

УДК 542.06:542.61:542:46.808:542.97:542.93

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ КОМПЛЕКСОВ ГЛИЦИРРЕТИНОВОЙ КИСЛОТЫ СО СТРЕПТОМИЦИНОМ

© *Е.В. Ветрова, Н.И. Борисенко*, А.В. Лекарь, Е.В. Максименко, С.Н. Борисенко, С.С. Хизриева*

*НИИ физической и органической химии Южного федерального
университета, пр. Стачки, 194/2, Ростов-на-Дону, 344090 (Россия),
e-mail: boni@ipoc.rsu.ru*

Впервые изучены комплексы глицирретиновой кислоты (ГЛК) с антибиотиком стрептомицином (СТ). Комплексы получены при различных мольных соотношениях «хозяин – ГЛК: гость – СТ»: 1 : 1, 2 : 1, 3 : 1 и 4 : 1, изучены как с использованием спектрофотометрии, так и методом масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением. С увеличением концентрации ГЛК с использованием спектрофотометрии зарегистрирован bathochromic сдвиг максимума поглощения СТ (203 → 210 нм) и формирование дополнительного пика (260–273 нм) в спектре поглощения СТ, что указывает на образование супрамолекулярных комплексов различной стехиометрии глицирретиновой кислоты с антибиотиком стрептомицином. С использованием масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением зарегистрированы сигналы гетерокомплексов nГЛК-СТ, содержащих ГЛК и СТ в соотношении 1 : 1, 2 : 1, 3 : 1 и 4 : 1 соответственно. Показано, что с ростом концентрации ГЛК происходит укрупнение супрамолекулярных структур за счет увеличения количества молекул ГЛК в его составе.

Представленные данные могут быть использованы при разработке новой лекарственной формы стрептомицина на основе супрамолекулярных комплексов с ГЛК.

Ключевые слова: глицирретиновая кислота, стрептомицин, супрамолекулярные комплексы, спектрофотометрия, масс-спектрометрия с ионизацией электрораспылением.

Введение

Пентациклическая тритерпеноидная β-амириновая 18β-глицирретиновая кислота (18β-GA), также известная как эноксолон, встречается в природе вместе с 18α-эпимером (18α-GA) в виде агликона глицирризиновой кислоты (рис. 1), содержащейся в лакричнике *Glycyrrhiza glabra* L. По аналогии с тритерпеновым сапонином глицирризиновой кислотой (ГК) ГЛК оказалась в центре научного интереса из-за высокой фармакологической активности [1]. Обладая противовоспалительной, противовирусной активностью, способностью активировать иммунную систему, ГЛК все чаще находит применение в качестве дополнительных или альтернативных медицинских ингредиентов для укрепления здоровья и лечения различных заболеваний [2–8]. Уникальные комплексообразующие свойства глицирризиновой кислоты успешно используются в разработке новых лекарственных форм на основе молекулярных комплексов с фармаконами, которые позволяют увеличить эффективность и безопасность традиционных лекарственных

Ветрова Елена Владимировна – кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник,
e-mail: vetrova-ev@yandex.ru

Борисенко Николай Иванович – доктор химических наук, главный научный сотрудник, e-mail: boni@ipoc.rsu.ru

Лекарь Анна Владимировна – младший научный сотрудник, e-mail: lekaann@mail.ru

Максименко Елена Владимировна – младший научный сотрудник, e-mail: maksimenkoev52@mail.ru

Борисенко Сергей Николаевич – кандидат химических наук, старший научный сотрудник,
e-mail: sergio_rnd@mail.ru

Хизриева Салима Салимовна – аспирант,
e-mail: sallima1789@gmail.com

препаратов, отпускаемых по рецепту [9, 10]. Потенциал использования ГЛК для транспортировки лекарственных препаратов и образования новых лекарственных форм менее изучен, но ГЛК также находит применение в получении новых эффективных фармакологических субстанций с противовирусной, антибактериальной или антираковой активностью [11–14].

Известно, что ГЛК образуется в результате гидролиза ГК [15] и имеет дополнительный активный центр в виде гидроксильной группы,

* Автор, с которым следует вести переписку.

высвобождаемый в результате отделения гликозидов. Ранее [16] показано, что по аналогии с тритерпеновыми сапонинами со свободными карбоксильными группами стереоизомеры ГЛК способны образовывать многомерные автоассоциаты (от 1 до 8 молекул для 18 α -ГЛК и от 1 до 9 молекул для 18 β -ГЛК) и могут быть использованы как потенциальные полидентантные лиганды, образующие с известными лекарственными препаратами супрамолекулярные комплексы различной стехиометрии [17].

Целью данной работы был синтез комплексов ГЛК с антибиотиком СТР и изучение состава полученных супрамолекулярных структур. Комплексы ГЛК с антибиотиком СТР представляют интерес для создания новой молекулярной формы антибактериального препарата.

