



КУТЯШЕВА НАТАЛЬЯ ВЛАДИМИРОВНА

**ДИМЕРНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ.
ОСОБЕННОСТИ СИНТЕЗА И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ**

Специальность 1.4.3. Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Работа выполнена на кафедре органической химии Института биологии и химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский педагогический государственный университет»

Научный руководитель: **Грачев Михаил Константинович**
доктор химических наук, профессор

Официальные оппоненты: **Офицеров Евгений Николаевич**
доктор химических наук, профессор,
профессор кафедры химии и технологии
биомедицинских препаратов ФГБОУ ВО
«Российский химико-технологический
университет имени Д.И. Менделеева»

Артюшин Олег Иванович
кандидат химических наук, старший научный
сотрудник лаборатории фосфорорганических
соединений ФГБУН «Институт элементоорганических
соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии
наук»

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«Российский национальный исследовательский
медицинский университет им. Н.И. Пирогова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится 11 февраля 2025 года в 14 час. 00 мин. на заседании диссертационного совета 24.1.108.03. на базе ФГБУН Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук по адресу: 142432, Московская область, г. Черноголовка, Северный проезд, 1, зал Ученого совета.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на официальном сайте ФИЦ ПХФ и МХ РАН <https://icp-ras.ru/>. Текст автореферата размещен на официальном сайте Высшей аттестационной комиссии по адресу <http://vak3.minobrnauki.gov.ru/>.

Автореферат разослан _____ 2024 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета 24.1.108.03

кандидат биологических наук



Аникина Л.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

В настоящее время циклодекстрины, представляющие собой регулярно построенные циклические олигосахариды, являются перспективным классом органических соединений с большими возможностями для практического применения. Это обусловлено их относительной дешевизной, нетоксичностью, биоразлагаемостью и рядом других уникальных свойств, в первую очередь, благодаря наличию гидрофобной полости и возможностью образования достаточно прочных соединений включения типа *гость-хозяин* с подходящими по размеру и природе *гостями*. При этом важно, что такие свойства циклодекстринов, как растворимость в воде и способность к образованию соединений включения могут быть направленно изменены путем их химической модификации. Однако химическая модификация циклодекстринов представляет собой непростую в экспериментальном отношении задачу из-за большого набора разных по природе гидроксильных групп. Несмотря на хорошую разработанность многих методик синтеза применительно к моносахаридам и линейным олигосахаридам, простой перенос этих методик для функционализации циклодекстринов оказался невозможен из-за особого *супрамолекулярного* влияния циклодекстриновой полости. Поэтому поиск новых эффективных путей модификации циклодекстринов всегда является актуальной проблемой, успешно решенной лишь для отдельных конкретных случаев.

В последние десятилетия особые физико-химические свойства и полостная структура циклодекстринов определили их высокую ценность как *эксципиентов* при создании лекарственных препаратов. Связывание лекарственных соединений обычно происходит за счет образования комплексов включения с циклодекстрином, реже за счет конъюгирования (ковалентного связывания), что в итоге приводит к улучшению определенных свойств лекарств, например, таких как водорастворимость, стабильность и биодоступность. При этом следует учитывать, что образование комплексов включения возможно со всей молекулой лекарственного соединения или только с её частью, а сами комплексы циклодекстрин-лекарственное соединение могут находиться в динамическом равновесии с исходными соединениями с разными величинами констант диссоциации, которые зависят от природы *гостя*, растворителя (чаще всего это вода) и ряда других факторов.

Среди многочисленных соединений циклодекстринов их димерные (олигомерные) производные привлекают особое внимание благодаря нескольким участкам для связывания различных соединений (т.н. мультивалентность), что особенно проявляется для ди(олиго)топных *гостей*. Недавно было обнаружено, что благодаря наличию двух и более внутренних циклодекстриновых полостей, их пространственной сближенности и ряду других особенностей, эти производные обладают повышенным, так называемым *кооперативным* (не *аддитивным*) эффектом к включению многочисленных *гостей*, что позволяет определять их как новый класс супрамолекулярных структур. В связи со сказанным, мы провели специальное исследование, представленное в виде диссертационного сочинения, посвященное синтезу некоторых димерных производных β -циклодекстрина и образованию

комплексов включения с соединениями, представляющими фармакологический интерес.

Цели работы. Исследование и разработка эффективных подходов к получению регионально замещенных по гидроксильным группам димерных (олигомерных) производных β -циклодекстрина и комплексов включения на их основе по типу *гость–хозяин* с некоторыми лекарственными соединениями для создания новых форм лекарственных средств на их основе.

Для достижения целей работы необходимо решить ряд **задач**:

- разработать эффективные пути синтеза простых эфиров путем модификации первичных гидроксильных групп β -циклодекстрина одно- и двухатомными спиртами;
- предложить удобные пути синтеза димерных производных β -циклодекстрина, содержащих связывающие линкеры по первичным и вторичным гидроксильным группам;
- исследовать возможность получения комплексов включения алкилированных по первичным гидроксильным группам производных β -циклодекстрина с *гостями* различной природы;
- получить амфифильные диаминные дикатионные производные β -циклодекстрина (*болаамфифилы*) и изучить образование комплексов включения с рядом соединений, представляющих фармакологический интерес;
- провести исследование фармакологического действия синтезированных конъюгатов и комплексов включения β -циклодекстрина и его производных.

Научная новизна работы заключается в следующем:

- ✓ впервые проведено систематическое исследование в области синтеза димерных производных β -циклодекстрина и исследована их способность к образованию соединений включения;
- ✓ разработаны эффективные пути синтеза монозамещенных по первичным и вторичным гидроксильным группам циклодекстринов, на основе которых возможен дальнейший синтез новых функционально замещенных циклодекстринов;
- ✓ исследовано получение соединений включения циклодекстрина с *гостями*, представляющих фармакологический интерес;
- ✓ найдено, что димерные производные β -циклодекстрина, связанные линкером по вторичным гидроксильным группам, в плане образования соединений включения существенно устойчивее димеров, соединенных линкером по первичным гидроксильным группам, что расширяет их возможности применения как молекулярных контейнеров для решения ряда практических задач в области фармацевтики и биомедицины;
- ✓ изучен цитотоксический эффект некоторых комплексов включения и конъюгата β -циклодекстрина с противоопухолевым препаратом *Даунорубицин*, при этом найдено, что некоторые соединения включения обладают сильной антипролиферативной активностью в отношении ряда опухолевых клеток.

Практическая значимость. Предложены практические пути получения димерных (олигомерных) производных β -циклодекстрина, представляющих интерес как потенциальные носители (соединения включения и конъюгаты) лекарственных средств для фармакологических исследований в разных направлениях. Кроме того,

разработанные методики позволяют получать стабильные комплексы включения циклодекстринов с некоторыми кислотами, нашедшими применение в фармакологии. Таким образом, на основе предложенных методик возможно создание димерных производных β -циклодекстрина и комплексов включения на их основе для получения новых форм лекарственных препаратов, обеспечивающих высокоэффективную и точечную доставку лекарственных средств.

Степень достоверности результатов. Достоверность результатов проведенных исследований подтверждается использованием различных вариантов спектроскопии ЯМР ^1H , ^{13}C , в том числе двумерной спектроскопии ЯМР НОМОСОР $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ и НЕТСОР $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$, масс-спектрами MALDI-TOF, а также элементного анализа.

Апробация работы. Результаты диссертационной работы были представлены и обсуждались на V международной научной конференции Advance in synthesis and complexing (Москва, 22–26 апреля 2019 г.), XXI Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Санкт-Петербург, 09–13 сентября 2019 г.), VI Международной научно-практической конференции Экология XXI века: синтез образования и науки (Челябинск, 18–21 мая 2020 г.), XII Всероссийской научной конференции «Химия и технология растительных веществ» (Киров, 29 ноября – 02 декабря 2022 г.).

Диссертационное исследование выполнено на кафедре органической химии Института биологии и химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский педагогический государственный университет». С 2017 г. работа была непосредственно связана с выполнением гранта Российского фонда фундаментальных исследований № 16-03-00444.

Публикации. Основное содержание работы отражено в 12 научных публикациях, в том числе 8 статьях в изданиях, рекомендованных ВАК для размещения материалов диссертаций, и 4 тезисах докладов.

Объем и структура работы. Диссертационная работа изложена на 161 странице машинописного текста: состоит из введения, литературного обзора (глава 1), обсуждения результатов собственных исследований (глава 2), экспериментальной части (глава 3), заключения и приложения, содержит 35 схем, 73 рисунка и 17 таблиц. Список цитируемой литературы включает 208 наименований.

Автор считает приятным долгом выразить благодарность и признательность своему научному руководителю д.х.н., проф. М.К. Грачеву, а также к.х.н. Г.И. Курочкиной за постоянную поддержку и внимание, асс. Глушко В.В. за регистрацию ЯМР спектров, к.х.н. А.А. Моисеевой за помощь в регистрации и интерпретации спектров MALDI-TOF в Лаборатории фосфорорганических соединений ФГБУН Института элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук (ИНЭОС РАН), к.б.н. Л.В. Аникиной за организацию и проведение фармакологических испытаний в ФГБУН Федеральном исследовательском центре проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук (г. Черноголовка).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1.1 Получение простых эфиров β -циклодекстрина по первичным гидроксильным группам

Известно, что регионаправленная функционализация циклодекстринов является сложной в экспериментальном отношении задачей из-за присутствия в их молекулах трех типов различных по природе гидроксильных групп — один набор первичных (при C^6) на узкой стороне и два набора вторичных гидроксильных групп (при C^2 и C^3) на широкой стороне циклодекстринового каркаса.

