

УДК 547.918:547.466.2:543.42

СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОМПЛЕКС МОНОАММОНИЙНОЙ СОЛИ ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ (ГЛИЦИРАМА) С КОФЕИНОМ

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

¹ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», Севастополь, Россия

²Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: chemsevntu@rambler.ru

Получен новый молекулярный комплекс, включающий моноаммонийную соль глицирризиновой кислоты (глицирам, GC) и кофеин (Caf). Методом спектрофотометрии исследовано комплексообразование GC с Caf в водных растворах при pH 7,2. Показано, что GC образует с Caf комплекс состава 1:1, имеющий константу устойчивости $K_{GC-Caf}=5,34 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$. GC формирует комплекс с Caf при участии водородных связей и за счет гидрофобных взаимодействий, что было установлено методом ИК-спектроскопии.

Ключевые слова: тритерпеновые гликозиды, глицирризиновая кислота, глицирам, кофеин, супрамолекулярный комплекс, спектрофотометрия, ИК-спектроскопия, константа устойчивости.

ВВЕДЕНИЕ

Алкалоид кофеин (Caf) содержится в зернах кофе, орехах кола, какао-бобах, листьях чая и мате [1–3]. Он стимулирует центральную нервную систему, ослабляет действие снотворных и наркотических препаратов, обладает мочегонным свойством и усиливает сердечную деятельность [4]. Ранее было рассмотрено взаимодействие Caf с глюкозой [5], сахарозой [5–7] и α - и β -циклодекстринами [7, 8].

В настоящее время широко изучается молекулярное капсулирование различных биологически активных веществ с помощью тритерпеновых гликозидов [9, 10]. При этом получены молекулярные комплексы глицирризиновой кислоты (3-*O*- β -*D*-глюкуронопиранозил-(1→2)-*O*- β -*D*-глюкуронопиранозида глицирретиновой кислоты), преобладающего тритерпенового гликозида корней солодки *Glycyrrhiza glabra* L., и ее моноаммонийной соли (глицирама, GC, рис. 1) с различными алкалоидами [9, 11, 12]. Однако особенности межмолекулярного взаимодействия Caf с GC ранее не рассматривались. В настоящей статье приведены результаты спектрофотометрического и ИК-спектроскопического исследования их молекулярного комплекса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали образец GC фирмы Calbiochem (США). Комплекс GC с Caf препаративно получали жидкофазным способом. Для этого смешивали растворы, содержащие по 1 ммоль GC и 1 ммоль Caf (растворитель – 70 % водный этанол –

хлороформ, взятые в соотношении 3:1 по объему). Смесь выдерживали при 50 °С в течение 1,5 ч при постоянном перемешивании. Органические растворители отгоняли в вакууме.

УФ-спектры получены при температуре 20–22 °С на спектрофотометре Unicо UV-Vis 4802 (США) в кварцевых кюветках ($l=1$ см). Для составления изомолярной серии использовали 10^{-4} М водные растворы GC и Caf (рН 7,2, фосфатный буфер $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{--NaH}_2\text{PO}_4$). Полученные смеси выдерживали при температуре 20–22 °С в течение 40 мин. при постоянном перемешивании. Для определения состава каждого комплекса и константы его устойчивости K было проведено 5 независимых экспериментов. Погрешность определения K не превышала 10 %. Расчет K выполнен при $\lambda=272$ нм.

ИК-спектры сняты с твердых образцов на ИК-Фурье-спектрометре ФТ-801 (Россия) с универсальной оптической приставкой НПВО (нарушенного полного внутреннего отражения) с элементом из селенида цинка и встроенной системой визуализации на внешнем мониторе. Для работы с ИК-спектрометром ФТ-801 использовали программу ZaiR 3.5.

