

УДК 547.918:547.495.9:547.466.2:543.42

СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ МОНОАММОНИЙНОЙ СОЛИ ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ (ГЛИЦИРАМА) С L-АРГИНИНОМ И ГЛИЦИНОМ

Яковишин Л.А.¹, Гришкова В.И.², Корж Е.Н.¹

¹Севастопольский национальный технический университет, Севастополь, Россия

²Таврический национальный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Россия

E-mail: chemsevntu@rambler.ru

Впервые методом спектрофотометрии исследовано комплексообразование моноаммонийной соли глицирризиновой кислоты (глицирама) с аминокислотами L-аргинином и глицином в водных растворах при pH 7,2. Показано, что глицирам образует с аминокислотами комплексы состава 1:1. Определены константы устойчивости комплексов: $K_{GC-Arg}=2,72 \cdot 10^4$ и $K_{GC-Gly}=1,00 \cdot 10^4$ M⁻¹. Рассчитаны свободные энергии Гиббса процессов комплексообразования.

Ключевые слова: тритерпеновые гликозиды, глицирризиновая кислота, глицирам, L-аргинин, глицин, супрамолекулярный комплекс, спектрофотометрия, константа устойчивости.

ВВЕДЕНИЕ

Аминокислоты выполняют различные биологические функции и применяются в качестве лекарственных средств. Так, например, глицин (Gly, рис. 1) назначают при нарушениях мозгового кровообращения. Он также используется для лечения алкоголизма и мышечных дистрофий [1]. Аминокислота L-аргинин (Arg, рис. 1) находит применение для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы, печени и др. [2, 3].

Получены молекулярные комплексы стероидных гликозидов с аминокислотами [4]. При этом было установлено, что стероидные гликозиды не образуют комплексов с Arg, но дают их с Gly. Начато исследование комплексов тритерпеновых гликозидов с различными аминокислотами [5]. Был синтезирован комплекс Gly с α -хедерином, тритерпеновым гликозидом различных видов плющей [6].

В медицинской практике для лечения аллергии и заболеваний печени используются препараты Stronger Neo-Minophagen C и Glycyron, которые включают моноаммонийную соль глицирризиновой кислоты (глицирам, GC, рис. 1) и Gly [7]. Глицирризиновая кислота (3-O- β -D-глюкуронопиранозил-(1 \rightarrow 2)-O- β -D-глюкуронопиранозид глицирретиновой кислоты) является преобладающим тритерпеновым гликозидом корней солодки *Glycyrrhiza glabra* L. [7]. Известно, что глицирризиновая кислота и Arg обладают гепатопротекторным действием [3, 7], и поэтому они входят в состав различных биологически активных композиций. В

частности, пищевая добавка Viusid наряду с глицирризиновой кислотой и Arg включает также и Gly [8].

При этом особенности межмолекулярных взаимодействий GC с Gly и Arg в водных растворах не рассматривались. В настоящей статье приведены результаты спектрофотометрического исследования их молекулярных комплексов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали образец GC фирмы Calbiochem (США) без предварительной подготовки.

УФ-спектры получены при температуре 25 °С на спектрофотометре Unico UV-Vis 4802 (США) в кварцевых кюветках ($l=1$ см). Для составления изомолярных серий использовали 10^{-4} М водные растворы Arg, Gly и GC (рН 7,2, фосфатный буфер $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{--NaH}_2\text{PO}_4$). Полученные смеси выдерживали при температуре 25 °С в течение 40 мин при постоянном перемешивании.

Погрешность определения константы устойчивости комплексов K не превышала 10 %. Расчет K выполнен при $\lambda = 258$ нм.