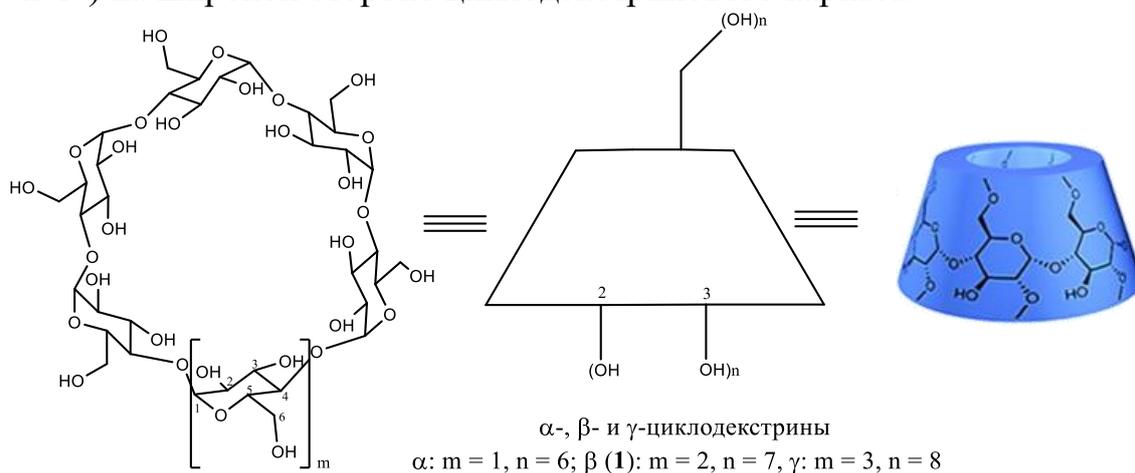


Таблица 1 – Некоторые свойства циклодекстринов

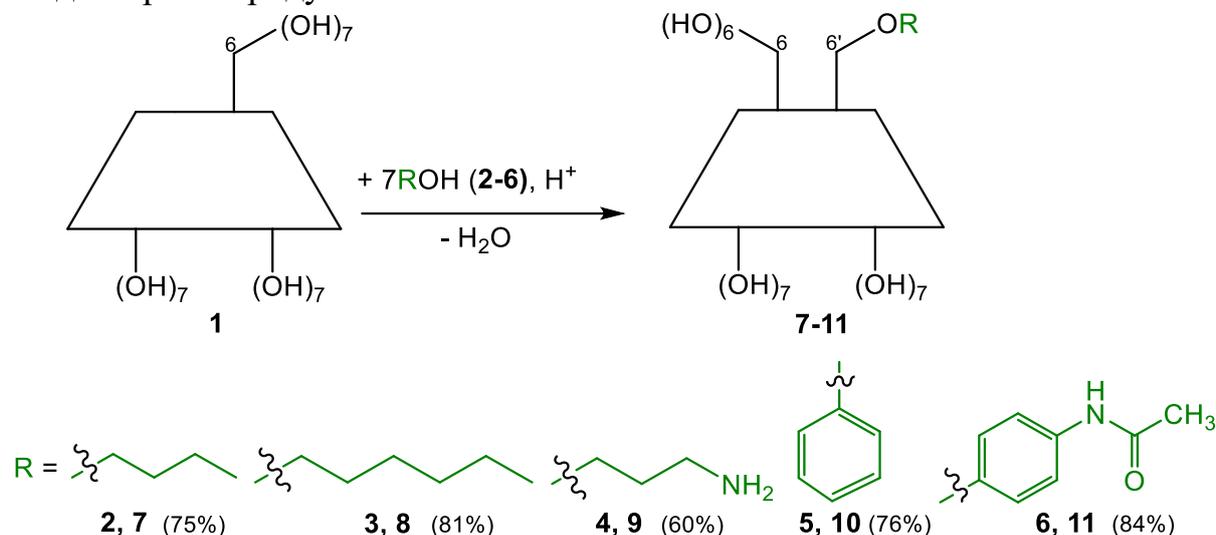
Свойство	α -циклодекстрин	β -циклодекстрин	γ -циклодекстрин
Внешний диаметр тора, Å	13.7	15.3	16.9
Внутренний диаметр полости тора, Å	5.2	6.6	8.4
Высота тора, Å	7.8	7.8	7.8

Обычно для получения селективно замещенных производных циклодекстринов применяют многостадийные схемы синтезов, связанные с постановкой и удалением специфических защитных групп. Поэтому в химии циклодекстринов важное место занимает разработка новых, простых путей их регионаправленной функционализации. Так, ранее мы показали возможность прямой моноэтерификации первичных гидроксильных групп β -циклодекстрина и его 2-гидроксипропилированного производного рядом фармакологически важных ароматических монокарбоновых кислот (получение сложных эфиров). Интересно, что попытки более глубокого ацилирования β -циклодекстрина оказались неудачными из-за того, что акту ацилирования предшествует предварительное включение («предорганизация») гостя в гидрофобную полость циклодекстрина (хозяин). Предполагается, что у моноацилированного β -циклодекстрина его полость уже занята своим же заместителем (*self-inclusion*), как это отмечено и для некоторых других случаев, что и препятствует его дальнейшему ацилированию.

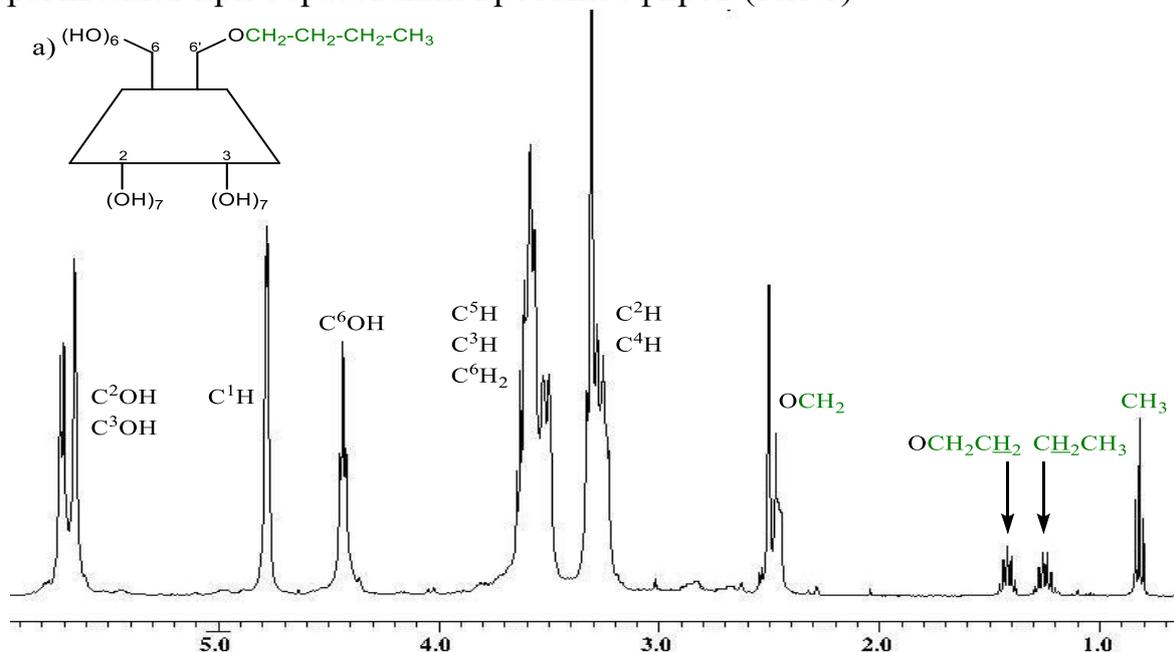
В развитие этого, мы исследовали возможность получения простых эфиров β -циклодекстрина **1** с рядом гидроксилсодержащих соединений (R–OH): бутанол-1 **2**, гексанол-1 **3**, 3-аминопропанол-1 **4**, фенол **5** и *n*-гидроксиацетанилид **6** (лекарственное соединение препарата *Парацетамол*).

Образование простых эфиров проводили в растворе ДМФА с каталитическим количеством серной кислоты в течение 5 ч в условиях азеотропной отгонки воды при

кипении с бензолом (метод *a*) и в присутствии молекулярных сит 4Å в качестве водоотнимающего средства (метод *b*). Оказалось, что, как и в случае вышеупомянутой этерификации ароматическими монокарбоновыми кислотами, при использовании даже 7 мольных эквивалентов гидроксилсодержащих соединений **2–6** образуются только монозамещенные по первичным гидроксильным группам β-циклодекстрина продукты **7–11**.



Монозамещение подтверждали интегральными данными спектроскопии ЯМР ^1H , а регионаправленность замещения по первичным гидроксильным группам — данными спектроскопии ЯМР ^{13}C ¹. Так, в спектрах ЯМР ^{13}C соединений **7–11** присутствуют сигналы ядер незамещенных атомов C^6 при δ 60.4 м.д. и характерные слабополюные минорные сигналы ядер углерода $\text{C}^{6'}$, несущих заместитель OR^2 , при 65.7 (**7, 11**), 66.1–66.5 (**8, 10**) и 69.1 (**9**) м.д. При этом появления дополнительных сигналов от ядер C^2 и C^3 не наблюдалось, то есть вторичные гидроксильные группы не затрагивались при образовании простых эфиров (Рис.1).



¹ Дополнительно, с целью надежного интегрирования сигналов ядер углеродов, спектры ЯМР ^{13}C соединений **7–11** регистрировались с большой задержкой между импульсами (8 с).

² Здесь и далее штрихом отмечены атомы углерода $\text{C}^{6'}$ углеводных фрагментов циклодекстрина, гидроксильные группы при котором замещены.

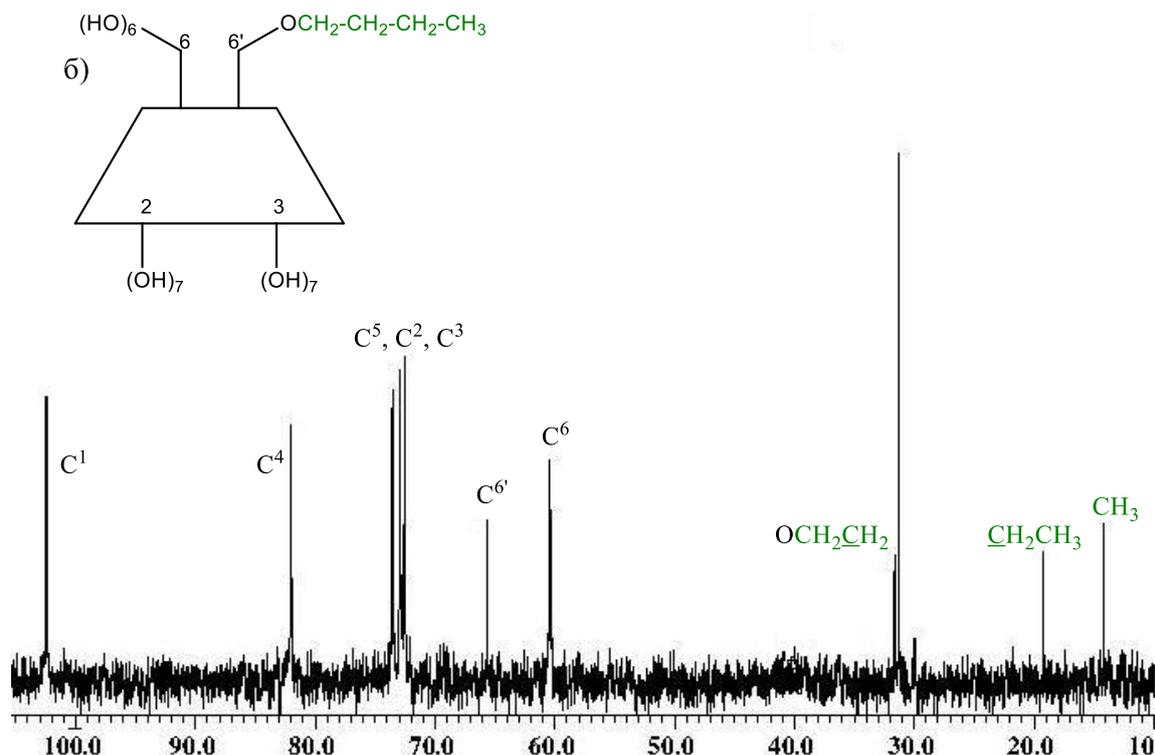
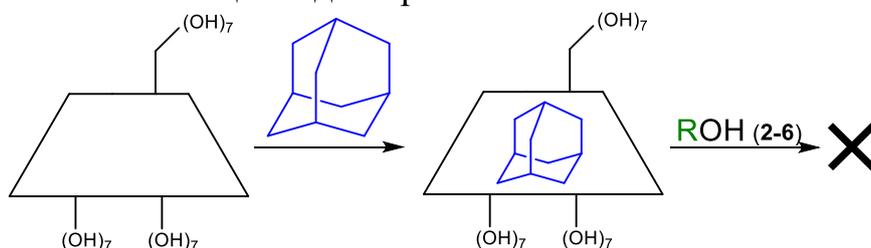


Рисунок 1 – Спектр ЯМР ^1H (а) и ^{13}C (б) соединения **7** ($\text{DMSO-}d_6$)

Отметим, что попытки образования простых эфиров β -циклодекстрина в аналогичных условиях более простыми спиртами (метиловым, этиловым и *n*-пропиловым) оказались неудачными и реакция с ними не проходила вообще. Как и ранее сделано предположение, что образование простых эфиров проходит, только если гидроксилсодержащее соединение подходящим образом включается и удерживается в полости циклодекстрина (*предорганизация гостя*). Для дополнительного подтверждения этого мы провели аналогичные реакции по методу *a* с гидроксилсодержащими соединениями **2–6** в присутствии двух мольных эквивалентов адамантана. Известно, что молекула адамантана хорошо включается в полость циклодекстрина и образует с ним достаточно прочные комплексы включения. В этом случае в присутствии адамантана образование простых эфиров гидроксилсодержащими соединениями **2–6** с циклодекстрином в аналогичных условиях не проходило, что подтверждает предположение о предварительном включении *гостя* в полость циклодекстрина.



Таким образом, нами предложен метод образования простых эфиров по первичным гидроксильным группам β -циклодекстрина, позволяющий избежать дополнительных трудностей при постановке и удалении защитных групп.