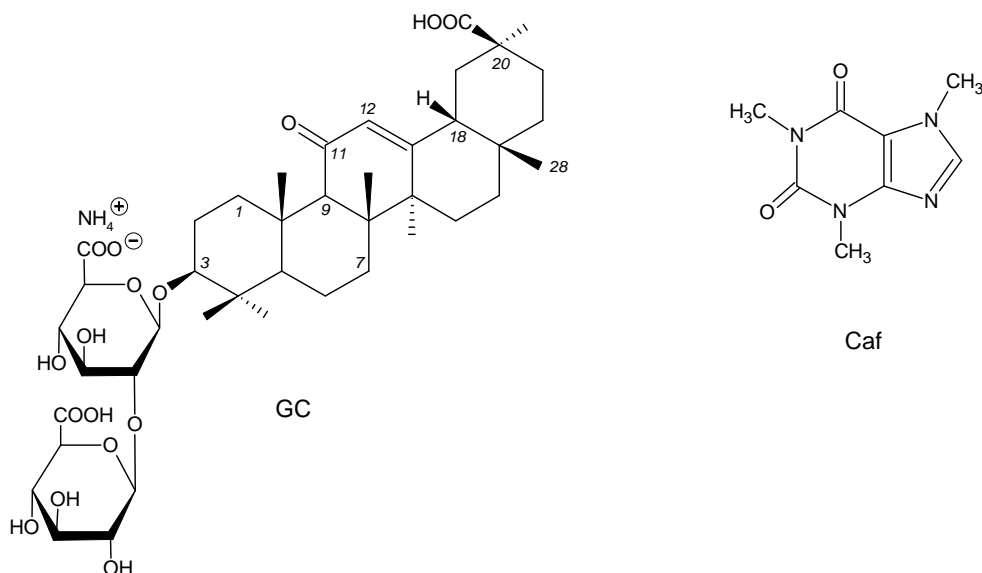


Рис. 1. Моноаммонийная соль глицирризиновой кислоты (глицирам, GC) и кофеин (Caf).

ИК-спектр GC (ν , cm^{-1}): 3204 (OH, NH), 2931 (CH), 1715 (C=O), 1698 (C=O), 1646 (C(11)=O, C=C), 1590 (COO^-), 1455 (CH_2 , CH_3), 1410 (COO^-), 1421 (NH_4^+), 1387 (CH), 1362 (CH), 1349 (CH), 1306 (CH), 1260 (CH), 1212 (CH), 1164 (C–O–C, C–OH), 1074 (C–O–C, C–OH), 1039 (C–O–C, C–OH), 980 (=CH).

ИК-спектр Caf (ν , cm^{-1}): 3109 (CH), 2953 (CH), 1692 (C=O), 1644 (N=C, C=O), 1598 (C=C), 1547 (кольцо), 1480 (CH_3), 1454 (CH_3), 1428 (CH_3), 1402 (CH_3), 1358 (кольцо), 1326 (C–N), 1284 (C–N), 1237 (C–N), 1188 (C–N, C–H), 1071 (C–N), 1024

(N-CH₃), 972 (N-CH₃), 926 (N-CH₃), 859 (N=C-H), 758 (C=O), 743 (C-C=O), 700 (N-C=O), 644 (C=C-N), 609 (C=C-C, C=O).

ИК-спектр комплекса GC с Caf (ν , см⁻¹): 3393 (OH), 3239 (OH, NH), 3119 (CH), 3039 (CH), 2945 (CH), 1702 (C=O_{GC}, C=O_{Caf}), 1649 (N=C, C=O_{Caf}, C(11)=O_{GC}, C=C_{GC}), 1601 (C=C_{Caf}, COO⁻), 1547 (кольцо), 1485 (CH₃), 1451 (CH₂, CH₃), 1431 (CH₃, NH₄⁺), 1411 (CH₃, COO⁻), 1357 (кольцо), 1328 (C-N), 1287 (C-N), 1238 (C-N), 1190 (C-N, C-H), 1167 (C-O-C, C-OH), 1071 (C-N, C-O-C, C-OH), 1025 (C-O-C, C-OH, N-CH₃), 974 (N-CH₃, =CH_{GC}), 926 (N-CH₃), 861 (N=C-H), 760 (C=O), 744 (C-C=O), 695 (N-C=O), 646 (C=C-N), 611 (C=C-C, C=O).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Состав комплекса GC с Caf, равный 1:1, определен методом изоляричных серий. Изоляричная кривая приведена на Рис. 2. Спектр поглощения изоляричной серии GC с Caf обладает изобестическими точками при 231 и 266 нм (рис. 3).