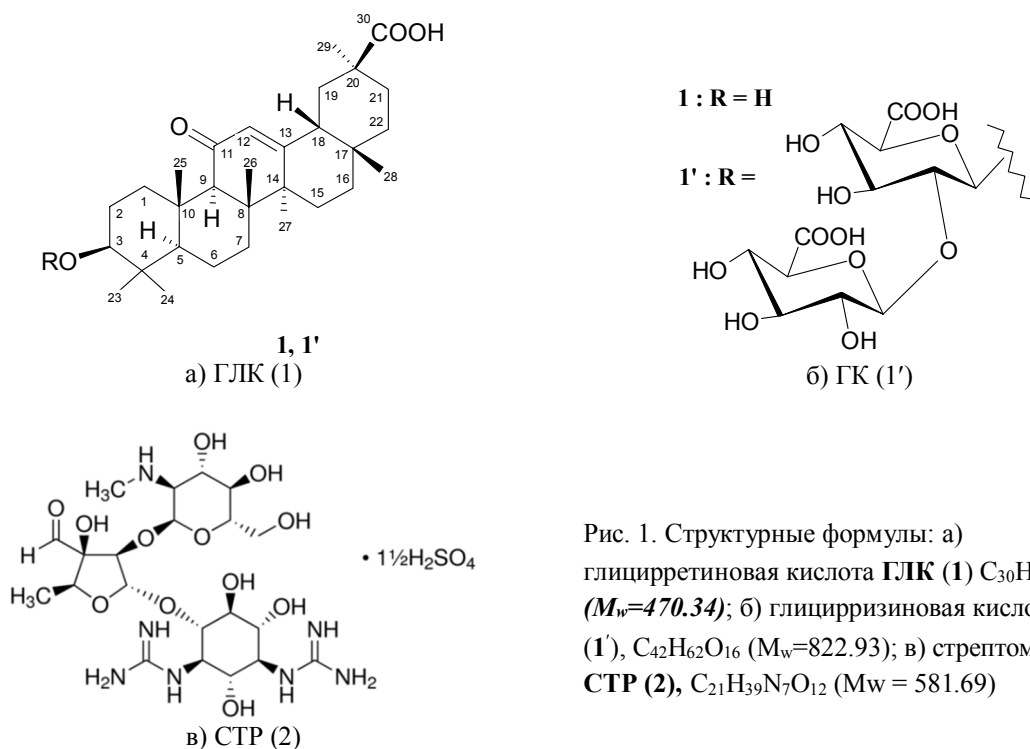


Рис. 1. Структурные формулы: а) глицирретиновая кислота ГЛК (1) $C_{30}H_{46}O_4$ ($M_w=470.34$); б) глицирризиновая кислота ГК (1'), $C_{42}H_{62}O_{16}$ ($M_w=822.93$); в) стрептомицин СТР (2), $C_{21}H_{39}N_7O_{12}$ ($M_w = 581.69$)

Актуальность представленных исследований обусловлена тем, что антибиотик СТР (рис. 1) эффективен при лечении самых различных инфекционных заболеваний. Однако использование СТР сопровождается сильными побочными эффектами, также для антибиотика характерно чрезвычайно быстрое привыкание к нему бактерий и выработкой стрептомициноустойчивых форм, что приводит к необходимости повышения доз препарата и усилению негативных эффектов [18, 19]. Решением данной проблемы может быть создание новой формы антибактериального препарата [20–22] в виде комплексов с ГЛК, что позволит снизить побочные эффекты и увеличить фармацевтическую активность недорого и эффективного препарата. С другой стороны, известно, что ГЛК усиливает действие ряда антибактериальных препаратов и приводит к уменьшению резистентности некоторых бактериальных штаммов к широко используемым антибиотикам [23, 24].

Экспериментальная часть

Для исследований использовали 18 β -ГЛК производства «Aldrich», стрептомицин (аптечный препарат, производитель ОАО «Биохимик») и растворители фирмы Merck, квалификации HPLC/MS.

Комплексы получены путем традиционного смешивания растворов с различным мольным соотношением ГЛК и СТР в 10% водно-спиртовом растворе. Для получения комплексов использовали водный раствор СТР и спиртовой раствор ГЛК (этанол или метанол). При изучении комплексов содержание СТР во всех образцах составило 0.1 мМ.

Эффективность комплексообразования ГЛК с СТР регистрировали с помощью УФ/Вид-спектроскопии на спектрофотометре СПЕКС ССП 705 (190–1100 нм) (производитель ЗАО «Спектроскопические системы», РФ). О формировании комплекса судили по изменению оптической плотности СТР = 0.1 мМ. Для исключения вклада поглощения самой ГЛК, ее спектр поглощения вычитался из суммарного спектра. Измерения выполнены в кварцевой кювете.

Состав супрамолекулярных комплексов ГЛК и СТР исследовали при прямом вводе на масс-спектрометре Bruker Daltonics micrOTOF-Q с ионизацией электрораспылением (ИЭР). Для анализа результатов использовали программное обеспечение micrOTOFcontrolTM2.2. Калибровка масс-спектрометра выполнена с использованием калибровочного раствора для электрораспыления (Electrospray Calibrant Solution) фирмы Fluka. Детектирование отрицательных и положительных ионов выполнено в интервале m/z от 50 до 3000. Напряжение на капилляре распылителя ± 4200 В, параметры газа-осушителя (азот квалификации «осч», 5 л/мин, 200 °С) и энергия ионов на квадруполе (5.0 эВ) оптимизированы для детектирования пиков ассоциатных ионов.