1.2 Димерные производные β -циклодекстрина

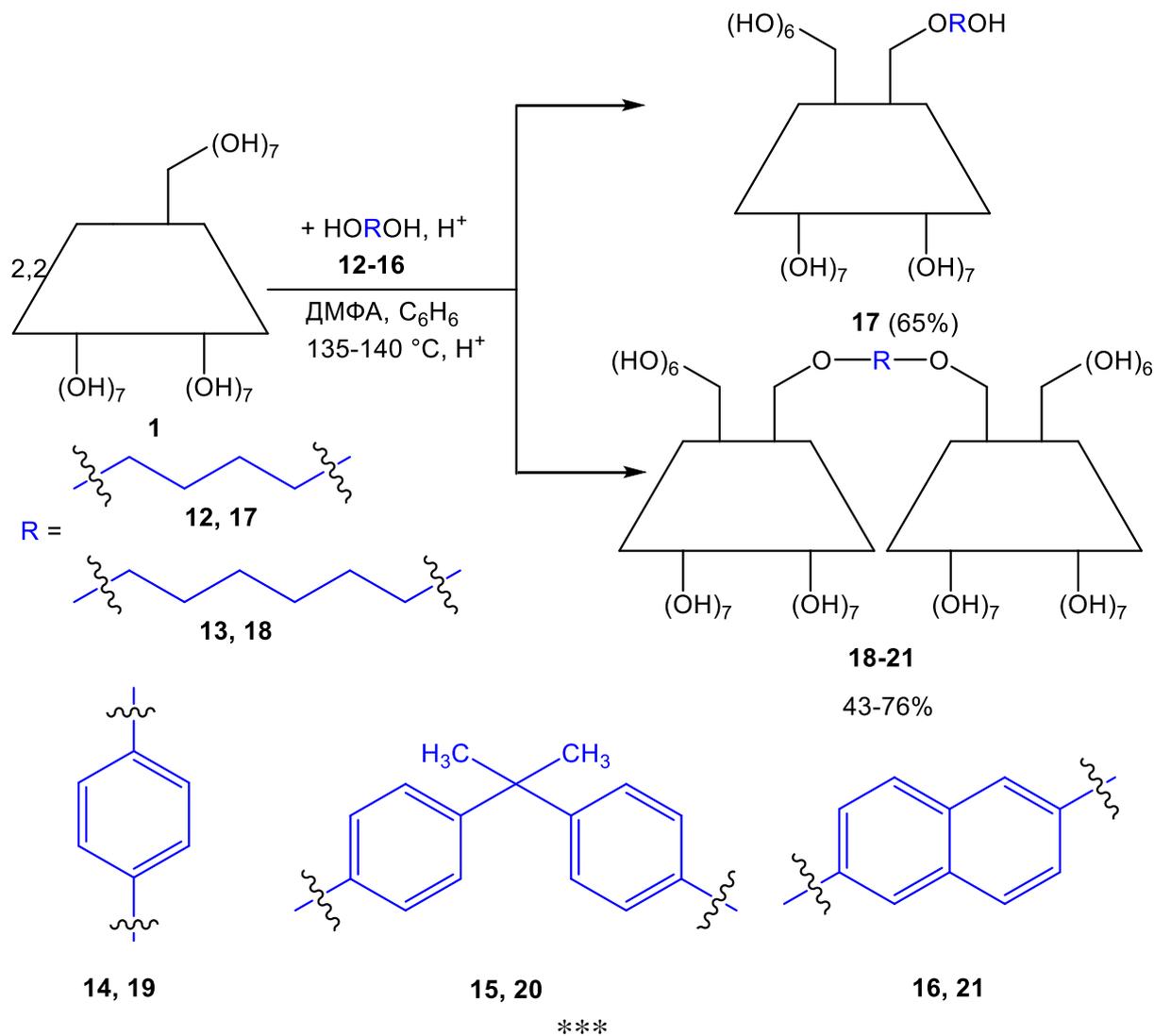
В литературе отмечено, что, благодаря наличию в одной молекуле двух и более внутренних циклодекстриновых полостей, их пространственной сближенности и

ряду других особенностей, димерные (олигомерные) производные циклодекстринов обладают повышенным, так называемым *кооперативным* эффектом по отношению к включению многочисленных *гостей*. Другой, малоизученный, но важный аспект применения димерных циклодекстринов, заключается в том, что они могут быть представлены как так называемые *Болаамфифилы (Bolaamphiphiles)*, то есть амфифильные молекулы, которые имеют две гидрофильные группы на концах относительно длинной гидрофобной углеводородной цепи. Присутствие второй гидрофильной «головки» резко повышает растворимость в воде, увеличивает критическую концентрацию мицеллообразования, что позволяет таким болаамфифилам образовывать в воде разнообразные сложные ансамбли: сферы, цилиндры, диски, везикулы и т.п. Также они могут служить идеальными моделями клеточных бислойных мембран. По сравнению с природными и монозамещенными циклодекстринами мостиковые бис-циклодекстрины в ряде случаев демонстрируют более высокую связывающую способность и молекулярную селективность из-за взаимного связывания двумя смежными близко расположенными циклодекстриновыми полостями. Кроме этого, димерные производные β -циклодекстрина могут использоваться в биохимических системах как модели, имитирующие фермент–субстратное взаимодействие.

1.2.1. Циклодекстриновые димеры, соединенные линкером по первичным гидроксильным группам

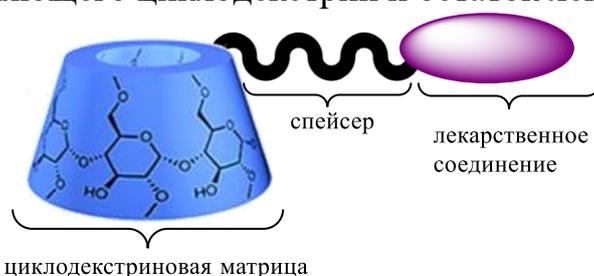
С учетом вышеприведенных данных, мы исследовали ряд дигидроксилсодержащих соединений **НО-R-OH 12–16** с целью получения на их основе димерных производных циклодекстринов, представляющих потенциальный интерес, из-за повышенной способности к включению различных *гостей*. Образование простых эфиров проводили в условиях аналогичных получению соединений **7–11** (раздел 1.1, метод *a*).

Количество присоединенных циклодекстриновых остатков и регионаправленность замещения (по первичным гидроксильным группам) оценивали методом спектроскопии ЯМР ^1H и ^{13}C , как описано выше. Оказалось, что в случае бутандиола-1,4 **12** образуется только мономерное производное **17**, тогда как в случае гександиола-1,6 **13**, гидрохинона **14**, бисфенола **15** и дигидроксинафталина **16** образуются соответствующие димерные производные **18–21** циклодекстрина, соединенные линкером по первичным гидроксильным группам. Важно отметить, что в этом случае также происходит образование простых эфиров по первичным гидроксильным группам β -циклодекстрина, тогда как при классическом синтезе простых эфиров из первичных спиртов, обычно требуются более жесткие условия и специфические катализаторы. Очевидно, что это является результатом предварительного включения дигидроксилсодержащих соединений во внутреннюю полость благодаря особым *супрамолекулярным* свойствам циклодекстрина.



Среди многочисленных соединений β-циклодекстрина его катионные производные, несущие положительный заряд на циклодекстриновой матрице, нашли широкое применение в фармакологии благодаря повышенной водорастворимости и другим практически важным свойствам. Так, алкиламмониевые («заряженные») амфифильные циклодекстрины могут встраиваться и проникать через биологические барьеры, а также служить переносчиками для доставки («векторизации») ДНК при генной терапии.

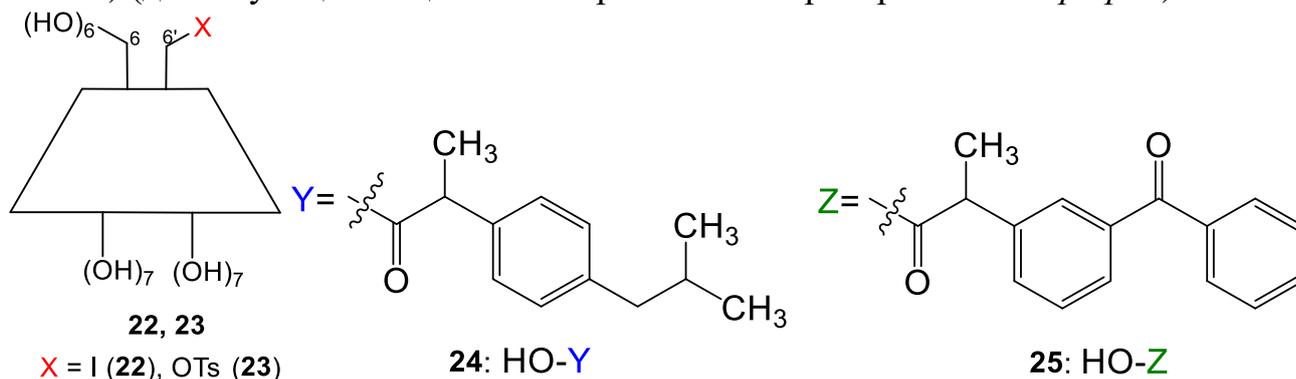
Известно, что для структур на основе циклодекстринов эффективность доставки лекарств в биологических системах может быть повышена регулированием длины спейсера, соединяющего циклодекстрин и остаток лекарственного средства.



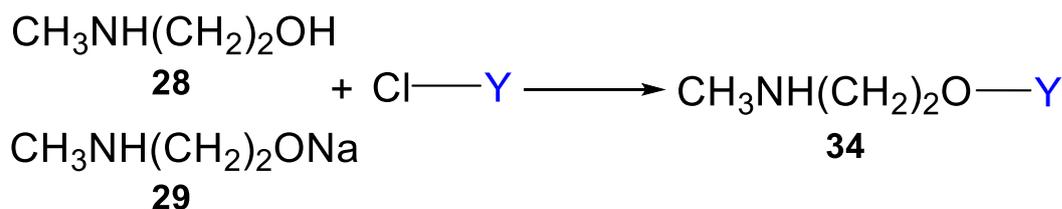
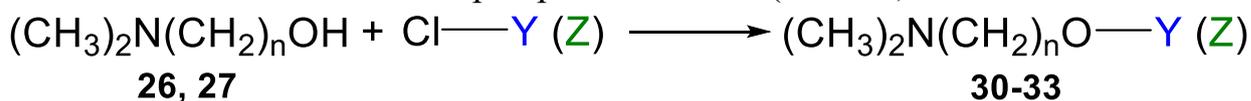
Ранее в нашей лаборатории исследовали получение катионных соединений β-циклодекстрина исходя из его пер-, олиго- и моногалогендезокси-, а также тозилных производных. Но, в отличие от классического алкилирования аминов

алкилгалогенидами, оказалась, что гидрофобная циклодекстриновая полость оказывает специфическое (супрамолекулярное) влияние на ход алкилирования, что потребовало индивидуального подхода к получению конкретных катионных производных β -циклодекстрина.

