

В. С. Роговский¹, А. И. Матюшин¹, А. М. Коротеев², М. П. Коротеев²,
А. О. Поздеев², В. В. Князев¹, Н. Л. Шимановский¹

АНТИОКСИДАНТНАЯ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА, ЕГО АМИНОМЕТИЛИРОВАННОГО ПРОИЗВОДНОГО И ИХ КОМПЛЕКСОВ ВКЛЮЧЕНИЯ В ЦИКЛОДЕКСТРИН

¹ ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н. И. Пирогова Минздрава России, Россия, 119435, Москва, Большая Пироговская ул., 9А, с. 1.

² ФГБОУ ВО "Московский педагогический государственный университет", Институт биологии и химии, Россия, 129164, Москва, ул. Кибальчича, д. 6, корп. 2.

* e-mail: knyazik@mail.ru

Произведено сравнение антиоксидантной активности дигидрохверцетина (ДГК, таксифолин), его аминотетраметилрованного производного (КН-14) и их комплексов включения в циклодекстрин. Полученные данные свидетельствуют, что дигидрохверцетин и КН-14 обладают сопоставимой антиоксидантной активностью. Формирование комплексов включений в циклодекстрин сохраняет антиоксидантную активность дигидрохверцетина и КН-14. ДГК, КН-14 и водорастворимый комплекс включения КН-14 в циклодекстрин в дозе 0,04 ммоль/кг обладают выраженным противовоспалительным эффектом на модели каррагенан-индуцированного отека лапки мыши, эквивалентным противовоспалительному эффекту диклофенака в дозе 0,02 ммоль/кг.

Ключевые слова: антиоксидантная активность; противовоспалительная активность; дигидрохверцетин; таксифолин; КН-14; циклодекстрин.

Дигидрохверцетин (таксифолин) — биофлавоноид, обладающий значительной антиоксидантной активностью. Кроме того, дигидрохверцетин, а также родственные соединения обладают противоопухолевым, ангиопротекторным, нейропротекторным, противорвотным и другими эффектами [1 – 4].

Дигидрохверцетин и его производные являются гидрофобными соединениями, что требует использования спирта или диметилсульфоксида (ДМСО) для получения водных растворов. Отсутствие водорастворимых форм данных соединений во многом затрудняет их применение в терапевтических целях для внутривенного введения.

Известно, что циклодекстрины способны увеличивать растворимость и биодоступность гидрофобных лекарственных средств, что обуславливает их широкое применение в фармакологии [5, 6].

Образование комплекса включения дигидрохверцетина и его производных в циклодекстрин значительно повышает их водорастворимость [7], что делает возможным внутривенное введение данного соединения, но в то же время может повлиять на их антиоксидантную, противовоспалительную и другие виды активности.

В связи с вышесказанным целью данной работы являлось сравнение антиоксидантной и противовоспалительной активности нативного дигидрохверцетина, его аминотетраметилрованного производного, а также их комплексов включения в циклодекстрин.

Экспериментальная химическая часть

Объектами исследования являлись нативный дигидрохверцетин и его аминотетраметилрованное производное КН-14 (рис. 1), синтезированное на кафедре

органической химии Московского педагогического государственного университета, а также водорастворимые формы данных соединений — комплексы включения в 2-гидроксипропил-β-циклодекстрин (далее циклодекстрин, ЦД) [7, 8].

Спектры ЯМР регистрировали на спектрометре "JNM-ECX400" (100,5 МГц) (Япония), химические сдвиги приведены относительно ТМС (внутренний стандарт). Для элементного анализа использовали анализатор "Perkin-Elmer 2400" (США).

Получение аминотетраметилрованного производного дигидрохверцетина КН-14. Смесь 0,3 г (0,01 моль) формальдегида (в виде параформа), 1,29 г рацемического диизобутиламина (0,01 моль) и 50 мл 96 % этилового спирта перемешивали при 60 °С до полной гомогенизации (приблизительно 1,5 ч). Затем к полученному охлажденному до 20 °С раствору медленно прибавляли раствор, содержащий 3,5 г (0,01 моль) ДГК в 10 мл этилового спирта. По окончании прибавления реакционную массу перемешивали при 40 °С 1,5 ч. Выпавший осадок отфильтровывали в вакууме, последовательно промывали этанолом, диэтиловым эфиром, гексаном, и сушили в вакууме. Выход: 2,49 г (56 %). $T_{пл}$ 205 – 206 °С (с разл.). Найдено, %: С 64,69; Н 7,11; N 3,13. $C_{24}H_{31}NO_7$. Вычислено, %: С 64,70; Н 7,01; N 3,15. Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 83,89 (C^2), 72,22 (C^3), 196,98 (C^4), 163,86 (C^5), 101,13 (C^6), 165,36 (C^7), 94,87 (C^8), 162,28 (C^9), 101,55 (C^{10}), 129,21 (C^{11}), 120,07 (C^{12}), 147,12 (C^{13}), 145,84 (C^{14}), 119,89 (C^{15}), 43,29 (C^{16}), 54,23 (C^{17-18}), 28,42 (C^{19-20}), 9,18 (C^{21-22}), 19,76 (C^{23-24}).

