

СОЗДАНИЕ НАНОРАЗМЕРНОЙ ФОРМЫ 20-ГИДРОКСИЭКДИЗОНА И ИССЛЕДОВАНИЕ ЕЁ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ДОСТУПНОСТИ

^{1,2}Еримбетов К.Т., ¹Федорова А.В., ²Гончарова А.Я., ²Бондаренко Е.В

¹ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных - филиал ФНЦ животноводства, Боровск Калужской обл.; ²ООО Научно-исследовательский центр «Парк активных молекул», Обнинск Калужской обл., Российская Федерация

Цель работы – создание наноразмерной формы 20-гидроксиэкдистерона (20-Е) с улучшенными биофармацевтическими свойствами. Получены супрамолекулярные соединения 20-Е на основе использования решётчатых клатратов с арабиногалактаном (АГ), гуммиарабиком (ГА) и β-циклодекстрином (ЦД) при соотношениях масс 20-Е и клатратообразователя от 1:1 до 1:20. Новые супрамолекулярные соединения представляют собой порошок белого с желтым оттенком цвета с размером частиц менее 100 нм. Разработана методика количественного определения 20-Е в плазме крови крыс методом ВЭЖХ. Для 20-Е калибровочная кривая линейна в диапазоне 0,2-4,0 мкг/мл, $R^2=0,999$. По данным сравнительно-фармакокинетического исследования установлено, что наилучшей биологической доступностью (БД) обладает клатрат 20-Е с АГ в соотношении 1:10, полученное значение БД в 1,73 раза превышает аналогичное значение исходного соединения. Заключение, что по биофармацевтическим свойствам наиболее перспективным средством для медицинского и ветеринарного применения является наноразмерная форма 20-Е с АГ с массовым соотношением 1:10 и средним размером частиц 35,3 нм.

Ключевые слова: 20-гидроксиэкдистерон, арабиногалактан, гуммиарабик, β-циклодекстрин, биофармацевтические свойства, крысы, фармакокинетические параметры

Проблемы биологии продуктивных животных, 2020, 3: 106-113

Введение

Одним из наиболее широко изучаемых природных соединений стероидной структуры, выжеляемых из корней и корневищ левзеи сафлоровидной, является 20-гидроксиэкдистерон (20-гидроксиэкдизон, 20-Е). В последнее время проводятся интенсивные физиологические и фармакодинамические исследования фитозкдистероидов, в частности, как метаболитических средств (Seidlova-Wuttke et al., 2010; Сыров и др., 2012; Володин и др., 2013; Kumar et al., 2013; Phungphong et al., 2017; Wang et al., 2017; Erimbetov et al., 2019; Еримбетов и др., 2019; Buniam et al., 2020; Dinan et al., 2020; Khaziev et al., 2020).

Исследования физико-химических свойств показали, что 20-Е умеренно растворим в воде, что может способствовать снижению его адсорбции в желудочно-кишечном тракте и, как следствие, выразиться в неудовлетворительной биодоступности при высокой биологической эффективности. В целом, это может обусловить снижение общего фармакологического и физиологического действия препарата (Миронов и др., 2013). Актуальность повышения биологической доступности также связана с невозобновляемостью источников растительного сырья, сложностью и трудоёмкостью операций по уборке, очистке от загрязнений, промывке и сушке сырья, а также использованием в технологии выделения фитозкдистероидов большого количества растворителей для выделения 20-Е (Ипатов и др., 2016).

