

УДК 547.918: 547.458.68:543.42:661.167.7:581.142

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОМПЛЕКС МОНОАММОНИЙНОЙ СОЛИ ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ (ГЛИЦИРАМА) С β -ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ

Л.А.Яковишин

Севастопольский национальный технический университет
99053, г. Севастополь, ул. Университетская, 33. E-mail: chemsevntu@rambler.ru

Ключевые слова: глицирризиновая кислота; глицирам; β -циклодекстрин; УФ-спектроскопия; ИК-Фурье-спектроскопия; молекулярный комплекс; токсичность

Получен молекулярный комплекс моноаммонийной соли глицирризиновой кислоты (глицирама) с β -циклодекстрином. Комплексообразование исследовано методами УФ- и ИК-Фурье-спектроскопии. Показано, что глицирам образует с β -циклодекстрином клатрат состава 1:1. Рассмотрены токсические свойства молекулярного комплекса.

THE MOLECULAR COMPLEX OF MONOAMMONIUM GLYCYRRHIZINATE (GLYCYRAM) WITH β -CYCLODEXTRIN

L.O.Yakovishyn

The molecular complex of monoammonium glycyrrhizinate (glycyram) with β -cyclodextrin has been prepared. The complexation has been investigated by UV and FT-IR spectroscopy. Glycyram has been shown to form clathrate with β -cyclodextrin in the ratio of 1:1. The toxic properties of the molecular complex have been considered.

МОЛЕКУЛЯРНИЙ КОМПЛЕКС МОНОАМОНІЙНОЇ СОЛІ ГЛІЦИРРИЗИНОВОЇ КИСЛОТИ (ГЛІЦИРАМУ) З β -ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ

Л.О.Яковішин

Отримано молекулярний комплекс моноамонійної солі гліцирризинової кислоти (гліцираму) з β -циклодекстрином. Комплексоутворення досліджено методами УФ- та ІЧ-Фур'є-спектроскопії. Показано, що гліцирам утворює з β -циклодекстрином клатрат складу 1:1. Розглянуті токсичні властивості молекулярного комплексу.

В настоящее время широко изучается молекулярное комплексообразование сапонинов с разнообразными биологически активными молекулами. Возросший интерес к данным супрамолекулярным продуктам обусловлен возможностью создания новых лекарственных препаратов за счет снижения терапевтических доз действующих веществ, повышения их биодоступности и расширения спектра биологической активности [1]. Такой подход широко рассмотрен для глицирризиновой кислоты (3-*O*- β -*D*-глюкуронопиранозил-(1 \rightarrow 2)-*O*- β -*D*-глюкуронопиранозида глицирретиновой кислоты), преобладающего тритерпенового гликозида различных видов солодки *Glycyrrhiza* L. [2, 3]. Моноаммонийная соль глицирризиновой кислоты (глицирам **1**; схема 1) является противовоспалительным и антиаллергическим средством [4]. Глицирризиновая кислота и глицирам **1** обладают солюбилизующими свойствами для ряда лекарственных веществ [5-7]. Исследованы молекулярные комплексы **1** с сульфаниламидными препаратами [8], бычьим сывороточным альбумином [9], цитратом силденафила [10] и некоторыми другими веществами.

Для молекулярного капсулирования разнообразных лекарственных веществ также широко применяют β -циклодекстрин (**2**; схема 1) – цикличес-

кий олигосахарид, состоящий из семи *D*-глюкопиранозных остатков, связанных между собой α (1 \rightarrow 4)-гликозидными связями [11-13]. В частности, получены его клатраты с некоторыми терпенами и терпеноидами, среди которых в основном исследованы комплексы моно- и сесквитерпенов и их производных [14].

Комплексы циклодекстринов с тритерпеновыми гликозидами рассмотрены еще эпизодически. Так, например, получены комплексы даммаранового тритерпенового гликозида 20-*O*-(β -*D*-глюкопиранозил)-20(*S*)-протопанаксадиола со **2** и его гидроксипропильным производным [15]. Установлено, что **2** и его производные ингибируют каталитическую активность дикалиевой соли глицирризиновой кислоты, что связано с образованием клатратных комплексов [16].

Для расширения сведений по комплексообразованию тритерпеновых сапонинов с циклодекстринами нами получен супрамолекулярный комплекс **1** со **2** и установлен его состав. Для предварительной оценки биологической активности комплекса исследованы его ихтио- и фитотоксические свойства.