Для образования гидрофильных форм дигидрохверцетина и его производного КН-14 нами произведено их инкапсулирование в оболочку из циклического оли-

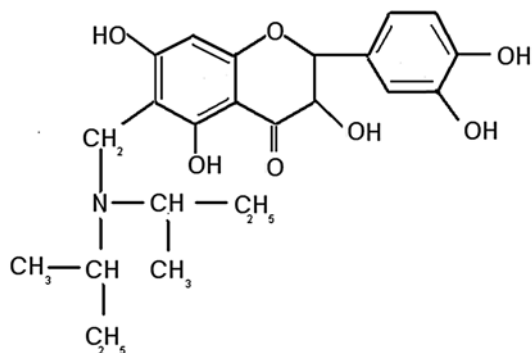


Рис. 1. Структурная формула соединения КН-14 (6-[(ди-*sec*-бутиламино)метил]-2-(3,4-дигидроксифенил)-3,7-дигидрокси-2,3-дигидро-4*H*-хромен-4-он).

гомера глюкозы — циклодекстрина, согласно описанной методике [7]. В итоге получены водорастворимые комплексы включения в циклодекстрин, которые использовались для дальнейшего изучения.

Экспериментальная фармакологическая часть

Для оценки антиоксидантной активности исследуемых соединений использовался АБТС-тест [9]. АБТС-тест (деколоризационный метод) основан на измерении оптической плотности раствора предварительно генерированных стабильных катион-радикалов АБТС^{•+} при длине волны 734 нм (максимум поглощения АБТС^{•+}).

По результатам применения АБТС-теста рассчитывалась антиоксидантная активность (АОА), численно равная обратной концентрации антиоксиданта, при которой происходит уменьшение оптической плотности раствора АБТС^{•+} на 50 %. В качестве контроля был использован раствор ДМСО (3 %), в котором растворялись изучаемые соединения, обладающие преимущественно липофильными свойствами.

Для изучения противовоспалительной активности исследуемых соединений была использована модель каррагенан-индуцированного отека лапки мыши [10]. Изучаемые соединения вводили внутривентриально, экспериментальные группы состояли из 6–8 белых нелинейных мышей-самцов весом 40–42 г, которые находились в стандартных условиях вивария и получали стандартный рацион питания. ДГК, ДГК-ЦД, КН-14, КН-14-ЦД вводили в эквимолярных дозах по отношению к ДГК и КН-14 (0,16; 0,04; 0,02 ммоль/кг). Диклофенак вводили в дозе 0,02 ммоль/кг, что, согласно методу конверсии доз [11], примерно соответствует

Коэффициенты корреляции между противовоспалительной и антиоксидантной активностью исследуемых соединений

	ПВА	АОА АБТС
ПВА	1	-0,94
АОА АБТС	-0,94	1

Примечание: ПВА — противовоспалительная активность, АОА АБТС — антиоксидантная активность, вычисленная при помощи АБТС-теста.

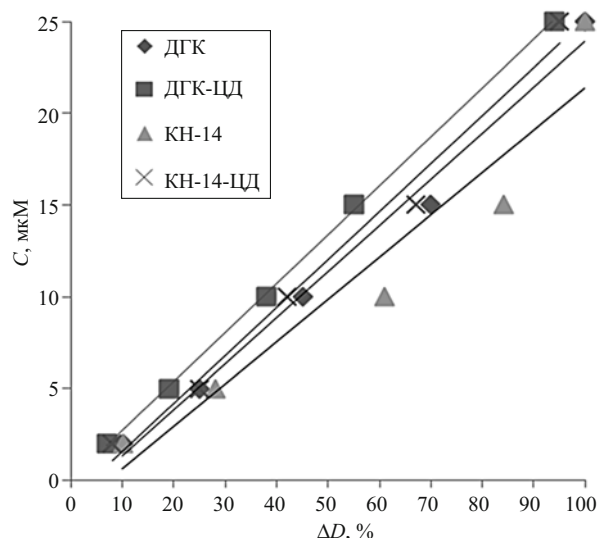


Рис. 2. Влияние исследуемых соединений на оптическую плотность раствора катион-радикалов АБТС^{•+}. ΔD — уменьшение амплитуды по сравнению с контролем, %.

