

# СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ 3-ЭПИ-2-ДЕЗОКСИЭКДИЗОНА С ЦИКЛОДЕКСТРИНАМИ И ИХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ

© 2019 г. Б. С. Темиргазиев<sup>a,b,\*</sup>, Б. И. Тулеуов<sup>a</sup>, М. А. Романова<sup>a</sup>, Р. Б. Сейдахметова<sup>a</sup>,  
Т. М. Сейлханов<sup>c</sup>, О. Т. Сейлханов<sup>c</sup>, Л. К. Салькеева<sup>b</sup>, С. М. Адекенов<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия»,  
ул. Газалиева 4, Караганда, 100009 Казахстан  
\*e-mail: b\_a\_h\_a1990@mail.ru

<sup>b</sup> Карагандинский государственный университет имени Е. А. Букетова, Караганда, Казахстан

<sup>c</sup> Кокшетауский государственный университет имени Ш. Уалиханова, Кокшетау, Казахстан

Поступило в Редакцию 11 октября 2018 г.

После доработки 11 октября 2018 г.

Принято к печати 15 октября 2018 г.

Из надземной части колючелистника качимовидного (*Acanthophyllum gypsophiloides* Regel) выделен экдистероид 3-эпи-2-дезоксизекдизон. Методом спектроскопии ЯМР изучено комплексообразование экдистероида с  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - и 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстринами. Исследована противовоспалительная активность полученных комплексов 3-эпи-2-дезоксизекдизона с циклодекстринами.

**Ключевые слова:** 3-эпи-2-дезоксизекдизон, циклодекстрины, супрамолекулярные комплексы, комплексы включения

**DOI:** 10.1134/S0044460X19030090

Фитоэкдистероиды обладают анаболической, тонизирующей, адаптогенной, иммуностимулирующей и гипогликемической активностью. Одной из причин недостаточного применения фитоэкдистероидов в фармацевтике является их низкая растворимость в воде. Известно, что одним из эффективных способов повышения растворимости в воде фармацевтических препаратов является супрамолекулярное комплексообразование последних с циклодекстринами [1]. Супрамолекулярная самосборка комплексов фитостероидов с циклодекстринами позволяет увеличить растворимость субстанции в воде, улучшить их биодоступность и физико-химическую стабильность, защитить от биодegradации и снизить токсичность [2–4]. Циклодекстрины являются сравнительно доступными соединениями, производятся из возобновляемого сырья – крахмала. Наиболее распространены являются  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -циклодекстрины, содержащие соответственно 6, 7 и 8 глюкопиранозных звеньев. Повышенный интерес к циклодекстринам

обусловлен их циклической структурой и способностью за счет внутренней гидрофобной полости образовывать супрамолекулярные комплексы включения типа *хозяин–гость* (рецептор–субстрат) в водной среде [5–7].

3-Эпи-2-дезоксизекдизон **1** [3 $\alpha$ ,14 $\alpha$ ,22R,25-тетрагидрокси-5 $\beta$ (H)-холест-7-ен-6-он, схема 1], выделенный ранее [8] и достаточно подробно идентифицированный методами масс-спектромет-

Схема 1.