Спектральные исследования. Устойчивые комплексы образуются при условии стерического соответствия полости циклодекстринов и мо-

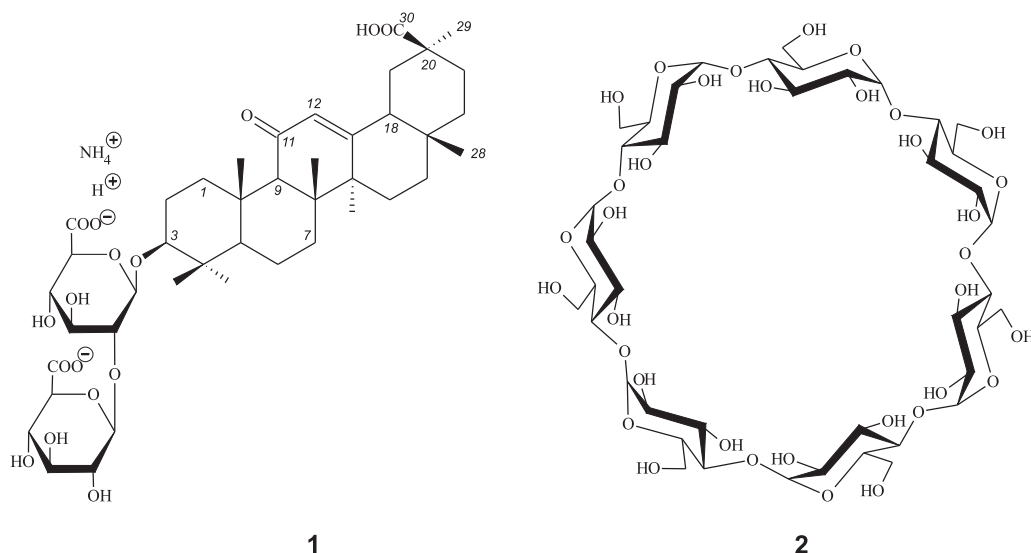


Схема 1

лекул «гостей» [11]. Центральный диаметр внутренней гидрофобной полости тора **2** составляет 0,60-0,65 нм, а его высота 0,78 нм [11, 12]. Таким образом, геометрические параметры такой полости позволяют расположиться в ней части неполярного агликона молекулы **1**, т.к. у него расстояние от группы CH_3 у C-20 до атома C-3 составляет 1,30 нм, а расстояние от атома кислорода у C-11 до водорода у C-7 – 0,57 нм [16] (схема 1). Молекула **1** состоит из полярной углеводной части и неполярного агликона, поэтому она может взаимодействовать как с гидрофобной внутренней полостью, так и гидрофильными торцевыми поверхностями **2**. Ранее было показано, что в комплексе с гептакис-2,6-*O*-диметильным производным **2** агликонная часть дикалиевой соли глицирризиновой кислоты располагается в его полости. При этом дисахаридный фрагмент **1** вза-

имодействует со вторичными OH-группами широкой торцевой поверхности «хозяина» [16].

При взаимодействии **1** и **2** образуется комплекс типа «гость-хозяин» (схема 2), на что указывают геометрические параметры молекул **1** и **2**, данные о комплексах дикалиевой соли глицирризиновой кислоты с циклодекстринами [16] и результаты ИК-спектроскопии. При комплексообразовании вращательные и колебательные движения молекулы **1** ограничиваются, т.к. она располагается в полости **2** и участвует в межмолекулярном взаимодействии с OH-группами его узкой и широкой торцевой поверхности. Формирование комплекса приводит к смещению некоторых полос поглощения в ИК-спектрах (рис. 1).

В ИК-спектре **1** (рис. 1) идентифицированы сигналы, относящиеся к асимметричным валентным колебаниям групп C=O (область $1720\text{-}1590\text{ см}^{-1}$).

