранили над металлическим натрием.

**Луп-20(29)-ен-3 $\beta$ ,28-диил бис-2,3,4,5-тетрафторбензоат (3,28-О-бис-2,3,4,5-тетрафторбензоилбетулин) (2)**. К суспензии 2.0 г (4.52 ммоль) бетулина в 20 мл триэтиламина при перемешивании и охлаждении до 5°C по каплям прибавляли 2.4 г (11.29 ммоль) хлорангидрида 2,3,4,5-тетрафторбензойной кислоты. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре 20 ч, а затем 2 ч при 60°C. Смесь промыли 5%-ным раствором HCl (100 мл). Органическую фазу экстрагировали 80 мл хлороформа, промыли дистиллированной водой, сушили  $\text{MgSO}_4$ . Растворитель отогнали на роторном испарителе, остаток перекристаллизовали из этанола и сушили в вакууме. Выход 2.8 г (78%), т.пл. 116–118°C,  $[\alpha]_D^{20}$  –23.3° ( $c$  0.013,  $\text{CHCl}_3$ ). ИК спектр,  $\nu$ , см<sup>-1</sup>: 1719 (C=O), 1627 (C=C), 1239 (Ar–F). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м.д.: 0.92 с, 0.95 с, 0.98 с, 1.04 с, 1.10 с (15H, 5CH<sub>3</sub>), 1.73 с (3H, H<sup>30</sup>), 0.81–2.10 м (24H, CH, CH<sub>2</sub>), 2.51 м (1H, H<sup>19</sup>), 4.14 д, 4.60 д (2H, H<sup>28</sup>,  $^2J_{\text{H,H}}$  11.0 Гц), 4.64 д, 4.74 д (2H, H<sup>29</sup>), 4.75 д.д (1H, H<sup>3</sup>,  $^3J_{\text{H,H}}$  5.1, 10.8 Гц), 7.63 м (1H<sub>аром.</sub>). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$ , м.д.: 14.79 (C<sup>27</sup>), 16.06 (C<sup>26</sup>), 16.16 (C<sup>25</sup>), 16.61 (C<sup>24</sup>), 18.18 (C<sup>6</sup>), 19.13 (C<sup>30</sup>), 20.83 (C<sup>11</sup>), 23.61 (C<sup>2</sup>), 25.16 (C<sup>12</sup>), 27.04 (C<sup>15</sup>), 28.01 (C<sup>23</sup>), 29.50 (C<sup>16</sup>), 29.70 (C<sup>21</sup>), 34.11 (C<sup>7</sup>), 34.54 (C<sup>22</sup>), 37.11 (C<sup>10</sup>), 37.75 (C<sup>13</sup>), 38.03 (C<sup>4</sup>), 38.38 (C<sup>1</sup>), 40.94 (C<sup>8</sup>), 42.79 (C<sup>14</sup>), 46.59 (C<sup>17</sup>), 47.75 (C<sup>19</sup>), 48.81 (C<sup>18</sup>), 50.29 (C<sup>9</sup>), 55.39 (C<sup>5</sup>), 64.87 (C<sup>28</sup>), 83.79 (C<sup>3</sup>), 110.08 (C<sup>29</sup>), 113.05 и 113.25 (HCAr), 115.09 и 115.55 (CAr), 140.10, 142.11, 142.59, 142.72, 145.21, 146.59, 147.79, 149.16 м (FC), 149.86 (C<sup>20</sup>), 161.92 и 162.58 (C=O). Спектр ЯМР  $^{19}\text{F}$ ,  $\delta$ , м.д.: –133.79, –137.86, –147.44, –153.36 (C<sub>6</sub>HF<sub>4</sub>CO<sub>2</sub> при C<sup>28</sup>); –134.08, –138.11, –147.94, –153.57 (C<sub>6</sub>HF<sub>4</sub>CO<sub>2</sub> при C<sup>3</sup>). Масс-спектр:  $m/z$  817.3480 [ $M + \text{Na}$ ]<sup>+</sup>. Найдено, %: C 66.60; H 6.44. C<sub>44</sub>H<sub>50</sub>F<sub>8</sub>O<sub>4</sub>. Вычислено, %: C 66.49; H 6.34.  $M + \text{Na}$  817.3474.

