

**УДК 547.918:547.972:35:543.42**

## **МОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОМПЛЕКС КВЕРЦЕТИНА С ГЛИЦИРАМОМ: СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ**

*Яковишин Л. А.<sup>1</sup>, Гришкова В. И.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», Севастополь,  
Республика Крым, Россия*

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

Методом изомолярных серий в спектрофотометрическом варианте для молекулярного комплекса тритерпенового гликозида моноаммонийной соли глицирризиновой кислоты (глицирама, GC) и флавонола кверцетина (Quer) установлен состав 1:2. Для комплекса рассчитана константа устойчивости  $K_{GC-Quer} = (8,4 \pm 0,7) \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$  (при 369 нм).

**Ключевые слова:** кверцетин, глицирризиновая кислота, глицирам, супрамолекулярный комплекс, спектрофотометрия, константа устойчивости.

### **ВВЕДЕНИЕ**

В настоящее время интенсивно изучаются супрамолекулярные комплексы тритерпеновых гликозидов с биологически активными веществами, что обусловлено возможностью создания на их основе различных фармацевтических композиций с полезными медико-биологическими свойствами [1–6]. В частности, начато исследование комплексообразования сапонинов с биомолекулами полифенольной природы [7–9]. При этом были получены комплексы моноаммонийной соли глицирризиновой кислоты (глицирама, GC; рис. 1) с флавонолом кверцетином (Quer; рис. 1) [7, 8] и тройной комплекс, включающий GC, Quer и холестерин [9]. Комплексы были проанализированы методом ИК-Фурье-спектроскопии.

Данная статья посвящена установлению состава комплекса GC с Quer методом изомолярных серий в спектрофотометрическом варианте и определению его константы устойчивости ( $K$ ).

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Использовали образец GC (Calbiochem, США; чистота  $\geq 95\%$  по ВЭЖХ) и Quer (Реахим, чда) без предварительной подготовки.

УФ-спектры получены при температуре 21 °С на двухлучевом сканирующем спектрофотометре LEKI SS2110UV (MEDIORA OY, Финляндия) в кварцевых кюветах ( $l=1$  см). Для составления изомолярной серии использовали  $10^{-4}$  М водно-

спиртовые растворы GC и Quer (растворитель – смесь 1:9 по объему 96 % водного этанола и водного фосфатного буферного раствора  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{--NaH}_2\text{PO}_4$  с pH 7,2). Полученные смеси выдерживали при температуре 21 °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 %. Для работы со спектрофотометром использовали встроенное программное обеспечение SS2110UV.

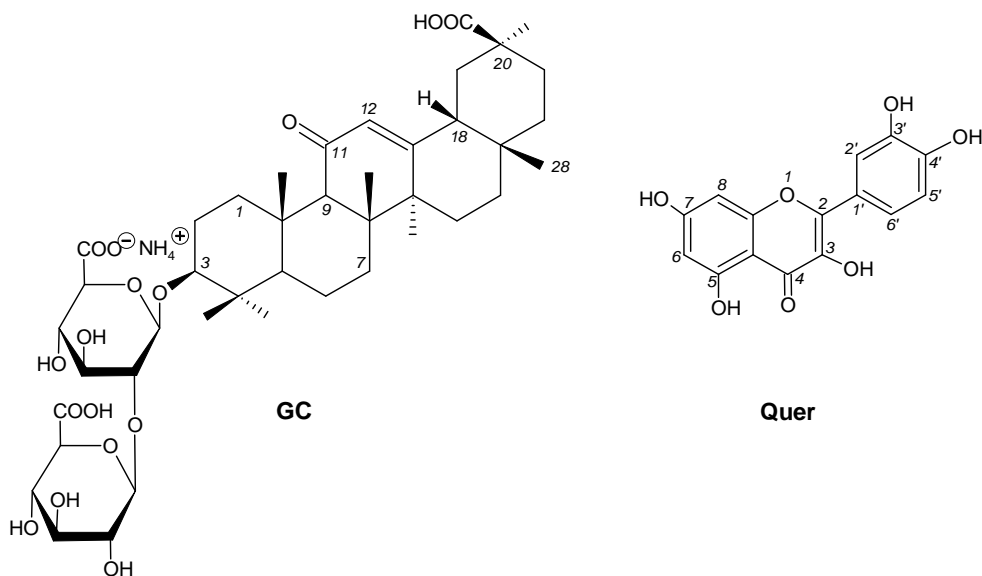


Рис. 1. Моноаммонийная соль глицирризиновой кислоты (глицирам, GC) и кверцетин (Quer).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Состав комплекса GC с Quer, равный 1:2, определен методом изомолярных серий при 369 нм. Изомолярная кривая приведена на Рис. 2. Аналогичный состав комплекса GC с Quer был установлен и при построении изомолярной кривой при 258 нм. Таким образом, комплекс включает одну молекулу GC и две молекулы Quer. Ранее полученные комплексы GC с биологически активными молекулами чаще всего имели состав 1:1 [3, 5]. Спектр поглощения изомолярной серии GC с Quer обладает изобестическими точками при 234 и 281 нм (рис. 3).