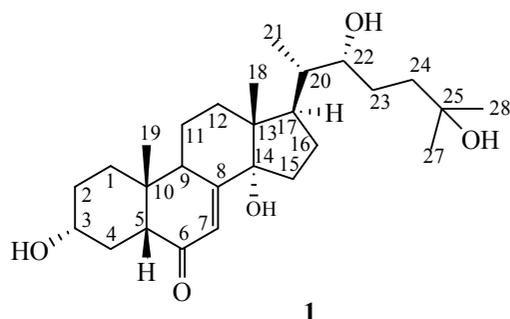
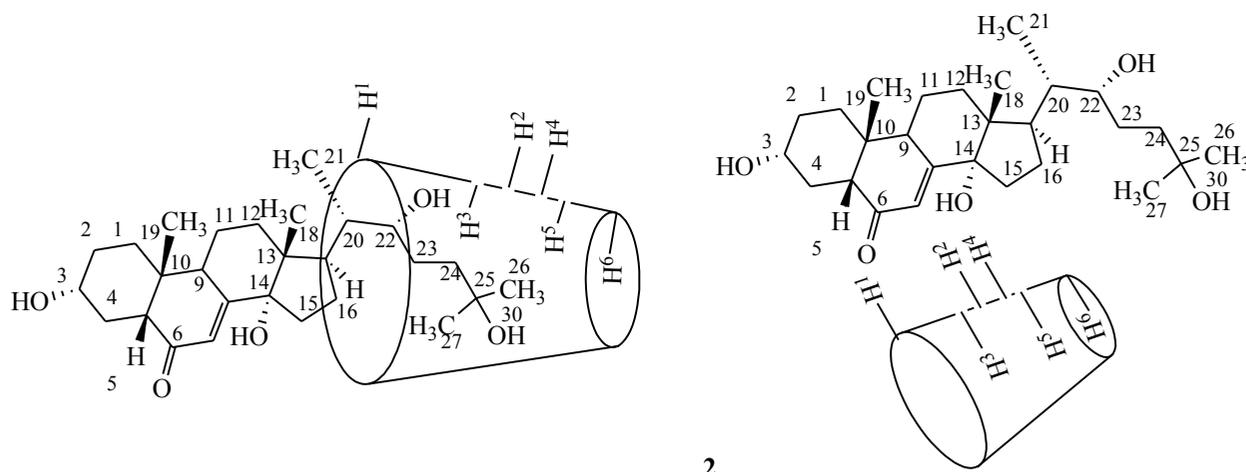


Схема 2.



2

рии и спектроскопии ЯМР [9], был выбран нами для изучения в качестве субстрата супрамолекулярной самосборки комплексов с  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - и 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстринами и для последующего биоскрининга их противовоспалительной активности.

Супрамолекулярные комплексы получены взаимодействием эквимольных количеств экдизона **1** и  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - и 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстринов в водно-этанольном растворе при 50°C в течение 5 ч. Исследование строения супрамолекулярных комплексов методом спектроскопии ЯМР  $^1\text{H}$  основано на определении разницы в значениях химических сдвигов  $^1\text{H}$  субстрата (**1**) и рецепторов (циклодекстрины) в свободном состоянии и в составе комплексов в результате межмолекулярного взаимодействия. По величине изменения химических сдвигов внутренних или внешних протонов циклодекстринов можно выявить образование, соответственно, внутренних, внешних или смешанных комплексов. Изменение химических сдвигов  $^1\text{H}$  в спектрах субстрата позволяет определить направление вхождения последнего в полость циклодекстринов [10–12].

Строение экдизона **1** было установлено на основании результатов спектроскопии ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  в  $\text{DMSO}-d_6$  (табл. 1). Правильность отнесения сигналов одномерных спектров ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  была подтверждена данными двумерных корреляций  $^1\text{H}$ – $^1\text{H}$  TOCSY,  $^1\text{H}$ – $^1\text{H}$  ROESY,  $^1\text{H}$ – $^{13}\text{C}$  HMQC и  $^1\text{H}$ – $^{13}\text{C}$  HMBC. Спектры ЯМР  $^1\text{H}$   $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - и 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстринов в свободном состоянии и супрамолекулярных комплексов с

экдизоном **1**, полученные в  $\text{D}_2\text{O}$ , представлены в табл. 1 и 2.