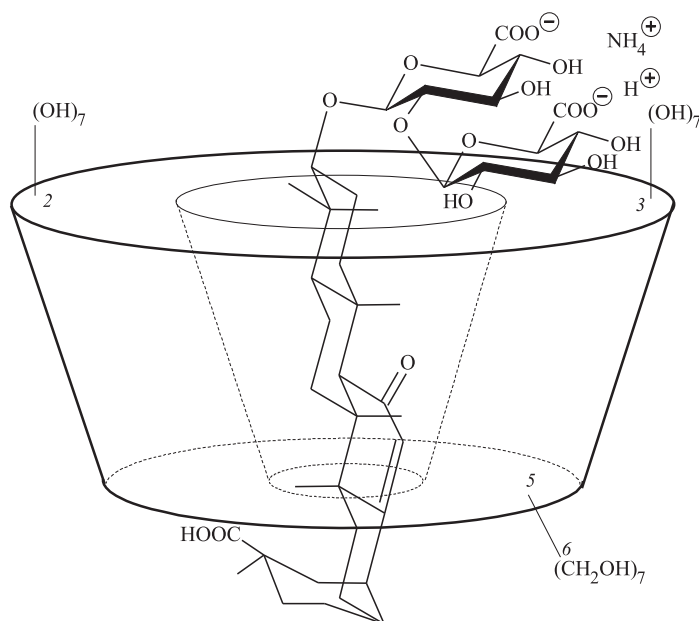
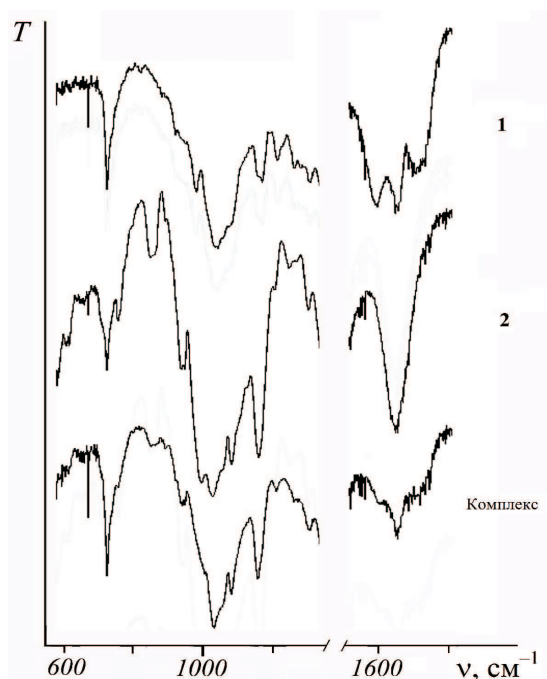


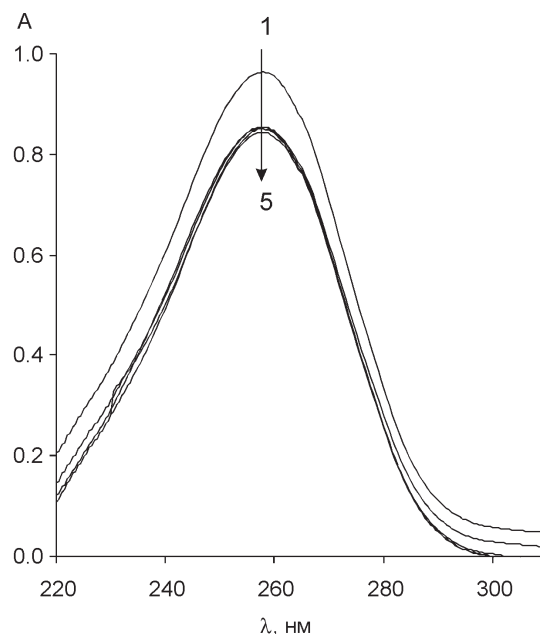
Схема 2

Рис. 1. Фрагменти ИК-Фурье-спектров **1**, **2** и их комплекса.

Валентные колебания связей CO в составе групп C–O–C и C–OH углеводной части **1** и **2** проявляются в виде множества полос поглощения в области 1200–1000 cm^{-1} . В области 1400–1200 cm^{-1} находятся полосы поглощения деформационных колебаний связей CH в молекулах **1** и **2**. Валентные колебания связей OH и NH в молекуле **1**, связей OH **2**, а также связей OH и NH в их комплексе имеют широкие пики в области 3600–3120 cm^{-1} .

Связь CO в составе группы COO⁻ молекулы **1** в комплексе поглощает при 1602 cm^{-1} , т.е. наблюдается сдвиг на 12 cm^{-1} в высокочастотную область. При этом интенсивность пика уменьшается. Кроме того, отмечено изменение максимумов поглощения связей CO в группах C–O–C и C–OH как для **1**, так и **2**. Так, у **1** при комплексообразовании полоса поглощения 1169 cm^{-1} сдвигается на -13 cm^{-1} , полоса 1075 cm^{-1} – на +5 cm^{-1} , а полоса 1037 cm^{-1} – на -9 cm^{-1} . Для **2** отмечено менее значительное смещение полос поглощения. Комплексообразование также приводит к уменьшению интенсивности поглощения CO в составе карбоксильных групп **1**. Такие изменения в ИК-спектрах можно объяснить тем, что при клатрировании образуются водородные связи с участием OH-групп у C-2 и C-3 глюкозных остатков **2** и групп OH и COO⁻ углеводной цепи молекулы **1**, а также между OH-группами у C-6 глюкозных остатков **2** и COOH группой у C-20 агликона **1**.

