

УДК 547.918:547.92:543.42

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ХОЛЕСТЕРИНА С ОЛЕАНОЛОВОЙ КИСЛОТОЙ И ЭСЦИНОМ

Яковишин Л. А.¹, Гришкова В. И.²

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

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

Жидкофазным синтезом получены молекулярные комплексы холестерина с эсцином (суммой тритерпеновых гликозидов каштана конского обыкновенного *Aesculus hippocastanum* L.) и с тритерпеноидом олеаноловой кислоты. При этом компоненты были взяты в эквимольных соотношениях. Методом ИК-Фурье-спектроскопии показано, что при комплексообразовании между компонентами образуются водородные связи между ОН-группой холестерина и С=О карбоксильной группы эсцина и олеаноловой кислоты.

Ключевые слова: тритерпеновые гликозиды, эсцин, олеаноловая кислота, холестерин, супрамолекулярный комплекс, каштан конский обыкновенный, ИК-Фурье-спектроскопия.

ВВЕДЕНИЕ

Эсцин (ES) представляет собой сумму более 30 тритерпеновых гликозидов, выделенных из каштана конского обыкновенного *Aesculus hippocastanum* L. (Sapindaceae Juss.) [1]. Среди них преобладает β-эсцин, являющийся смесью двух гликозидов 3-*O*-[β-*D*-глюкопиранозил-(1→2)]-*O*-[β-*D*-глюкопиранозил-(1→4)]-*O*-β-*D*-глюкуронопиранозида 21β-тиглоил-22α-ацетилпротоэсцигенина (эсцин Ia) и 3-*O*-[β-*D*-глюкопиранозил-(1→2)]-*O*-[β-*D*-глюкопиранозил-(1→4)]-*O*-β-*D*-глюкуронопиранозида 21β-ангелоил-22α-ацетилпротоэсцигенина (эсцин Ib) (рис. 1) [1–5]. ES обладает противовоспалительными, противоотечными, мембранотропными и капилляропротекторными свойствами, улучшает трофику тканей при недостатке кровообращения и отеках [1; 6; 7].

Характерной особенностью сапонинов является их способность к образованию молекулярных комплексов с холестерином (Chol; рис. 1) [1]. Связывание со стеринами клеточных мембран обуславливает некоторые виды биологической активности сапонинов [1]. Исследование комплексообразования ES с Chol было начато достаточно давно [8]. Tschesche R. и Wulff G. для анализа комплексообразования использовали Chol, меченный изотопом ¹⁴C (по атому C-4) [8]. При этом на хроматограмму наносился комплекс эквимолекулярного состава. Степень связывания сапонинов в комплекс определялась по массовой доле Chol, оставшегося на старте хроматограммы после ее элюирования CCl₄. Для ES она составила 30,5 %.

Сообщалось о получении комплексов ES и его натриевых и калиевых солей с Chol и β -ситостерином разного массового состава в среде органических растворителей [9]. Данные комплексы обладают противовоспалительной и вазопротекторной активностью, но не оказывают местное раздражающее действие. Однако в работе [9] отсутствуют доказательства молекулярного комплексообразования между компонентами какими-либо химическими или физико-химическими методами. Наружно ES используют в виде комплекса с Chol в составе косметических лосьонов, молочка, кремов и гелей для лечения целлюлита, а также в качестве успокаивающего и тонизирующего средства [10–12].