**Луп-20(29)-ен-3 $\beta$ ,28-диил биспентафторбензоат (3,28-О-биспентафторбензоилбетулин) (3)**. К суспензии 1.0 г (2.25 ммоль) бетулина в 10 мл триэтиламина при перемешивании и охлаждении до 5°C по каплям прибавляли 1.3 г (5.63 ммоль) хлорангидрида пентафторбензойной кислоты. Реакционную смесь перемешивали 20 ч при комнатной температуре, а затем 3 ч при 60°C. Смесь промыли 5%-ным раствором HCl (50 мл). Органическую фазу экстрагировали 50 мл хлороформа, промыли дистиллированной водой, сушили  $\text{MgSO}_4$ . Растворитель отогнали на роторном испарителе, остаток перекристаллизовали из этанола и сушили в вакууме. Выход 1.3 г (69%), т.пл. 138–

140°C,  $[\alpha]_D^{20} -13.4^\circ$  ( $c$  0.013,  $\text{CHCl}_3$ ). ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 1731 (C=O), 1655 (C=C), 1227 (Ar-F). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м.д.: 0.87 д (1H,  $\text{H}^3$ ,  $^3J_{\text{H,H}}$  9.78 Гц), 0.91 с (6H), 0.98 с (3H), 1.03 с (3H), 1.05–2.09 м (23H, CH,  $\text{CH}_2$ ), 1.10 с (3H), 1.73 с (3H,  $\text{C}^{30}\text{H}_3$ ), 2.50 м (1H,  $\text{H}^{19}$ ), 4.17 д, 4.62 д (2H,  $\text{H}^{28}$ ,  $^2J_{\text{H,H}}$  11.04 Гц), 4.64 д, 4.74 д (2H,  $\text{H}^{29}$ ), 4.81 д.д (1H,  $\text{H}^3$ ,  $^3J_{\text{H,H}}$  5.0, 11.3 Гц). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$ , м.д.: 14.79 ( $\text{C}^{27}$ ), 16.04 ( $\text{C}^{26}$ ), 16.14 ( $\text{C}^{25}$ ), 16.46 ( $\text{C}^{24}$ ), 18.16 ( $\text{C}^6$ ), 19.12 ( $\text{C}^{30}$ ), 20.82 ( $\text{C}^{11}$ ), 23.65 ( $\text{C}^2$ ), 25.14 ( $\text{C}^{12}$ ), 26.95 ( $\text{C}^{15}$ ), 27.84 ( $\text{C}^{23}$ ), 29.43 ( $\text{C}^{16}$ ), 29.55 ( $\text{C}^{21}$ ), 34.08 ( $\text{C}^7$ ), 34.42 ( $\text{C}^{22}$ ), 37.09 ( $\text{C}^{10}$ ), 37.76 ( $\text{C}^{13}$ ), 37.92 ( $\text{C}^4$ ), 38.38 ( $\text{C}^1$ ), 40.92 ( $\text{C}^8$ ), 42.77 ( $\text{C}^{14}$ ), 46.50 ( $\text{C}^{17}$ ), 47.72 ( $\text{C}^{19}$ ), 48.83 ( $\text{C}^{18}$ ), 50.26 ( $\text{C}^9$ ), 55.40 ( $\text{C}^5$ ), 65.54 ( $\text{C}^{28}$ ), 84.63 ( $\text{C}^3$ ), 110.09 ( $\text{C}^{29}$ ), 136.00–147.20 ( $\text{C}_{\text{аром}}$ ), 149.80 ( $\text{C}^{20}$ ), 159.51 и 158.86 (C=O). Спектр ЯМР  $^{19}\text{F}$ ,  $\delta$ , м.д.: -137.94 ( $2\text{F}^0$ ), -148.67 ( $1\text{F}^n$ ), -160.37 ( $2\text{F}^m$ ) ( $\text{C}_6\text{F}_5\text{CO}_2$  при  $\text{C}^{28}$ ); -138.59 ( $2\text{F}^0$ ), -149.43 ( $1\text{F}^n$ ), -160.55 ( $2\text{F}^m$ ) ( $\text{C}_6\text{F}_5\text{CO}_2$  при  $\text{C}^3$ ). Масс-спектр:  $m/z$  853.3250  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ . Найдено, %: C 63.47; H 5.96.  $\text{C}_{44}\text{H}_{48}\text{F}_{10}\text{O}_4$ . Вычислено, %: C 63.61; H 5.82.  $\text{M} + \text{Na}$  853.3285.