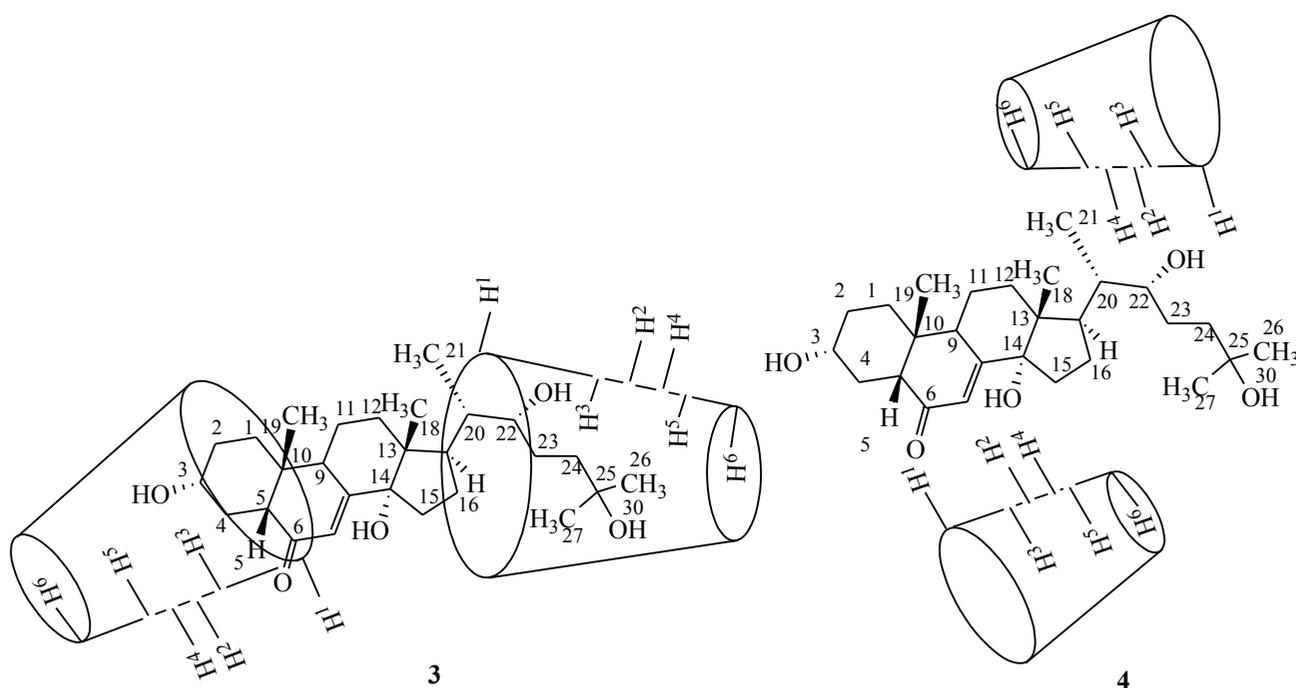
Исследование супрамолекулярных комплексов  $\alpha$ -циклодекстрина с экдизоном **1** показало, что в спектрах ЯМР практически отсутствуют сигналы стероидной молекулы. Это свидетельствует об отсутствии количественного взаимодействия между  $\alpha$ -циклодекстрином и экдизоном **1**. Вероятно, незначительные размеры гидрофобной полости  $\alpha$ -циклодекстрина в сравнении с другими аналогами, не позволили образоваться супрамолекулярному комплексу.

Сопоставление интегральных интенсивностей сигналов протонов в спектрах ЯМР  $^1\text{H}$  молекулы экдизона **1** с  $\beta$ -,  $\gamma$ - и 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстринами в комплексах показало, что экдизон **1** с  $\beta$ -циклодекстрином образует комплексы **2** состава 1:1, а с  $\gamma$ - и 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстринами – комплексы **3** и **4** состава 1:2. При образовании супрамолекулярного комплекса **2** изменения химических сдвигов протонов в циклодекстриновой молекуле  $\Delta\delta_1$  произошли в одинаковой мере как для внутренних гидрофобных протонов  $\text{H}^3$ ,  $\text{H}^5$  и  $\text{H}^6$ , так и для находящихся на внешней гидрофильной поверхности протонов  $\text{H}^1$ ,  $\text{H}^2$  и  $\text{H}^4$  (нумерация атомов приведена на схеме 2). В молекуле экдизона **1** наибольшие изменения в спектрах ЯМР наблюдаются для протонов стероидных колец  $\text{H}^7$ ,  $\text{H}^{15}$ ,  $\text{H}^{16}$  и некольцевых метинового  $\text{H}^{22}$  и метильных протонов  $\text{H}^{21}$ ,  $\text{H}^{26}$  и  $\text{H}^{27}$ . Эти результаты свидетельствуют о том, что при супрамолекулярной самосборке происходит образование как комплексов включения, так и комплексов без включения [12, 13]. Образующиеся