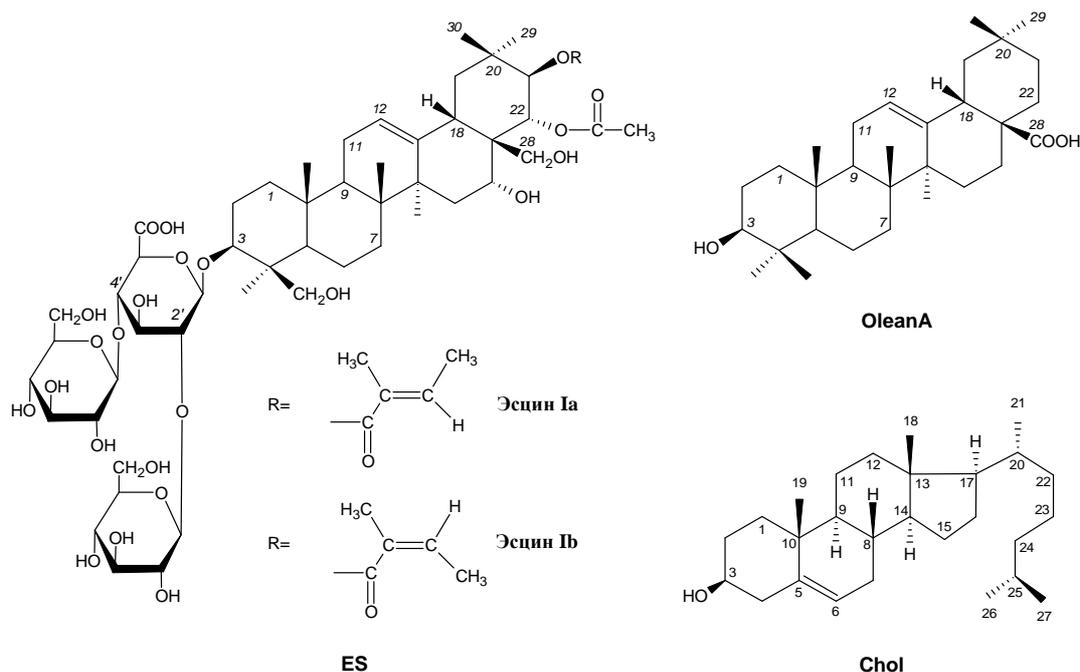


Рис. 1. Структура эсцинов Ia и Ib, образующих β -эсцин (ES), олеаноловой кислоты (OleanA) и холестерина (Chol).

Для ES получены тройные комплексы, включающие Chol или β -ситостерин и фосфолипиды [13]. Комплексы имеют более выраженный противоотечный эффект по сравнению с действием свободных компонентов. На основе сравнения спектров ЯМР ^1H , ^{13}C и ^{31}P комплексов и индивидуальных веществ (уширение сигнала протонов в группе $-\text{N}(\text{CH}_3)_3$ холина, уширение полосы и ее сдвиг для атома ^{31}P , уменьшение времен релаксации ряда ядер ^{13}C) авторы сделали вывод о том, что в комплексе ES связывается с полярной головкой фосфолипида. При этом полные отнесения сигналов в спектрах ЯМР не приведены.

Олеаноловая кислота (3 β -гидроксиолеан-12-ен-28-овая кислота, OleanA; рис. 1) – это тритерпеноид, являющийся одним из самых распространенных агликонов сапонинов [1]. Она обладает гепатопротекторной, антимикробной, противовирусной, противовоспалительной и противоопухолевой активностью [14]. В Китае ее используют в клинических условиях для лечения гепатитов [15].

Учитывая, что в ряде случаев нет четких доказательств межмолекулярного взаимодействия Chol с сапонинами различными современными спектральными методами, нами рассмотрено их комплексообразование методом ИК-Фурье-спектроскопии. ИК-спектроскопия является универсальным инструментом для анализа молекулярных комплексов. Поэтому ее часто используют для подтверждения межмолекулярных взаимодействий [16].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали образцы Chol (Sigma-Aldrich, США), OleanA (Sigma-Aldrich, США) и ES (Arterium, Украина) без предварительной подготовки. Комплексы Chol с OleanA и ES препаративно получали жидкофазным способом. Для этого смешивали по 1 ммоль Chol и OleanA с 50 мл смеси 70 % водный этанол-хлороформ, взятой в соотношении 3:1 по объему. Аналогично смешивали по 1 ммоль Chol и ES с 50 мл смеси 70 % водный этанол-хлороформ. Смеси выдерживали при 50 °С в течение 1,5 ч при постоянном перемешивании. Органические растворители отгоняли в вакууме.