**Сравнительная *in vitro* оценка цитотоксической активности бетулина и луп-20(29)-ен-3 $\beta$ ,28-диил биспентафторбензоата (3). Культивирование клеточных культур.** В работе использовали клеточную линию аденокарциномы легкого человека A549 и глиобластому человека U251, приобретенные в Российской коллекции клеточных культур позвоночных (ФГБУН Институт цитологии РАН, СПб, Россия). Клетки культивировали во влажной атмосфере (37°C, 5%  $\text{CO}_2$ ) с использованием полной среды для культивирования: среда DMEM (Биолот, Россия) с добавлением 10% бычьей фетальной сыворотки (Gibco), 2 ммоль раствора L-глутамина, 100 Ед/мл пенициллина и 100 мг/мл стрептомицина. Клетки пересеивали 3 раза в неделю. Эксперименты проводили в промежутке между 3 и 7 пересевом.

**Приготовление тестируемых соединений и их экспозиция с клетками.** Для выявления цитотоксической активности у исследуемых соединений клетки A549 и U251 рассеивали в лунки 96-луночных планшетов за 24 ч до добавления растворов экстрактов в количестве 8 и 18 тысяч на лунку соответственно. Объем клеточной суспензии, вносимой в лунку, 100 мкл. Стоковые растворы соединений готовили в ацетоне в концентрации 1 ммоль/л и хранили при 4°C. Непосредственно перед внесением в лунки с клетками готовили рабочие растворы соединений, используя полную культуральную среду. Концентрации рабочих растворов 10, 20 и 30 мкмоль/л. Их вносили в лунки планшета в тройном повторе. Объем рабочих растворов, вносимых в лунки с клетками, 100 мкл. Таким

образом, конечные концентрации экстрактов в лунках составляли 5, 10 и 15 мкмоль/л, а конечная концентрация ацетона не превышала 1.5%. Эта концентрация не влияет на жизнеспособность клеток. Лунки с клетками, в которые вносили 100 мкл полной среды для культивирования вместо растворов экстрактов, служили контролем. В лунках без клеток, содержащих 200 мкл полной среды для культивирования, впоследствии готовили холостые пробы. Время экспозиции клеток с растворами экстрактов 48 ч во влажной атмосфере (37°C, 5%  $\text{CO}_2$ ).

**Оценка количества общего белка в лунках с клетками после воздействия исследуемых экстрактов.** Клетки в лунках фиксировали добавлением раствора трихлоруксусной кислоты, затем лунки многократно промывали проточной водой и вносили 0.4%-ный раствор сульфородамина Б в соответствии с протоколом производителя (ТОХ6, Sigma). Несвязавшийся краситель удаляли промыванием 1%-ным раствором уксусной кислоты. Связанный краситель растворяли в растворе трис(гидроксиэтил)аминометана (Tris) (10 ммоль/л). Оптическую плотность содержимого лунок считывали при длине волны 510 нм против холостой пробы на микропланшетном спектрофотометре Epoch (BioTeck Instruments, Inc., United States).