Результаты и обсуждение

В данной работе впервые синтезированы и изучены методами масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением и УФ/Вид-спектроскопии комплексы ГЛК с антибиотиком СТР, при различных мольных соотношениях «ГЛК : СТР».

В УФ-спектрах поглощения СТР (рис. 2) при добавлении различных концентраций ГЛК регистрировали батохромный сдвиг максимума поглощения антибиотика (λ_{max1}) от 203 нм (при ГЛК=0 мМ) до 210 нм (ГЛК=0.9 мМ), что свидетельствует об изменении микроокружения СТР и формирование комплекса ГЛК-СТР. Кроме того, с ростом концентрации ГЛК в спектре поглощения СТР наблюдали формирование дополнительного пика в области 260–270 нм. При добавлении 0.05 мМ ГЛК появилось плечо, а при увеличении концентрации до 0.4 мМ и выше регистрировали смещение пика поглощения до 270 нм. Дальнейшее увеличение концентрации ГЛК приводило к смещению λ_{max2} в длиноволновую область, и при концентрации 0.9 мМ максимум поглощения достиг 273 нм. Зарегистрированные изменения в спектре поглощения СТР в области 260–270 нм могут быть обусловлены связыванием СТР с участием многомерных структур ГЛК (табл. 1). Сдвиг максимума поглощения СТР в длиноволновую область и формирование дополнительного пика в спектре поглощения СТР указывает на различную стехиометрию супрамолекулярных структур, эффективность образования которых увеличивается с ростом концентрации ГЛК в соотношении «хозяин : гость».

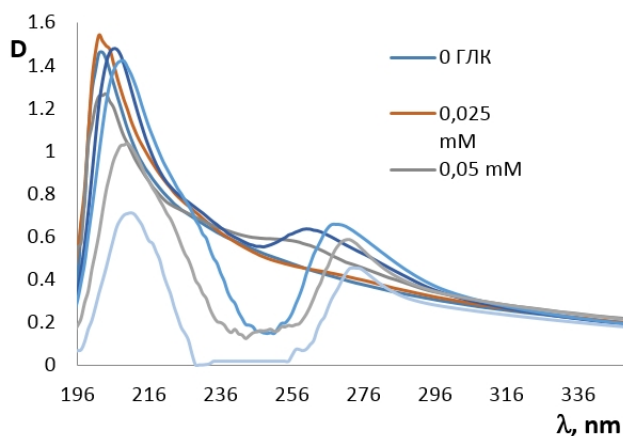


Рис. 2. УФ-спектры поглощения СТР ($C_{СТР}=0.1$ мМ) при разных концентрациях ГЛК. Спектры СТР являются разностными спектрами поглощения смеси СТР и ГЛК и спектра ГЛК в заданной концентрации

Таблица 1. Характеристики спектра поглощения СТР ($C_{СТР}=0.1$ мМ) при разных концентрациях ГЛК

СГЛК, мМ	λ_{max1} , нМ	D	λ_{max2} , нМ	D
0	203	1.46	–	–
0.025	202	1.54	–	–
0.05	204	1.27	256 (плечо)	0.59
0.2	206	1.48	260	0.64
0.4	206	1.42	268	0.66
0.6	210	1.04	272	0.59
0.9	211	0.71	273	0.45

Для расчета константы стабильности комплексов применили формулу Бенеси-Хилдебранда (1) (Benesi-Hildebrand plot) [10]. Константу стабильности комплекса nГЛК-СТР оценивали по изменению величин оптической плотности СТР ($\lambda_{\max} = 203$ нм) при его фиксированной концентрации в растворах, в которых варьировали концентрации ГЛК. Формула (1) применима при условии, что концентрация СТР меньше концентрации ГЛК и позволяет в рамках одного эксперимента не только оценить константу стабильности комплекса (K), но и определить стехиометрическое соотношение «хозяин: гость» (n) в составе комплекса

$$D/\Delta D - 1 = 1/[\text{ГЛК}]^n \cdot 1/K, \quad (1)$$

где $\Delta D = \Delta \epsilon \cdot [C_{\text{СТР}}]$ – изменение оптической плотности раствора, а K – константа стабильности комплекса, определяемая для реакции:



$$K = \frac{[\text{СТР} - n\text{ГЛК}]}{[\text{СТР}] \cdot [n\text{ГЛК}]}$$

При построении графика $D/\Delta D$ от $1/[\text{ГЛК}]^n$ на участке роста 0.2–0.9 мМ ГЛК получили удовлетворительную линейную зависимость для $n = 2$. Из наклона прямой $D/\Delta D$ (рис. 3) в зависимости от $1/[\text{ГЛК}]^2$ по формуле (1) рассчитана константа стабильности комплекса - $1/K = 7 \cdot 10^{-7} \text{ M}^2$, $K = 1.4 \cdot 10^8 \text{ M}^{-2}$.

Ранее было показано, что ГЛК активно образует самоассоциаты в растворе [16]. Можно предположить, что наблюдаемый сдвиг полос поглощения СТР в длинноволновую область, а также появление нового пика поглощения в области 260–270 нм с ростом концентрации ГЛК, указывают на то, что происходит укрупнение автоассоциатов ГЛК и их нековалентное связывание с СТР, с образованием гетерокомплексов, включающих автоассоциаты ГЛК и СТР.

