

Комплексные соединения 4- и 5-аминосалициловых кислот с циклодекстринами как перспективные противоязвенные средства

Н. С. Борисова,^{a@} Ю. С. Зимин,^a А. Р. Гимадиева,^b Л. И. Мурзакова^a

^aФГБОУ ВО “Уфимский университет науки и технологий”, 450076 Уфа, Российская Федерация

^bУфимский Институт химии – обособленное структурное подразделение ФГБНУ “Уфимский Федеральный исследовательский центр” РАН, 450054 Уфа, Российская Федерация

@E-mail: nsguskova@rambler.ru

Спектрофотометрически в диапазоне длин волн от 190 до 350 нм исследовано образование комплексов включения по типу “гость – хозяин” в водных растворах 4-, 5-аминосалициловых кислот (4-, 5-АСК) и α -, β -, γ -циклодекстринов (α -, β -, γ -ЦД). Методом непрерывных вариаций показано, что в исследуемых реакционных системах “4-АСК + α -ЦД + H₂O”, “4-АСК + β -ЦД + H₂O”, “4-АСК + γ -ЦД + H₂O”, “5-АСК + α -ЦД + H₂O”, “5-АСК + β -ЦД + H₂O”, “5-АСК + γ -ЦД + H₂O” аминсалициловые кислоты образуют комплексные соединения с циклодекстринами состава 1:1. С помощью метода молярных отношений рассчитаны константы устойчивости (K) образующихся комплексов 4-АСК... α -ЦД, 4-АСК... β -ЦД, 4-АСК... γ -ЦД, 5-АСК... α -ЦД, 5-АСК... β -ЦД, 5-АСК... γ -ЦД в интервале температур 296–321 К. Анализ полученных результатов показал: 1) при данных температурах 4-, 5-аминосалициловые кислоты и α -, β -, γ -циклодекстрины образуют сравнительно устойчивые комплексы включения (K ~10²–10⁴ л/моль); 2) с ростом температуры значения констант устойчивости комплексных соединений уменьшаются. Изучение температурных зависимостей K позволило определить стандартные значения изменений энергии Гиббса (ΔG°), энтальпии (ΔH°) и энтропии (ΔS°) комплексообразования. Отрицательные значения ΔG° , ΔH° и ΔS° свидетельствуют, соответственно, о самопроизвольности реакций между АСК и ЦД, их экзотермичности и уменьшении числа частиц вследствие образования комплексов. Для рассматриваемых систем обнаружен термодинамический компенсационный эффект, указывающий на возможное сходство механизмов комплексообразования между 4-, 5-аминосалициловыми кислотами и α -, β -, γ -циклодекстринами. Полученные сведения о составе, константах устойчивости и термодинамических параметрах были использованы при разработке методики синтеза комплексных соединений АСК...ЦД. Нароботан опытный образец комплекса 5-аминосалициловой кислоты с β -циклодекстрином и изучена его противоязвенная активность. Фармакологическими исследованиями (на моделях ацетилсалициловой и гистаминовой язв) установлено, что комплекс 5-АСК... β -ЦД в дозе 50 мг/кг проявил выраженную противоязвенную активность, сравнимую с референтным препаратом (карбеноксолоном) в дозе 100 мг/кг.

Ключевые слова: Аминсалициловая кислота, циклодекстрины, комплексообразование, термодинамические параметры, противоязвенная активность.

Complex Compounds of 4- and 5-Aminosalicylic Acids with Cyclodextrins as Promising Antiulcer Agents

Natalia S. Borisova,^{a@} Yuriy S. Zimin,^a Alfiya R. Gimadieva,^b and Liliya I. Murzakova^a

^aUfa University of Science and Technology, 450076 Ufa, Russian Federation

^bUfa Institute of Chemistry is a Separate Structural Subdivision of the Ufa Federal Research Centre, RAS, 450054 Ufa, Russian Federation

@Corresponding author E-mail: nsguskova@rambler.ru

The formation of “guest-host” inclusion complexes in aqueous solutions of 4-, 5-aminosalicylic acids (4-, 5-ASA) and α -, β -, γ -cyclodextrins (α -, β -, γ -CD) was studied spectrophotometrically in the wavelength range from 190 to 350 nm. It is shown by the method of continuous variations that in the studied reaction systems “4-ASA + α -CD + H₂O”, “4-