**Таблица 1.** Химические сдвиги ядер  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  экдизона **1** в свободном состоянии ( $\delta_0$ ) и в составе комплексов **2** ( $\delta_1$ ), **3** ( $\delta_2$ ) и **4** ( $\delta_3$ )

№ атома	Группа	$\delta_{\text{C}}$ , м. д.	$\delta_{\text{H}}$ , м. д.						
		$\delta_0$	$\delta_0$	$\delta_1$	$\Delta\delta_1 = \delta_1 - \delta_0$	$\delta_2$	$\Delta\delta_2 = \delta_2 - \delta_0$	$\delta_3$	$\Delta\delta_3 = \delta_3 - \delta_0$
1 <sub>ax</sub>	CH <sub>2</sub>	29.62	1.41			1.40	-0.01	1.41	0
1 <sub>eq</sub>			1.46	1.41	-0.05	1.46	0	1.44	-0.02
2 <sub>ax</sub>	CH <sub>2</sub>	28.73	1.54			1.56	0.02	1.48	-0.06
2 <sub>eq</sub>			1.56	1.53	-0.03	1.59	0.03	1.52	-0.04
3	CH	63.22	3.40	3.44	0.04	3.59	0.19	3.37	-0.03
	OH		4.45						
4 <sub>ax</sub>	CH <sub>2</sub>	32.55	1.54			1.56	0.02	1.48	-0.06
4 <sub>eq</sub>			1.56	1.53	-0.03	1.59	0.03	1.52	-0.04
5	CH	47.65	2.23	2.27	0.04	2.25	0.02	2.30	0.07
6	CO	203.23	-	-	-	-	-	-	-
7	CH	120.76	5.60	5.84	0.24	5.75	0.15	5.83	0.23
8	C	165.91	-	-	-	-	-	-	-
9	CH	36.58	3.01	3.04	0.03	3.02	0.01	3.05	0.04
10	C	36.58	-	-	-	-	-	-	-
10	C	36.58	-	-	-	-	-	-	-
11 <sub>ax</sub>	CH <sub>2</sub>	20.60	1.46			1.46	0	1.44	-0.02
11 <sub>eq</sub>			1.56	1.53	-0.03	1.59	0.03	1.52	-0.04
12 <sub>ax</sub>	CH <sub>2</sub>	31.00	1.56	1.53	-0.03	1.59	0.03	1.52	-0.04
12 <sub>eq</sub>			1.95	1.92	-0.03	1.80	-0.15	1.92	-0.03
13	C	47.37	-	-	-	-	-	-	-
14	C	83.39	-	-	-	-	-	-	-
	OH								
15 <sub>ax</sub>	CH <sub>2</sub>	29.62	1.54	1.53	-0.01	1.56	0.02	1.48	-0.06
15 <sub>eq</sub>			1.85	1.76	-0.09	1.79	-0.06	1.84	-0.01
16 <sub>ax</sub>	CH <sub>2</sub>	21.58	1.56			1.79	-0.04	1.81	-0.02
16 <sub>eq</sub>			1.83	1.76	-0.07	1.79	-0.04	1.81	-0.02
17	CH	47.37	1.95	1.92	-0.03	1.80	-0.15	1.92	-0.03
18	CH <sub>3</sub>	15.85	0.55	0.63	0.08	0.58	0.03	0.63	0.08
19	CH <sub>3</sub>	24.36	0.81	0.87	0.06	0.84	0.03	0.83	0.02
20	CH	42.35	1.56	1.53	-0.03	1.59	-0.03	1.52	-0.04
21	CH <sub>3</sub>	13.42	0.79	0.87	0.08	0.79	0	0.83	0.04
22	CH	72.87	3.34	3.44	0.10	3.57	0.23	3.37	0.03
	OH		4.17						
23 <sub>ax</sub>	CH <sub>2</sub>	24.58	1.18	1.23	-0.05	1.24	0.06	1.16	-0.02
23 <sub>eq</sub>			1.31	1.27	-0.04	1.31	0	1.35	0.04
24 <sub>ax</sub>	CH <sub>2</sub>	41.79	1.29	1.27	-0.02	1.31	0.02	1.27	-0.02
24 <sub>eq</sub>			1.76	1.75	-0.01	1.76	0	1.76	0
	OH		4.47						
25	C	69.33	-	-	-	-	-	-	-
	OH								
26	CH <sub>3</sub>	30.53	1.01	1.09	0.08	1.08	0.07	1.08	0.07
27	CH <sub>3</sub>	26.27	1.03	1.09	0.06	1.08	0.05	1.08	0.05