Известно, что высвобождение высокоэнергетической воды из внутренней полости, гидрофобные эффекты и ван-дер-ваальсовы взаимодействия являются одними из особо важных условий для образования клатратов циклодекстринов [11]. При формировании комплекса **1** со **2** в

Рис. 2. УФ-спектры растворов **1** ($c = 10^{-4} \text{ M} = \text{const}$) при различных концентрациях **2**: 0 М (1), $0,625 \times 10^{-4}$ М (2), $0,125 \times 10^{-3}$ М (3), $0,25 \times 10^{-3}$ М (4) и $0,50 \times 10^{-3}$ М (5).

ИК-спектре изменяются частоты поглощения СН-связей. Наибольшее смещение отмечено для **2**, у которого частоты поглощения 1337, 1302, 1247 и 1205 cm^{-1} увеличиваются при комплексообразовании на 3, 2, 13 и 5 cm^{-1} , соответственно. Такие изменения вызваны слабыми гидрофобными и ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями агликона **1** с внутренней полостью **2**.

При анализе УФ-спектров растворов, содержащих смесь **1** со **2**, максимум поглощения **1** (258 нм) не изменяется при увеличении концентрации **2**. Однако растворы **1** с добавкой **2** имеют меньшую оптическую плотность, т.е. наблюдается гипохромный эффект (рис. 2), указывающий на межмолекулярные взаимодействия. Состав комплекса **1** со **2** определен методом изомолярных серий [17]. При этом получено молярное отношение $\approx 1,0$ (рис. 3), что соответствует составу комплекса 1:1. Такое молярное соотношение компонентов является наиболее характерным для клатратов **2** [11].

Биологическая активность. Считается, что циклодекстрины являются нетоксичными веществами [11]. Однако профиль их токсичности может отличаться в зависимости от метода введения в организм [18]. Тритерпеновые гликозиды могут подавлять рост и развитие растений, а также проявлять токсичность по отношению к рыбам и моллюскам [5, 19–21]. При этом токсические свойства могут коррелировать с другими видами биологической активности гликозидов [5].

Установлено, что индивидуальные **1** и **2**, а также их комплекс состава 1:1 не проявили токсического действия на рыб гуппи *Poecilia reticulata* при экспозиции в течение 24 ч. Отсутствие ярко выраженной ихтиотоксичности у **1** подтвержда-

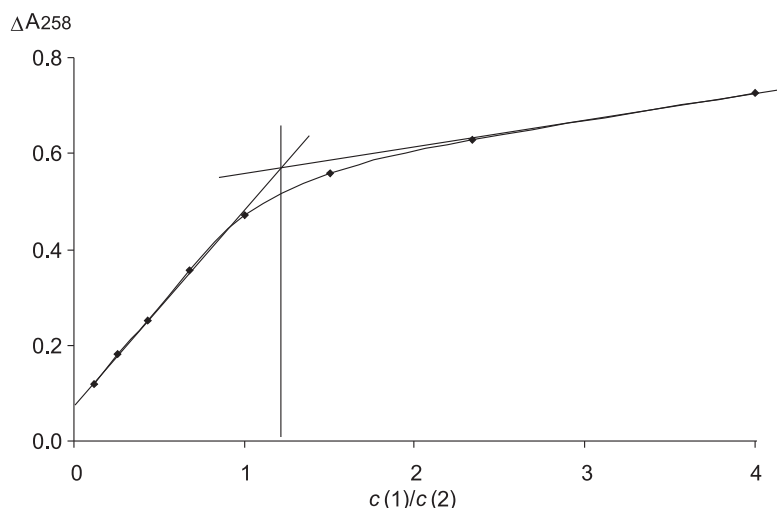


Рис. 3. Зависимость оптической плотности A от соотношения компонентов изомолярной серии при $\lambda = 258$ нм: $c(1) = 0,2 \times 10^{-3}$ М, $c(2) = 0,2 \times 10^{-3}$ М.