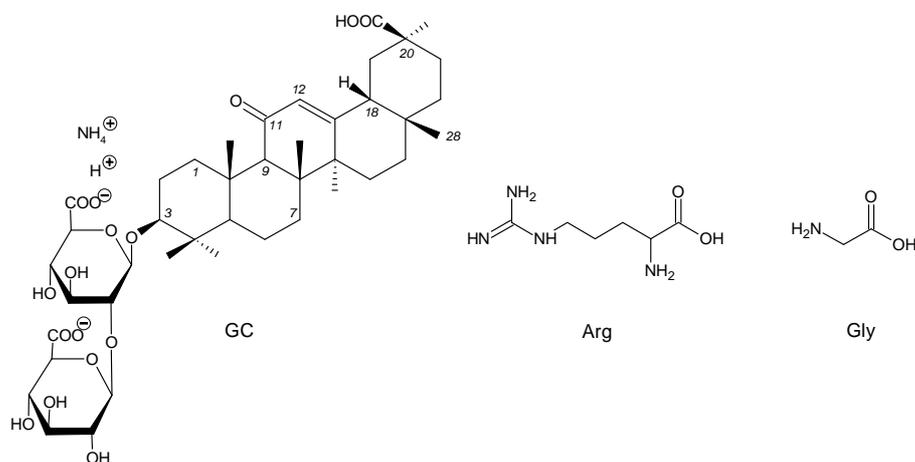


Рис. 1. Моноаммонийная соль глицирризиновой кислоты (глицирам, GC), *L*-аргинин (Arg) и глицин (Gly).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Состав всех комплексов определен методом изомолярных серий (методом Остромысленского–Жоба) [9]. Изомолярные кривые, полученные для смесей GC с аминокислотами Arg и Gly, приведены на Рис. 2 А и 3 А. Для компонентов комплексов получены молярные соотношения $\approx 1,0$, которые указывают на состав комплексов, равный 1:1. Комплексы подобного состава были ранее получены для глицирризиновой кислоты и GC с некоторыми биологически активными веществами [10–12].

Спектр поглощения изоляриной серии GC с Arg обладает изобестической точкой при 292 нм (рис. 2 Б), а GC с Gly – при 290 нм (рис. 3 Б). Наличие изобестической точки подтверждает образование только одного типа комплекса между веществами.

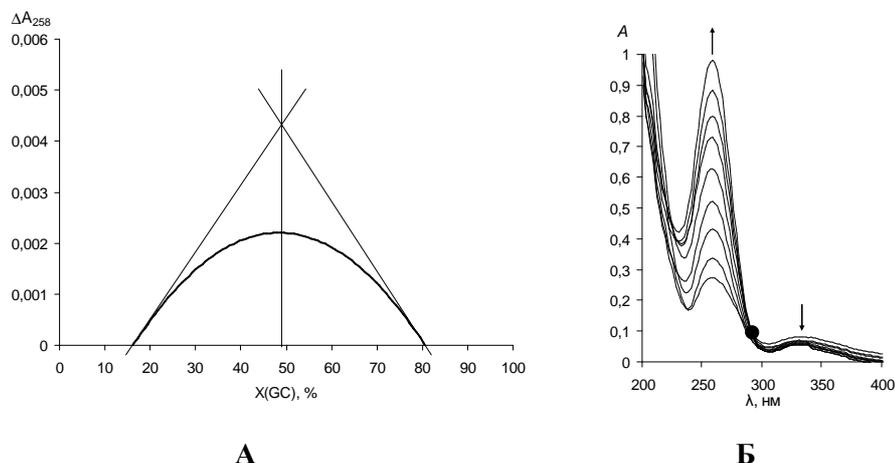


Рис. 2. Зависимость изменения оптической плотности ΔA от соотношения компонентов изоляриной серии при $\lambda=258$ нм ($c(\text{Arg})=10^{-4}$ М, $c(\text{GC})=10^{-4}$ М, pH 7,2) (А) и кривые поглощения изоляриной серии растворов ($c(\text{Arg}) = 10^{-4}$ М, $c(\text{GC}) = 10^{-4}$ М, pH 7,2) (Б).