ASA + β -CD + H₂O”, “4-ASA + γ -CD + H₂O”, “5-ASA + α -CD + H₂O”, “5-ASA + β -CD + H₂O”, “5-ASA + γ -CD + H₂O” aminosalicylic acids form complex compounds with cyclodextrins of 1:1 composition. Using the molar ratio method, the stability constants (*K*) of the resulting complexes 4-ASA... α -CD, 4-ASA... β -CD, 4-ASA... γ -CD, 5-ASA... α -CD, 5-ASA... β -CD, 5-ASA... γ -CD were calculated in the temperature range 296–321 K. Analysis of the results showed: 1) at these temperatures 4-, 5-aminosalicylic acids and α -, β -, γ -cyclodextrins form relatively stable inclusion complexes (*K* ~10²–10⁴ L/mol); 2) with increasing temperature, the values of the stability constants of complex compounds decrease. The study of the temperature dependences of *K* made it possible to determine the standard values for changes in the Gibbs energy (ΔG°), enthalpy (ΔH°) and entropy (ΔS°) of complexation. Negative values of ΔG° , ΔH° and ΔS° indicate, respectively, the spontaneity of reactions between ASA and CD, their exothermicity and a decrease in the number of particles due to the formation of complexes. For the systems under consideration, a thermodynamic compensation effect was discovered, indicating a possible similarity in the mechanisms of complex formation between 4-, 5-aminosalicylic acids and α -, β -, γ -cyclodextrins. The information obtained on the composition, stability constants and thermodynamic parameters was used in the development of methods for the synthesis of complex compounds ASK...CD. A prototype of the complex of 5-aminosalicylic acid with β -cyclodextrin was developed and its antiulcer activity was studied. Pharmacological studies (on models of acetylsalicylic and histamine ulcers) have established that the 5-ASA... β -CD complex at a dose of 50 mg/kg showed pronounced antiulcer activity comparable to the reference drug (carbenoxolone) at a dose of 100 mg/kg.

Keywords: Aminosalicylic acid, cyclodextrins, complexation, thermodynamic parameters, antiulcer activity.

Введение

Создание совершенно новых фармацевтических препаратов – это сложный, длительный и дорогостоящий процесс. На вывод одного такого лекарства на рынок может уйти до 10–15 лет и несколько миллиардов долларов США. Альтернативным подходом является улучшение фармакокинетических и/или фармакодинамических свойств уже известных лекарственных соединений путем их комплексообразования с природными соединениями. Особый интерес, в этом отношении, представляют циклодекстрины – природные циклические олигосахариды.^[1,2]

В настоящее время наиболее изучены и востребованы первые три представителя гомологического ряда ЦД. Они образованы шестью, семью и восемью D-глюкопиранозными звеньями, связанными между собой α -1,4-гликозидными связями, и названы, соответственно, α -, β - и γ -циклодекстринами (α -, β - и γ -ЦД).^[3,4] Благодаря своему уникальному строению, данные соединения способны образовывать гидрофильные комплексы включения типа “гость – хозяин” с различными органическими и неорганическими молекулами, в том числе фармакологически значимыми. Комплексообразование с циклодекстринами позволяет улучшать растворимость лекарственных соединений в воде и их химическую стабильность, снижать летучесть, защищать от воздействия солнечных лучей, маскировать неприятные вкус и запах, уменьшать побочные эффекты, увеличивать биологическую доступность, тем самым дополнительно повышая терапевтический потенциал и эффективность лекарственных препаратов.^[1,5-12] Следует подчеркнуть, что α -, β - и γ -циклодекстрины являются нетоксичными соединениями и не проявляют фармакологической активности.

В настоящей работе в качестве молекул “гостя” выбраны два изомерных соединения – 4- и 5-аминосалициловая кислоты (4- и 5-АСК), обладающие ярко выраженными туберкулостатической и противовоспа-

лительной активностями,^[13-15] соответственно. Однако многочисленные побочные явления, вызываемые приемом данных веществ, значительно ограничивают их использование в современной медицинской практике. Для повышения эффективности и безопасности препаратов, содержащих 4- и 5-АСК, необходимо создание особых лекарственных форм, например, на основе циклодекстриновых комплексов включения. Таким образом, работа, посвященная изучению и сравнительной характеристике реакций комплексообразования 4- и 5-аминосалициловых кислот с α -, β -, γ -циклодекстринами в водной среде, является весьма актуальной.