ИК-спектры сняты с твердых образцов на ИК-Фурье-спектрометре ФТ-801 (СИМЕКС, Россия) с универсальной оптической приставкой НПВО (нарушенного полного внутреннего отражения) с элементом из селенида цинка. Для работы с ИК-спектрометром ФТ-801 использовали программу ZaIR 3.5 (СИМЕКС, Россия).

ИК-спектр Chol (ν , см⁻¹): 3401 (ОН), 3349 (ОН), 2930 (СН), 2900 (СН), 2866 (СН), 1671 (С=C), 1461 (СН), 1437 (СН), 1376 (СН), 1364 (СН), 1334 (СН), 1273 (СН), 1253 (СН), 1233 (СН), 1221 (СН), 1189 (СН), 1169 (С–ОН), 1131 (С–ОН), 1107 (С–ОН), 1053 (С–ОН), 1022 (С–ОН), 986 (=СН).

ИК-спектр ES (ν , см⁻¹): 3380 (ОН), 2920 (СН), 1734 (C=O_{сл. эфир}), 1712 (C=O_{COOH}, C=O_{сл. эфир}), 1647 (C=C), 1456 (СН), 1422 (СН), 1370 (СН), 1310 (СН), 1251 (СН), 1157 (С–О–С, С–ОН), 1067 (С–О–С, С–ОН), 1037 (С–О–С, С–ОН), 1023 (С–О–С, С–ОН), 980 (=СН).

ИК-спектр молекулярного комплекса Chol с ES (ν , см⁻¹): 3369 (ОН), 2935 (СН), 2900 (СН), 2869 (СН), 1715 (C=O_{сл. эфир}), 1700 (C=O_{COOH}), 1671 (C=C), 1648 (C=C), 1456 (СН), 1435 (СН), 1420 (СН), 1373 (СН), 1306 (СН), 1255 (СН), 1157 (С–О–С, С–ОН), 1066 (С–О–С, С–ОН), 1037 (С–О–С, С–ОН), 1023 (С–О–С, С–ОН), 980 (=СН).

ИК-спектр OleanA (ν , см⁻¹): 3458 (ОН), 2936 (СН), 2870 (СН), 1689 (C=O), 1457 (СН), 1386 (СН), 1364 (СН), 1322 (СН), 1303 (СН), 1271 (СН), 1240 (СН), 1208 (СН), 1186 (СН), 1106 (С–ОН), 1045 (С–ОН), 1029 (С–ОН), 1009 (С–ОН), 996 (С–ОН), 974 (=СН).

ИК-спектр молекулярного комплекса Chol с OleanA (ν , см⁻¹): 3379 (ОН), 2929 (СН), 2903 (СН), 2865 (СН), 1686 (C=O), 1457 (СН), 1385 (СН), 1364 (СН), 1322

(CH), 1304 (CH), 1271 (CH), 1239 (CH), 1211 (CH), 1180 (CH), 1105 (C–OH), 1047 (C–OH), 1034 (C–OH), 1009 (C–OH).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Молекулярные комплексы сапонинов получают жидкофазным способом [17; 18] или механосинтезом [18]. Синтез комплексов ES–Chol и OleanA–Chol осуществляли в жидкой фазе, т. к. при механохимической обработке возможна частичная деструкция веществ. Для этого Chol смешивали с ES и OleanA в эквимольном соотношении в среде 70 % водного этанола и хлороформа. После инкубирования смеси растворитель удаляли и получали комплекс в виде твердой субстанции. Для анализа молекулярного комплексобразования использовали метод ИК-Фурье-спектроскопии.

В ИК-спектре ES в области 3380 см^{-1} обнаружена широкая интенсивная полоса поглощения валентных колебаний ассоциированных ОН-связей (рис. 2). Основная полоса поглощения связи С=О в составе сложноэфирных групп в молекуле ES находится при 1712 см^{-1} (тиглоил и ангелоил). Полоса ацетила при 1734 см^{-1} слабо разрешилась. Валентные колебания С=О в составе карбоксильной группы остатка глюкуроновой кислоты также проявляются при 1712 см^{-1} . Поглощение при 1647 см^{-1} обусловлено С=C-связями агликона протозэцигенина, а также тиглоильного и ангелоильного остатков.