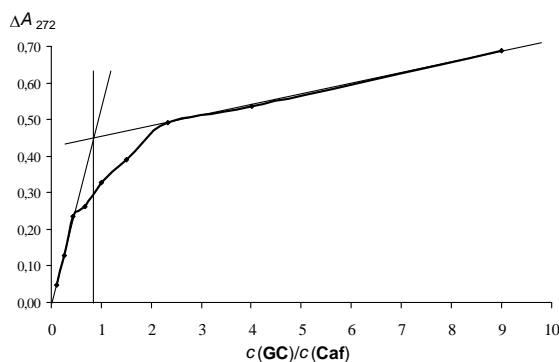
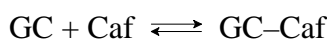


Рис. 2. Зависимость изменения оптической плотности ΔA от соотношения компонентов изоляричной серии при $\lambda=272$ нм ($c(\text{Caf})=10^{-4}$ М, $c(\text{GC})=10^{-4}$ М, pH 7,2).

Между GC и Caf устанавливается равновесие:



$$K_{\text{GC-Caf}} = \frac{[\text{GC-Caf}]}{[\text{GC}][\text{Caf}]}, \quad (1)$$

где $K_{\text{GC-Caf}}$ – константа устойчивости комплекса.

$K_{\text{GC-Caf}}$, равная $5,34 \cdot 10^4 \text{ М}^{-1}$, была рассчитана по методу А. К. Бабко на основе изоляричной кривой по формуле 2 [13]. У ранее полученных комплексов GC с биологически активными молекулами, имеющими состав 1:1, K имели тот же порядок [14–16].

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

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.

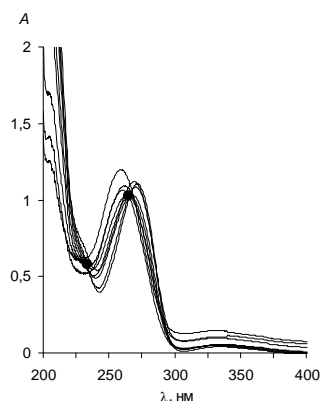
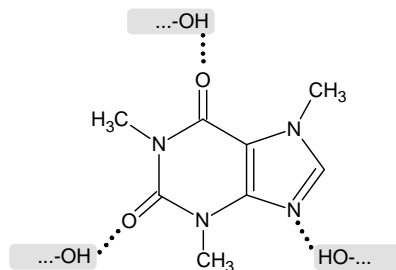


Рис. 3. Кривые поглощения изомолярной серии растворов ($c(\text{Caf})=10^{-4}$ М, $c(\text{GC})=10^{-4}$ М, pH 7,2).

В молекуле Caf имеется три акцепторных центра протонов. Это две группы C=O пиридинового и атом азота имидазольного колец [17]. Они могут образовывать межмолекулярные водородные связи:



Природу межмолекулярных взаимодействий в комплексах подтверждали методом ИК-спектроскопии. В ИК-спектре комплекса Caf с GC (рис. 4) наблюдается две уширенные полосы поглощения валентных колебаний OH-групп. У комплекса GC–Caf это полосы при 3403 и 3258 cm^{-1} . В спектре индивидуального GC колебания OH-групп проявляются только в виде одной полосы при 3204 cm^{-1} .

При комплексообразовании у Caf происходит смещение полос поглощения связей C=O (при 1692 cm^{-1}), N=C и C=O (при 1644 cm^{-1}) и N–C=O (при 700 cm^{-1}),

подтверждающее участие его групп C=O и имидазольного атома азота в образовании водородных связей с OH-группами GC. Это смещение составило +10, +5 и -7 см⁻¹ соответственно.

Межмолекулярное взаимодействие вызывает сдвиги полос поглощения связей C-O в C-O-C и C-OH у GC. Наибольшее смещение наблюдается у полосы 1039 см⁻¹ ($\Delta\nu = -14$ см⁻¹).