Для доказательства этого предположения состав комплексов ГЛК и СТР для образцов с различным мольным соотношением изучен с использованием масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением (МС ИЭР) (табл. 2). Анализ масс-спектрометрических пиков стандартов ГЛК и СТР показал, что ионизация комплексов nГЛК-СТР наиболее эффективна с образованием положительных ионов.

Как следует из таблицы 2, масс-спектр стандарта ГЛК в режиме положительных ионов демонстрирует набор легко идентифицируемых пиков. Наиболее более эффективно образуются протонированные ионы мономера $[\text{M}^{\text{ГЛК}} + \text{H}]^+$ с m/z 471, который регистрируется как основной пик в масс-спектре стандарта ГЛК. Масс-спектр стандарта ГЛК демонстрирует пик, принадлежащий протонированным ионам димера $[2\text{M}^{\text{ГЛК}} + \text{H}]^+$ с m/z 942. Относительная интенсивность пика димера $[2\text{M}^{\text{ГЛК}} + \text{H}]^+$ в 3 раза меньше пика мономера $[\text{M}^{\text{ГЛК}} + \text{H}]^+$. Масс - спектр также содержит пики гетерокластеров $[\text{M}^{\text{ГЛК}} + \text{Na}]^+$ с m/z 493.47 и гетерокластера $[\text{M}^{\text{ГЛК}} + \text{K}]^+$ с m/z 509.44. При этом, как уже отмечалось ранее [16], регистрируются также сигналы самоассоциатов nГЛК с $n = 2-4$.

Напротив, масс-спектр стандарта СТР (табл. 2) является более сложным, поскольку СТР имеет две гуанидиновые группы, которые благоприятствуют генерации многозарядных ионов [25]. Соответственно, в масс-спектре стандарта СТР, снятого в метаноле, как основной пик регистрируется пик двухзарядного иона аддукта СТР и метанола $[\text{M}^{\text{СТР}} + \text{CH}_3\text{OH} + 2\text{H}]^{2+}$ (m/z 307.75). Вторым по величине интенсивности (44%) в спектре стандарта СТР является пик двухзарядного иона $[\text{M}^{\text{СТР}} + 2\text{H}]^{2+}$ (m/z 292). Третьим по величине интенсивности (34%) регистрируется пик однозарядного иона $[\text{M}^{\text{СТР}} + \text{CH}_3\text{OH} + \text{H}]^+$ (m/z 614). Кроме того, в масс-спектре СТР регистрируется пик однозарядного иона $[\text{M}^{\text{СТР}} + \text{H}]^+$ (m/z 582), а также пики одно- и двухзарядных ионов гидратированной альдегидной группы $(\text{M}^{\text{СТР}} + \text{H}_2\text{O} + \text{H})^+$ и $[\text{M}^{\text{СТР}} + \text{H}_2\text{O} + 2\text{H}]^{2+}$ (m/z : 600 и 301, соответственно). В масс-спектрах комплексов ГЛК-СТР для образцов с различным мольным соотношением наиболее интенсивным является пик двухзарядного иона аддукта СТР и метанола $[\text{M}^{\text{СТР}} + \text{CH}_3\text{OH} + 2\text{H}]^{2+}$ (m/z : 307.75). При этом во всех масс-спектрах регистрируются пики двухзарядных ионов с m/z 526.98, соответствующие комплексу $[\text{M}^{\text{ГЛК}} + \text{M}^{\text{СТР}} + 2\text{H}]^{2+}$, содержащих 1 ГЛК и 1 СТР. Относительная интенсивность этого пика составила порядка 10% от интенсивности мажорного пика аддукта СТР и метанола. При этом увеличение мольной доли ГЛК в комплексе от 1 до 2 молей приводит к росту интенсивности с 8.8 до 12.7%. Кроме того, пики двухзарядных ионов гетерокомплексов ГЛК с аддуктами метанола (m/z : 543.00 и 778.23, соответственно), регистрируются и относятся к $[\text{M}^{\text{ГЛК}} + \text{M}^{\text{СТР}} + \text{CH}_3\text{OH} + 2\text{H}]^{2+}$ и $[2\text{M}^{\text{ГЛК}} + \text{M}^{\text{СТР}} + \text{CH}_3\text{OH} + 2\text{H}]^{2+}$. Относительная интенсивность пиков составила 43.78% и 23.41% соответственно.

Рис. 3. Зависимость изменения оптической плотности при длине волны 203 нм в спектре поглощения СТР в зависимости от концентрации ГЛК. Построение графика $D/\Delta D$ от $1/[\text{ГЛК}]^n$ на участке роста (0.2–0.9 мМ ГЛК) для различных значений параметра n дало достоверную линейную зависимость для $n = 2$