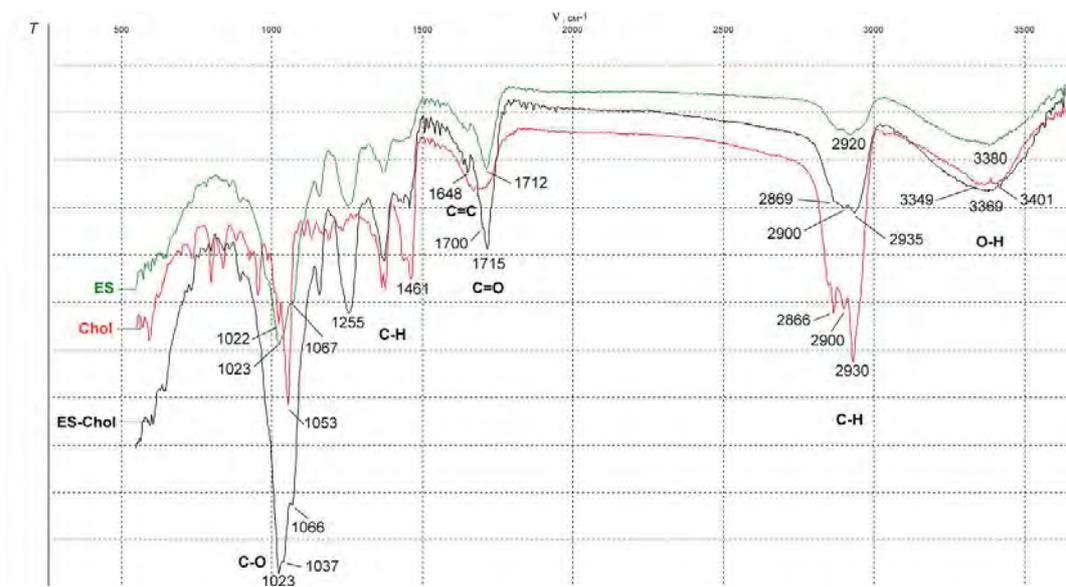


Рис. 2. ИК-спектры ES, Chol и их молекулярного комплекса.

В области 1400–1200 cm^{-1} находятся полосы поглощения деформационных колебаний СН-связей ES, OleanA и Chol. Валентные колебания связей с участием атомов кислорода (C–O–C, C–OH) проявляются в области 1200–1000 cm^{-1} .

При комплексообразовании ES с Chol наблюдается низкочастотный сдвиг полос поглощения валентных колебаний связей OH: 3380→3369 cm^{-1} (для ES) и 3401→3369 cm^{-1} (для Chol), указывающий на образование водородной связи. Частота полосы поглощения валентных колебаний связи C–OH у Chol при 1053 cm^{-1} в комплексе уменьшается до 1037 cm^{-1} . Частота полосы поглощения валентных колебаний C=O в карбоксильной группе ES в области 1712 cm^{-1} изменилась на -12 cm^{-1} . Изменения $\nu_{\text{C=O}}$ и $\nu_{\text{O-H}}$ в ИК-спектрах указывают на образование между молекулами ES и Chol водородной связи –C=O...H–O–.

В ИК-спектрах найдены изменения некоторых частот поглощения СН-связей: у Chol $\nu_{\text{C-H}}$ 2930 cm^{-1} в комплексе изменилось на +5 cm^{-1} , а у ES $\nu_{\text{C-H}}$ 2920 cm^{-1} – на -20 cm^{-1} . Смещения полос поглощения СН-связей могут быть вызваны гидрофобными взаимодействиями агликонной части гликозида с липофильной молекулой Chol.