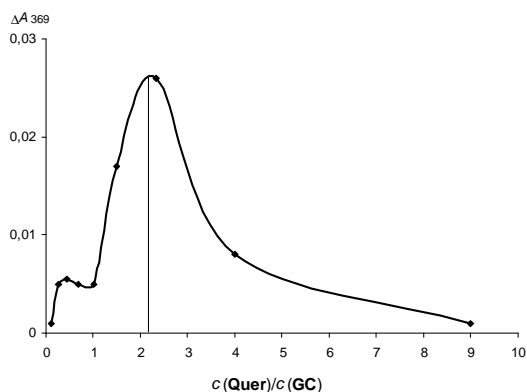


Рис. 2. Зависимость изменения оптической плотности  $\Delta A$  от соотношения компонентов изомолярной серии при  $\lambda=369$  нм ( $c(\text{Quer})=10^{-4}$  М,  $c(\text{GC})=10^{-4}$  М).

Недавно установлено, что в масс-спектрах Quer в условиях лазерной десорбции и ионизации наблюдаются пики ионов его димеров [10]. Молекулы Quer в кристаллах ассоциированы за счет  $\pi$ - $\pi$ -стекинг-взаимодействий [10]. В димере Quer–Quer и ассоциатах Quer–витамин С и Quer–витамин Е наблюдаются стекинг-взаимодействия и водородные связи [11]. Были получены комплексы Quer с катионами металлов, соответственно имеющие состав 2:1 [12, 13].

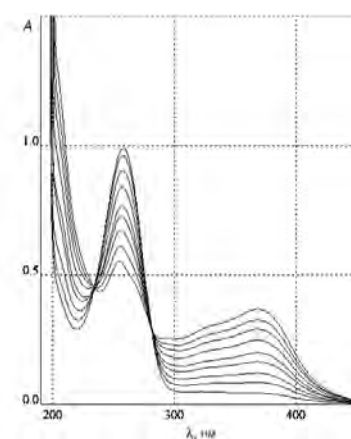
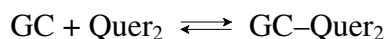


Рис. 3. Кривые поглощения изомолярной серии растворов ( $c(\text{Quer})=10^{-4}$  М,  $c(\text{GC})=10^{-4}$  М).

Состав комплексов каротиноидов с глицирризиновой кислотой равен 1:2 [14, 15]. Авторами указанных работ сделан вывод об образовании комплексов из 1 моль каротиноида и 1 моль димера глицирризиновой кислоты. По формуле Бенеси–Хилдебранда была рассчитаны константы устойчивости комплексов  $K \approx 10^4$  М<sup>-1</sup> (в среде водного этанола). С учетом высказанного для комплексов каротиноидов и

найденного состава комплекса GC–Quer, между GC и Quer в растворе устанавливается следующее равновесие:



$$K_{\text{GC-Quer}} = \frac{[\text{GC-Quer}_2]}{[\text{GC}][\text{Quer}_2]}, \quad (1)$$

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

$K_{\text{GC-Quer}}$ , равная  $(8,4 \pm 0,7) \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$ , была рассчитана по методу А.К. Бабко на основе изомолярной кривой при  $\lambda = 369 \text{ нм}$  по формуле 2 [16]. Комплексы GC с биомолекулами и фармацевтическими субстанциями имели в большинстве случаев  $K$  порядка  $10^3$ – $10^5 \text{ M}^{-1}$  [5].

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

где  $c$  – суммарная концентрация веществ, равная  $10^{-4} \text{ M}$ ,  $\Delta A_0$  – изменение оптической плотности, соответствующее комплексу при полном отсутствии диссоциации, а  $\Delta A_1$  – изменение оптической плотности, соответствующее значению на фактической кривой.

Возможно, что в полученном молекулярном комплексе димер Quer–Quer, обусловленный стекинг-взаимодействиями, связывается с молекулой GC. Гетероассоциация в комплексе GC с Quer может быть вызвана водородными связями ( $-\text{C}=\text{O}_{\text{GC}} \cdots \text{H}-\text{O}_{\text{Quer}}$  и  $-(\text{H})\text{O} \cdots \text{H}-\text{O}-$ ) и гидрофобными взаимодействиями, что было ранее подтверждено ИК-спектроскопией [7, 8].