Альтернативной технологией может быть создание наноразмерной формы 20-Е на основе получения клатратных комплексов (КК) (клатратов) с клатратообразователями β-циклодекстрином (ЦД), арабиногалактаном (АГ), гуммиарабиком (ГА) с применением жидкофазного или твердофазного методов синтеза (Розиев и др., 2016; Федорова и др., 2018). Клатраты – это супрамолекулярные соединения, образующиеся при включении молекул одного

вида, называемых гостями, в полости кристаллического каркаса, построенного из молекул другого вида, называемых хозяевами (решётчатые клатраты), или в полость одной большой молекулы-хозяина (молекулярные клатраты) (Зоркий, Лубнина, 1999). Образование клатратных комплексов происходит за счет связывания атомно-молекулярных частиц в надмолекулярные структуры посредством химических или физических взаимодействий, в результате чего происходит улучшение их биофармацевтических свойств (растворимость и биологическая доступность), что позволяет уменьшить дозы действующих веществ. Таким образом, изучение образования комплексов 20-Е с ЦД, АГ и ГА имеют большое практическое значение для целей получения новых перспективных препаратов с повышенной биологической доступностью.

Цель данной работы – создание наноразмерной формы 20-Е на основе получения супрамолекулярных соединений и исследование биодоступности полученных препаратов.

Материал и методы

Создание наноразмерной формы 20-Е в виде клатратов с ЦД, АГ и ГА предусматривало проведение нескольких этапов исследования – физико-химические исследования, синтез, разработка методики количественного определения 20-Е в плазме крови, оценка биодоступности разрабатываемых КК на крысах.

Клатратные комплексы 20-Е с ЦД, АГ и ГА были получены твёрдофазным методом синтеза на шаровой планетарной мельнице Активатор 2S с материалом помольных стаканов из корунда и шаров из оксида циркония диаметры 3, 5 и 10 мм. Измерение размера полученных частиц проведено на приборе Zetasizer Nano ZS. Сравнительный анализ наработанных клатратов 20-Е при их разных соотношениях был проведен методами инфракрасной (ИК) и ультрафиолетовой (УФ) спектроскопии. Измерения степени связывания 20-Е в КК в ультрафиолетовом диапазоне проводили на приборе Helios Gamma. ИК-спектры исследуемых твёрдых веществ измеряли в области от 4000 до 500 см⁻¹. ИК спектры были зафиксированы на приборе IRAffinity-1S.

Температуру плавления 20-Е определяли капиллярным методом на приборе SMP40. Растворимость в воде и в других растворителях 20-Е и его КК с ЦД, АГ и ГА определяли в соответствии с протоколом Государственной фармакопеи Российской Федерации (Государственная фармакопея Российской Федерации, XIV изд. – М., 2018. – Ч. 1. – 704 с. <<http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>>).

Для оценки биологической доступности полученных клатратов изначально была разработана и апробирована методика количественного определения 20-Е в плазме крови крыс методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Анализ проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе Waters с УФ детектором (США). Колонка: Waters Xterra C18 3,9×150 5µm (США). Подвижная фаза: метанол:вода/триэтиламин в соотношении 61:38:1 при рН 7,0. Скорость пропускания подвижной фазы – 0,5 мл/мин. Аналитическая длина волны – 240 нм. Объём вводимой пробы 10 мкл. Время анализа – 6 минут.

Исследование фармакокинетики и биодоступности 20-Е и его клатратов проводили на 146 крысах-самцах линии Wistar. Масса крыс составляла 200-220 г. Животных содержали в стационарных условиях при естественном световом режиме и стандартном рационе (комбикорм, вода). За 12 часов до начала эксперимента животных лишали пищи, оставляя свободный доступ к воде. В группе подопытных животных было 140 крыс, 6 крыс использовали для получения интактной плазмы крови. Животные были разделены на 4 группы. Исследуемые соединения вводили в дозе 230 мг/кг массы тела. Крысам в 1-й группе однократно внутривенно с помощью зонда вводили 20-Е; во 2-й группе – клатрат 20-Е с АГ; в 3-й группе – клатрат 20-Е с ГА; в 4-й группе – клатрат 20-Е с ЦД. Пробы крови отбирали декапитацией животных, кровь собирали в полипропиленовые пробирки, содержащие 100 мкл 5% Na₂-ЭДТА, через интервалы времени 0,5, 1, 2, 4, 8, 16 и 24 ч. после введения. На каждую временную точку брали по 5 крыс. Плазму крови отделяли центрифугированием при 5000 об/мин в течение 20 мин. Образцы плазмы замораживали и хранили до анализа при температуре 70°C. Количественное определение 20-Е в плазме крови проводили методом ВЭЖХ.