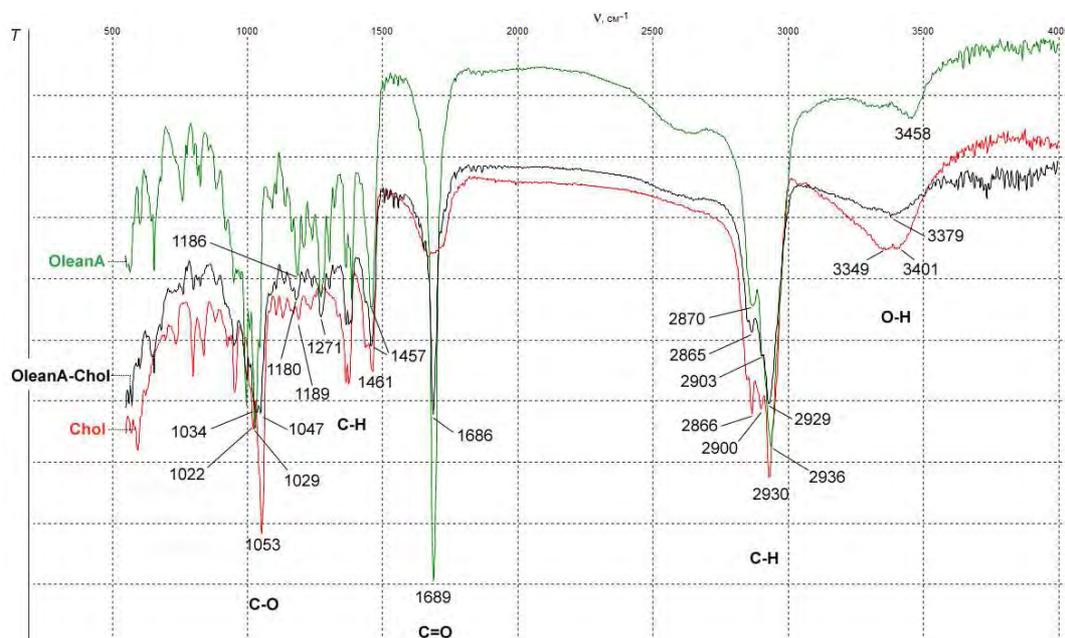


Рис. 3. ИК-спектры OleanA, Chol и их молекулярного комплекса.

В спектре комплекса OleanA–Chol отмечено низкочастотное смещение полос поглощения валентных колебаний связей OH у Chol с 3401 до 3379 cm^{-1} , а у OleanA – с 3458 до 3379 cm^{-1} (рис. 3). Частота полосы поглощения валентных колебаний C=O в карбоксильной группе OleanA изменилась на -3 cm^{-1} , что подтверждает ее участие в образовании водородной связи с OH-группой Chol. Частота полосы

поглощения валентных колебаний связи C–OH у Chol при 1053 см^{-1} в комплексе уменьшается до 1047 см^{-1} , а при 1022 см^{-1} – увеличивается до 1034 см^{-1} . Для OleanA наблюдается сдвиг полосы $1029\rightarrow 1034\text{ см}^{-1}$. При комплексообразовании наблюдаются изменения частот полос поглощения СН-связей: $2936\rightarrow 2929\text{ см}^{-1}$, $2870\rightarrow 2865\text{ см}^{-1}$ и $1186\rightarrow 1180\text{ см}^{-1}$ (у OleanA); $2900\rightarrow 2903\text{ см}^{-1}$ и $1189\rightarrow 1180\text{ см}^{-1}$ (у Chol), что может указывать на наличие гидрофобных контактов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Жидкофазным способом в среде органических растворителей получены молекулярные комплексы ES с Chol и OleanA с Chol. При этом компоненты были взяты в эквимольных соотношениях.
2. Методом ИК-Фурье-спектроскопии показано, что между компонентами комплексов образуются водородные связи $-\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}-$. Возможно, что при комплексообразовании имеют место и гидрофобные взаимодействия.