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 17-03-01215).*

### Список литературы

1. Антипин И.С., Казымова М.А., Кузнецов М.А., Васильев А.В., Ищенко М.А., Кирюшкин А.А., Кузнецова Л.М., Макаренко С.В., Островский В.А., Петров М.Л., Солод О.В., Тришин Ю.Г., Яковлев И.П., Ненайденко В.Г., Белоглазкина Е.К., Белецкая И.П., Устынюк Ю.А., Соловьев П.А., Иванов И.В., Малина Е.В., Сивова Н.В., Негребецкий В.В., Бауков Ю.И., Пожарская Н.А., Травень В.Ф., Щекотихин А.Е., Варламов А.В., Борисова Т.Н., Лесина Ю.А., Краснокутская Е.А., Рогожников С.И., Шуров С.Н., Кустова Т.П., Клюев М.В., Хелевина О.Г., Стужин П.А., Федоров А.Ю., Гушин А.В., Додонов В.А., Колотов А.В., Плахтинский В.В., Орлов В.Ю., Кривенько А.П., Федотова О.В., Пчелинцева Н.В., Чарушин В.Н., Чупахин О.Н., Климошкин Ю.Н., Климошкина А.Ю., Курятников В.Н., Малиновская Ю.А., Левина А.С., Журавлев О.Е., Ворончихина Л.И., Фисюк А.С., Аксенов А.В., Аксенов Н.А., Аксенова И.В. *ЖОрХ*. 2017, 53, 1257. [Antipin I.S., Kazymova M.A., Kuznetsov M.A., Vasilyev A.V., Ishchenko M.A., Kiryushkin A.A., Kuznetsova L.M., Makarenko S.V., Ostrovskii V.A., Petrov M.L., Solod O.V., Tri-