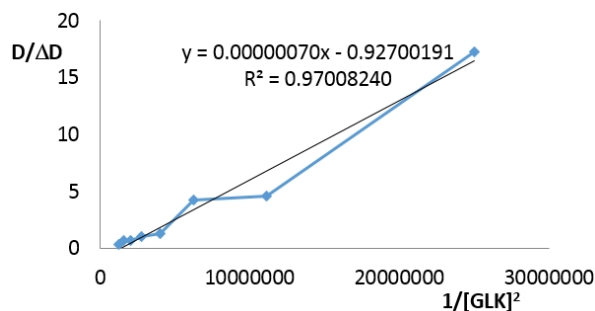


Таблица 2. Характерные ионы в масс-спектрах положительных ионов для комплексов ГЛК и СТР с мольным соотношением «хозяин : гость»

m/z наблюдаемая	Состав иона	I _{станд.} %	I, % 4 : 1	I, % 3 : 1	I, % 2 : 1	I, % 1 : 1
Глицирретиновая кислота (ГЛК) (M _w =470.34) (70% MeOH)						
471.48	[M ^{ГЛК} +H] ⁺	100	12.38	11.02	9.52	4.47
493.47	[M ^{ГЛК} +Na] ⁺	75.45	14.99	6.63	6.95	1.14
509.44	[M ^{ГЛК} +K] ⁺	39.44	3.35	2.85	3.68	0.73
941.92	[2M ^{ГЛК} +H] ⁺	34.59	–	–	–	–
1450.38	[3M ^{ГЛК} +K] ⁺	7.0	–	–	–	–
1434.00	[3M ^{ГЛК} +Na] ⁺	66.6	4.28	1.83	–	–
1904.87	[4M ^{ГЛК} +Na] ⁺	29.32	–	–	–	–
Стрептомицин (СТР) (M _w =581.69) (70% MeOH)						
291.73	[M ^{СТР} +2H] ²⁺	44.30	15.08	16.88	15	19.43
300.73	[M ^{СТР} +H ₂ O+2H] ²⁺	3.11	1.9	2.47	2.33	2.03
307.75	[M ^{СТР} +CH ₃ OH+2H] ²⁺	100	100	100	100	100
582.45	[M ^{СТР} +H] ⁺	8.43	2.99	1.78	2.92	2.59
600.47	[M ^{СТР} +H ₂ O+H] ⁺	3.65	1.52	1.43	1.23	1.06
614.48	[M ^{СТР} +CH ₃ OH+H] ⁺	33.53	23.88	29.17	28.2	36.49
Супрамолекулярные комплексы (nГЛК:СТР) (70% MeOH)						
526.98	[M ^{ГЛК} + M ^{СТР} +2H] ²⁺		13.09	11.32	12.66	8.83
543.00	[M ^{ГЛК} + M ^{СТР} +CH ₃ OH+2H] ²⁺		43.78	39.66	46.06	28.03
677.96	[3M ^{ГЛК} + M ^{СТР} +K+2H] ³⁺		3.23	1.11	1.4	0.28
778.23	[2M ^{ГЛК} + M ^{СТР} +CH ₃ OH +2H] ²⁺		23.41	19.28	19.21	7.23
797.20	[2M ^{ГЛК} + M ^{СТР} +CH ₃ OH+K+H] ²⁺		–	0.85	1.49	2.63
845.49	[4M ^{ГЛК} + M ^{СТР} +CH ₃ OH+K+2H] ³⁺		1.68	1.47	1.76	0.24
1013.97	[3M ^{ГЛК} + M ^{СТР} + CH ₃ OH +2H] ²⁺		7.54	5.72	5.39	1.42
1032.49	[3M ^{ГЛК} + M ^{СТР} + CH ₃ OH +K+H] ²⁺		2.22	2.19	2.91	2.14
1084.99	[M ^{ГЛК} + M ^{СТР} +CH ₃ OH+H] ⁺		2.06	3.0	2.59	3.8

Наряду с пиками для гетерокомплексов, включающих 1 ГЛК ([M^{ГЛК} + M^{СТР} + CH₃OH + 2H]²⁺) и 2 ГЛК ([2M^{ГЛК} + M^{СТР} + CH₃OH + 2H]²⁺) на 1 СТР, регистрируются пики для гетерокомплексов включающих 3 ГЛК ([3M^{ГЛК} + M^{СТР} + CH₃OH + 2H]²⁺) и 4 ГЛК ([4M^{ГЛК} + M^{СТР} + CH₃OH + 2H]²⁺) на 1 СТР.

Таким образом, в спектрах ИЭР МС обнаружены пики ионов нековалентных комплексов СТР + nГЛК, состоящих из 1 молекулы СТР и 1–4 молекул ГЛК, соответственно.

Результаты исследований демонстрируют высокий потенциал ГЛК в создании новых форм антибактериального препарата стрептомицина в виде молекулярных комплексов.

С другой стороны, использованная в работе техника ИЭР МС позволяет быстро и однозначно фиксировать образование комплексов ГЛК и СТР, что может иметь перспективу в задачах анализа новых лекарственных форм.

Заключение

Таким образом, в представленной работе впервые синтезированы и изучены комплексы ГЛК с широкоиспользуемым антимикробным препаратом стрептомицином, полученные при различных концентрациях «хозяина» и «гостя».

С использованием масс-спектрометрии зарегистрировано эффективное взаимодействие ГЛК и СТР с образованием набора гетерогенных супрамолекулярных структур с различным соотношением «хозяин : гость». В спектрах ИЭР МС обнаружены пики ионов нековалентных комплексов СТР + пГЛК, состоящих из 1 молекулы СТР и 1–4 молекул ГЛК соответственно.