Схема 3.



при этом водорастворимые агрегаты способны солюбилизовать липофильные молекулы субстратов через неинклюзивное комплексообразование [14].

В спектрах ЯМР  $^1\text{H}$  супрамолекул комплекса **3** наибольшее изменение химических сдвигов при образовании комплексов происходит у гидрофобного внутрисполостного протона  $\text{H}^3$  циклодекстрина (нумерация атомов приведена на схеме 3). Изменения в химических сдвигах наблюдаются для протонов как внешней, так и внутренней сферы  $\gamma$ -циклодекстрина. В стероидной молекуле наибольшие химические сдвиги протонов отмечены для циклических стероидных протонов  $\text{H}^3$ ,  $\text{H}^{12}$  и  $\text{H}^{17}$ , а также некольцевого протона  $\text{H}^{22}$ . Так как в

данном комплексе на 1 молекулу стероида приходится 2 молекулы  $\gamma$ -циклодекстрина, причем в молекуле субстрата **1** наибольшие изменения химических сдвигов наблюдаются для кольцевых и некольцевых протонов, наиболее вероятно образование комплекса включения **4** с входением стероидной молекулы разными концами в циклодекстриновые полости. Изменения химических сдвигов внешних протонов  $\gamma$ -циклодекстрина возможны при взаимодействии с гидроксигруппами и протонами эквизона **1**, находящимися вне циклодекстриновой полости.

При использовании в качестве компонента супрамолекулярной самосборки 2-гидроксипропил-

**Таблица 2.** Химические сдвиги ядер  $^1\text{H}$   $\beta$ -,  $\gamma$ - и 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстринов в свободном состоянии ( $\delta_0$ ) и в составе комплексов **2** ( $\delta_1$ ), **3** ( $\delta_2$ ) и **4** ( $\delta_3$ )

№ атома	$\beta$ -Циклодекстрин			$\gamma$ -Циклодекстрин			2-Гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрин		
	$\delta_0$ , м. д.	$\delta_1$ , м. д.	$\Delta\delta_1 = \delta_1 - \delta_0$	$\delta_0$ , м. д.	$\delta_2$ , м. д.	$\Delta\delta_2 = \delta_2 - \delta_0$	$\delta_0$ , м. д.	$\delta_3$ , м. д.	$\Delta\delta_3 = \delta_3 - \delta_0$
1	4.87	4.92	0.05	4.96	4.92	-0.04	4.92	4.92	0.00
2	3.45	3.49	0.04	3.51	3.51	0.00	3.48	3.48	0.00
3	3.77	3.81	0.04	3.78	3.70	-0.08	3.87	3.86	-0.01
4	3.39	3.44	0.05	3.44	3.43	-0.01	3.44	3.44	0.00
5	3.68	3.72	0.04	3.72	3.68	-0.04	3.72	3.72	0.00
6	3.68	3.72	0.04	3.72	3.68	-0.04	3.72	3.72	0.00

$\beta$ -циклодекстрина, более гидрофилизированного по сравнению с другими циклодекстринами из-за наличия дополнительных 2-гидроксипропильных фрагментов, в образованном супрамолекулярном комплексе **4** практически не наблюдаются изменения как для внутренних, так и для внешних протонов 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрина. В молекуле экдизона **1** наибольшие изменения в химических сдвигах наблюдаются для протонов H<sup>7</sup>, H<sup>18</sup> и H<sup>26</sup>. В этом случае, вероятно, супрамолекулярная самосборка приводит к образованию комплексов без включения **4** за счет межмолекулярного взаимодействия гидроксильных групп как со стороны стероидной молекулы, так и 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрина.