Список литературы

1. Hostettmann K. Saponins / K. Hostettmann, A. Marston. – Cambridge: Cambridge University Press, 1995. – 548 p.
2. Costantini A. Escin in pharmaceutical oral dosage forms: quantitative densitometric HPTLC determination / A. Costantini // *Il Farmaco*. – 1999. – Vol. 54. – P. 728–732.
3. High-performance liquid chromatographic analysis of β -escin / P. Pietta, P. Mauri, R. M. Facino, M. Carini // *J. Chromatogr.* – 1989. – Vol. 478. – P. 259–263.
4. Simultaneous analysis of isomers of escin saponins in human plasma by liquid chromatography–tandem mass spectrometry: application to a pharmacokinetic study after oral administration / X. Wua, L. Liu, M. Zhang [et al.] // *J. Chromatogr. B*. – 2010. – Vol. 878. – P. 861–867.
5. Bioactive saponins and glycosides. III. Horse chestnut. (1): the structures, inhibitory effects on ethanol absorption, and hypoglycemic activity of escins Ia, Ib, IIa, IIb, and IIIa from the seeds of *Aesculus hippocastanum* L. / M. Yoshikawa, T. Murakami, H. Matsuda [et al.] // *Chem. Pharm. Bull.* – 1996. – Vol. 44, № 8. – P. 1454–1464.
6. Куцик Р. В. Каштан конский (*Aesculus hippocastanum* L.) / Р. В. Куцик, Б. М. Зузук, В. В. Дьячок // Провизор. – 2002. – № 4. – С. 28–32.
7. Машковский М. Д. Лекарственные средства: в 2 т. / М. Д. Машковский. – [13-е изд.]. – Харьков: Торсинг, 1997. – Т. 1. – 1997. – 560 с.
8. Tschesche R. Konstitution und eigenschaften der saponine / R. Tschesche, G. Wulff // *Planta Med.* – 1964. – Vol. 12, № 3. – P. 272–292.
9. Pat. 4101652 US. Pharmaceutically active complexes and pharmaceutical compositions containing aescin and sterols / A. Bonati. – Publ. 18.07.1978.
10. Proserpio G. Cosmetic use of horse-chestnut (*Aesculus hippocastanum*) extracts, of escin and of the cholesterol/escin complex / G. Proserpio, S. Gatti, P. Genesi // *Fitoterapia*. – 1980. – Vol. 51, № 2. – P. 113–128.
11. Bellini E. Horse chestnut: cultivation for ornamental purposes and non-food crop production / E. Bellini, S. Nin // *J. Herbs, Spices & Med. Plants*. – 2005. – Vol. 11, № 1–2. – P. 93–120.
12. Pizzorno J. E. The clinician's handbook of natural medicine / J. E. Pizzorno, M. T. Murray, H. Joiner-Bey. – [2nd ed.]. – London: Churchill Livingstone, 2008. – 832 p.
13. Pat. 5118671 US. Complexes of aescin, β -sitosterol or cholesterol, and phospholipids and pharmaceutical compositions containing them / E. Bombardelli, G. Patri, R. Pozzi. – Publ. 02.06.1992.
14. Liu J. Oleanolic acid and ursolic acid: research perspectives / J. Liu // *J. Ethnopharmacol.* – 2005. – Vol. 100, № 1–2. – P. 92–94.

15. Oleanolic acid nanosuspensions: preparation, in-vitro characterization and enhanced hepatoprotective effect / Y. Chen, J. Liu, X. Yang [et al.] // J. Pharm. Pharmacol. – 2005. – Vol. 57, № 2. – P. 259–264.
16. Хобза П. Межмолекулярные комплексы / П. Хобза, Р. Заградник. – М.: Мир, 1989. – 376 с.
17. Yakovishin L. A. Ivy and licorice triterpene glycosides: promising molecular containers for some drugs and biomolecules / L. A. Yakovishin, V. I. Grishkovets // Studies in natural products chemistry; ed. Attatur-Rahman. – Amsterdam: Elsevier, 2017. – Vol. 55. – Chapter 11. – P. 351–383.
18. Фармакологическая активность комплексов нестероидных противовоспалительных препаратов с глицерризиновой кислотой, полученных методами жидкофазного и твердофазного синтеза / И. В. Сорокина, Т. Г. Толстикова, М. П. Долгих [и др.] // Хим.-фарм. журн. – 2002. – Т. 36, № 1. – С. 12–13.