Пробы плазмы крови крыс размораживали и центрифугировали в течение 30 мин. при 10000 об/мин, 0,5 мл плазмы крови переносили в микропробирку эппендорф объёмом 2 мл и добавляли 1 мл метанола. Смесь перемешивали и инкубировали в ледяной бане 30 мин. для более полного осаждения белка. Далее образец центрифугировали при 10 000 об/мин в течение 10 мин. Отбирали надосадочную жидкость, фильтровали через PVDF фильтр (0,45 мкм), 20 мкл раствора использовали для исследования на хроматографе.

Фармакокинетический анализ проводили на основании данных о концентрации 20-Е в образцах плазмы крови крыс. Для каждого животного были рассчитаны следующие фармакокинетические параметры (Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, 2012):

- $AUC_{(0-t)}$ (нг×ч/мл) – площадь под фармакокинетической кривой «концентрация 20-Е – время» от момента введения до момента последнего измерения концентрации (t).
- $AUC_{(0-\infty)}$ (нг×ч/мл) – площадь под фармакокинетической кривой «концентрация 20-Е – время» от момента введения до бесконечности, рассчитанная как сумма $AUC_{(0-t)} + AUC_{(t-\infty)}$.
- C_{max} (нг/мл) – максимальная концентрация 20-Е в плазме крови;
- T_{max} (ч) – время достижения максимальной концентрации 20-Е в плазме крови;
- $T_{1/2}$ (ч) – период полувыведения – время, за которое выводится половина массы 20-Е из плазмы крови.

Для определения величины $AUC_{(t-\infty)}$ расчёт проводили до момента времени T, при котором прогнозируемая концентрация 20-Е в плазме крови снижается по экспоненте до 0,1 нг/мл. Величину T оценивали в предположении, что показатель экспоненты в интервале от t до T приблизительно равен значению k, оцененному при аппроксимации опытной кривой концентрации 20-Е функцией $C_{max} e^{-kt}$. После логарифмирования получается: $\ln 0,1 = \ln C_{max} - kT$, $kT = \ln C_{max} - \ln 0,1$, $T = [\ln(C_{max}/0.1)]/k$. Значение k в интервале от C_{max} до C_t определяли по наклону линии регрессии, построенной для кривой $\ln C$ – время.

Расчёт относительной биодоступности (F, %) проводили по формуле:

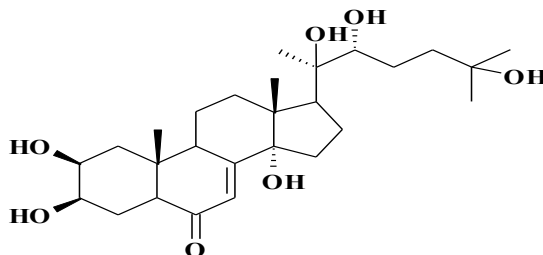
$$F = ([AUC_{KK (0-\infty)} \times D_{20-E}] / [AUC_{20-E (0-\infty)} \times D_{KK}]) \times 100,$$

где $AUC_{KK (0-\infty)}$ – площадь под фармакокинетической кривой КК; $AUC_{20-E (0-\infty)}$ – площадь под фармакокинетической кривой 20-Е; D_{20-E} – доза введённого 20-Е; D_{KK} – доза введённого КК.

Результаты и обсуждение

Как указывалось выше, КК разрабатывали на основе природного соединения стероидной структуры 20-Е. Данное соединение имеет следующие характеристики: химическое название - 20-бета-гидроксиэкдистерон; эмпирическая формула – $C_{27}H_{44}O_7$; молекулярная масса – 480,6.

Структурная формула:



Температура плавления – от 241 °С до 242 °С. Легко растворим в этаноле, метаноле, умеренно растворим в воде.