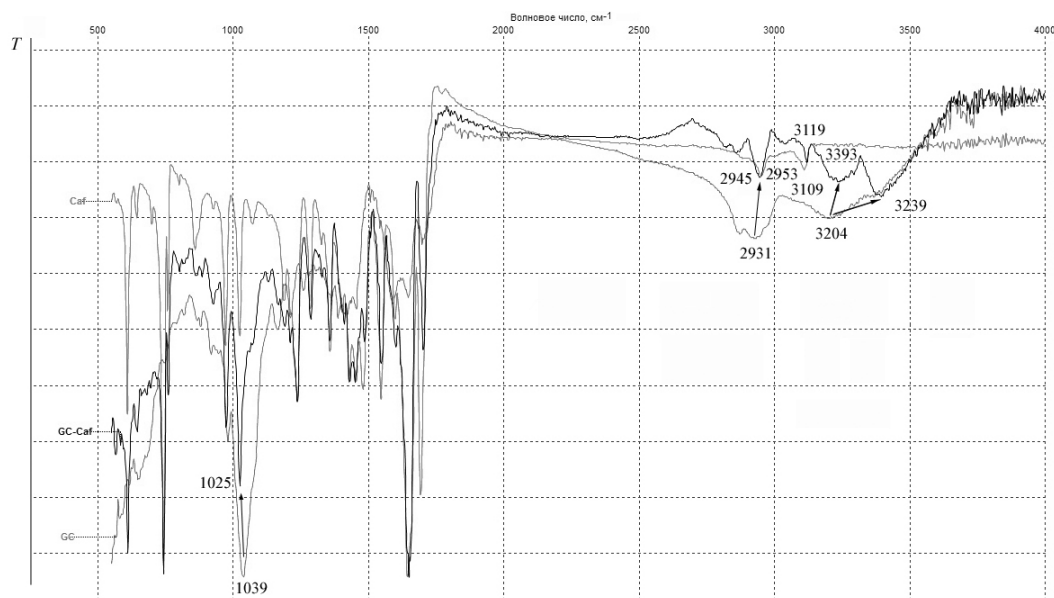


Рис. 4. ИК-спектры Caf, GC и их молекулярного комплекса.

У GC при взаимодействии с Caf $\nu_{C=O}$ изменяется на -13 и +4 см⁻¹, что подтверждает участие COOH-групп в образовании водородных связей с Caf. Образование водородных связей молекулой глицирризиновой кислоты в комплексах приводило к смещению ее полосы поглощения $\nu_{C=O}$ на 10–20 см⁻¹ [18].

При взаимодействии гликозидов с Caf в ИК-спектрах наблюдаются также сдвиги некоторых полос поглощения связей CH и колец, что вызвано гидрофобными взаимодействиями агликонной части GC с ароматической системой и метильными группами Caf. Наличие гидрофобных контактов ранее было установлено и при взаимодействии Caf с глюкозой и сахарозой [5]. Одной из причин высокой устойчивости молекулярных комплексов тритерпеновых гликозидов с биологически активными веществами являются гидрофобные взаимодействия между ними [19, 20].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Впервые получен молекулярный комплекс GC с Caf состава 1:1. Константа устойчивости комплекса $K_{GC-Caf} = 5,34 \cdot 10^4$ М⁻¹.

2. GC связывается в комплекс водородными связями при участии его OH- и COOH-групп ($C=O_{\text{Car}} \cdots H-O_{\text{GC}}$ и $=N:_{\text{Car}} \cdots H-O_{\text{GC}}$).
3. При взаимодействии GC с Caf имеют место гидрофобные контакты, которые могут объяснить высокую устойчивость их супрамолекулярного комплекса.