MOLECULAR COMPLEXES OF CHOLESTEROL WITH OLEANOLIC ACID AND AESCINE

Yakovishin L. A.¹, Grishkovets V.I.²

¹*Sevastopol State University, Sevastopol, Russia*

²*V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia*

E-mail: chemseventu@rambler.ru

Aescine (ES) is the sum of more than 30 triterpene glycosides isolated from the horse chestnut *Aesculus hippocastanum* L. (Sapindaceae Juss.). Among them prevails β -aescine, is a mixture of two glycosides (aescine Ia and aescine Ib). ES has anti-inflammatory, anti-edematous, membranotropic and capillaroprotective properties, improves trophism of tissues with a blood circulation and edema. Oleanolic acid is a 3β -hydroxyolean-12-en-28-oic acid (OleanA). It has hepatoprotective, antimicrobial, antiviral, anti-inflammatory and antitumor activity.

A characteristic feature of saponins is their ability to form molecular complexes with cholesterol (Chol). Investigation of Chol complexation with ES was started a long time ago. In some cases there is no clear evidence of the intermolecular interaction of Chol with saponins by various modern spectral methods.

The synthesis of ES–Chol and OleanA–Chol complexes was carried out in the liquid phase (in a mixture of 70 % aqueous ethanol and chloroform at a ratio of 3:1, v/v). The components ES and Chol (analogically OleanA and Chol) were taken in equimolar ratios. The obtained mixture was incubated at 50 °C for 1.5 h with continuous stirring. The organic solvents were then removed by vacuuming.

The complexation was studied by FTIR spectroscopy. When the ES is complexed with Chol, a low-field shift of the absorption bands of OH bonds stretching vibrations is observed: $3380 \rightarrow 3369 \text{ cm}^{-1}$ (for ES) and $3401 \rightarrow 3369 \text{ cm}^{-1}$ (for Chol). The frequency of the absorption band of C=O stretching vibrations in the ES carboxyl group has changed by -12 cm^{-1} . It indicates the formation of a hydrogen bond $-\text{C}=\text{O} \cdots \text{H}-\text{O}-$. In the IR spectra changes in some of the absorption frequencies of CH bonds have been found: $\nu_{\text{C-H}} 2930 \text{ cm}^{-1}$ in the complex has changed by $+5 \text{ cm}^{-1}$ (in Chol), and $\nu_{\text{C-H}} 2920 \text{ cm}^{-1}$ – by -20 cm^{-1} (in ES).

The spectrum of the OleanA–Chol complex exhibited a low-field shift of the absorption bands of OH bonds stretching vibrations in Chol from 3401 to 3379 cm^{-1} , and

in OleanA – from 3458 to 3379 cm^{-1} . The frequency of the absorption band of C=O stretching vibrations in the carboxyl group of OleanA was changed by -3 cm^{-1} . This confirms the formation of a hydrogen bond $-\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}-$. By complexation there are some changes in the frequency absorption band of CH bonds: $2936\rightarrow 2929 \text{ cm}^{-1}$, $2870\rightarrow 2865 \text{ cm}^{-1}$ and $1186\rightarrow 1180 \text{ cm}^{-1}$ (OleanA); $2900\rightarrow 2903 \text{ cm}^{-1}$ and $1189\rightarrow 1180 \text{ cm}^{-1}$ (Chol). This fact may indicate the presence of hydrophobic contacts.

Keywords: triterpene glycosides, aescin, oleanolic acid, cholesterol, supramolecular complex, horse chestnut, FTIR spectroscopy.