В процессе разработки впервые твердофазным методом на планетарной шаровой мельнице Активатор 2S в интервале времени от 10 до 60 мин синтезированы клатраты 20-Е с ЦД, АГ и ГА при масс. соотношении от 1:1 до 1:20 и температуре от 20 до 50°С. Полученные КК имели кристаллическую форму в виде наночастиц размером менее 100 нм. Например, клатраты 20-Е с АГ,

при оптимальном массовом соотношении 1:10 были также выделены в виде мелкодисперсного подвижного порошка белого с оттенком светло-жёлтого цвета со средним размером частиц 35,3 нм (от 9 до 200 нм). При этом растворимость в воде КК 20-Е с АГ в соотношениях 1:5 и 1:10 составила, соответственно, 10,0 и 10,5 г/л, а растворимость в воде самого 20-Е – 6,7 г/л.

В УФ-спектрах клатратов 20-Е с АГ и ЦД отмечено существенное падение интенсивности «максимумов», что свидетельствует о высокой степени его связывания в КК, как в первом, так и во втором случаях.

В ИК-спектрах показано снижение интенсивности сигналов характерных групп 20-Е, в частности, полос поглощения в области 2984 см⁻¹ и 1055 см⁻¹, обусловленных валентными колебаниями алкильных групп, а также полосы поглощения 1654 см⁻¹ соответствующие валентным колебаниям кето-группы. Наибольшее перекрытие сигналов отмечено в спектрах комплексов 20-Е с ЦД и АГ в соотношениях 1:3 и 1:10.

С целью метрологической характеристики аналитического метода, 8 стандартных калибровочных образцов с концентрацией 20-Е от 0,2 до 4,0 мкг/мл, а также образец с нулевой концентрацией и контрольные пробы были приготовлены с использованием плазмы крови крыс и проанализированы пятикратно. Для 20-Е калибровочная кривая была линейна в диапазоне 0,2-4,0 мкг/мл при R²=0,999. Нижний предел количественного обнаружения – 0,010 мкг/мл. Процент извлечения 20-Е из плазмы крови в среднем составляет 95,4±2,0% (среднее по 5 измерениям) Метод соответствует требованиям, предъявляемым к аналитическим методам. Проведенные исследования позволили разработать чувствительную и экспрессную методику количественного определения 20-Е в плазме крови, подходящий для фармакокинетических исследований разных форм на его основе.

В результате исследований фармакокинетики в нулевой точке (перед вводом препаратов), в исследованных пробах крови у всех собак не выявлено присутствия в плазме крови 20-Е. В последующие сроки наблюдения в пробах крови было обнаружено достаточное для анализа количество 20-Е (табл. 1).

Таблица 1. Концентрация 20-Е в плазме крови крыс при однократном внутривенном введении 20-Е и его клатратов (нг/мл) (M±m, n=5)

Группы			
1 (20-Е)	2 (20-Е с АГ)	3 (20-Е с ГА)	4 (20-Е с ЦД)
1994 ± 62	2666 ± 166*	2618 ± 697	2456 ± 195
3409 ± 376	11875 ± 1507**	5576 ± 223*	5630 ± 357**
4975 ± 75	8206 ± 329	4915 ± 505	5321 ± 479
2759 ± 242	4192 ± 261**	3304 ± 325	3518 ± 313*
2338 ± 354	3536 ± 443**	2930 ± 312	2954 ± 273
1613 ± 105	2667 ± 45**	2171,9 ± 183*	2251 ± 177**
865 ± 139	1792 ± 56**	1378 ± 114*	1319 ± 109*

Примечания: *P<0,05; **P<0,01; по U-критерию при сравнении с 1 группой. АГ - арабиногалактан, ГА – гуммиарабик, и ЦД – β-циклодекстрин. Исследуемые соединения вводили в дозе 230 мг/кг массы тела.