Зарегистрированные изменения в спектре поглощения СТР в присутствии ГЛК с помощью УФ-спектроскопии доказывают формирование гетерогенных комплексов ГЛК-СТР в жидкой фазе. Из данных УФ/Вид-спектроскопии следует, что молекулы СТР и ГЛК формируют молекулярные комплексы состава СТР+2ГЛК с константой стабильности $K = 1.4 \cdot 10^8 \text{ M}^{-2}$.

Список литературы

1. Wang X., Zhang H., Chen L., Shan L., Fan G., Gao X. Liquorice, a unique 'guide drug' of traditional Chinese medicine: a review of its role in drug interactions // *Journal of Ethnopharmacology*. 2013. Vol. 150. N3. Pp. 781–790.
2. Kim J., Joo I., Kim H., Han Y. 18 β -Glycyrrhetic acid induces immunological adjuvant activity of Th1 against *Candida albicans* surface mannan extract // *Phytomedicine*. 2013. Vol. 20. N11. Pp. 951–955.
3. Arjumand W., Sultana S. Glycyrrhizic acid: a phytochemical with a protective role against cisplatin-induced genotoxicity and nephrotoxicity // *Life Sciences*. 2011. Vol. 89. N13–14. Pp. 422–429.
4. Akamatsu H., Komura J., Asada Y., Niwa Y. Mechanism of anti-inflammatory action of glycyrrhizin: effect on neutrophil functions including reactive oxygen species generation // *Planta Medica*. 1991. Vol. 57. N2. Pp. 119–121.
5. Nishino H., Kitagawa K., Iwashima A. Antitumor-promoting activity of glycyrrhetic acid in mouse skin tumor formation induced by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene plus teleocidin // *Carcinogenesis*. 1984. Vol. 5. N11. Pp. 1529–1530.
6. Baltina L.A., Budaev A.S., Mikhailova L.R., Baltina L.A. (jr.), Spirikhin L.V., Makara N.S., Zarudii F.S. New stereoisomeric Glycyrrhetic acid derivatives and their hypoglycemic activity // *Chemistry of Natural Compounds*. 2014. Vol. 50. N6. Pp. 1042–1046.
7. Salakhutdinov B.A., Dalimov D.N., Aripov T.F., Tukfatullina I.I., Ziyatdinova R.Kh., Dzshuraev A.Zh., Kamaev F.G., Izotova L.Yu., Ibragimov B.T., Mavridis I., Giastas P. Synthesis, Structure, and Membrane Activity of New Glycyrrhetic Acid Derivatives // *Chemistry of Natural Compounds*. 2002. Vol. 38. N3. Pp. 249–256.
8. Park H., Park S., Yoon H., Han M.J., Kim D. Anti-allergic activity of 18 β -glycyrrhetic acid-3-O- β -D-glucuronide // *Archives of Pharmacal Research*. 2004. Vol. 27. N1. Pp. 57–60.
9. Bernela M., Ahuja M., Thakur R. Enhancement of anti-inflammatory activity of glycyrrhizic acid by encapsulation in chitosan-katira gum nanoparticles // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2016. Vol. 105. Pp. 141–147.
10. Vavilin V.A., Salakhutdinov N.F., Ragino Yu.I., Polyakov N.E., Taraban M.B., Leshina T.V., Stakhneva E.M., Lyakhovich V.V., Nikitin Yu.P., Tolstikov G.A. The Cholesterol Lowering Properties of the Complex Compound Simvastatin with Glycyrrhizic Acid (Simvaglyzin) in Experimental Models // *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry*. 2008. Vol. 2. N4. Pp. 373–380.
11. Guo W., Yan M., Xu B., Chu F., Wang W., Zhang Ch., Jia X., Han Y., Xiang H., Zhang Y., Wang P., Lei H. Design, synthesis, and biological evaluation of the novel glycyrrhetic acid-cinnamoyl hybrids as anti-tumor agents // *Chemistry Central Journal*. 2016. Vol. 10. N78. DOI: 10.1186/s13065-016-0222-8
12. Vetrova E.V., Borisenko N.I., Filonova O.V. Mass Spectrometry of Self-Assembled Supramolecular Structures of Glycyrrhetic Acid with Benzimidazole // *Chemistry of Natural Compounds*. 2016. Vol. 52. N2. Pp. 262–265.
13. Zhao X., Fan Y., Wang D., Hu Y., Guo L., Ruan S. Immunological adjuvant efficacy of glycyrrhetic acid liposome against Newcastle disease vaccine // *Vaccine*. 2011. Vol. 29. N52. Pp. 9611–9617.
14. Li X., Hu J., Wang B., Sheng L., Liu Z., Yang Sh., Li Y. Inhibitory effects of herbal constituents on P-glycoprotein in vitro and in vivo: Herb–drug interactions mediated via P-gp // *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2014. Vol. 275. N2. Pp. 163–175.
15. Lekar A.V., Borisenko S.N., Vetrova E.V., Filonova O.V., Maksimenko E.V., Borisenko N.I., Minkin V.I. Study of an Acid-Free Technique for the Preparation of Glycyrrhetic Acid from Ammonium Glycyrrhizinate in Subcritical Water // *Natural Product Communications*. 2015. Vol. 10. N11. Pp. 1801–1803.
16. Borisenko S.N., Lekar A.V., Vetrova E.V., Filonova O.V., Borisenko N.I. A Mass Spectrometry Study of the Self-Association of Glycyrrhetic Acid Molecules // *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2016. Vol. 42. N7. Pp. 32–36.
17. Vetrova E.V., Lekar A.V., Filonova O.V., Borisenko S.N., Maksimenko E.V., Borisenko N.I. Mass spectrometry of self-organizing supramolecular structures of glycyrrhetic acid and levomycetin // *Chemistry of Natural Compounds*. 2015. Vol. 51. N3. Pp. 500–504.
18. Wrzesniok D., Beberok A., Otreba M., Buszman E. Effect of streptomycin on melanogenesis and antioxidant status in melanocytes // *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2013. Vol. 383. N1–2. Pp. 77–84.
19. Nurkeeva Z.S., Khutoryanskiy V.V., Mun G.A., Sherbakova M.V., Ivaschenko A.T., Aitkhozhina N.A. Polycomplexes of poly(acrylic acid) with streptomycin sulfate and their antibacterial activity // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2004. Vol. 57. N2. Pp. 245–249.