суточной дозе 75 мг для человека [12]. В контрольных группах мышам вводили физиологический раствор.

Статистический анализ проводился с использованием критерия Манна — Уитни. Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

С использованием результатов АБТС-теста для соединений ДГК, КН-14 и комплексов включения ДГК-ЦД и КН-14-ЦД построены концентрационные кривые и вычислена антиоксидантная активность (АОА) (рис. 2).

В целом, не отмечено статистически значимой разницы в действии изученных соединений на оптическую плотность раствора катион-радикалов АБТС^{•+}. Согласно анализу полученных данных, АОА ДГК, КН-14 и комплексов включения ДГК-ЦД и КН-14-ЦД являются величинами одного порядка в диапазоне от 0,074 до 0,100 мкм⁻¹. Таким образом, модификация нативной формы дигидрокверцетина, его аминотетраметиллизованного производного (КН-14) в водорастворимую форму путем инкапсулирования в циклодекстрин не снижает их антиоксидантной активности.

Антиоксидантная активность производных дигидрокверцетина может опосредовать их противовоспалительные свойства.

На модели каррагенан-индуцированного отека лапки мыши изучена противовоспалительная активность дигидрокверцетина, КН-14, а также их комплексов включения в циклодекстрин (ДГК-ЦД и КН-14-ЦД).

Результаты эксперимента по изучению противовоспалительной активности представлены на диаграмме размаха на рис. 3.

Согласно полученным данным, в используемой модели все изученные соединения обладают противовоспалительной активностью. Наименьшей противовоспалительной активностью обладает ДГК-ЦД, после

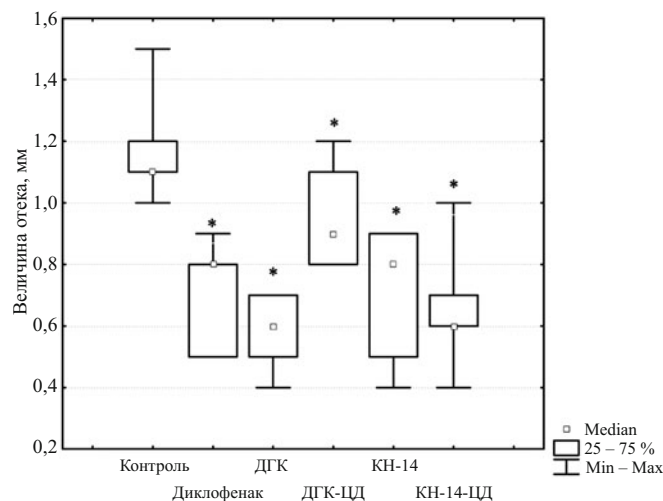


Рис. 3. Диаграмма размаха (Boxand Whiskers) для визуальной оценки эффекта исследуемых соединений на величину каррагенан-индуцированного отека лапки мыши. Концентрация производных дигидрокверцетина 0,16 ммоль/кг. * — различия с контролем статистически значимы ($p < 0,05$).

введения которого величина каррагенан-индуцированного отека уменьшилась на 21 %. KN-14-ЦД вызвал уменьшение величины отека на 46 %, KN-14 — на 43 %, ДГК — на 52 %. Таким образом, ДГК, KN-14 и KN-14-ЦД в дозе 0,16 ммоль/кг обладают противовоспалительной активностью, сопоставимой с противовоспалительной активностью диклофенака в дозе, эквивалентной терапевтической.

Согласно полученным данным, выраженная противовоспалительная активность ДГК, KN-14, KN-14-ЦД, сопоставимая с противовоспалительной активностью диклофенака в дозе, эквивалентной терапевтической, сохраняется и при уменьшении дозы до 0,04 ммоль/кг (12,5 мг/кг в пересчете на ДГК).

Проведен корреляционный анализ взаимосвязей между противовоспалительной (ПВА) и антиоксидантной (АОА) активностью исследуемых соединений (таблица).