- shin Yu.G., Yakovlev I.P., Nenaidenko V.G., Beloglazkina E.K., Beletskaya I.P., Ustynyuk Yu.A., Solov'ev P.A., Ivanov I.V., Malina E.V., Sivova N.V., Negrebetskii V.V., Baukov Yu.I., Pozharskaya N.A., Traven' V.F., Shchekotikhin A.E., Varlamov A.V., Borisova T.N., Lesina Yu.A., Krasnokutskaya E.A., Rogozhnikov S.I., Shurov S.N., Kustova T.P., Klyuev M.V., Khelevina O.G., Stuzhin P.A., Fedorov A.Yu., Gushchin A.V., Dodonov V.A., Kolobov A.V., Plakhtinskii V.V., Orlov V.Yu., Kriven'ko A.P., Fedotova O.V., Pchelintseva N.V., Charushin V.N., Chupakhin O.N., Klimochkin Yu.N., Klimochkina A.Yu., Kuryatnikov V.N., Malinovskaya Yu.A., Levina A.S., Zhuravlev O.E., Voronchikhina L.I., Fisyuk A.S., Aksenov A.V., Aksenov N.A., Aksenova I.V. *Russ. J. Org. Chem.* **2017**, *53*, 1275.]  
DOI: 10.1134/S1070428017090019.
2. Толстикова Т.Г., Флехтер О.Б., Шульц Э.Э., Балтина Л.А., Толстикова А.Г. *Химия в интересах устойчивого развития.* **2005**, *13*, 1. [Tolstikova T.G., Flekhter O.B., Shultz E.E., Baltina L.A., Tolstikov A.G. *Chem. Sustainable Dev.* **2005**, *13* (1), 1.]
3. Толстикова Т.Г., Сорокина И.В., Толстикова Г.А., Толстикова А.Г., Флехтер О.Б. *Биоорг. хим.* **2006**, *32*, 42. [Tolstikova T.G., Sorokina I.V., Tolstikov G.A., Tolstikov A.G., Flekhter O.B. *Russ. J. Bioorg. Chem.* **2006**, *32* (1), 37.]  
DOI: 10.1134/S1068162006010031.
4. Król S.K., Kielbus M., Rivero-Müller A., Stepulak A. *BioMed Res. Int.* **2015**. Article ID 584189, 11.  
DOI: 10.1155/2015/584189.
5. Флехтер О.Б., Медведева Н.И., Карачурина Л.Т., Балтина Л.А., Галин Ф.З., Зарудий Ф.С., Толстикова Г.А. *Хим.-фарм. ж.* **2005**, *39* (8), 9. [Flekhter O.B., Medvedeva N.I., Karachurina L.T., Baltina L.A., Galin F.Z., Zarudii F.S., Tolstikov G.A. *Pharm. Chem. J.* **2005**, *39* (8), 401.]  
DOI: 10.1007/s11094-005-0167-z.
6. Флехтер О.Б., Медведева Н.И., Карачурина Л.Т., Балтина Л.А., Зарудий Ф.С., Галин Ф.З., Толстикова Г.А. *Хим.-фарм. ж.* **2002**, *36* (9), 29. [Flekhter O.B., Medvedeva N.I., Karachurina L.T., Baltina L.A., Zarudii F.S., Galin F.Z., Tolstikov G.A. *Pharm. Chem. J.* **2002**, *36* (9), 488.]  
DOI: 10.1023/A:1021896722692.
7. Толстикова Т.Г., Сорокина И.В., Толстикова Г.А., Толстикова А.Г., Флехтер О.Б. *Биоорг. хим.* **2006**, *32*, 291. [Tolstikova T.G., Sorokina I.V., Tolstikov G.A., Tolstikov A.G., Flekhter O.B. *Russ. J. Bioorg. Chem.* **2006**, *32* (3), 261.]  
DOI: 10.1134/S1068162006030083.
8. Ашавина О.Ю., Флехтер О.Б., Галин Ф.З., Кабальнова Н.Н., Балтина Л.А., Толстикова Г.А. *XIIC.* **2003**, *39* (2), 156. [Ashavina O.Yu., Flekhter O.B., Galin F.Z., Kabal'nova N.N., Baltina L.A., Tolstikov G.A. *Chem. Nat. Compd.* **2003**, *39* (2), 207.]  
DOI: 10.1023/A:1024826316939.
9. Тришин Ю.Г., Чернявский Г.Г., Шафеева М.В., Нелюбина Ю.В. *ЖОрХ.* **2010**, *46* (10), 1485. [Trishin Yu.G., Chernyavskii G.G., Shafeeva M.V., Nelyubina Yu.V. *Russ. J. Org. Chem.* **2010**, *46* (10), 1490.]  
DOI: 10.1134/S1070428010100088.
10. Хлебникова Т.С., Пивень Ю.А., Николаевич В.А., Барановский А.В., Лахвич Ф.А., Нгуен Ван Туен. *XIIC.* **2011** (6), 807. [Khlebnikova T.S., Piven' Yu.A., Nikolaevich V.A., Baranovskii A.V., Lakhvich F.A., Nguen Van Tuen. *Chem. Nat. Compd.* **2012**, *47* (6), 921.]  
DOI: 10.1007/s10600-012-0105-8.
11. Yang S.J., Liu M.C., Xiang H.M., Zhao Q., Xue W., Yang S. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *102*, 249.  
DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.08.004.
12. Zhou Y., Wang J., Gu Z., Wang J., Aceca J. L., Soloshonok V.A., Izawa K., Liu H. *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 422.  
DOI: 10.1021/acs.chemrev.5b00392.
13. Ietidal Eltahir M., Iqbal Ch., Shamsher A., Shazia A., Atta-ur-Rahman. *Acta Cryst.* **2006**, *62*, 1352.  
DOI: 10.1107/S1600536806008233.
14. Sheldrick G.M. *Acta Cryst.* **2015**, *C71*, 3.  
DOI: 10.1107/S2053229614024218.
15. Флехтер О.Б., Карачурина Л.Т., Поройков Л.Р., Нигматуллина Л.Р., Балтина Л.А., Зарудий Ф.С., Давыдова В.А., Спирихин Л.В., Байкова И.П., Галин Ф.З., Толстикова Г.А. *Биоорг. хим.* **2000**, *26* (3), 215. [Flekhter O.B., Karachurina L.T., Poroykov V.V., Nigmatullina L.P., Baltina L.A., Zarudii F.S., Davydova V.A., Spirikhin L.V., Baikova I.P., Galin F.Z., Tolstikov G.A. *Russ. J. Bioorg. Chem.* **2000**, *26* (3), 192.]  
DOI: 10.1007/BF02786345.
16. Кнунянц И.Л., Якобсон Г.Г. Синтезы фторорганических соединений. М.: Химия, **1973**, 166.