При введении во всех изучаемых формах, 20-Е относительно быстро всасывается в системный кровоток. Исходное соединение 20-Е в 0,79 раза медленнее всасывается из желудочно-кишечного тракта при его введении по сравнению с КК 20-Е с АГ: об этом свидетельствует параметр, характеризующий скорость всасывания лекарственного вещества C_{max}/AUC_(0→∞), ч⁻¹ (табл. 2). При этом время достижения максимальной концентрации T_{max} для 20-Е КК с АГ наступало в 2 раза быстрее, чем для 20-Е (табл. 2). По сравнению с другими формами, после введения 20-Е с АГ концентрация 20-Е в течение продолжительного времени находится в субмаксимальных концентрациях. Более высокое значение параметров AUC_(0→t) и AUC_(t→∞) характерно для КК 20-Е с АГ по сравнению с исходным соединением 20-Е (P<0,01 и P<0,05, соответственно) (табл. 2). Значения показателя T_{1/2} для 20-Е и его клатратов с АГ, ЦД и ГА существенно не различались.

Таблица 2. Фармакокинетические параметры 20-Е в плазме крови крыс при однократном внутрижелудочном введении 20-Е и его клатратов (M±m, n=5)

Параметры	Группы			
	1 (20-Е)	2 (20-Е с АГ)	3 (20-Е с ГА)	4 (20-Е с ЦД)
AUC _(0→t) , мкг×ч/мл	49,7±2,7	84,8±2,2**	63,3±2,8**	65,0±1,6**
AUC _(t→∞) , мкг×ч/мл	101,0±14,9	192,8±34,1*	166,4±11,1*	157,4±9,8*
C _{max} , мкг/мл	4,97±0,07	11,88±1,51**	5,91±0,25**	5,97±0,41*
T _{max} , ч	2,0±0,01	1,0±0,01**	1,2±0,2	1,6±0,3
T _{1/2} , ч	8,7±0,8	8,6±0,5	10,9±0,5	10,3±0,4
C _{max} /AUC _(0→∞) , ч ⁻¹	0,049	0,062	0,036	0,038

Биологическая доступность препарата – относительное его количество, которое достигает системного кровотока (степень биодоступности) и скорость, с которой этот процесс происходит (скорость всасывания). При этом величина AUC рассматривается как степень абсорбции вещества, а T_{max} как мера скорости его абсорбции. По результатам проведенных исследований биодоступность клатратов 20-Е с АГ, ЦД и ГА относительно исходного соединения составили 191, 165 и 156%, соответственно. Полученные данные свидетельствуют о перспективности применения КК 20-Е с АГ для дальнейшей разработки в качестве биологически активного препарата.

Заключение

Впервые получены КК 20-Е с АГ, ЦД и ГА при соотношениях масс 20-Е и клатратообразователя от 1:1 до 1:20. Полученные КК имели кристаллическую форму в виде наночастиц размером менее 100 нм. Разработана методика количественного определения 20-Е в плазме крови крыс методом ВЭЖХ. Для 20-Е калибровочная кривая была линейна в диапазоне 0,2-4,0 мкг/мл, коэффициент детерминации R²=0,999. Исследования сравнительной фармакокинетики 20-Е и предлагаемых на его основе КК на крысах линии Wistar при их внутрижелудочном введении показали, что наилучшей биологической доступностью обладает клатрат 20-Е с АГ. По уровню биологической доступности 20-Е с АГ превышает 1,91 раза аналогичное значение исходного соединения.