По результатам корреляционного анализа не выявлено статистически значимой корреляции между противовоспалительной и антиоксидантной активностью.

Данный результат может свидетельствовать о наличии дополнительных (помимо антиоксидантных) механизмов в реализации противовоспалительного и других фармакологических эффектов растительных флавоноидов, относящихся к производным кверцетина [13, 14].

Таким образом, формирование комплексов включения дигидрокверцетина и его аминометилированного производного (KN-14) в циклодекстриновую оболочку, повышая их водорастворимость [7], сохраняет при этом антиоксидантную и противовоспалительную активность, что позволяет рекомендовать их для дальнейшего изучения с целью создания инъекционных лекарственных форм.

ЛИТЕРАТУРА

1. П. Б. Цыдендамбаев, Б. С. Хышиктеув, С. М. Николаев, *Бюл. ВШЦ СО РАМН*, **52**(6), 229 – 233 (2006).
2. В. В. Князев, В. С. Роговский, Е. Д. Свешникова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **52**(3), 7 – 20 (2018); *Pharm. Chem. J.*, **52**(3), 205 – 208 (2018).
3. A. Garcia-Lafuente, E. Guillaumon, A. Villares, et al., *Inflamm. Res.*, **58**(9), 537 – 552 (2009).
4. Дигидрокверцетин (Dihydroquercetin): инструкция, применение. Available from: <http://rlsnet.ru/mnn-index/id2487.htm>.
5. A. Rashed, A. Kumar, V. Sravanthi, *Rev. Sci. Pharm.*, **76**, 567 – 598 (2008).
6. В. П. Зинченко, Ю. С. Тараховский, Г. Е. Бронников, *Биофизика*, **56**(3), 433 – 438 (2011).
7. Патент России 2396077 (2009); *РЖ Химия*, А61Р9 / 14 (2009).
8. В. С. Роговский, Т. М. Арзамасова, М. А. Розенфельд и др., *Хим.-фарм. журн.*, **47**(6), 10 – 13 (2013); *Pharm. Chem. J.*, **47**(6), 295 – 298 (2013).
9. R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, et al., *Free Radical Biology & Medicine*, **26**, 1231 – 1237 (1999).
10. C. Morris, *Meth. Mol. Biol.*, **225**, 115 – 121 (2003).
11. E. J. Freireich, E. A. Gehan, et al., *Cancer Chemother. Res.*, **50**(4), 219 – 244 (1966).
12. Д. Ю. Сафронов, *Вестник МГОУ, Серия “Естественные науки”*, **3**, 82 – 85 (2011).
13. В. С. Роговский, *автореф. дис. ... канд. мед. наук*, Москва (2014).
14. В. А. Куркин, К. Н. Сазанова, Е. Н. Зайцева и др., *Хим.-фарм. журн.*, **54**(8), 10 – 12 (2020); *Pharm. Chem. J.*, **54**(8), 797 – 799 (2020).

Поступила 23.03.21

ANTIOXIDANT AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITIES OF DIHYDROQUERCETIN, ITS AMINOMETHYLATED DERIVATIVE, AND THEIR INCLUSION COMPLEXES WITH CYCLODEXTRIN

V. S. Rogovskii¹, A. I. Matyushin¹, A. M. Koroteev², M. P. Koroteev², A. O. Pozdeev², V. V. Knyazev^{1*}, and N. L. Shimanovsky¹

¹ N. I. Pirogov National Research Medical University, Moscow, 119435 Russia

² Institute of Biology and Chemistry, Moscow State Pedagogical University, Moscow, 129164 Russia

* e-mail: knyazik@mail.ru

The antioxidant properties of dihydroquercetin (DHQ, taxifolin), its aminomethylated derivative (KN-14) and their inclusion complexes in cyclodextrin were compared. The obtained data indicate that DHQ and KN-14 have comparable antioxidant activity. The formation of inclusion complexes in cyclodextrin does not decrease the antioxidant activity of DHQ and KN-14. Taxifolin, KN-14 and the water-soluble inclusion complex of KN-14 in cyclodextrin at a dose of 0.04 mmol/kg exhibited pronounced anti-inflammatory effect on the model of carrageenan-induced paw edema in mice, equivalent to the anti-inflammatory effect of diclofenac at a dose of 0.02 mmol/kg.

Keywords: antioxidant activity; anti-inflammatory activity; dihydroquercetin; taxifolin; KN-14; cyclodextrin.