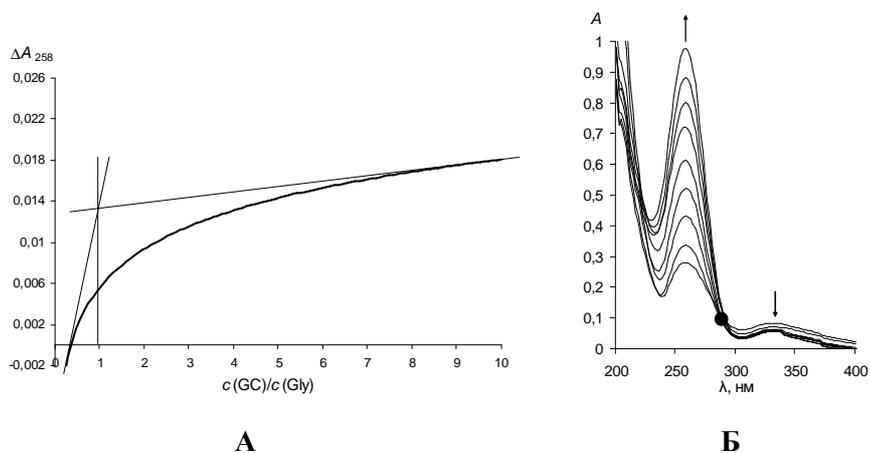
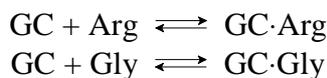


Рис. 3. Зависимость изменения оптической плотности ΔA от соотношения компонентов изоляриной серии при $\lambda=258$ нм ($c(\text{Gly})=10^{-4}$ М, $c(\text{GC})=10^{-4}$ М, pH 7,2) (А) и кривые поглощения изоляриной серии растворов ($c(\text{Gly}) = 10^{-4}$ М, $c(\text{GC}) = 10^{-4}$ М, pH 7,2) (Б).

Таким образом, в растворах устанавливаются равновесия между GC и аминокислотами вида:



$$K_{\text{GC}\cdot\text{Arg}} = \frac{[\text{GC}\cdot\text{Arg}]}{[\text{GC}][\text{Arg}]}; K_{\text{GC}\cdot\text{Gly}} = \frac{[\text{GC}\cdot\text{Gly}]}{[\text{GC}][\text{Gly}]}, \quad (1)$$

где $K_{\text{GC}\cdot\text{Arg}}$ и $K_{\text{GC}\cdot\text{Gly}}$ – константы равновесия, являющиеся константами устойчивости соответствующих комплексов.

На основе изомолярных кривых по формуле 2 были рассчитаны константы устойчивости комплексов K по методу [13], применимому для комплексов состава 1:1, и приведены в табл. 1.

$$K = \frac{\Delta A_0 \Delta A_1}{c(\Delta A_0 - \Delta A_1)^2}, \quad (2)$$

где c – суммарная концентрация веществ, равная 10^{-4} М, ΔA_0 – изменение оптической плотности, соответствующее комплексу при полном отсутствии диссоциации, а ΔA_1 – изменение оптической плотности, соответствующее значению на фактической кривой.

Свободная энергия Гиббса ΔG для процессов комплексообразования определена по формуле 3. Результаты расчетов ΔG приведены в табл. 1.

$$\Delta G = -2,3RT \lg K. \quad (3)$$

Комплекс GC с Arg оказался примерно в 3 раза более устойчивым, чем комплекс GC с Gly, что, возможно, связано с наличием гуанидиновой группы в молекуле Arg. У ранее полученных комплексов GC с лекарственными веществами, так же имеющих состав 1:1, K были равны 10^3 – 10^5 М⁻¹ [10–12].

GC является солью, а аминокислоты существуют в форме цвиттер-ионов. Поэтому при образовании комплексов между ними могут происходить ионные взаимодействия.

Таблица 1

Термодинамические параметры комплексообразования GC с Arg и Gly в водных растворах при 25 °С (рН 7,2)

Комплекс	K, M^{-1}	$\Delta G, \text{Дж/моль}$
GC·Arg	$2,72 \cdot 10^4$	$-2,53 \cdot 10^4$
GC·Gly	$1,00 \cdot 10^4$	$-2,28 \cdot 10^4$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Впервые получены комплексы GC с Arg и Gly в водных растворах при pH 7,2. Комплексообразование исследовано спектрофотометрически.
2. Методом изомолярных серий установлено, что супрамолекулярные комплексы GC с аминокислотами Arg и Gly имеют одинаковый состав, равный 1:1.
3. Показано, что $K_{GC.Arg}=2,72 \cdot 10^4$ и $K_{GC.Gly}=1,00 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 14-43-01031 p_юг_a).