Следует отметить, что у комплексных соединений по сравнению с исходными компонентами нередко появляются иные виды биологической активности. Так, ранее в работе^[16] было установлено, что комплексное соединение 5-аминосалициловой кислоты с β -циклодекстрином оказывает противоязвенное действие и уменьшает количество деструкций слизистой оболочки желудка крыс, вызванных индометацином. Поэтому представляет немалый интерес продолжение исследований регенеративных и репаративных свойств данного соединения и на других моделях язвообразования.

Экспериментальная часть

Реагенты. В работе использовали α -, β - и γ -циклодекстрины (AppliChem, Германия), 4- и 5-аминосалициловые кислоты марки “ч” (АО “Химреактивснаб”, Россия). Растворителем служила свежеперегнанная дистиллированная вода.

Определение состава и констант устойчивости комплексных соединений. Комплексные соединения 4- и 5-аминосалициловых кислот с α -, β - и γ -циклодекстринами получали в равновесных условиях при низких концентрациях исходных реагентов (10⁻⁵–10⁻⁴ моль/л). Комплексообразование изучали спектрофотометрически в диапазоне длин волн 190–350 нм при температурах 296–321 К. Регистрацию электронных спектров поглощения проводили на спектрофотометре UV-2401 PC (Shimadzu, Япония) в термостатируемых кварцевых кюветках толщиной 1 см относительно воды. ИК-спектры регист-

рировали на спектрофотометре IR-Prestige-21 (Shimadzu, Япония) в частотной области 700–3600 см⁻¹ в таблетках КВr.

В условиях проводимых экспериментов УФ-спектры водных растворов 4-АСК имеют три полосы поглощения с максимумами при 206, 265 и 298 нм; 5-АСК – две полосы при 200 и 298 нм. Аминогруппы рассматриваемых кислот способны акцептировать протоны, образуя при диссоциации 4-АСК ($pK_1=1.7$, $pK_2=3.9$) и 5-АСК ($pK_1=2.74$, $pK_2=5.84$),^[17] поэтому в водных растворах наряду с молекулами кислот присутствуют и биполярные ионы $^+NH_3C_6H_3(OH)COO^-$. α -, β -, γ -Циклодекстрины при пропускании света не дают пиков поглощения в заданном волновом диапазоне, поэтому все исследования проводили на максимумах поглощения аминокислот.

Соотношения компонентов в комплексах определяли методом непрерывных вариаций.^[18, 19] Данный метод основан на определении отношения концентраций взаимодействующих веществ, отвечающего максимальному выходу образующегося комплексного соединения. Точка экстремума на кривой свидетельствует о максимально возможной концентрации комплекса, а ее абсцисса отвечает стехиометрическому соотношению реагирующих веществ. Для определения состава комплексного соединения готовили растворы двух компонентов одинаковой молярной концентрации ($1 \cdot 10^{-4}$ моль/л), которые затем смешивали в соотношениях от 1:9 до 9:1, сохраняя общий объем раствора неизменным. При этом суммарное число молей обоих компонентов в растворе всегда оставалось постоянным. Спустя 1 ч измеряли оптические плотности растворов (А). Кювету сравнения заполняли дистиллированной водой. Затем строили графическую зависимость изменения оптической плотности от соотношения концентраций компонентов. По положению экстремальной точки на полученной кривой находили состав комплексного соединения.

Константы устойчивости комплексов включения 4-, 5-аминосалициловых кислот с α -, β -, γ -циклодекстринами определяли методом молярных отношений.^[18, 19] Суть метода заключается в установлении зависимости изменения оптической плотности от концентрации одного из компонентов при постоянной концентрации второго компонента, и наоборот. Эксперимент проводили следующим образом: готовили растворы аминокислоты и циклодекстрина в дистиллированной воде с концентрацией $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л. В 10 мерных колб наливали по 2 мл раствора АСК и от 0.5 до 8.0 мл ЦД. Затем общий объем смеси доводили водой до 10 мл. Через 1 ч измеряли оптическую плотность приготовленных растворов. Полученные результаты линеаризовали в координатах уравнения (1), откуда по отношению отсечений к тангенсам углов наклона находили значения констант устойчивости комплексных соединений.

Синтез комплексных соединений 4- и 5-аминосалициловых кислот с циклодекстринами. Комплексные соединения АСК...ЦД синтезировали путем смешения эквимолярных количеств 4- или 5-аминосалициловых кислот и циклодекстринов (α -, β - или γ -ЦД) в дистиллированной воде. Реакционную смесь перемешивали в течение двух дней при температуре 313 К, после чего воду удаляли выпариванием при пониженном давлении. В результате получали комплексные соединения с количественным выходом.