Таким образом, по физико-химическим свойствам и уровню биологической доступности наиболее перспективным средством для медицинского и ветеринарного применения оказался супрамолекулярное соединение 20-Е с АГ с соотношением масс 1:10 и средним размером частиц 35,3 нм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Володин В.А., Сидорова Ю. С., Мазо В.К. 20-гидроксиэкдизон – растительный адаптоген: анаболическое действие, возможное использование в спортивном питании // Вопросы питания – 2013 – Т. 82 – № 6 – С. 24-30.
2. Еримбетов К.Т., Обвинцева О.В., Соловьева А.Г. Влияние добавки 20-гидроксиэкдизона на метаболизм азотистый метаболизм и продуктивность поросят в период интенсивного выращивания // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2019. – № 4. – С. 44-52. DOI: 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2019.4.44-52.
3. Зоркий П.М., Лубнина И.Е. Супрамолекулярная химия: возникновение, развитие, перспективы // Вестник Московского Университета. Серия 2, Химия. – 1999. – Т. 40. – № 5. – С. 300-307.
4. Ипатова О.М., Медведева Н.В., Вахрушева С.И., Дружиловская О.С., Тихонова Е.Г., Сагдуллаев Ш.Ш., Сыров В.Н., Хушбакова З.А., Турсунова Н.В. Фосфолипидная композиция экдистена, обладающая адаптогенной и гепатопротекторной активностью: патент РФ. – № 2575561. – 2016. – Бюлл. № 5.
5. Миронов В.А., Назаров А.К., Волков В.Л. повышение растворимости экдистерона с использованием 2-гидроксипропил-β-циклодекстрина // Рынок БАД. – 2013. – № 1. – С. 36-37.
6. Миронова А.Н. (Ред.). Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.

7. Розиев Р.А., Гончарова А.Я., Еримбетов К.Т., Подгородниченко В.К. Клатратный комплекс арабиногалактана или гуммиарабика с 20-гидроксиэкдизоном, способ его получения (варианты), фармацевтическая композиция и лекарственное средство: патент РФ. – № 2572334. – 2016. – Бюлл. № 1.
8. Сыров В.Н., Шахмурава Г.А., Хушбактова З.А., Эгамова Ф., Осипова С.О. Сравнительное изучение регулирующего влияния экдистерона и ретаболила на белоксинтезирующие процессы в организме высших животных // Теоретическая и прикладная экология. – 2012. – № 1. – С. 13-17.
9. Федорова А.В., Еримбетов К.Т., Бондаренко Е.В., Гончарова А.Я., Фрог Е.С. Разработка наноразмерной формы 20-гидроксиэкдизона // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81. – Приложение. – С. 254.
10. Buniam J., Chukijrunroat N., Rattanavichit Y., Surapongchai J., Weerachayaphorn J., Bupha-Intr T., Saengsirisuwan V. 20-Hydroxyecdysone ameliorates metabolic and cardiovascular dysfunction in high-fat-high-fructose-fed ovariectomized rats // (BMC) Complement. Med. Therap. – 2020. – Vol. 20. – P. 140-152 <<https://doi.org/10.1186/s12906-020-02936-1>>
11. Dinan L., Mamadaliyeva N. Z., Lafont R. Dietary Phytoecdysteroids // Handb. Diet. Phytochem. – 2020. – Vol. 79. – P. 1-54. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-1745-3_35-1>
12. Erimbetov K.T., Obvintseva O.V., Fedorova A.V., Zemlyanoy R.A., Solovieva A.G. Phenotypic regulation of animal skeletal muscle protein metabolism // Ukrain. J. Ecol. – 2019. – Т. 9. – № 4. – С. 651-656.
13. Kumar R.N., Sundaram R., Shanthi P. Protective role of 20-OH ecdysone on lipid profile and tissue fatty acid changes in streptozotocin induced diabetic rats // Eur. J. Pharmac. – 2013. – Vol. 698. – No. 1-3. – P. 489-498.
14. Khaziev D., Galina C., Gadiev R., Valitov F., Gumarova G., Galyautdinov I. Phytoecdysteroids from *Serratula coronata* when growing ducklings // Res. Veter. Sci. – 2020. – 128. – P. 170-176. <<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.11.012>>
15. Phungphong S., Kijawornrat A., Chaiduang S., Saengsirisuwan V., Bupha-Intr T. 20-Hydroxyecdysone attenuates cardiac remodeling in spontaneously hypertensive rats // Steroids. – 2017. – Vol. 126. – P. 79-84.
16. Seidlova-Wuttke D, Ehrhardt C, Wuttke W. Metabolic effects of 20-OH-ecdysone in ovariectomized rats // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2010. – Vol. 119. – No. 3-5. – P. 121-126.
17. Wang, J.J., Jin H., Zheng S.L., Xia P., Cai Y., Ni X.J. Phytoecdysteroids from *Ajuga iva* act as potential antidiabetic agent against alloxan-induced diabetic male albino rats // Biomed. Pharmacoth. – 2017. – Vol. 96 – P. 480-488.