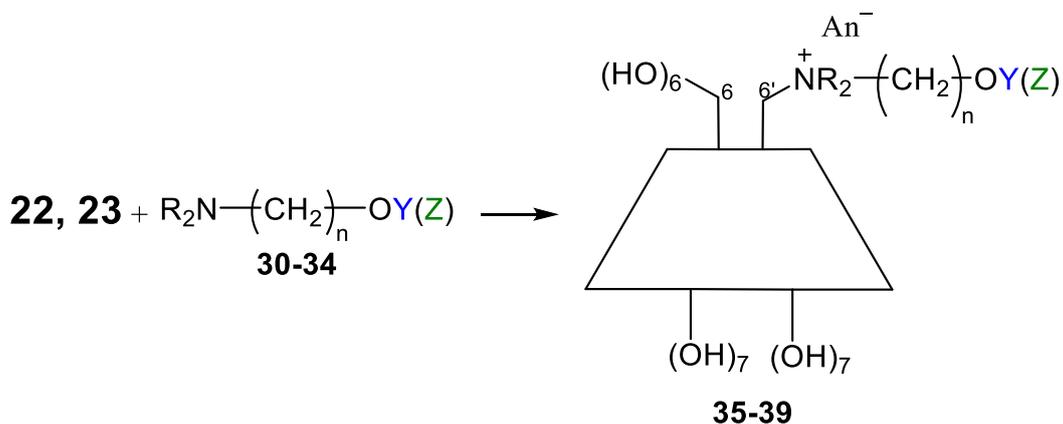
С учетом этих обстоятельств мы исследовали получение на основе моноидезокси- **22** и монотозильного **23** β -циклодекстрина катионных производных, содержащих остатки некоторых фармакологически важных кислот: 2-(4-изобутилфенил)пропионовой кислоты (НО- Y : **24**) (действующее вещество лекарственного препарата *Ибупрофен*) и 2-(3-бензоилфенил)пропионовой кислоты (НО- Z : **25**) (действующее вещество лекарственного препарата *Кетопрофен*).



Причем остаток лекарственного соединения присоединяется к катионному фрагменту с помощью упомянутых спейсеров, среди которых были выбраны остатки 2-(диметиламино)этанола ($n=2$, **26**), 3-(диметиламино)пропанола-1 ($n=3$, **27**) и 2-(метиламино)этанола **28**. Преимущества предложенного нами направления синтеза заключаются в отсутствии необходимости введения по вторичным гидроксилам защитных групп и последующего их удаления. «Широкая» часть циклодекстринового каркаса остается свободной для включения различных гостей, в том числе обладающих и другим биологическим действием, что расширяет фармакологические возможности применения изучаемых структур. Обработкой соответствующего диметиламиноспирта **26**, **27** или метиламиноэтилата натрия **29** хлорангидридом соответствующей кислоты $Cl-Y(Z)$ получены нуклеофильные реагенты **30–34**. Алкилированием иодпроизводным **22** диметиламиноалкиловых эфиров **30–33** и замещением тозильного производного **23** эфиром **34** с N -метильной группой получены соответствующие катионные производные β -циклодекстрина **35–39**, содержащие остатки упомянутых фармакологически важных кислот и присоединенные с помощью спейсеров разной длины ($n = 2, 3$).

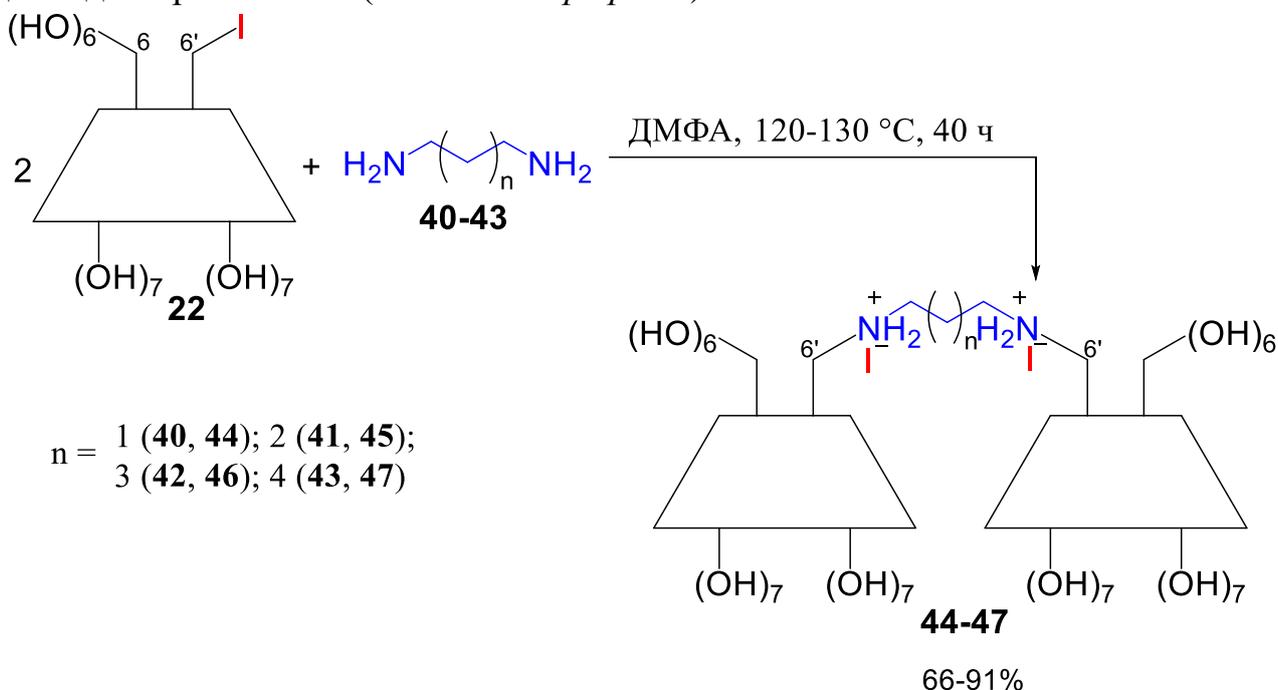


30: $n=2$, Y ; **31:** $n=3$, Y ; **32:** $n=3$, Z ; **33:** $n=3$, Z



Соединение	R	n	Y(Z)	An ⁻
35	CH ₃	2	Y	I
36	CH ₃	3	Y	I
37	CH ₃	2	Z	I
38	CH ₃	3	Z	I
39	H, CH ₃	2	Y	Ts

Принимая во внимание особые свойства «заряженных» (катионных) производных циклодекстринов, представляло интерес синтезировать димерные диаминокатионные производные β-циклодекстрина. Для этого мы использовали ранее отработанную методику синтеза монокатионных производных: йодпроизводное **22** алкилировало диамины **40–43** с различным числом метиленовых звеньев для получения димерных диаминокатионных производных β-циклодекстрина **44–47** (т.н. Болаамфифилы).



Структура соединений **44–47** была подтверждена данными ЯМР ¹H и ¹³C. Например, у соединения **47** центральный гексаметилендиаминовый мостик связывает одинаковые остатки циклодекстрина и поэтому метиленовые фрагменты в положениях 1 и 6, 2 и 5, 3 и 4 являются попарно магнитноэквивалентными, что отражено в виде трех уширенных мультиплетов в спектре ЯМР ¹H и свидетельствует

именно о димерной симметричной структуре. Регионаправленность замещения первичных гидроксильных групп была подтверждена данными ЯМР ^{13}C . Корректность отнесения сигналов всех полученных соединений **44–47** была дополнительно подтверждена анализом двумерных ЯМР-спектров гетероядерной (HETCOR $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$) корреляции и регистрацией в режиме DEPT (Рис.2).

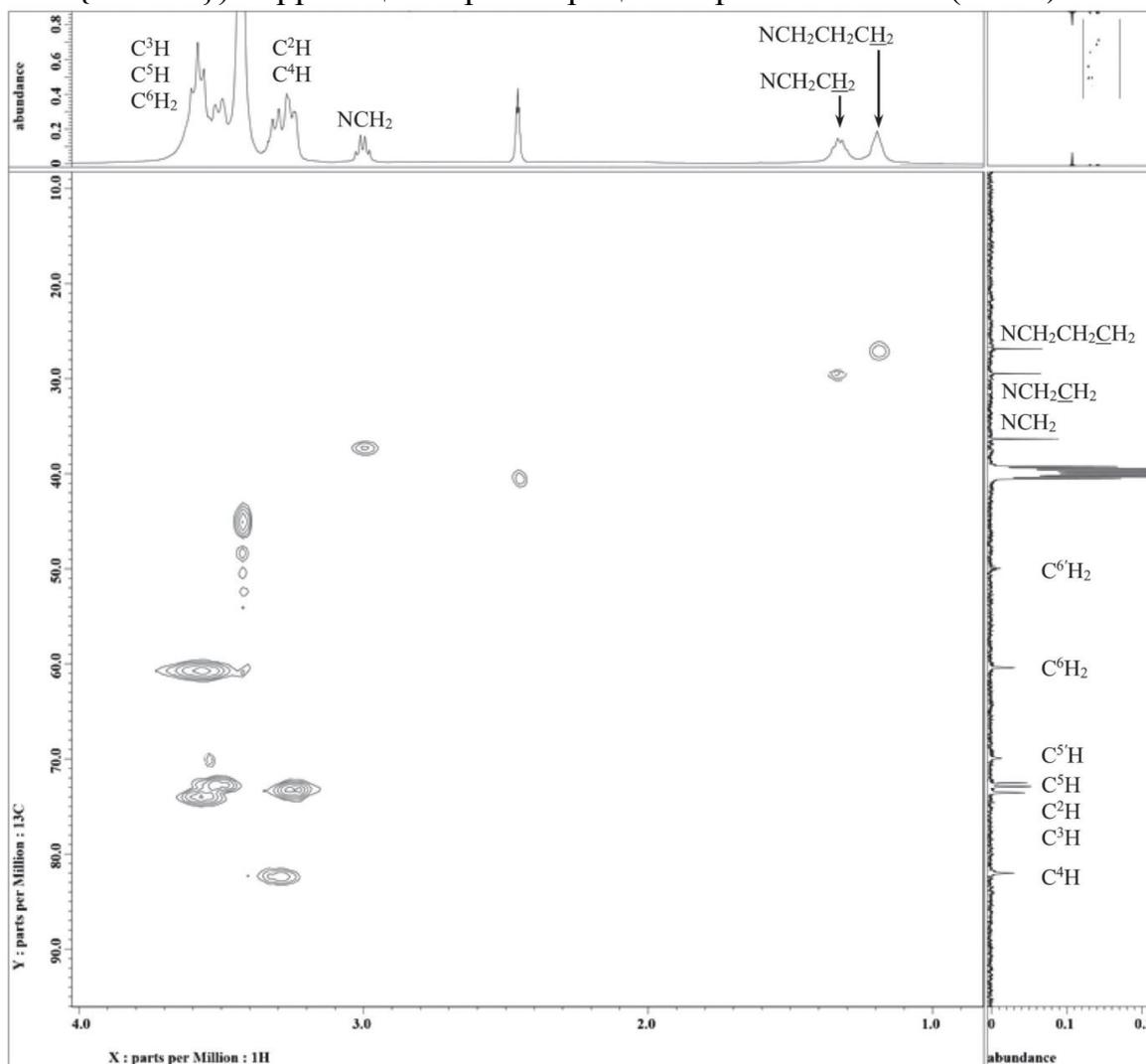


Рисунок 2 – Спектр ЯМР гетероядерной (HETCOR $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$) корреляции соединения **47**

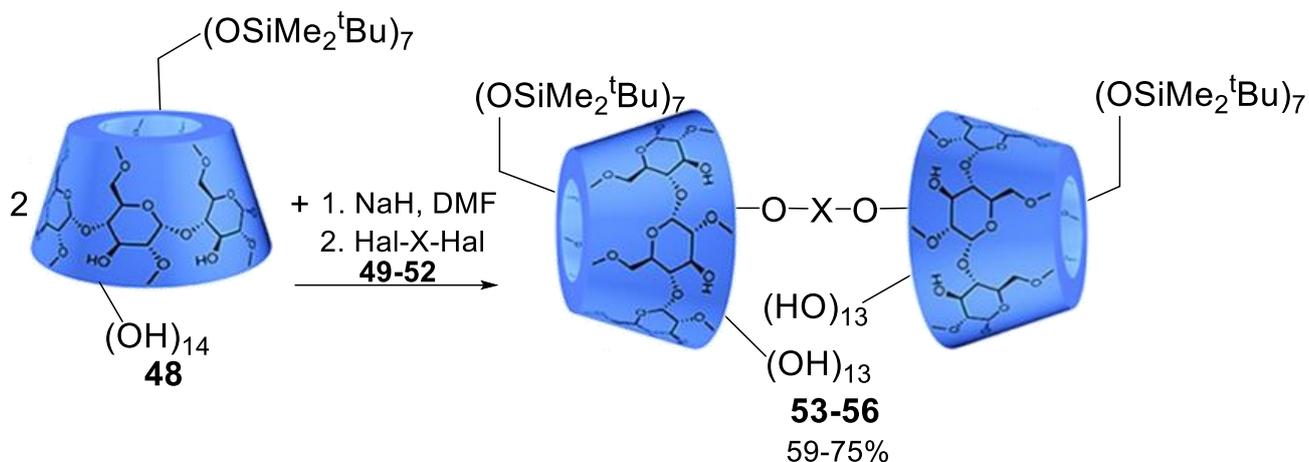
Полученные димерные диаминокаатионные производные представляют интерес в качестве потенциальных носителей (соединений включения и конъюгатов) лекарственных средств для фармакологических исследований в различных направлениях (см. разделы 1.3 и 1.5).