Список литературы

1. Химический анализ лекарственных растений; под ред. Гринкевич Н. И., Сафронич Л. Н. – М.: Высш. шк., 1983. – 176 с.
2. Ashihara H. Caffeine and related purine alkaloids: Biosynthesis, catabolism, function and genetic engineering / H. Ashihara, H. Sano, A. Crozier // *Phytochemistry*. – 2008. – Vol. 69, № 4. – P. 841-856.
3. Hostettmann K. The potential of African plants as a source of drugs / K. Hostettmann, A. Marston, K. Ndjoko, J.-L. Wolfender // *Cur. Org. Chem.* – 2000. – Vol. 4, № 10. – P. 973-1010.
4. Машковский М. Д. Лекарственные средства: в 2 т. / М. Д. Машковский. – [13-е изд.]. – Харьков: Торсинг, 1997. – Т. 1. – 560 с.
5. Caffeine and sugars interact in aqueous solutions: a simulation and NMR study / L. Tavagnacco, O. Engström, U. Schnupf [et al.] // *J. Phys. Chem. B*. – 2012. – Vol. 116, № 38. – P. 11701-11711.
6. Lilley T. H. Association of caffeine in water and in aqueous solutions of sucrose / T. H. Lilley, H. Linsdell, A. Maestre // *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* – 1992. – Vol. 88, № 19. – P. 2865-2870.
7. Hydration and self-association of caffeine molecules in aqueous solution: comparative effects of sucrose and β -cyclodextrin / M. Mejri, A. BenSouissi, V. Aroulmoji, B. Rogé // *Spectrochim. Acta A*. – 2009. – Vol. 73, № 1. – P. 6-10.
8. Терехова И. В. Термодинамика комплексообразования α -циклодекстрина с основаниями нуклеиновых кислот и их производными / И. В. Терехова, П. В. Лапшев, О. В. Куликов // *Коорд. химия*. – 2003. – Т. 29, № 1. – С. 78-80.
9. 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.
10. 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 wydawnyczyj dim, 2010. – Chapter 4. – P. 85-103.
11. Далимов Д. Н. Молекулярные комплексы моноаммониевой соли глицирризиновой кислоты с некоторыми лекарственными средствами и их интерферониндуцирующая активность / Д. Н. Далимов, Ю. Т. Исаев, А. М. Сайиткулов // *Химия природ. соедин.* – 2001. – № 2. – С. 132-134.
12. Смагулова М. Е. Изучение комплексообразования глицирама с биологически активными лигандами / М. Е. Смагулова, К. М. Бекетов, М. Ф. Фасхутдинов // *Хим. журн. Казахстана*. – 2009. – № 3. – С. 10-14.
13. Бабко А. К. Физико-химический анализ комплексных соединений в растворах / А. К. Бабко. – К.: Изд-во АН УССР, 1955. – 328 с.
14. 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.
15. Молекулярные комплексы тритерпеновых гликозидов плюща и солодки с доксорубицином / Л. А. Яковишин, В. И. Гришковец, А. В. Клименко [и др.] // *Хим.-фарм. журн.* – 2014. – Т. 48, № 6. – С. 37-40.
16. Физико-химическая характеристика и биологическая активность супрамолекулярного комплекса глицирама с β -циклодекстрином / Л. А. Яковишин, В. И. Гришковец, Е. Н. Корж [и др.] // *Макрогетероциклы*. – 2015. – Т. 8, вып. 1. – С. 94-98.
17. Молекулярные механизмы биологического действия кофеина. Компьютерное моделирование конкуренции с аденозином за места связывания с рецепторами / А. С. Дерябина, Э. Родригес, Э. Гонсалес [и др.] // *Матем. биология и биоинформ.* – 2014. – Т. 9, вып. 2. – С. 373-385.

18. Комплексы β -глицирризиновой кислоты с нестероидными противовоспалительными средствами как новые транспортные формы / Г. А. Толстикова, Л. А. Балтина, Ю. И. Муринов [и др.] // Хим.-фарм. журн. – 1991. – Т. 25, № 2. – С. 29–32.
19. Gluschenko O. Yu. NMR relaxation study of cholesterol binding with plant metabolites / O. Yu. Gluschenko, N.E. Polyakov, T.V. Leshina // Appl. Magn. Reson. – 2011. – Vol. 41, № 2. – P. 283–294.
20. Study of the interaction between monoammonium glycyrrhizinate and bovine serum albumin / Y.-J. Hu, Y. Liu, J.-B. Wang [et al.] // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2004. – Vol. 36, № 4. – P. 915–919.

SUPRAMOLECULAR COMPLEX OF MONOAMMONIUM SALT OF GLYCYRRHIZIC ACID (GLYCYRAM) WITH CAFFEINE

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

¹Sevastopol State University, Sevastopol, Russia

²V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation

E-mail: chemsevtu@rambler.ru

A new molecular complex of triterpene glycoside glycyram (monoammonium salt of glycyrrhizic acid, GC) with alkaloid caffeine (Caf) was prepared. GC is an anti-inflammatory and antiallergic drug. Caf is a known stimulant of the central nervous system.

The complexation of GC with Caf in aqueous solution at pH 7.2 (phosphate buffer Na₂HPO₄–NaH₂PO₄) was investigated by spectrophotometric method. It was shown that GC and Caf forms a 1:1 complex, having a stability constant $K_{GC-Caf} = 5.34 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$. Molecular complex of GC with Caf was studied by IR spectroscopy. GC was associated in complex by hydrogen bonds with the participation of OH and COOH groups ($C=O_{Caf} \cdots H-O_{GC}$ и $=N:Caf \cdots H-O_{GC}$) as well as hydrophobic interactions.

Keywords: triterpene glycosides, glycyrrhizic acid, glycyram, caffeine, supramolecular complex, spectrophotometry, IR spectroscopy, stability constant.