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Методом изомолярных серий установлен состав молекулярного комплекса GC и Quer, равный 1:2, соответственно.
2. На основе изомолярных кривых рассчитана константа устойчивости комплекса, равная  $(8,4 \pm 0,7) \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$ .

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 18-43-920002 p\_a).*

#### Список литературы

1. 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.
2. Толстикова Т.Г. На пути к низкодозным лекарствам / Т.Г. Толстикова, А.Г. Толстиков, Г. А. Толстиков // Вестник РАН. – 2007. – Т. 77, № 10. – С. 867–874.
3. Молекулярные комплексы тритерпеновых гликозидов плюща и солодки с доксорубицином / Л. А. Яковишин, В. И. Гришконец, А. В. Клименко [и др.] // Хим.-фарм. журн. – 2014. – Т. 48, № 6. – С. 37–40.

- Polyakov N.E. Glycyrrhizic acid as a novel drug delivery vector: synergy of drug transport and efficacy / N. E. Polyakov, T.V. Leshina // *Open Conf. Proc. J.* – 2011. – Vol. 2. – P. 64–72.
- 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. Attar-Rahman. – Amsterdam: Elsevier, 2018. – Vol. 55. – Chapter 11. – P. 351–383.
- Солодка: Биоразнообразие, химия, применение в медицине / Г.А. Толстикова, Л.А. Балтина, В. П. Гранкина [и др.]. – Новосибирск: Гео, 2007. – 311 с.
- Яковшин Л.А. Молекулярный комплекс кверцетина с глицирамом: получение и ИК-Фурье-спектроскопический анализ / Л.А. Яковшин, Е.Н. Корж, В.И. Гришковец // *Ученые записки Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского. Биология. Химия.* – 2018. – Т. 4 (70), № 3. – С. 247–254.
- Yakovishin L.A. Molecular complex of quercetin with glycyram / L.A. Yakovishin, E.N. Korzh // *AIP Conference Proceeding.* – 2019. – Vol. 2063. – P. 040066.
- Яковшин Л.А. Взаимодействие кверцетина с холестерином / Л.А. Яковшин, Е.Н. Корж, В. И. Гришковец // *Ученые записки Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского. Биология. Химия.* – 2018. – Т. 4 (70), № 4. – С. 328–336.
- Гринёв В.С. Фрагментация кверцетина и нарингенина, а также фотоиндуцируемые процессы в условиях лазерной десорбции и ионизации / В.С. Гринёв, С.А. Коннова, В.В. Игнатов // *Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология.* – 2016. – Т. 16, вып. 4. – С. 433–438.
- Synergism of antioxidant action of vitamins E, C and quercetin is related to formation of molecular associations in biomembranes / G. Fabre, I. Bayach, K. Berka [et al.] // *Chem. Commun. (Camb.).* – 2015. – Vol. 51, № 36. – P. 7713–7716.
- Study of interaction between metal ions and quercetin / T.S. de Castilho, T.B. Matias, K.P. Nicolini, J. Nicolini // *Food Sci. Hum. Well.* – 2018. – Vol. 7, № 3. – P. 215–219.
- Liu Y. Studies on transition metal-quercetin complexes using electrospray ionization tandem mass spectrometry / Y. Liu, M. Guo // *Molecules.* – 2015. – Vol. 20, № 5. – P. 8583–8594.
- Host-guest complexes of carotenoids with  $\beta$ -glycyrrhizic acid / N.E. Polyakov, T.V. Leshina, N. F. Salakhutdinov, L.D. Kispert // *J. Phys. Chem. B.* – 2006. – Vol. 110, № 13. – P. 6991–6998.
- Поляков Н.Э. Некоторые аспекты реакционной способности каротиноидов. Окислительно-восстановительные процессы и комплексообразование / Н.Э. Поляков, Т.В. Лёшина // *Успехи химии.* – 2006. – Т. 75, № 12. – С. 1175–1192.
- Бабко А.К. Физико-химический анализ комплексных соединений в растворах / А. К. Бабко. – К.: Изд-во АН УССР, 1955. – 328 с.

## MOLECULAR COMPLEX OF QUERCETIN WITH GLYCYRAM: SPECTROPHOTOMETRIC ANALYSIS

*Yakovishin L. A.<sup>1</sup>, Grishkovets V. I.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Sevastopol State University, Sevastopol, Crimea, Russia*

<sup>2</sup>*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation*

*E-mail: chemseventu@rambler.ru*

Quercetin (Quer) is one of the most famous flavonols. Quer was founded in different plants. Quer has P-vitamin activity and exhibits antioxidant, anti-inflammatory, antispasmodic, antisclerotic, diuretic, and antitumor effects. Triterpene glycoside glycyram (monoammonium glycyrrhizinate, GC) is an anti-inflammatory and antiallergic drug.