Все полученные комплексы **2–4** имели достаточную растворимость в воде.

Результаты скринингового исследования противовоспалительной активности комплексов **2–4** показали, что комплекс **2** в дозе 25 мг/кг обладает выраженной противовоспалительной активностью на модели острой экссудативной реакции и превышает по активности препарат сравнения Диклофенак натрия в 1.6 раза, тогда как комплекс **3** показал слабую активность, а комплекс **4** и вовсе не проявил противовоспалительную активность.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C записаны на спектрометре Jeol JNM-ECA 400 (399.78 и 100.53 МГц соответственно) в растворе ДМСО-*d*<sub>6</sub> для экдизона **1** и в D<sub>2</sub>O для комплексов включения **2–4** при комнатной температуре.

$\beta$ -,  $\gamma$ - и 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрины использовали производства компании «Fluka» с чистотой 99%.

**Получение супрамолекулярных комплексов 2–4.** К 0.05 г (0.11 ммоль) экдизона **1**, растворенного в 3 мл абсолютного этанола, добавляли 0.124 г (0.11 ммоль)  $\beta$ -циклодекстрина [в случае  $\gamma$ - или 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстринов добавляли 0.142 г (0.11 ммоль) или 0.182 г (0.11 ммоль) вещества соответственно, растворенного в 4 мл дистиллированной воды]. Смесь перемешивали при 50°C в течение 8 ч. Осадок отфильтровывали, промывали этанолом и сушили в вакуумном шкафу при 40°C. Комплексы представляли собой белые порошкообразные вещества.

**Комплекс 2.** Т. пл. 293–296°C (этилацетат–метанол). ИК спектр (KBr),  $\nu$ , см<sup>-1</sup>: 1030, 1165, 1647 (C=O), 2357, 2932, 3445 (OH).

**Комплекс 3.** Т. пл. 314–317°C (этилацетат–метанол). ИК спектр (KBr),  $\nu$ , см<sup>-1</sup>: 578, 1030, 1157, 1377, 1655 (C=O), 2928, 3414 (OH).

**Комплекс 4.** Т. пл. 350°C (разл.) (этилацетат–метанол). ИК спектр (KBr),  $\nu$ , см<sup>-1</sup>: 1022, 1061, 1377, 1651 (C=O), 2365, 2943, 3433 (OH).

**Исследование противовоспалительной активности** проводили по методике [15]. Исследуемые объекты изучали в дозе 25 мг/кг при пероральном введении в виде крахмальной слизи. Препарат сравнения Диклофенак натрия изучали в дозе 25 мг/кг. Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ Statistica 6.0. Межгрупповые отличия оценивали непараметрическим *U*-критерием Манна–Уитни. Достоверными считались различия при достигнутом уровне значимости  $p < 0.05$ .

Работа выполнена с соблюдением всех применимых международных, национальных и институциональных руководящих принципов по уходу и использованию животных.

### ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан (проект № AP05133718).

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Dodziuk H.* Cyclodextrins and their complexes: chemistry, analytical methods, applications. Weinheim: Wiley-VCH, 2006. 504 p.
2. *Rinaldi L., Binello A., Stolle A., Curini M., Cravotto G.* // *Steroids*. 2015. Vol. 98. P. 58. doi 10.1016/j.steroids.2015.02.016
3. *Forgo P., Vincze I., Kover K.E.* // *Steroids*. 2003. Vol. 68. P. 321. doi 10.1016/S0039-128X(03)00041-2
4. *Jover A., Budal R.M., Al-Soufi W., Mejjide F., Tato J.V., Yunes R.A.* // *Steroids*. 2003. Vol. 68. P. 55. doi 10.1016/S0039-128X(02)00115-0
5. *Yanga R., Chena J.-B., Dai X.-Y., Huang R., Xiao C.-F., Gao Zh.-Y., Yang B., Yang L.-J., Yan S.-J., Zhang H.-B.,*