REFERENCES

1. Buniam J., Chukijrunroat N., Rattanavichit Y., Surapongchai J., Weerachayaphorn J., Bupha-Intr T., Saengsirisuwan V. 20-Hydroxyecdysone ameliorates metabolic and cardiovascular dysfunction in high-fat-high-fructose-fed ovariectomized rats. (BMC) Complement. Med. Therap. 2020, 20: 140-152 <<https://doi.org/10.1186/s12906-020-02936-1>>
2. Dinan L., Mamadaliyeva N. Z., Lafont R. Dietary Phytoecdysteroids. Handb. Diet. Phytochem. 2020, 79: 1-54. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-1745-3_35-1>
3. Erimbetov K.T., Obvintseva O.V., Fedorova A.V., Zemlyanoy R.A., Solovieva A.G. Phenotypic regulation of animal skeletal muscle protein metabolism. Ukrain. J. Ecol. 2019, 9(4): 651-656.
4. Erimbetov K.T., Obvintseva O.V., Solov'eva A.G. [Effect of 20-hydroxyecdysone supplementation on nitrogen metabolism and productivity of piglets during intensive rearing]. Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology. 2019, 4: 44-52. DOI: 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2019.4.44-52. (In Russian)
5. Fedorova A.V., Erimbetov K.T., Bondarenko E.V., Goncharova A.Ya., Frog E.S. [Development of a nanoscale form of 20-hydroxyecdysone]. Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya – Experimental and Clinical Pharmacology. 2018, 81. Suppl, P. 254. (In Russian)
6. Ipatova O.M., Medvedeva N.V., Vakhrusheva S.I., Druzhilovskaya O.S., Tikhonova E.G., Sagdullaev Sh.Sh., Syrov V.N., Khushbaktova Z.A., Tursunova N.V. Fosfolipidnaya kompozitsiya ekdistena, obladayushchaya adaptogennoi i gepatoprotektoinoi aktivnost'yu. (Phospholipid composition of ecdisten with adaptogenic and hepatoprotective activity). Patent RF, No. 25755610, 2016. (In Russian)
7. Khaziev D., Galina C., Gadiev R., Valitov F., Gumarova G., Galyautdinov I. Phytoecdysteroids from *Serratula coronata* when growing ducklings. Res. Veter. Sci. 2020, 128: 170-176. <<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.11.012>>
8. Kumar R.N., Sundaram R., Shanthi P. Protective role of 20-OH ecdysone on lipid profile and tissue fatty acid changes in streptozotocin induced diabetic rats. Eur. J. Pharmac. 2013, 698(1-3): 489-498.
9. Mironov V.A., Nazarov A.K., Volkov V.L. [II Increasing the solubility of ecdysterone using 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin]. Rynok BAD - Nutritional supplements market. 2013, 1: 36-37. (In Russian)