1.2.2. Циклодекстриновые димеры, соединенные линкером по вторичным гидроксильным группам

В развитие этого направления, мы провели синтез димеров, соединенных линкерами по вторичным гидроксильным группам. По сравнению с циклодекстриновыми димерами, соединенными линкерами по первичным гидроксильным группам, такие производные представлены в литературе в гораздо меньшей степени из-за более сложного пути их синтеза, т.к. необходима защита первичных гидроксильных групп. Эти производные часто проявляют более высокую

способность к хелатированию дитопных лигандов из-за двух более широких «входов» со стороны вторичных гидроксильных групп.

Активацию вторичных гидроксильных групп осуществляли обработкой силильного производного **48** гидридом натрия в растворе ДМФА при 0 °С.



Где: **49, 53**: X = $-(\text{CH}_2)_3-$, Hal = Br; **50, 54**: X = $-(\text{CH}_2)_4-$, Hal = Br;

51, 55: X = $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$, Hal = Br; **52, 56**: X = $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_4\text{C}(\text{O})-$, Hal = Cl

Таким образом, нами получены димерные производные **53–56**, связанные линкером по вторичным гидроксильным группам β-циклодекстрина.

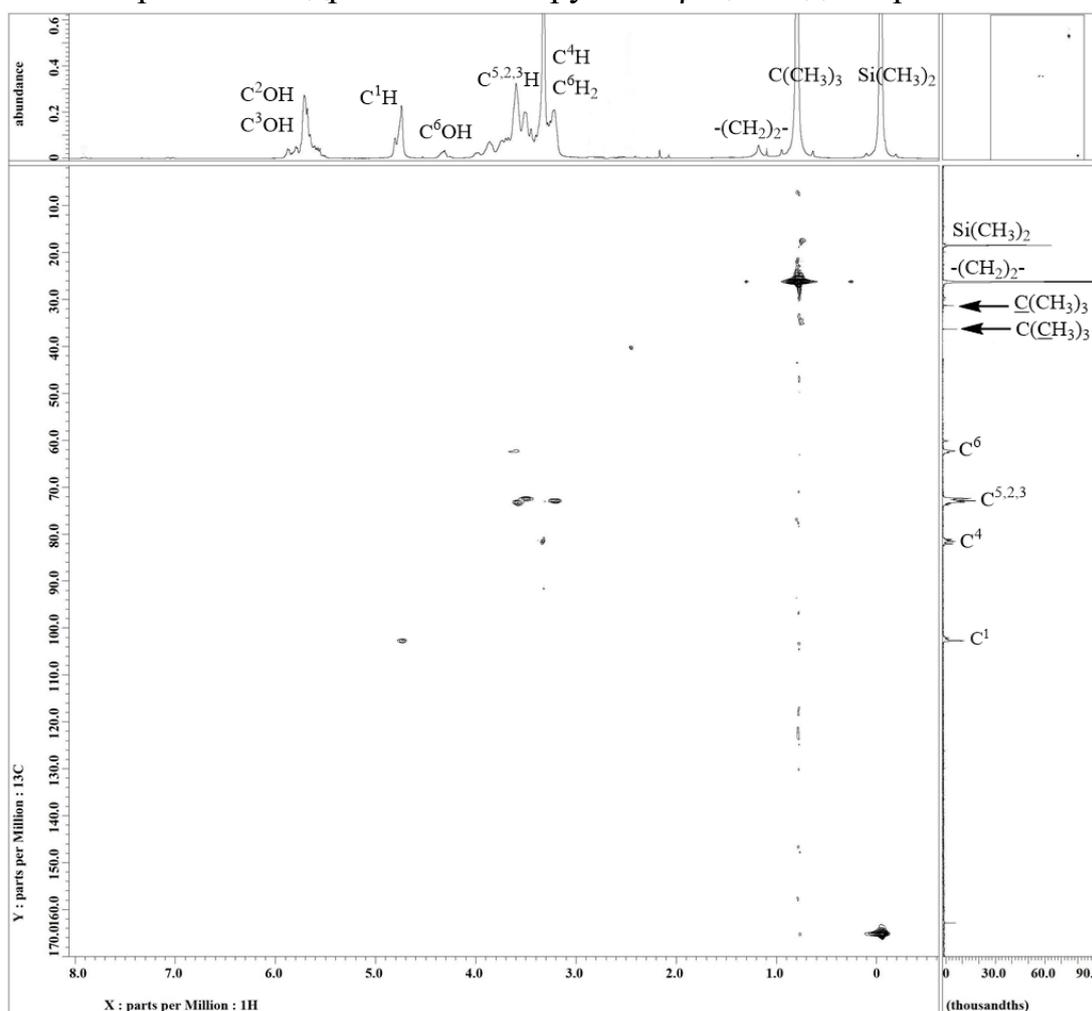
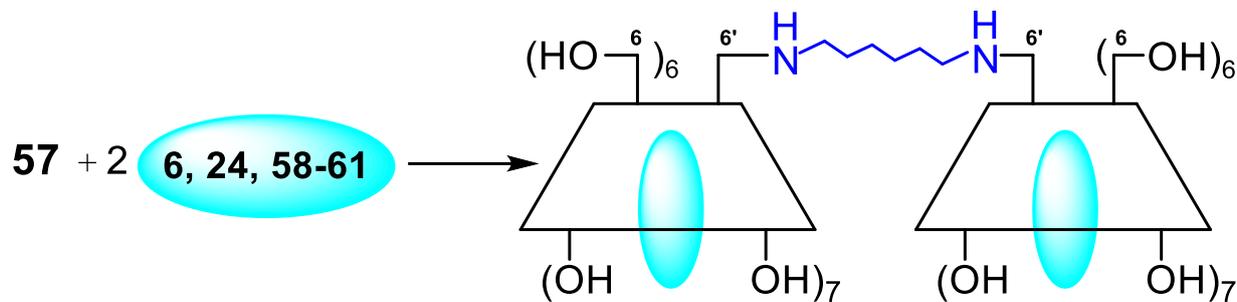
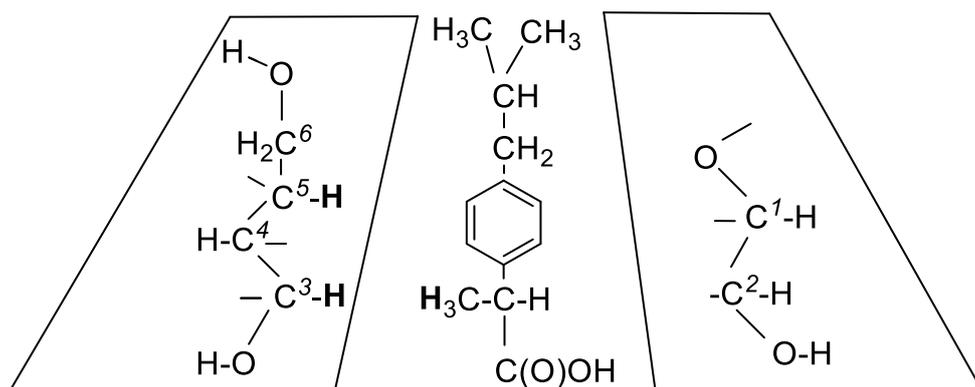


Рисунок 3 – Спектр ЯМР гетероядерной (HETCOR $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$) корреляции соединения **56**



62-67

В спектрах ЯМР ^1H растворов в D_2O комплексов **62–67** мы наблюдали сильнополюсные сдвиги сигналов циклодекстриновых протонов C^3H и C^5H со средними значениями $\Delta \delta$ 0.06 (**62**), 0.04 (**63**), 0.06 (**64**), 0.05 (**65**), 0.02 (**66**), и 0.02 (**67**) м.д. по сравнению с теми же сигналами соединения **57**, зарегистрированными при тех же концентрациях и температуре, что является доказательством образования относительно стабильных (в масштабах времени ЯМР) комплексов включения типа *гость-хозяин*. Известно, что, когда молекула-*гость* включается в циклодекстриновую гидрофобную полость, в спектрах ЯМР ^1H наблюдаются существенные сдвиги сигналов протонов C^3H и C^5H , т.к. именно эти протоны ориентированы внутрь циклодекстриновой полости.



Дополнительное подтверждение образования комплексов включения для соединений **62–67** получено при анализе двумерных спектров ЯМР ^1H ROESY, в которых наблюдались протон-протон взаимодействия «через пространство» (NOE кросс-пики): H_3CCH соединения **24** и C^3H циклодекстрина (Рис.4); CH_3 соединения **58** и C^3H циклодекстрина; H^2 , H^3 соединения **59** и C^5H циклодекстрина; H^4 , H^5 соединения **60** и C^5H циклодекстрина; CH_3 соединения **6** и C^3H , C^5H циклодекстрина; H^6 соединения **61** и C^5H циклодекстрина.