20. Ветрова Е.В., Лекарь А.В., Максименко Е.В., Хизриева С.С., Бугаева А.Ф., Борисенко Н.И. Масс-спектрометрия супрамолекулярных комплексов глицирризиновой кислоты и стрептомицина // Химия растительного сырья. 2016. №3. С. 27–34.
21. Silva W.F., Cecilio S.G., Magalhães C.L., Ferreira J.M., Tótolá A.H., de Magalhaes J.C. Combination of extracts from *Aristolochia cymbifera* with streptomycin as a potential antibacterial drug // SpringerPlus. 2013. Vol. 2. Article 430. DOI: 10.1186/2193-1801-2-430
22. Кондратенко Р.М., Балтина Л.А., Мустафина С.Р., Исмаилова А.Ф., Зарудий Ф.С., Давыдова В.А., Базекин Г.В., Сулейманова Г.Ф., Толстиков Г.А. Комплексные соединения глицирризиновой кислоты с противомикробными препаратами // Химико-фармацевтический журнал. 2003. Т. 37. №9. С. 32–35.
23. de Breij A., Karnaoukh T.G., Schrupf J., Niemstra P.S., Nibbering P.H., van Dissel J.T., de Visser P.C. The licorice pentacyclic triterpenoid component 18 β -glycyrrhetic acid enhances the activity of antibiotics against strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 2016. Vol. 35. N4. Pp. 555–562.
24. Maatooq G.T., Marzouk A.M., Gray A.I., Rosazza J.P. Bioactive microbial metabolites from glycyrrhetic acid // Phytochemistry. 2010. Vol. 71. N2–3. Pp. 262–270.
25. Alechaga E., Moyano E., Galcerana M.T. Simultaneous analysis of kasugamycin and streptomycin in vegetables by liquid chromatography-tandem mass spectrometry // Analytical Methods. 2015. Vol. 7. Pp. 3600–3607.

Поступила в редакцию 17 октября 2017 г.

После переработки 27 сентября 2018 г.

Принята к публикации 1 октября 2018 г.

Для цитирования: Ветрова Е.В., Борисенко Н.И., Лекарь А.В., Максименко Е.В., Борисенко С.Н., Хизриева С.С. Масс-спектрометрия комплексов глицирреതിновой кислоты со стрептомицином // Химия растительного сырья. 2019. №1. С. 119–126. DOI: 10.14258/jcrpm.20190143319.

Vetrova Ye.V., Borisenko N.I., Lekar' A.V., Maksimenko Ye.V., Borisenko S.N., Khizriyeva S.S. MASS SPECTROMETRY OF GLYCYRRETHENIC ACID COMPLEXES WITH STRIPTOMYCINES*

Research Institute of Physical and Organic Chemistry, Southern Federal University, pr. Stachki, 194/2, Rostov-on-Don, 344090 (Russia), e-mail: boni@ipoc.rsu.ru

For the first time, complexes of glycyrrhetic acid (GLA) with the antibiotic streptomycin (ST) have been studied. The complexes, obtained at different molar ratios of "host - GLA: guest - ST": 1 : 1, 2 : 1, 3 : 1 and 4 : 1, were studied using both spectrophotometry and electrospray ionization mass spectrometry. With increasing GLA concentration using spectrophotometry, the bathochromic shift of the maximum absorption of the MFR (203–210 nm) and the formation of an additional peak (260–273 nm) in the ST absorption spectrum are observed, indicating the formation of supramolecular complexes of different glycyrrhetic acid stoichiometry with streptomycin antibiotic. Using electrospray ionization mass spectrometry, signals of nGLK-ST heterocomplexes containing GLA and CTP in the ratio of 1 : 1, 2 : 1, 3 : 1 and 4 : 1 were recorded, respectively. It has been shown that with increasing GLA concentration, the supramolecular structures are enlarged due to an increase in the number of GLA molecules in its composition.

The presented data can be used in the development of a new dosage form of streptomycin based on supramolecular complexes with GLA.

Keywords: glycyrrhetic acid, streptomycin, supramolecular complexes, spectrophotometry, electrospray ionization mass spectrometry.

* Corresponding author.