The complexation of GC with Quer in solution (solvent: 1 : 9 mixture of 96 % EtOH and aqueous phosphate buffer  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{--NaH}_2\text{PO}_4$  with pH 7.2 (v/v)) at 21 °C was investigated by spectrophotometric method. Absorption spectrum of isomolar series for

GC–Quer mixture has isobestic points at 234 and 281 nm. It was shown that GC and Quer forms a 1 : 2 complex, having a stability constant  $K_{GC-Quer} = (8,4 \pm 0,7) \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$  (at  $\lambda = 369$  nm). In the previously obtained complexes of GC with biomolecules and drugs, stability constants were of the order of  $10^3$ – $10^5 \text{ M}^{-1}$ .

It is possible that, in the complex of GC with Quer, the Quer–Quer dimer due to stacking interactions binds to the GC molecule. Hetero-association in the complex can be caused by hydrogen bonds ( $-\text{C}=\text{O}_{GC} \cdots \text{H}-\text{O}_{Quer}$  and  $-(\text{H})\text{O} \cdots \text{H}-\text{O}-$ ) and hydrophobic interactions. It was previously confirmed by ATR FTIR spectroscopy.

**Keywords:** quercetin, glycyrrhizic acid, glycyram, supramolecular complex, spectrophotometry, stability constant.

### References

1. 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).
2. Tolstikova T.G., Tolstikov A.G., Tolstikov G.A., On the way to low-dose drugs, *Vestnik RAN*, **77** (10), 867 (2007). (in Russ.).
3. 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.).
4. Polyakov N.E., Leshina T.V., Glycyrrhizic acid as a novel drug delivery vector: synergy of drug transport and efficacy, *Open Conf. Proc. J.*, **2**, 64 (2011).
5. 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, 2018).
6. Tolstikov G.A., Baltina L.A., Grankina V.P., Kondratenko R.M., Tolstikova T.G., *Licorice: Biodiversity, chemistry, and application in medicine*, 311 p. (Geo, Novosibirsk, 2007). (in Russ.).
7. Yakovishin L.A., Korzh E.N., Grishkovets V.I., Molecular complex of quercetin with glycyram: preparation and IR Fourier spectroscopic analysis, *Scientific Notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*, **4** (3), 247 (2018). (in Russ.).
8. Yakovishin L.A., Korzh E.N., Molecular complex of quercetin with glycyram, *AIP Conference Proceeding*, **2063**, 040066 (2019).
9. Yakovishin L.A., Korzh E.N., Grishkovets V.I., Interaction of quercetin with cholesterol, *Scientific Notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*, **4** (4), 328 (2018). (in Russ.).
10. Grinev V.S., Konnova S.A., Ignatov V.V., Fragmentation of quercetin and naringenin and photoinduced processes under laser desorption/ionization conditions, *Izvestiya of Saratov University. New series. Series: Chemistry. Biology. Ecology*, **16** (4), 433 (2016). (in Russ.).
11. Fabre G., Bayach I., Berka K., Palonc'ová M., Starok M., Rossi C., Duroux J.L., Otyepka M., Trouillas P., Synergism of antioxidant action of vitamins E, C and quercetin is related to formation of molecular associations in biomembranes, *Chem. Commun. (Camb.)*, **51** (36), 7713 (2015).
12. de Castilho T.S., Matias T.B., Nicolini K.P., Nicolini J., Study of interaction between metal ions and quercetin, *Food Sci. Hum. Well.*, **7** (3), 215 (2018).
13. Liu Y., Guo M., Studies on transition metal-quercetin complexes using electrospray ionization tandem mass spectrometry, *Molecules*, **20** (5), 8583 (2015).
14. Polyakov N.E., Leshina T.V., Salakhutdinov N.F., Kispert L.D., Host-guest complexes of carotenoids with  $\beta$ -glycyrrhizic acid, *J. Phys. Chem. B.*, **110** (13), 6991 (2006).
15. Polyakov N.E., Leshina T.V., Certain aspects of the reactivity of carotenoids. Redox processes and complexation, *Russ. Chem. Rev.*, **75** (12), 1175 (2006). (in Russ.).
16. Babko A.K., *Physico-chemical analysis of complex compounds in the solutions*, 328 p. (Izd-vo AN USSR, Kiev, 1955). (in Russ.).