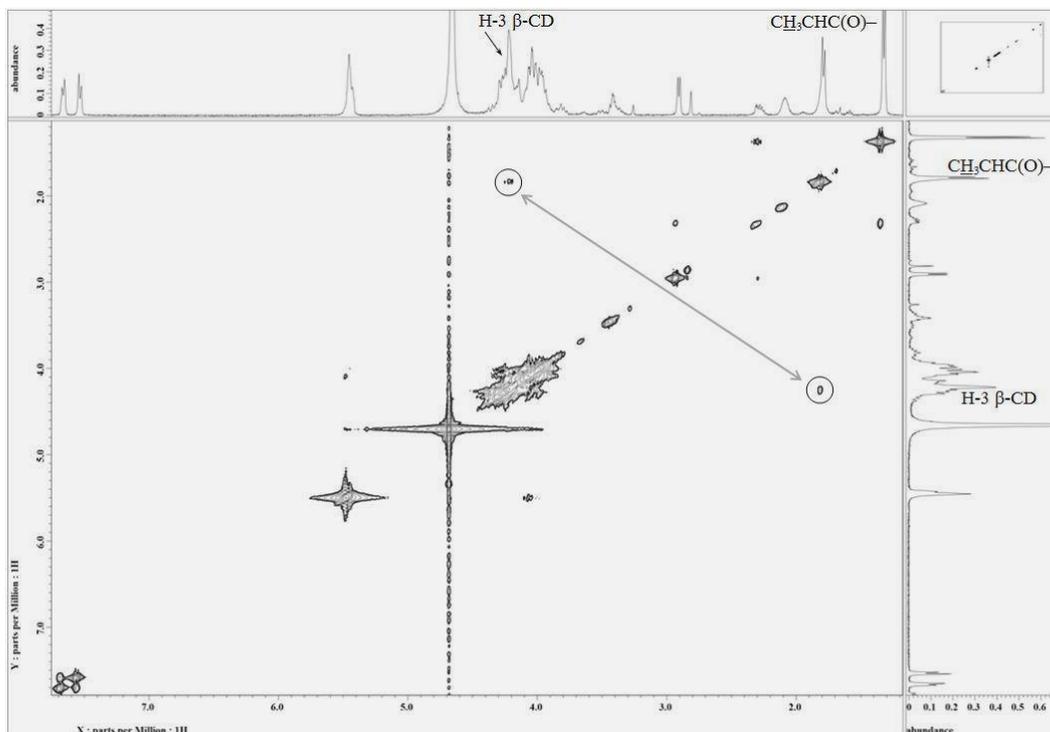
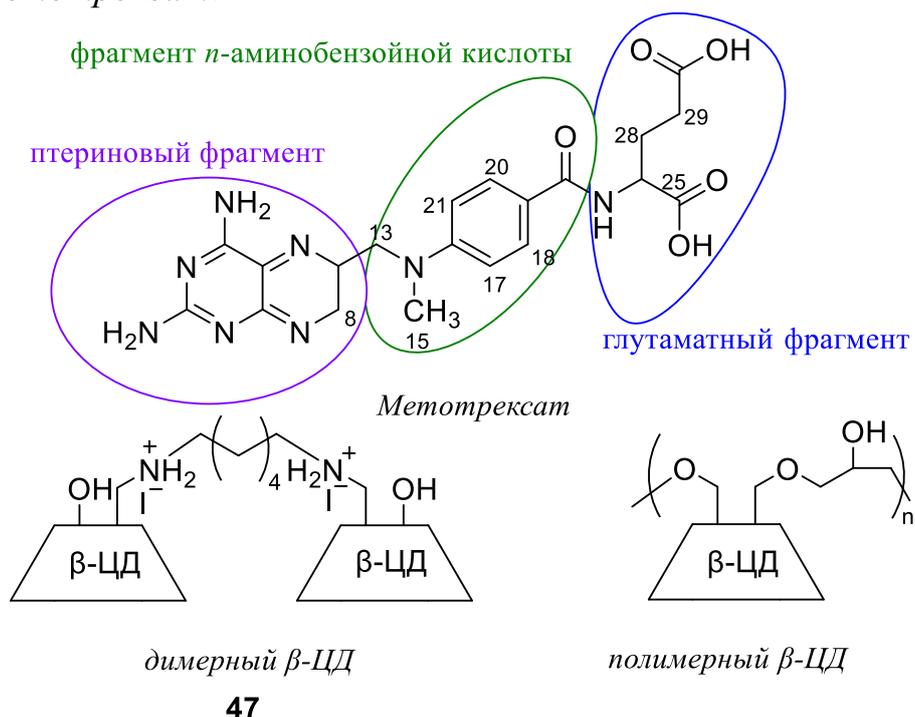


Рисунок 4 – Спектр ЯМР ROESY комплекса включения производного **63** в D₂O.

Проведенное исследование открывает возможности получения димерных циклодекстриновых комплексов с фармацевтически важными соединениями, что может быть полезным для биомедицинских исследований во многих направлениях.

В развитие этого, совместно с лабораторией Института химии растворов РАН им. Г.А. Крестова (д.х.н. Терехова И.В. г. Иваново) было изучено сравнительное комплексообразование мономерного (нативного) β-циклодекстрина **1**, димерного (соединение **47**) и полимерного циклодекстринов с известным противоопухолевым препаратом *Метотрексат*.



Комплексообразование циклодекстринов с метотрексатом было изучено методом фазовой растворимости, ЯМР спектроскопии³ и капиллярного электрофореза.

Стехиометрические составы комплексов включения были определены спектрофотометрически методом Job, как 1:1. Анализ констант комплексообразования показал, что размер полости играет важную роль в связывании циклодекстринов с метотрексатом. В частности, стабильность метотрексатных комплексов с α -циклодекстрином и γ -циклодекстрином намного ниже, чем с β -циклодекстрином, что возможно, связано с тем, что молекула β -циклодекстрина, состоящая из семи глюкозидных единиц, геометрически более подходит для включения молекулы метотрексата. При этом найдено, что димерный β -циклодекстрин **47** образует более прочные комплексы с метотрексатом, чем мономерный β -циклодекстрин⁵.

Для более полного изучения связывания метотрексата с циклодекстринами были проведены исследования ЯМР ¹H растворов метотрексата в D₂O при 20 °C в присутствии различных количеств циклодекстрина (ЯМР-титрование). Комплексообразование приводит к смещению химических сдвигов протонов метотрексата ($\Delta_{\text{нд}}$) и константы стабильности были рассчитаны из концентрационных зависимостей для $\Delta\delta$. При этом были обнаружены хорошие соответствия между значениями констант, полученными по методу ЯМР ¹H, методу фазовой растворимости и капиллярного электрофореза.

В итоге было обнаружено, что метотрексат глубоко проникает в полость димерного β -циклодекстрина. Птериновый фрагмент и остаток *n*-аминобензойной кислоты молекулы метотрексата локализуются внутри циклодекстриновой полости, тогда как глутаматный фрагмент⁴ снаружи.

Таким образом, было продемонстрировано, что димерный β -циклодекстрин **47** действует как бидентатный лиганд, захватывая две молекулы метотрексата. При этом важно, что константа устойчивости полученного комплекса существенно выше, чем с нативным β -циклодекстрином **1**. Это может быть обусловлено как кооперативным эффектом, так и взаимодействием карбоксильных групп метотрексата с диаминым спейсером, соединяющим циклодекстриновые фрагменты⁵.

1.4 Особенности образования соединений включения с различными производными β -циклодекстрина.

Ряд современных лекарственных препаратов включает два лекарственных соединения, например, *Ибупрофен* **24** и *Парацетамол* **6** в соотношении 2:1 (препарат «НЕКСТ»), что приводит к более эффективному и разнообразному фармакологическому действию. Нами рассмотрена такая возможность образования соединений включения *гость-хозяин* с производными β -циклодекстрина **68** и **69**, конъюгированным (ковалентносвязанным) сложной эфирной связью с остатками 2-(4-изобутилфенил)пропионовой кислоты **24** (соединение **68**) и никотиновой кислоты **70** (соединение **69**) с бензойной кислотой **71**. Образование соединений

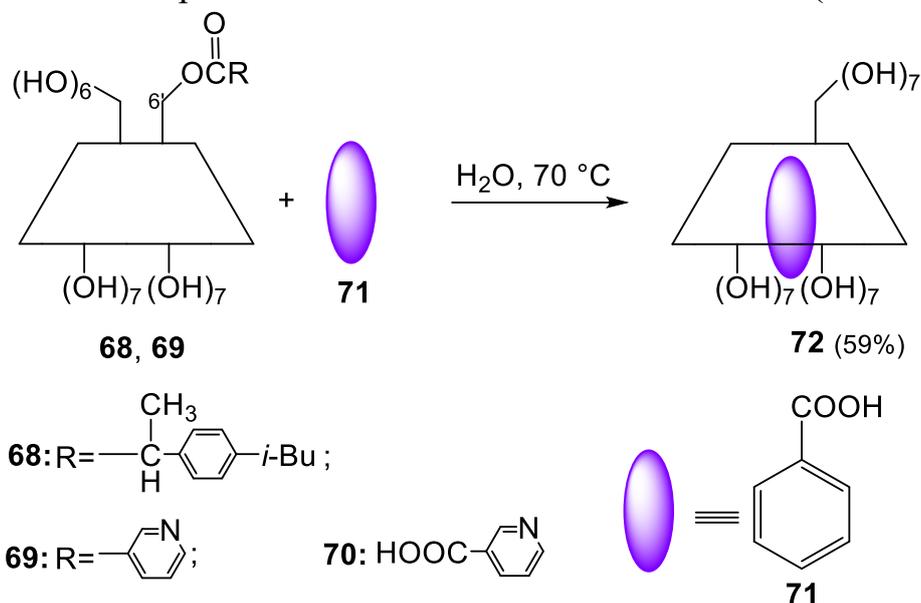
³ Мы принимали участие в синтезе димерного производного и в проведении ЯМР-исследований.

⁴ В данном случае глутаматный фрагмент может выполнять роль биохимического рецептора.

⁵ Kritskiy I., Kumeev R., Volkova T., Shipilov D., Kutysheva N., Grachev M., Terekhova I. Selective binding of methotrexate to monomeric, dimeric and polymeric cyclodextrins // New Journal of Chemistry. – 2018. – Vol. 42. – P. 14559–14567. – DOI: 10.1039/c8nj02632g.

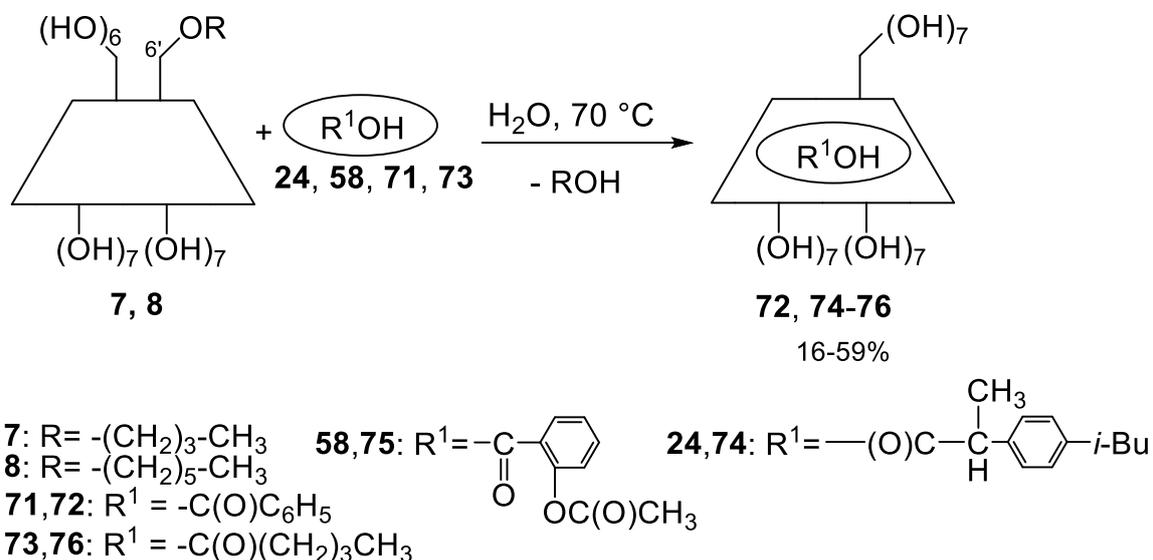
включения проводили по стандартной методике нагреванием и с последующим выпадением при охлаждении из водного раствора.

Оказалось, что при обработке бензойной кислотой соединений **68** и **69** в воде происходит гидролиз сложного эфира соединений **68** и **69** с образованием соединений включения β -циклодекстрина с бензойной кислотой состава 1:1 (комплекс **72**).

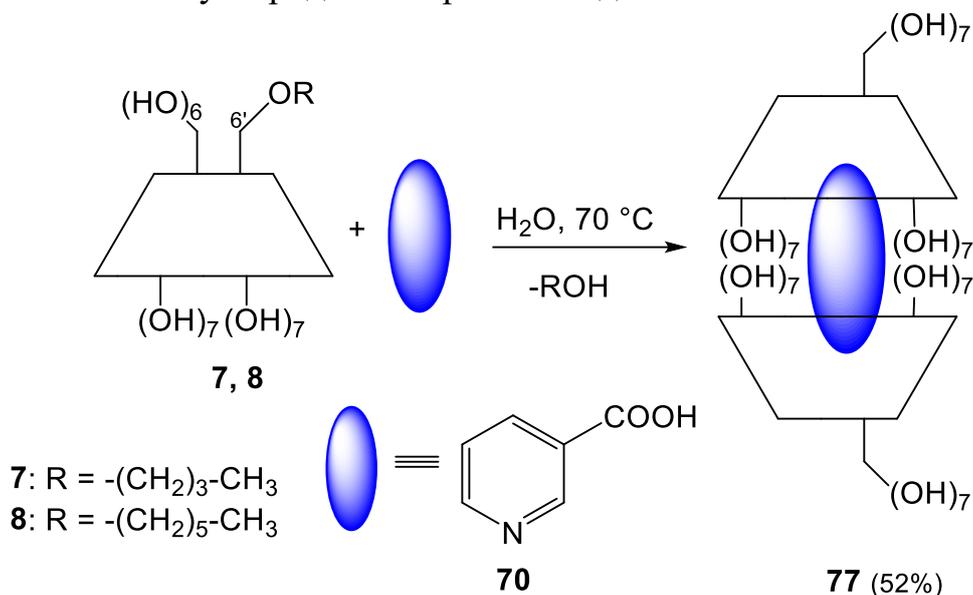


Гидролиз соединений **68** и **69** подтверждается исчезновением в спектрах ЯМР ^{13}C слабых сигналов атомов углерода $C6'$ при 65.3 м.д. Отдельным экспериментом было показано, что в воде в отсутствие гостя **71** гидролиз не происходит.