References

1. Wang X., Zhang H., Chen L., Shan L., Fan G., Gao X. *Journal of Ethnopharmacology*, 2013, vol. 150, no. 3, pp. 781–790.
2. Kim J., Joo I., Kim H., Han Y. *Phytomedicine*, 2013, vol. 20, no. 11, pp. 951–955.
3. Arjumand W., Sultana S. *Life Sciences*, 2011, vol. 89, no. 13–14, pp. 422–429.
4. Akamatsu H., Komura J., Asada Y., Niwa Y. *Planta Medica*, 1991, vol. 57, no. 2, pp. 119–121.
5. Nishino H., Kitagawa K., Iwashima A. *Carcinogenesis*, 1984, vol. 5, no. 11, pp. 1529–1530.
6. Baltina L.A., Budaev A.S., Mikhailova L.R., Baltina L.A. (jr.), Spirikhin L.V., Makara N.S., Zarudii F.S. *Chemistry of Natural Compounds*, 2014, vol. 50, no. 6, pp. 1042–1046.
7. Salakhutdinov B.A., Dalimov D.N., Aripov T.F., Tukfatullina I.I., Ziyatdinova R.Kh., Dzhuraev A.Zh., Kamaev F.G., Izotova L.Yu., Ibragimov B.T., Mavridis I., Giastas P. *Chemistry of Natural Compounds*, 2002, vol. 38, no. 3, pp. 249–256.
8. Park H., Park S., Yoon H., Han M.J., Kim D. *Archives of Pharmacal Research*, 2004, vol. 27, no. 1, pp. 57–60.
9. Bernela M., Ahuja M., Thakur R. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2016, vol. 105, pp. 141–147.
10. Vavilin V.A., Salakhutdinov N.F., Ragino Yu.I., Polyakov N.E., Taraban M.B., Leshina T.V., Stakhneva E.M., Lyakhovich V.V., Nikitin Yu.P., Tolstikov G.A. *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry*, 2008, vol. 2, no. 4, pp. 373–380.
11. Guo W., Yan M., Xu B., Chu F., Wang W., Zhang Ch., Jia X., Han Y., Xiang H., Zhang Y., Wang P., Lei H. *Chemistry Central Journal*, 2016, vol. 10, no. 78, DOI: 10.1186/s13065-016-0222-8
12. Vetrova E.V., Borisenko N.I., Filonova O.V. *Chemistry of Natural Compounds*, 2016, vol. 52, no. 2, pp. 262–265.
13. Zhao X., Fan Y., Wang D., Hu Y., Guo L., Ruan S. *Vaccine*, 2011, vol. 29, no. 52, pp. 9611–9617.
14. Li X., Hu J., Wang B., Sheng L., Liu Z., Yang Sh., Li Y. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2014, vol. 275, no. 2, pp. 163–175.
15. Lekar A.V., Borisenko S.N., Vetrova E.V., Filonova O.V., Maksimenko E.V., Borisenko N.I., Minkin V.I. *Natural Product Communications*, 2015, vol. 10, no. 11, pp. 1801–1803.
16. Borisenko S.N., Lekar' A.V., Vetrova E.V., Filonova O.V., Borisenko N.I. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2016, vol. 42, no. 7, pp. 32–36.
17. Vetrova E.V., Lekar' A.V., Filonova O.V., Borisenko S.N., Maksimenko E.V., Borisenko N.I. *Chemistry of Natural Compounds*, 2015, vol. 51, no. 3, pp. 500–504.
18. Wrzesniok D., Beberok A., Otreba M., Buszman E. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2013, vol. 383, no. 1–2, pp. 77–84.
19. Nurkeeva Z.S., Khutoryanskiy V.V., Mun G.A., Sherbakova M.V., Ivaschenko A.T., Aitkhozhina N.A. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2004, vol. 57, no. 2, pp. 245–249.
20. Vetrova Ye.V., Lekar' A.V., Maksimenko Ye.V., Khizriyeva S.S., Bugayeva A.F., Borisenko N.I. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2016, no. 3, pp. 27–34. (in Russ.).
21. Silva W.F., Cecilio S.G., Magalhães C.L., Ferreira J.M., Tótola A.H., de Magalhaes J.C. *SpringerPlus*, 2013, vol. 2, article 430, DOI: 10.1186/2193-1801-2-430
22. Kondratenko R.M., Baltina L.A., Mustafina S.R., Ismagilova A.F., Zarudiy F.S., Davydova V.A., Bazekin G.V., Suleymanova G.F., Tolstikov G.A. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*, 2003, vol. 37, no. 9, pp. 32–35. (in Russ.).
23. de Breij A., Karnaoukh T.G., Schrupf J., Hiemstra P.S., Nibbering P.H., van Dissel J.T., de Visser P.C. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2016, vol. 35, no. 4, pp. 555–562.
24. Maatooq G.T., Marzouk A.M., Gray A.I., Rosazza J.P. *Phytochemistry*, 2010, vol. 71, no. 2–3, pp. 262–270.
25. Alechaga E., Moyano E., Galcerana M.T. *Analytical Methods*, 2015, vol. 7, pp. 3600–3607.

Received October 17, 2017

Revised September 27, 2018

Accepted for publication October 1, 2018

For citing: Vetrova Ye.V., Borisenko N.I., Lekar' A.V., Maksimenko Ye.V., Borisenko S.N., Khizriyeva S.S. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2019, no. 1, pp. 119–126. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2019013319.