Список литературы

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства: в 2 т. / М.Д. Машковский. – [13-е изд.]. – Харьков: Торсинг, 1997. – Т. 2. – 592 с.
2. Аргинин в медицинской практике (обзор литературы) / Ю.М. Степанов, И.Н. Кононов, А.И. Журбина, А.Ю. Филиппова // Журн. АМН України. – 2004. – Т. 10, № 1. – С. 340–352.
3. Алмакаева Л.Г. Аргинин и его применение в медицине и фармации / Л.Г. Алмакаева, Е.В. Литвинова // Ліки України плюс. – 2011. – № 1. – С. 23–26.
4. ^{252}Cf Plasma desorption mass spectrometric study of interactions of steroid glycosides with amino acids / V.V. Pilipenko, L.F. Sukhodub, S.A. Aksyonov [et al.] // Rapid Commun. Mass Spectrom. – 2000. – Vol. 14. – P. 819–823.
5. Molecular complexation of ivy saponins with some drugs and biologically active substances / L.A. Yakovishin, V.I. Grishkovets, G. Schroeder, N.I. Borisenko // Functionalized molecules – synthesis, properties and application; ed. V.I. Rybachenko. – Donetsk: Schidnyj vydavnyczyj dim, 2010. – Chapter 4. – P. 85–103.
6. Яковішин Л.О. Молекулярні комплекси тритерпенового глікозиду α -хедерину з аліфатичними протеїногенними амінокислотами / Л.О. Яковішин, М.А. Рубінсон // Ukr. Bioorg. Acta. – 2009. – Т. 7, № 1. – С. 32–35.
7. Hayashi H. Economic importance of licorice / H. Hayashi, H. Sudo // Plant Biotechnol. – 2009. – Vol. 26. – P. 101–104.
8. Antioxidant and immunomodulatory effects of Viusid in patients with chronic hepatitis C / E.V. Gomez, Y.M. Perez, H.V. Sanchez [et al.] // World J. Gastroenterol. – 2010. – Vol. 16, № 21. – P. 2638–2647.
9. Булатов М.И. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа / М.И. Булатов, И.П. Калинин. – [5-е изд.]. – Л.: Химия, 1986. – 432 с.
10. Tolstikova T.G. The complexes of drugs with carbohydrate-containing plant metabolites as pharmacologically promising agents / T.G. Tolstikova, M.V. Khvostov, A.O. Bryzgalov // Mini Rev. Med. Chem. – 2009. – Vol. 9, № 11. – P. 1317–1328.
11. Спектрофотометрія супрамолекулярних комплексів тритерпенових глікозидів плюща і солодцю з левоміцетином (хлорамфеніколом) / Л.О. Яковішин, О.М. Корж, О.Д. Дегтяр, А.В. Клименко // Ukr. Bioorg. Acta. – 2013. – Т. 11, № 1. – С. 33–36.
12. Молекулярные комплексы тритерпеновых гликозидов плюща и солодки с доксорубицином / Л.А. Яковішин, В.И. Гришковец, А.В. Клименко [и др.] // Хим.-фарм. журн. – 2014. – Т. 48, № 6. – С. 37–40.
13. Бабко А.К. Физико-химический анализ комплексных соединений в растворах / А.К. Бабко. – К.: Изд-во АН УССР, 1955. – 328 с.

SUPRAMOLECULAR COMPLEXES OF MONOAMMONIUM
GLYCYRRHIZINATE (GLYCYRAM) WITH L-ARGININE AND GLYCINE

Yakovishin L.A.¹, Grishkovets V.I.², Korzh E.N.¹

¹Sevastopol National Technical University, Sevastopol, Russia

²Taurida V.I. Vernadsky National University, Simferopol, Russia

E-mail: chemseventu@rambler.ru

The amino acid glycine (Gly) is prescribed for disorders of cerebral circulation. It is also used for treating alcoholism and muscular dystrophy. Arginine (Arg) is used for the treatment of diseases of the cardiovascular system, liver and other.

In clinical practice for the treatment of allergies and diseases of the liver used drugs Stronger Neo-Minophagen C and Glycyron, which include monoammonium salt of glycyrrhizic acid (glycyram, GC) and Gly. Glycyrrhizic acid (3-O-β-D-glucuronopyranosyl-(1→2)-O-β-D-glucuronopyranoside of 18β-glycyrrhetic acid) is the dominant triterpene glycoside from licorice roots. It is known that glycyrrhizic acid and Arg have hepatoprotective action, so they are a part of various biologically active compositions. In particular, the food supplement Viusid includes glycyrrhizic acid, and also Arg and Gly.