10. Mironova A.N. (Ed.). *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaya* (Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one). Moscow: Grif i K Publ., 2012, 944 p. (In Russian)
11. Phungphong S., Kijawornrat A., Chaiduang S., Saengsirisuwan V., Bupha-Intr T. 20-Hydroxyecdysone attenuates cardiac remodeling in spontaneously hypertensive rats. *Steroids*. 2017, 126: 79-84.
12. Roziev R.A., Goncharova A.Ya., Erimbetov K.T., Podgorodnichenko V.K. *Klatratnyi kompleks arabinogalaktana ili gummiarabika s 20-gidroksiekdizonom, sposob ego polucheniya (varianty), farmatsevticheskaya kompozitsiya i lekarstvennoe sredstvo* (Clathrate complex of arabinogalactan or gum arabic with 20-hydroxyecdysone, method for its preparation (options), pharmaceutical composition and medicinal product). Patent RF, No. 2572334, 2016. (In Russian)
13. Seidlova-Wuttke D, Ehrhardt C, Wuttke W. Metabolic effects of 20-OH-ecdysone in ovariectomized rats. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2010, 119(3–5): 121-126.
14. Syrov V.N., Shakhmurova G.A., Khushbaktova Z.A., Egamova F., Osipova S.O. [Comparative study of the regulatory effect of ecdysterone and retabolil on protein synthesis processes in the body of higher animals]. *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya - Theoretical and Applied Ecology*. 2012. 1: 13-17. (In Russian)
15. Volodin V.A., Sidorova Yu. S., Mazo V.K. [20-hydroxyecdysone - plant adaptogen: anabolic effect, possible use in sports nutrition]. *Voprosy pitaniya - Nutrition issues*. 2013, 82(6): 24-30. (In Russian)
16. Wang, J.J., Jin H., Zheng S.L., Xia P., Cai Y., Ni X.J. Phytoecdysteroids from *Ajuga reptans* act as potential antidiabetic agent against alloxan-induced diabetic male albino rats. *Biomed. Pharmacother.* 2017, 96: 480-488.
17. Zorkii P.M., Lubnina I.E. [Supramolecular chemistry: origin, development, prospects]. *Vestnik Moskovskogo Universiteta. Seriya 2, Khimiya. - Moscow University Bulletin. Series 2, Chemistry*. 1999, 40(5): 300-307. (In Russian)

Creation of the nanosized form of 20-hydroxyecdione and research of its biological availability

^{1,2}Erimbetov K.T., ¹Fedorova A.V., ²Goncharova A.Ya., ²Bondarenko E.V.

²*Institute of Physiology, Biochemistry and Animal Nutrition - Branch of Ernst Federal Science Center of Animal Husbandry, Borovsk, Kaluga oblast; ¹LLC Research Center "Park of Active Molecules", Obninsk, Kaluga oblast, Russian Federation.*

ABSTRACT. The aim of this work is to create a nanosized form of 20-hydroxyecdisterone (20-E) with improved biopharmaceutical properties. Supramolecular compounds 20-E were obtained based on the use of lattice clathrates of arabinogalactan (AG), gum arabic (GA), and β -cyclodextrin (CD) with a mass ratio of 20-E and a clathrate former from 1:1 to 1:20. The new supra-molecular compounds are yellow-tinted powder with a particle size of less than 100 nm. A method was developed for the quantitative determination of 20-E in rat blood plasma by HPLC. For 20-E, the calibration curve is linear over the range 1000-4000 ng/ml, $R^2 = 0.999$. According to the data of a comparative pharmacokinetic study, it was found that the best bioavailability (BA) is possessed by the clathrate 20-E with AG at the mass ratio 1:10, and the obtained BA value is 1.73 times higher than the analogous value of the compound. It was concluded that, in terms of biopharmaceutical properties, the nanosized form 20-E with AG at a mass ratio of 1:10 and an average particle size of 35.3 nm is the most promising agent for medical and veterinary use.

Keywords: 20-hydroxyecdysterone, arabinogalactan, gum arabic, β -cyclodextrin, biopharmaceutics, rats, pharmacokinetic parameters

Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology, 2020, 3: 106-113

Поступило в редакцию: 22.08.2020

Получено после доработки: 09.09.2020

Еримбетов Кенес Тагаевич., д.б.н., руков. службы доклин. и клин. исследований,
тел. 8(919)031-50-34; erimbetovkt@mail.ru;

Федорова Алена Владимировна, асп.

Гончарова Анна Яковлевна, к.б.н., рук. ООО, тел.: 8(910)913-57-66;
goncharova@pam-alliance.ru;

Бондаренко Екатерина Валерьевна, к.б.н., зам. дир. ООО. тел.: 8(910)522-86-24;
bondarenko@pam-alliance.ru;