ет общую закономерность, установленную для гликозидов олеананового типа. Для проявления высокой токсичности необходимо наличие свободной (негликозилированной) карбоксильной группы у атома С-17 их агликона [19]. В агликонной части **1** имеется свободная карбоксильная группа, однако она расположена у атома С-20.

Известно, что биологическая активность комплексов и образующих их компонентов может отличаться [22, 23]. Действительно, через 24 и 48 ч всхожесть семян овса посевного *Avena sativa*, предварительно обработанных комплексом **1** со **2**, была наибольшей (табл.). Через 72 ч всхожесть семян, обработанных комплексом, совпала со всхожестью в контрольной группе. Следовательно, комп-

лекс не является фитотоксичным. Семена, на которые действовали растворы индивидуальных **1** и **2**, имеют меньшую всхожесть, но близкую между собой.

Комплекс также способствовал появлению и росту корней. Под его воздействием доля семян с корнем была максимальной на протяжении всего эксперимента. Количество семян с корнем, выдержанных в растворах **1** и **2**, отличалось между собой на 8 и 4% через 24 и 72 ч, соответственно, и оказалось одинаковым через 48 ч.

Экспериментальная часть

Использовали образцы **1** («Calbiochem», США) и **2** («Acros Organics», США). Вещество **2** предвари-

Таблица

Проращение семян *Avena sativa* L. в лабораторных условиях (концентрации индивидуальных веществ и веществ в комплексе по $0,5 \times 10^{-4}$ М)

Параметр	Соединение			
	H ₂ O (контроль)	1	2	комплекс 1 со 2
<i>Через 24 ч</i>				
Всхожесть, %	52	28	32	64
Длина ростка, мм	0,5±0,2	0,3±0,2	0,4±0,2	1,1±0,6
Количество с корнем, %	80	64	56	84
Длина корня, мм	0,9±0,2	0,9±0,4	0,9±0,5	2,6±1,0
<i>Через 48 ч</i>				
Всхожесть, %	76	72	72	92
Длина ростка, мм	3,9±1,4	1,3±0,5	2,0±1,0	4,1±1,4
Количество с корнем, %	88	84	84	96
Длина корня, мм	2,2±0,7	2,1±0,6	2,8±1,4	6,3±1,9
<i>Через 72 ч</i>				
Всхожесть, %	92	84	80	92
Длина ростка, мм	7,9±1,8	5,7±2,3	6,2±2,8	9,9±2,5
Количество с корнем, %	92	92	88	96
Длина корня, мм	7,1±1,9	7,0±2,8	7,2±3,6	10,6±2,0

тельно сушили до постійного ваги при 50-80°C в течение 3 ч. Для составления изомольярной серии использовали 0,2×10⁻³ М раствор **1** и 0,2×10⁻³ М раствор **2**. Растворы смешивали и выдерживали при комнатной температуре (20-22°C) в течение 40 мин при постоянном перемешивании. Изомольярная кривая приведена на рис. 3.

Комплекс получали препаративно путем смешивания по 0,1 ммоль **1** и **2** с 25 мл 40% этанола при 40-50°C в течение 1,5 ч при постоянном перемешивании. Растворитель отгоняли в вакууме.

УФ-спектры получены при комнатной температуре (20-22°C) на спектрофотометре Unico UV-Vis 4802 (США) в кварцевых кюветках (*l* = 1 см). ИК-спектры сняты на ИК-Фурье-спектрометре ИнфралЮМ® ФТ-02 (Россия) в суспензии в вазелиновом масле при разрешении 1 см⁻¹ в диапазоне 4000-400 см⁻¹.

ИК-спектр **1** (вазелиновое масло, *v*, см⁻¹): 3600-3140 (ОН, NH); 1720-1700 (СО); 1650 (С(11)=О); 1590 (СОО); 1340, 1304, 1261, 1212 (СН); 1169, 1075, 1037 (С-О-С, С-ОН); 979 (=СН).

ИК-спектр **2** (вазелиновое масло, *v*, см⁻¹): 3600-3120, 1653, 1647 (ОН); 1337, 1302, 1247, 1205 (СН); 1158, 1081, 1026 (С-О-С, С-ОН).