References

1. Hostettmann K., Marston A., *Saponins*, 548 p. (Cambridge University Press, Cambridge, 1995).
2. Costantini A., Escin in pharmaceutical oral dosage forms: quantitative densitometric HPTLC determination, *Il Farmaco*, **54**, 728 (1999).
3. Pietta P., Mauri P., Facino R. M., Carini M., High-performance liquid chromatographic analysis of β -escin, *J. Chromatogr.*, **478**, 259 (1989).
4. Wua X., Liu L., Zhang M., Wu D., Wang Y., Sun Y., Fawcett J. P., Gu J., Zhang J., Simultaneous analysis of isomers of escin saponins in human plasma by liquid chromatography–tandem mass spectrometry: application to a pharmacokinetic study after oral administration, *J. Chromatogr. B*, **878**, 861 (2010).
5. Yoshikawa M., Murakami T., Matsuda H., Yamahara J., Murakami N., Kitagawa I., Bioactive saponins and glycosides. III. Horse chestnut. (1): the structures, inhibitory effects on ethanol absorption, and hypoglycemic activity of escins Ia, Ib, IIa, IIb, and IIIa from the seeds of *Aesculus hippocastanum* L., *Chem. Pharm. Bull.*, **44** (8), 1454 (1996).
6. Kutsik R. V., Zuzuk B. M., D'yachok V. V., Chestnut horse (*Aesculus hippocastanum* L.), *Provizor*, 4, 28 (2002). (in Russ.).
7. Mashkovskii M. D., *Drugs*, 2 vols., 13 ed., **1**, 560 p. (Torsing, Kharkov, 1997). (in Russ.).
8. Tschesche R., Wulff G., Konstitution und eigenschaften der saponine, *Planta Med.*, **12** (3), 272 (1964).
9. Pat. 4101652 US, Pharmaceutically active complexes and pharmaceutical compositions containing aescin and sterols, Bonati A., Publ. 18.07.1978.
10. Proserpio G., Gatti S., Genesi P., Cosmetic use of horse-chestnut (*Aesculus hippocastanum*) extracts, of escin and of the cholesterol/escin complex, *Fitoterapia*, **51** (2), 113 (1980).
11. Bellini E., Nin S., Horse chestnut: cultivation for ornamental purposes and non-food crop production, *J. Herbs, Spices & Med. Plants.*, **11** (1–2), 93 (2005).
12. Pizzorno J. E., Murray M. T., Joiner-Bey H., *The clinician's handbook of natural medicine*, 2 ed., 832 p. (Churchill Livingstone, London, 2008).
13. Pat. 5118671 US, Complexes of aescin, β -sitosterol or cholesterol, and phospholipids and pharmaceutical compositions containing them, Bombardelli E., Patri G., Pozzi R., Publ. 02.06.1992.
14. Liu J., Oleanolic acid and ursolic acid: research perspectives, *J. Ethnopharmacol.*, **100** (1–2), 92 (2005).
15. Chen Y., Liu J., Yang X., Zhao X., Xu H., Oleanolic acid nanosuspensions: preparation, in-vitro characterization and enhanced hepatoprotective effect, *J. Pharm. Pharmacol.*, **57** (2), 259 (2005).
16. Hobza P., Zagradnik R., *Intermolecular complexes*, 376 p. (Mir, Moscow, 1989). (in Russ.).
17. Yakovishin L. A., Grishkovets V. I., Ivy and licorice triterpene glycosides: promising molecular containers for some drugs and biomolecules, in *Studies in natural products chemistry*, edited by Atta-ur-Rahman, **55**, p. 351–383 (Elsevier, Amsterdam, 2017).
18. Sorokina I. V., Tolstikova T. G., Dolgikh M. P., Shul'ts É. É., Dushkin A. V., Karnatovskaya L. M., Chabueva E. N., Boldyrev V. V., Pharmacological activity of complexes of nonsteroidal anti-inflammatory drugs with glycyrrhizic acid obtained by liquid and solid-state synthesis, *Khim.-Farm. Zhurn.*, **36** (1), 12 (2002). (in Russ.).