Particular intermolecular interactions of GC with Gly and Arg in aqueous solutions have not been studied. We prepared molecular complexes of GC with amino acids Arg and Gly in aqueous solutions at pH 7,2 (phosphate buffer). Using a method of spectrophotometry, the complexation of GC with amino acids was investigated for the first time. GC forms complexes with Arg and Gly in the 1:1 molar proportion.

Absorption spectra of isomolar series for mixtures of GC with Arg has isobestic point at 292 nm, and with Gly – at 290 nm. The presence of isobestic point is indicates on forming only of one type of complex.

Stability constants for complexes $K_{GC-Arg}=2,72 \cdot 10^4$ и $K_{GC-Gly}=1,00 \cdot 10^4$ M⁻¹ were determined. Gibbs's free energies of complexation processes are calculated.

Keywords: triterpene glycosides, glycyrrhizic acid, glycyram, L-arginine, glycine, supramolecular complex, spectrophotometry, stability constant.

Reference

1. Mashkovskii M.D., *Drugs*, 2 vols., 13 ed., 2, 592 p. (Torsing, Kharkov, 1997). (in Russ.).
2. Stepanov Y.M., Kononov I.N., Zhurbina A.I., Filippova A.Y., Arginine in medical practice, *J. AMS Ukraine*, **10** (1), 340 (2004).
3. Almakayeva L.G., Litvinova O.V., An arginine and his application are in medicine and farmacie, *Drugs Ukraine plus*, 1, 23 (2011).
4. Pilipenko V.V., Sukhodub L.F., Aksyonov S.A., Kalinkevich A.N., Kintia P.K., ²⁵²Cf Plasma desorption mass spectrometric study of interactions of steroid glycosides with amino acids, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **14**, 819 (2000).
5. Yakovishin L.A., Grishkovets V.I., Schroeder G., Borisenko N.I., Molecular complexation of ivy saponins with some drugs and biologically active substances, in *Functionalized molecules – synthesis, properties and application*, edited by Rybachenko V.I. (Schidnyj wydawnyczyj dim, Donetsk, 2010), 85 p.
6. Yakovishin L.A., Rubinson M.A., Molecular complexes of the triterpene glycoside α-hederine with aliphatic proteinogenous amino acids, *Ukr. Bioorg. Acta*, **7** (1), 32 (2009).

7. Hayashi H., Sudo H., Economic importance of licorice, *Plant Biotechnol.*, **26**, 101 (2009).
8. Gomez E.V., Perez Y.M., Sanchez H.V., Forment G.R., Soler E.A., Bertot L.C., Garcia A.Y., Vazquez M.R.A., Fabian L.G., Antioxidant and immunomodulatory effects of Viusid in patients with chronic hepatitis C, *World J. Gastroenterol.*, **16** (21), 2638 (2010).
9. Bulatov M.I., Kalinkin I.P., *Practical guide of photometric methods of analysis*, 5 ed., 432 p. (Khimiya, Leningrad, 1986). (in Russ.).
10. Tolstikova T.G., Khvostov M.V., Bryzgalov A.O., The complexes of drugs with carbohydrate-containing plant metabolites as pharmacologically promising agents, *Mini Rev. Med. Chem.*, **9** (11), 1317 (2009).
11. Yakovishin L.A., Korzh E.N., Degtyar A.D., Klimenko A.V., Spectrophotometry of the supramolecular complexes of ivy and licorice triterpene glycosides with laevomycesin (chloramphenicol), *Ukr. Bioorg. Acta*, **11** (1), 33 (2013).
12. Yakovishin L.A., Grishkovets V.I., Klimenko A.V., Degtyar A.D., Kuchmenko O.B., Molecular complexes of ivy and licorice triterpene glycosides with doxorubicin, *Khim.-Farm. Zh.*, **48** (6), 37 (2014).
13. Babko A.K., *Physico-chemical analysis of complex compounds in the solutions*, 328 p. (Izd-vo AN USSR, Kiev, 1955). (in Russ.).

Поступила в редакцию 08.11.2014 г.