По данной методике было наработано комплексное соединение 5-АСК... β -ЦД и исследовано его противоязвенное действие. Биологические испытания проводили на факультете биотехнологий и ветеринарной медицины Башкирского государственного аграрного университета и в Группе медицинской химии Уфимского Института химии УФИЦ РАН.

Определение противоязвенной активности комплекса включения 5-аминосалициловой кислоты с β -циклодекстрином. Опыты проводили на 36 белых беспородных крысах массой 180–200 г. Экспериментальные язвы слизистой оболочки желудка (СОЖ) вызывали введением ацетилсалициловой кислоты (первая серия опытов) и гистамина (вторая серия опытов).

В качестве препарата сравнения использовали известное противоязвенное средство – карбеноксолон.

Исследуемое комплексное соединение 5-АСК... β -ЦД вводили в дозе 50 мг/кг, карбеноксолон – в дозе 100 мг/кг (ЕД₅₀). Контрольные животные получали дистиллированную воду.

В первой серии опытов язвы СОЖ вызывали двукратным внутрижелудочным введением крысам свежеприготовленного раствора ацетилсалициловой кислоты (150 мг/кг). Исследуемые соединения вводили за 2 ч до первого введения ацетилсалициловой кислоты. Животных забивали под эфирным наркозом через 24 ч и определяли поражение слизистой оболочки желудка.

Во второй серии экспериментов изучаемые соединения вводили внутрижелудочно после однократной инъекции гистамина и далее ежедневно в течение 5 дней. Животных забивали на 5 сут. под эфирным наркозом, извлекали желудки и подсчитывали среднее количество деструкций (язв, эрозий, геморрагий).

Результаты и обсуждение

Проверка применимости закона Бугера-Ламберта-Бера

На первом этапе исследований был определен диапазон рабочих концентраций 4- и 5-аминосалициловых кислот в водных растворах с учетом закона Бугера-Ламберта-Бера:^[18] $A = \epsilon \cdot [АСК] \cdot l$, где A – оптическая плотность раствора аминокислоты (4- или 5-АСК); ϵ – молярный коэффициент поглощения АСК, л/(моль·см); $[АСК]$ – концентрация 4- или 5-аминосалициловой кислоты в воде, моль/л; l – толщина кюветы, см.

Установлена четкая линейная зависимость между оптическими плотностями растворов обеих аминокислот и их концентрациями, не превышающими $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л (Рисунок 1). По тангенсам углов наклона прямых были рассчитаны молярные коэффициенты поглощения 4-АСК (ϵ_1) и 5-АСК (ϵ_2) в воде: $\epsilon_1 = 8500 \pm 300$ л/(моль·см), $\epsilon_2 = 3020 \pm 80$ л/(моль·см).

Спектральное обнаружение комплексных соединений, определение их составов

Образование комплексных соединений подтверждено методами ИК- и УФ-спектроскопии. Так, в ИК-спектре комплекса 5-аминосалициловой кислоты с β -циклодекстрином по сравнению со спектром исходного β -ЦД наблюдается изменение формы полосы $\nu(OH)$ в области 3600–3100 см⁻¹ и ее сдвиг в низкочастотную область на 14 см⁻¹, что указывает на участие данной группы в комплексообразовании. В спектре 5-АСК присутствует широкая, высокоструктурированная полоса средней интенсивности $\nu(NH)$ в области 2555–2484 см⁻¹, не проявляющаяся в спектре комплекса. Кроме того, происходит более чем трехкратное уменьшение интенсивности и сдвиг максимума поглощения $\nu(C=O)$ на 2 см⁻¹. Область скелетных колебаний связей C–C бензольного кольца 5-аминосалициловой кислоты также претерпевает изменения; здесь имеет место сдвиг полосы 1583 см⁻¹ до 1575 см⁻¹. В интервале 1160–1000 см⁻¹ происходит снижение интенсивности, изменение формы полосы

$\nu(\text{C}-\text{O})$ и смещение максимума на 4 см^{-1} в низкочастотную область спектра.