References

1. *Chemical Analysis of Medicinal Plants*, edited by N.I. Grinkevich and L.N. Safronich, 176 p. (Vysshaya Shkola, Moscow, 1983). (in Russ.).
2. Ashihara H., Sano H., Crozier A., Caffeine and related purine alkaloids: Biosynthesis, catabolism, function and genetic engineering, *Phytochemistry*, **69** (4), 841 (2008).
3. Hostettmann K., Marston A., Ndjoko K., Wolfender J.-L., The potential of African plants as a source of drugs, *Cur. Org. Chem.*, **4** (10), 973 (2000).
4. Mashkovskii M.D., *Drugs*, 2 vols., 13 ed., **1**, 560 p. (Torsing, Kharkov, 1997). (in Russ.).
5. Tavagnacco L., Engström O., Schnupf U., Saboungi M.L., Himmel M., Widmalm G., Cesàro A., Brady J.W., Caffeine and sugars interact in aqueous solutions: a simulation and NMR study, *J. Phys. Chem. B*, **116** (38), 11701 (2012).
6. Lilley T.H., Linsdell H., Maestre A., Association of caffeine in water and in aqueous solutions of sucrose, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **88** (19), 2865 (1992).
7. Mejri M., BenSouissi A., Aroulmoji V., Rogé B., Hydration and self-association of caffeine molecules in aqueous solution: comparative effects of sucrose and β -cyclodextrin, *Spectrochim. Acta A*, **73** (1), 6 (2009).
8. Terehova I. V., Lapshev P. V., Kulikov O. V., Thermodynamics of complexation of α -cyclodextrin with nucleic acid bases and their derivatives, *Koord. Khim.*, **29** (1), 78 (2003). (in Russ.).

9. 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).
10. 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., p. 85–103 (Schidnyj wydawnyczyj dim, Donetsk, 2010).
11. Dalimov D. N., Isaev Yu. T., Saiitkulov A. M., Molecular complexes of ammonium glycyrrhizate with certain medicinal agents and their interferon-inducing activity, *Khim. Prirod. Soedin.*, **2**, 132 (2001). (in Russ.).
12. Smagulova M.E., Beketov K.M., Faskhutdinov M.F. Study of complex formation between glycyram and biologically active ligands, *Khim. Zhurn. Kazakhstan*, **3**, 10 (2009). (in Russ.).
13. Babko A.K., *Physico-chemical analysis of complex compounds in the solutions*, 328 p. (Izd-vo AN USSR, Kiev, 1955). (in Russ.).
14. Yakovishin L. A., Korzh E. N., Degtyar A. D., Klimenko A. V., Spectrophotometry of the supramolecular complexes of ivy and licorice triterpene glycosides with laevomycetin (chloramphenicol), *Ukr. Bioorg. Acta*, **11** (1), 33 (2013). (in Ukr.).
15. 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. Zhurn.*, **48** (6), 37 (2014). (in Russ.).
16. Yakovishin L. A., Grishkovets V. I., Korzh E. N., Vetrova E. V., Borisenko N. I., Physico-chemical characteristic and biological activity of the supramolecular complex of glycyram with β -cyclodextrin, *Macroheterocycles*, **8** (1), 94 (2015). (in Russ.).
17. Deriabina A.S., Rodriguez E., Gonzalez E., Deryabin M.S., Herrera J.N., Sanchez C., Poltev V. I., Molecular mechanisms of caffeine biological effects. Computer simulation of competition with adenosine for binding sites of receptors, *Mat. Biolog. Bioinform.*, **9** (2), 373 (2014). (in Russ.).
18. Tolstikov G. A., Baltina L. A., Murinov Yu. I., Davydova V. A., Tolstikova T. G., Bondarev A. I., Zarudin F. S., Lazareva D. N., Complexes of β -glycyrrhizic acid with nonsteroidal antiinflammatory drugs as novel transport forms, *Khim.-Farm. Zhurn.*, **25** (2), 29 (1991). (in Russ.).
19. Gluschenko O. Yu., Polyakov N. E., Leshina T. V., NMR relaxation study of cholesterol binding with plant metabolites, *Appl. Magn. Reson.*, **41** (2), 283 (2011).
20. Hu Y.-J., Liu Y., Wang J.-B., Xiao X.-H., Qu S.-S., Study of the interaction between monoammonium glycyrrhizinate and bovine serum albumin, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **36** (4), 915 (2004).