- Qing Ch., Lin J.* // Carbohydr. Polym. 2012. Vol. 89. N 1. P. 89. doi 10.1016/j.carbpol.2012.02.054
6. *Yuan Ch., Jin Zh., Xu X.* // Carbohydr. Polym. 2012. Vol. 89. N 2. P. 492. doi 10.1016/j.carbpol.2012.03.033
7. *Dandawate P.R., Vyas A., Ahmad A., Banerjee S., Deshpande J., Swamy K.V., Jamadar A., Dumhe-Klaire A.K., Padhye S., Sarkar F.H.* // Pharm. Res. 2012. Vol. 29. N 7. P. 1775. doi 10.1007/s11095-012-0700-1
8. *Саатов З., Горовиц М.Б., Мелибаев С., Абубакиров Н.К.* // ХПС. 1986. Т. 22. № 1. С. 77; *Saatov Z., Gorovits M.B., Melibaev S., Abubakirov N.K.* // Chem. Nat. Compd. 1986. Vol. 22. N 1. P. 71. doi 10.1007/BF00574584
9. *Тулеев Б.И., Заварзин И.В., Шапков А.С., Чернобурова Е.И., Адекенов С.М.* // Изв. АН. Сер. хим. 2018. №4. С. 663; *Tuleuov B.I., Zavarzin I.V., Shashkov A.S., Chernoburov E.I., Adekenov S. M.* // Russ. Chem. Bull. 2018. Vol. 67. N 4. P. 663. doi 10.1007/s11172-018-2120-9
10. *Nowakowski M., Ejchart A.* // J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem. 2014. Vol. 79. N 3. P. 337. doi 10.1007/s10847-013-0356-4
11. *Maheshwari A., Sharma M., Sharma D.* // J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem. 2013. Vol. 77. N 1–4. P. 337. doi 10.1007/s10847-012-0251-4
12. *Hazra S., Hossain M., Kumar G.S.* // J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem. 2014. Vol. 78. N 1–4. P. 311. doi 10.1007/s10847-013-0301-6
13. *Demarco P.V., Thakkar A.I.* // J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1970. N 1. P. 2. doi 10.1039/C29700000002
14. *Lofisson T., Masson M., Brewster M.E.* // J. Pharm. Sci. 2004. Vol. 93. N 5. P. 1091. doi 10.1002/jps.20047
15. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р.У. Хамриева. М.: Медицина, 2005. 832 с.

## Supramolecular Complexes of 3-Epi-2-deoxyecdysone with Cyclodextrins and Their Anti-Inflammatory Activity

**B. S. Temirgaziev<sup>a,b,\*</sup>, B. I. Tuleuov<sup>a</sup>, M. A. Romanova<sup>a</sup>, R. B. Seidakhmetova<sup>a</sup>,  
T. M. Seilkhanov<sup>c</sup>, O. T. Seilkhanov<sup>c</sup>, L. K. Salkeeva<sup>b</sup>, and S. M. Adekenov<sup>a</sup>**

<sup>a</sup> International Scientific and Production Holding "Phytochemistry", ul. Gazalieva 4, Karaganda, 100009 Kazakhstan  
\*e-mail: b\_a\_h\_a1990@mail.ru

<sup>b</sup> E. A. Buketov Karaganda State University, Karaganda, Kazakhstan

<sup>c</sup> Sh. Ualikhanov Kokshetau State University, Kokshetau, Kazakhstan

Received October 11, 2018; revised October 11, 2018; accepted October 15, 2018

The ecdysteroid 3-epi-2-deoxyecdysone was isolated from the aerial part of *Acanthophyllum gypsophiloides* Regel. Complexation ability of ecdysteroid with  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - and 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrins was studied by NMR spectroscopy. Anti-inflammatory activity of the obtained complexes of 3-epi-2-deoxyecdysone with cyclodextrins was investigated.

**Keywords:** 3-epi-2-deoxyecdysone, cyclodextrins, supramolecular complexes, inclusion complexes