Литература

1. Толстикова Т.Г., Толстиков А.Г., Толстиков Г.А. // Вестник РАН. – 2007. – Т. 77, №10. – С. 867-874.
2. Tolstikova T.G., Khvostov M.V., Bryzgalov A.O. // Mini Rev. Med. Chem. – 2009. – Vol. 9, №11. – P. 1317-1328.
3. Polyakov N.E., Leshina T.V. // Open Conf. Proceed. J. – 2011. – Vol. 2. – P. 64-72.
4. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – X: Торсинг, 1997. – В 2-х т. – Т. 1. – 560 с.
5. Hostettmann K., Marston A. Saponins. – Cambridge: Cambridge University Press, 1995. – 548 p.
6. Sasaki Y., Mizutani K., Kasai R., Tanaka O. // Chem. Pharm. Bull. – 1988. – Vol. 36, №9. – P. 3491-3495.
7. Краснова Т.Г., Башура Г.С., Муравьев И.А. // Фармация. – 1978. – №5. – С. 32-35.
8. Далимов Д.Н., Исаев Ю.Т., Сайиткулов А.М. // ХПС. – 2001. – №2. – С. 132-134.
9. Hu Y.-J., Liu Y., Wang J.-B. et al. // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2004. – Vol. 36. – P. 915-919.
10. Яковишин Л.А., Белаш Д.Ю., Яровой И.Р., Гришковец В.И. // ЖОФХ. – 2011. – Т. 9, вып. 3. – С. 60-63.
11. Steed J.W., Atwood J.L. Supramolecular chemistry. – Chichester: John Wiley & Sons, Ltd, 2000. – 745 p.
12. Challa R., Ahuja A., Ali J., Khar R.K. // AAPS Pharm. Sci. Tech. – 2005. – Vol. 6, №2. – P. E329-E357.
13. Li S., Purdy W.C. // Chem. Rev. – 1992. – Vol. 92. – P. 1457-1470.
14. Yakovishin L., Grishkovets V., Schroeder G., Rybachenko V. Supramolecular complexes of terpenes and their derivatives with cyclodextrins. Molecular receptors / Ed. V.I.Rybachenko. – Donetsk: East Publisher House, 2011. – P. 285-316.
15. Lee P.S., Han J.-Y., Song T.W. et al. // Int. J. Pharm. – 2006. – Vol. 316, №1-2. – P. 29-36.
16. Tamagaki S., Koide M., Takahashi M. et al. // J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2. – 1996. – P. 1257-1260.
17. Булатов М.И., Калинин И.П. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа. – Л.: Химия, 1986. – 432 с.
18. Gould S., Scott R.C. // Food Chem. Toxicol. – 2005. – Vol. 43. – P. 1451-1459.
19. Podolak I., Galanty A., Sobolewska D. // Phytochem. Rev. – 2010. – Vol. 9. – P. 425-474.
20. Waller G.R., Jurzysta M., Trohne R.L.Z. // Allelopathy J. – 1995. – Vol. 2, №1. – P. 21-30.
21. Chaieb I. // Tunis. J. Plant Protect. – 2010. – Vol. 5, №1. – P. 39-50.
22. Яковишин Л.А., Борисенко Н.И., Руднев М.И. и др. // ХПС. – 2010. – №1. – С. 45-48.
23. Яковишин Л.А., Лекарь А.В., Ветрова Е.В. и др. // Biopolym. Cell. – 2011. – Т. 27, №4. – С. 300-305.

Надійшла до редакції 13.04.2012 р.

ИК-спектр молекулярного комплекса **1** и **2** (вазелиновое масло, *v*, см⁻¹): 3600-3140 (ОН, NH); 1720-1700 (С=О); 1653-1648 (С(11)=О, ОН); 1602 (СОО); 1340, 1304, 1260, 1210 (СН); 1156, 1080, 1028 (С-О-С, С-ОН); 983 (=СН).

Ихтиотоксичность проверяли на рыбах *Poecilia reticulata* (Poeciliidae) по методике, приведенной в [22]. Рыб (по 10 штук) помещали в 0,5×10⁻³ М растворы **1** и **2**, а также в их комплекс, содержащий по 0,5×10⁻³ М каждого из компонентов. Определяли время инкубации *t*_{LD100'} в течение которого происходил 100% летальный исход.

Всхожесть семян *Avena sativa* L. (Poaceae (Gramineae)) проверяли в лабораторных условиях при температуре (27-28°C) по методике, описанной в [23]. Результаты приведены в таблице.

Выводы

1. Получен молекулярный комплекс **1** со **2**. Установлено, что комплекс типа «гость-хозяин» имеет состав 1:1 и образуется за счет водородных связей и невалентных взаимодействий.

2. Комплекс оказался неихтиотоксичным и не подавлял всхожесть семян. Индивидуальные **1** и **2** несколько тормозят прорастание семян.