С учетом этих данных, нами рассмотрено поведение в аналогичных условиях более прочных соединений – простых эфиров. Монобутил- **7** и моногексил- **8** производные β -циклодекстрина в воде при 70 °С обрабатывались ароматическими кислотами **24**, **58**, **71** и валериановой кислотой **73**. Несмотря на то, что простая эфирная связь в соединениях **7** и **8** намного прочнее, чем сложноэфирная связь в выше рассмотренных соединениях **68** и **69**, мы также наблюдали полный гидролиз простых эфиров с образованием соединений включения **72**, **74–76** с гостями **24**, **58**, **71** и **73**, соответственно.



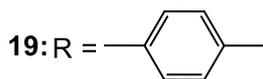
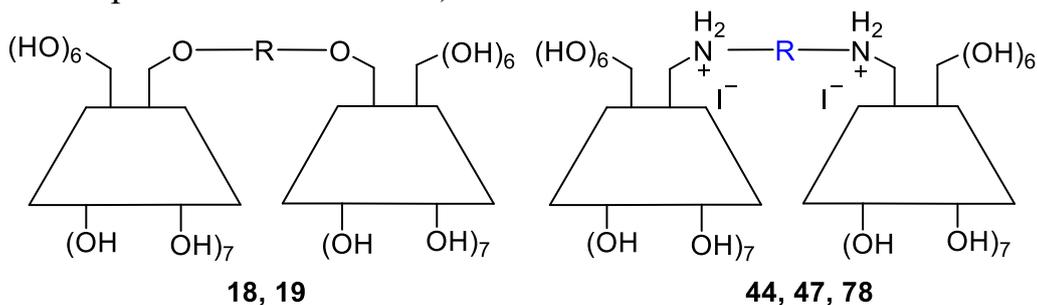
При обработке соединений **7** и **8** никотиновой кислотой **70** наблюдалось образование соединения включения **77** с соотношением *гость:хозяин* = 1:2⁶. Гидролиз простых эфиров **7** и **8** подтверждается исчезновением в спектрах ЯМР ¹³C слабых сигналов углеродов C^{6'} при 66.5 м.д.



Отдельным экспериментом показали, что в воде при 70 °С гидролиз простых эфиров без участия *гостей* **24**, **58**, **70**, **71** и **73** не происходит.

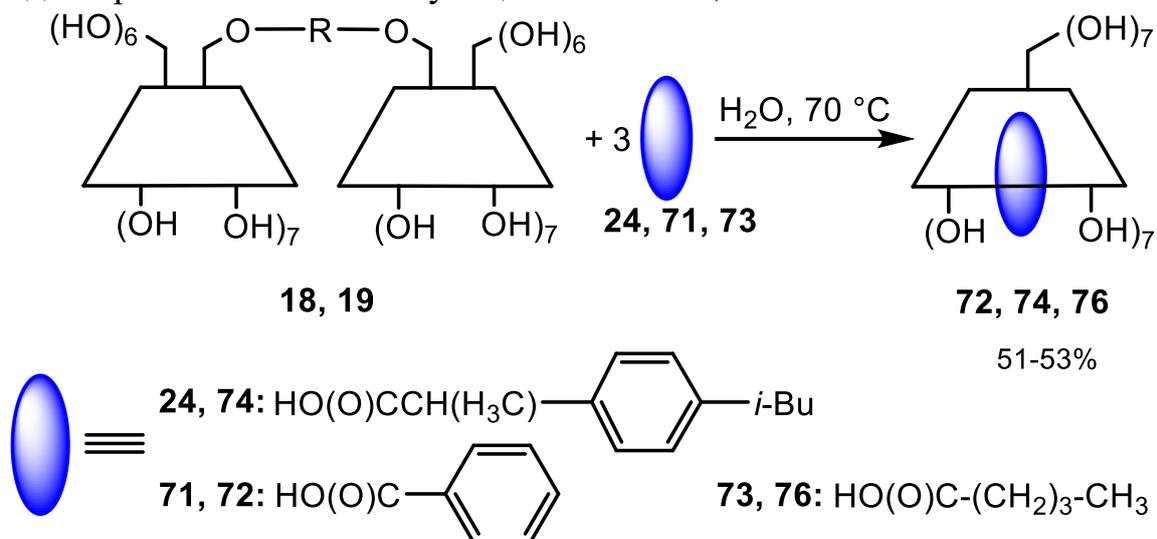
Таким образом, нами обнаружено, что при получении соединений включения монозамещенных β-циклодекстринов с алифатической и ароматическими кислотами следует принимать во внимание возможность гидролиза эфиров циклодекстрина.

Представляло практический интерес рассмотреть применение синтезированных нами димерных производных циклодекстринов **18**, **19** и дикатионных производных **44**, **47** и **78**, в качестве *хозяев* для образования комплексов включения с *гостями* (2-(4-изобутилфенил)пропионовая кислота **24**, бензойная кислота **71** и валериановая кислота **73**).



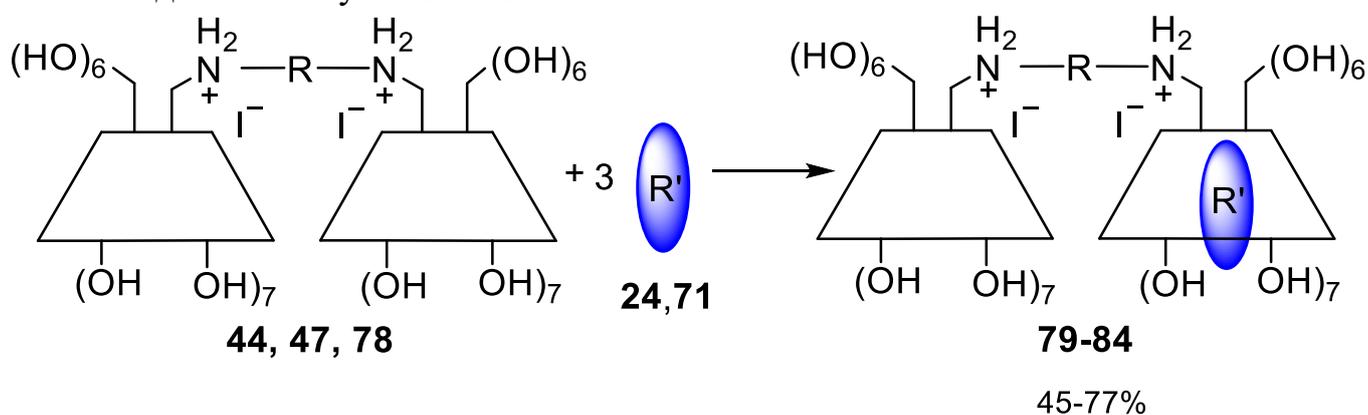
⁶ Ранее в нашей лаборатории уже получили и охарактеризовали комплексы включения **72**, **74**, **75** и **77** незамещенного циклодекстрина **1** с бензойной кислотой **71**, с 2-(4-изобутилфенил)пропионовой кислотой **24** и с никотиновой кислотой **70** (с таким же соотношением, 1:2), но получены они были путем прямого взаимодействия β-циклодекстрина **1** с соответствующим *гостем*. Строение комплекса **77** было подтверждено ранее данными рентгеноструктурного анализа (М.К. Грачев, И.А. Сеньюшкина, Г.И. Курочкина, К.А. Лысенко, Л.К. Васянина, Э.Е. Нифантьев. Соединения включения β-циклодекстрина и его силильного производного с некоторыми фармакологически важными ароматическими монокарбоновыми кислотами // Журнал органической химии. – 2010. – Т.46. – Вып. 10. – С. 1501-1505).

Оказалось, что димерные производные **18** и **19**, также как и мономерные простые эфиры **7** и **8**, подвергаются гидролизу по мостиковой эфирной связи с образованием соединений включения **72**, **74** и **76**, состоящих из нативного β -циклодекстрина **1** и соответствующих *гостей* **24**, **71** и **73**.



Гидролиз простых эфиров соединений **18** и **19** был подтвержден исчезновением в спектрах ЯМР ^{13}C слабых сигналов при δ 65.7 м.д. атомов углерода C^6 . Таким образом, димерные производные β -циклодекстрина, образованные за счет простой эфирной связи, в отношении гидролиза оказались аналогичными соответствующим мономерным производным.

Как и следовало ожидать, димерные дикатионные производные **44**, **47** и **78** с более прочной мостиковой связью в аналогичных условиях не подвергались гидролизу и образовывали соединения включения, но, согласно данным ЯМР ^1H , только с одной молекулой *гостей* **24** и **71**.



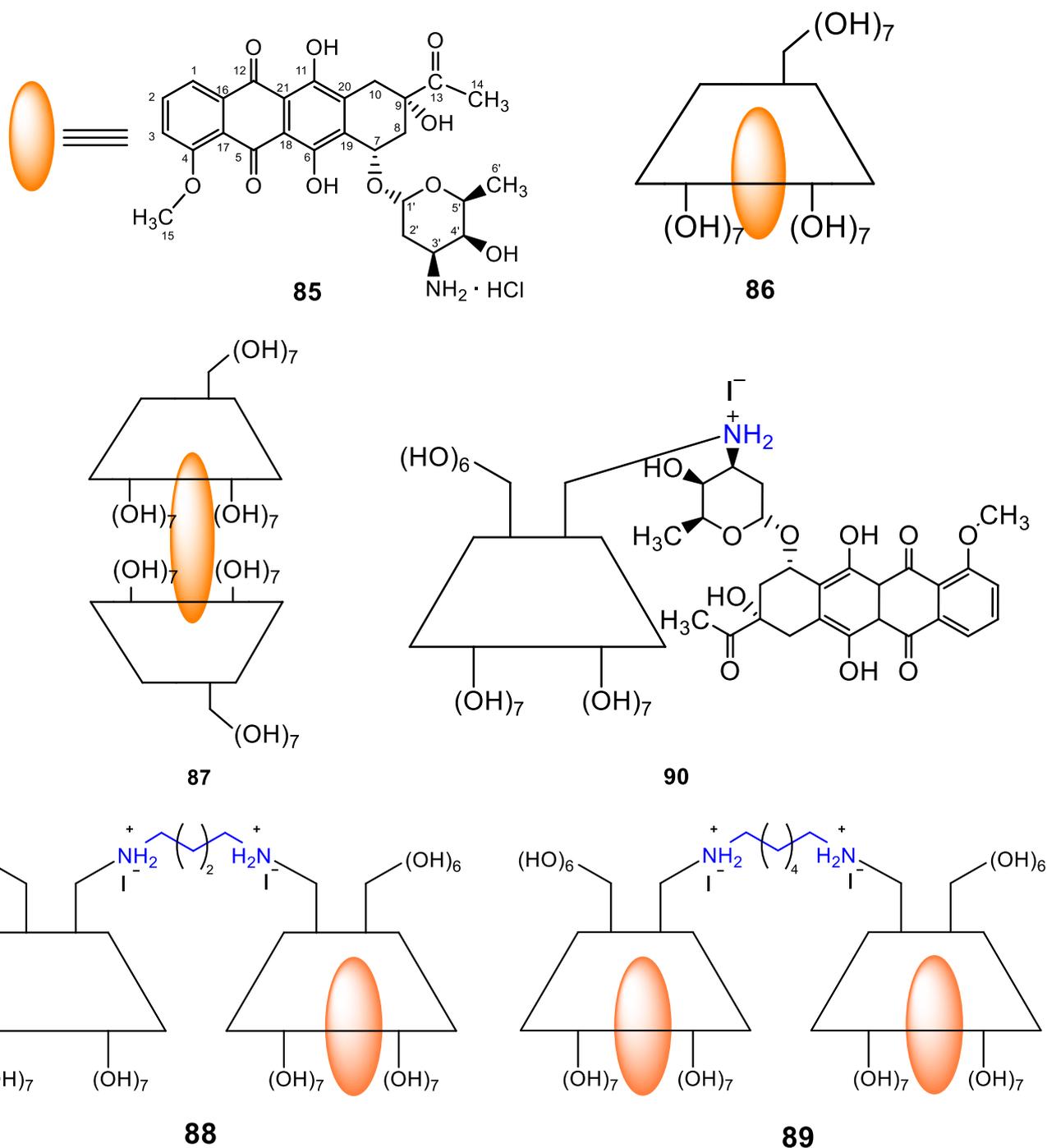
79: $\text{R} = -(\text{CH}_2)_3-$, $\text{R}' = \mathbf{24}$; **81:** $\text{R} = -\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $\text{R}' = \mathbf{24}$; **83:** $\text{R} = -(\text{CH}_2)_6-$, $\text{R}' = \mathbf{24}$;
80: $\text{R} = -(\text{CH}_2)_3-$, $\text{R}' = \mathbf{71}$; **82:** $\text{R} = -\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $\text{R}' = \mathbf{71}$; **84:** $\text{R} = -(\text{CH}_2)_6-$, $\text{R}' = \mathbf{71}$

Таким образом, димерные дикатионные производные циклодекстринов могут представлять интерес для практического применения в различных областях супрамолекулярной химии, биомиметической и фармацевтической химии, биохимических исследованиях и в ряде других междисциплинарных направлениях. Прогресс в развитии этих направлений во многом определяется нашими знаниями о возможностях синтеза таких структур и их способностей к образованию соединений

включения. Можно надеяться, что изучение димерных (олигомерных) производных циклодекстринов стимулирует новые исследования в этой области.

1.5 Исследование цитотоксичности *in vitro* комплексов β -циклодекстрина и его некоторых производных с противоопухолевым соединением Даунорубицин.

С учетом известных данных представляло интерес оценить цитотоксическую активность ряда комплексов β -циклодекстрина и его некоторых производных с известным противоопухолевым соединением Даунорубицин **85**. Так, нами были синтезированы комплексы **86**, **87** (с нативным β -циклодекстрином **1** составов 1:1 и 2:1), комплексы **88**, **89** (с димерными производными **45**, **47** составов 1:1 и 2:1) и катионный конъюгат **90** (с моноиоддезоксипроизводным **22**).



Для оценки цитотоксической активности полученных соединений был проведен первичный скрининг (МТТ-тест) на линиях клеток A549 (карцинома легкого), HCT116 (карцинома кишечника), HEK293 (клетки эмбрионального почечного эпителия) и HeLa (рак матки). Исследования противоопухолевой активности соединений проведены с.н.с., к.б.н. Л.В. Аникиной в Лаборатории природных соединений ФГБУН Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии РАН (г. Черноголовка).

Таблица 2 – Цитотоксичность соединений включения **86–89** и конъюгата **90** с *Даунорубицином*.

Соединение	IC50 (мкМ/л)			
	A549 (карцинома легкого)	HCT116 (карцинома кишечника)	HEK293 (клетки эмбрионального почечного эпителия)	HeLa (рак матки)
85	0.56±0.05	0.29±0.01	0.03±0.00	0.85±0.04
86	0.46±0.01	0.28±0.01	0.07±0.00	0.32±0.04
87	1.73±0.05	0.51±0.04	0.40±0.01	0.98±0.09
88	0.20±0.03	0.22±0.02	0.16±0.02	0.15±0.02
89	0.01±0.00	0.011±0.001	0.006±0.001	0.008±0.001
90	нет эффекта	нет эффекта	нет эффекта	нет эффекта

Анализ данных по цитотоксичности показал, что в основном комплексообразование с циклодекстрином (соединения **86**, **87**) демонстрирует цитотоксичный эффект сравнимый с самим *Даунорубицином*, тогда как комплексы с димерными циклодекстринами **88** и **89** более эффективно угнетают деление опухолевых клеток (карцинома легкого и рак матки), что делает их потенциальными антипролиферативными агентами. Важно, что комплекс **89** по цитотоксичности значительно превышает действие *Даунорубицина* в отношении всех клеточных линий, взятых для эксперимента. К сожалению, конъюгат **90** не проявил цитотоксической активности.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Впервые проведено систематическое исследование в области синтеза димерных производных β -циклодекстрина и исследована их способность к образованию соединений включения.

2. Разработаны эффективные пути синтеза простых и сложных эфиров димерных производных β -циклодекстрина, представляющие интерес как потенциальные носители (соединения включения и конъюгаты) ряда лекарственных соединений для фармакологических исследований в разных направлениях.

3. Показана возможность образования простых эфиров по первичным гидроксильным группам β -циклодекстрина с рядом спиртов и диолов.

4. С использованием различных алкилендиаминов и моногалогензамещенных производных β -циклодекстрина получены димерные производные с различной длиной диаминового мостика между циклодекстриновыми фрагментами.

5. Найдено, что димерное дикатионное производное β -циклодекстрина благодаря кооперативному эффекту двух циклодекстриновых полостей образует более прочный комплекс включения с противоопухолевым соединением *Метотрексат*, чем с мономерным β -циклодекстрином.

6. При попытке получения соединений включения ряда монопроизводных β -циклодекстрина, представляющих собой простые и сложные эфиры с некоторыми алифатической и ароматическими карбоновыми кислотами, происходит гидролиз эфиров с образованием соединений включения типа *гость – хозяин* разного состава. Показано, что это результат предварительного включения *гостя* в полость β -циклодекстрина и является характерной особенностью многих превращений циклодекстринов.

7. Результаты фармакологических испытаний ряда синтезированных соединений показали перспективность дальнейшего развития этого направления.

Основное содержание работы отражено в следующих публикациях:

Статьи:

1. Kritskiy, I., Kumeev, R., Volkova, T., Shipilov, D., Kutyasheva, N., Grachev, M. and Terekhova, I. Selective binding of methotrexate to monomeric, dimeric and polymeric cyclodextrins / I. Kritskiy, R. Kumeev, T. Volkova, D. Shipilov, N. Kutyasheva, M. Grachev and I. Terekhova // *New Journal of Chemistry*. — 2018. — Vol. 42. — No. 17. — P. 14559–14567. — DOI: 10.1039/c8nj02632g.

2. Шипилов, Д.А., Маленковская, М.А., Кутяшева, Н.В., Курочкина, Г.И., Сергиевич, А.А., Грачев, М.К. Катионные производные β -циклодекстрина, содержащие остатки 2-(4-изобутилфенил)- и 2-(3-бензоилфенил)пропионовой кислот / Д.А. Шипилов, М.А. Маленковская, Н.В. Кутяшева, Г.И. Курочкина, А.А. Сергиевич, М.К. Грачев // *Известия Академии наук. Серия химическая*. — 2019. — № 4. — С. 862–866. — DOI: 10.1007/s11172-019-2497-0.

3. Shipilov, D.A., Kurochkina, G.I., Akhlebinin, A.K., Kutyasheva, N.V., Grachev, M.K. Dimeric Diaminocationic β -Cyclodextrin Derivatives / D.A. Shipilov, G.I. Kurochkina, A.K. Akhlebinin, N.V. Kutyasheva, M.K. Grachev // *Macroheterocycles*. — 2019. — Vol. 12. — No. 1. — P. 94–97. — DOI: 10.6060/mhc181110s.

4. Грачев, М.К., Терехова, И.В., Шипилов, Д.А., Кутяшева, Н.В., Емельянова, Е.Ю. Димерные (олигомерные) производные циклодекстринов как новый класс супрамолекулярных систем. Синтез и соединения включения на их основе / М.К. Грачев, И.В. Терехова, Д.А. Шипилов, Н.В. Кутяшева, Е.Ю. Емельянова // *Биоорганическая химия*. — 2020. — Т. 46. — № 1. — С. 18–35. — DOI: 10.31857/S0132342320010029.

5. Кутяшева, Н.В., Курочкина, Г.И., Соломатин, Е.А., Грачев, М.К. Прямая моноэтерификация первичных гидроксильных групп β -циклодекстрина / Н.В. Кутяшева, Г.И. Курочкина, Е.А. Соломатин, М.К. Грачев // *Журнал органической химии*. — 2021. — Т. 57. — Вып. 1. — С. 121–126. — DOI: 10.31857/S0514749221010146.

6. Кутяшева, Н.В., Курочкина, Г.И., Глушко, В.В., Грачев, М.К. Особенности образования комплексов включения монозамещенных производных β -циклодекстрина / Н.В. Кутяшева, Г.И. Курочкина, В.В. Глушко, М.К. Грачев //

Журнал общей химии. — 2021. — Т. 91. — Вып. 6. — С. 959–965. — DOI: 10.31857/S0044460X21060135.

7. Kutyasheva, N.V., Kurochkina, G.I., Ilinich, K.K., Grachev, M.K. Behaviour Peculiarities of Some Dimeric β -Cyclodextrin Derivatives under Reaction with Organic Acids of Various Nature / N.V. Kutyasheva, G.I. Kurochkina, K.K. Ilinich, M.K. Grachev // *Macroheterocycles*. — 2022. — Vol. 15. — No. 2. — P. 123–127. — DOI: 10.6060/mhc224126g.

8. Grachev, M.K., Kurochkina, G.I and Kutyasheva, N.V. Cyclodextrin dimers connected with linkers through the secondary hydroxy groups / M.K. Grachev, G.I. Kurochkina and N.V. Kutyasheva // *Mendeleev Communications*. — 2023. — Vol. 33. — No. 5. — P. 622–623. — DOI: org/10.1016/j.mencom.2023.09.010.

Тезисы докладов конференций:

1. Kutyasheva, N.V., Emelianova, E.Y., Bulkin, S.A., Shipilov, D.A., Kurochkina, G.I., Grachev, M.K. Dimeric β -cyclodextrin derivatives as molecular containers for drugs // The Fifth International Scientific Conference «Advance in synthesis and complexing»: Book of abstracts. — Moscow, April 22–26, 2019.

2. Кутяшева, Н.В., Емельянова, Е.Ю., Шипилов, Д.А., Курочкина, Г.И., Грачев, М.К. Синтез димерного производного β -циклодекстрина и соединение включения на его основе // XXI Менделеевский съезд по общей и прикладной химии: тезисы докладов в 6 томах. — Санкт-Петербург, 09–13 сентября 2019 г. — С. 360.

3. Кутяшева, Н.В., Соломатин, Е.А., Курочкина, Г.И., Грачев, М.К. Синтез конъюгата нового типа на основе β -циклодекстрина // VI Международная научно-практическая конференция Экология XXI века: синтез образования и науки — Челябинск, 18–21 мая 2020 г. — С. 184–188.

4. Кутяшева, Н.В., Курочкина, Г.И., Грачев, М.К. Циклодекстрины и их производные как эффективные экстрагенты для некоторых продуктов при глубокой переработке растительного сырья // Тезисы докладов XII Всероссийской научной конференции «Химия и технология растительных веществ». — Киров, 29 ноября–02 декабря 2022 г. — С. 104.

Научное издание

Кутяшева Наталья Владимировна

**ДИМЕРНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ.
ОСОБЕННОСТИ СИНТЕЗА И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Московский педагогический государственный университет (МПГУ).
119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1, стр. 1.

Отпечатано в отделе оперативной полиграфии
УИД и ИП МПГУ.

Подписано в печать 06.12.2024.
Формат 60×90/16. Усл. печ. л. 1,63.
Тираж 100 экз. Заказ 1642а.