Сравнение УФ-спектров водных растворов 4-, 5-аминосалициловых кислот и продуктов их взаимодействия с α -, β - и γ -циклодекстринами показало наличие следующих изменений: 1) гипсохромные сдвиги максимумов поглощения АСК при добавлении водных растворов α -, β - или γ -ЦД ($\Delta\lambda = 1-4 \text{ нм}$); 2) увеличение интенсивностей пиков полос поглощения АСК ($\Delta A = 0.03-0.10$). Наблюдаемые изменения свидетельствуют, очевидно, о появлении межмолекулярных взаимодействий между аминсалициловыми кислотами и циклодекстринами и образовании комплексных соединений типа “гость – хозяин”.

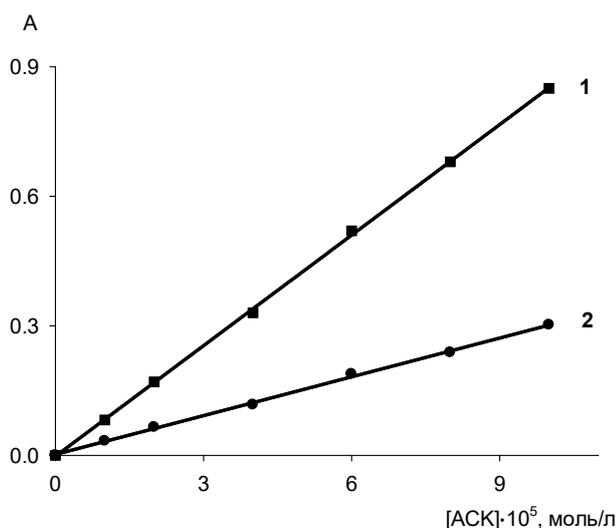


Рисунок 1. Зависимости оптических плотностей растворов от концентраций 4-аминосалициловой (1) и 5-аминосалициловой (2) кислот; 296 К, $\lambda_1 = 206 \text{ нм}$, $\lambda_2 = 200 \text{ нм}$.

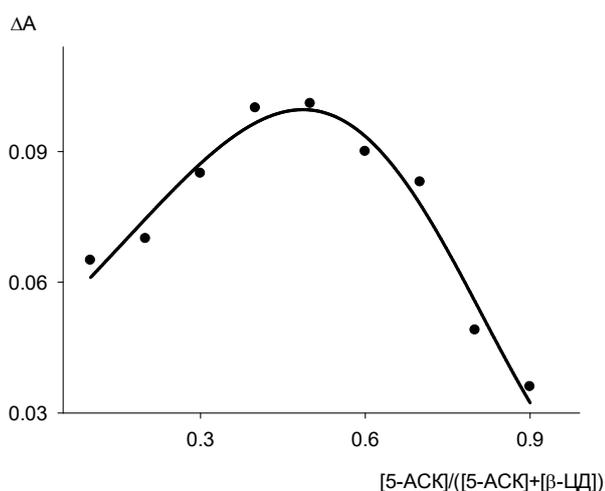


Рисунок 2. Графическая зависимость изменения оптической плотности растворов от соотношения концентраций 5-аминосалициловой кислоты и β -циклодекстрина; 296 К, $[5\text{-АСК}] + [\beta\text{-ЦД}] = 1 \cdot 10^{-4} \text{ моль/л}$.

На наличие взаимодействий в исследуемых реакционных системах (“4-АСК + α -ЦД + H_2O ”, “4-АСК + β -ЦД + H_2O ”, “4-АСК + γ -ЦД + H_2O ”, “5-АСК + α -ЦД + H_2O ”, “5-АСК + β -ЦД + H_2O ”, “5-АСК + γ -ЦД + H_2O ”) указывают и данные, полученные методом непрерывных вариаций.^[18,19] Так, с увеличением концентрации 5-аминосалициловой кислоты кривая зависимости изменения оптической плотности (ΔA) от соотношения концентраций 5-АСК и β -ЦД, представленная в качестве примера на Рисунке 2, проходит через максимум. Аналогичные зависимости установлены для всех рассматриваемых в настоящей работе комплексов. Данный факт подтверждает существование взаимодействий между изучаемыми кислотами и олигосахаридами, в противном случае указанная выше зависимость имела бы линейный характер.

Полученные методом непрерывных вариаций результаты также позволили определить отношение между стехиометрическими коэффициентами реагирующих веществ. Согласно данному методу, исходное соотношение компонентов в системе, при котором концентрация образующегося комплексного соединения максимальна, равно их соотношению в комплексе. Анализ Рисунка 2 свидетельствует о том, что 5-аминосалициловая кислота и β -циклодекстрин взаимодействуют в молярном соотношении 1:1. Для комплексных соединений 4-АСК $\cdots\alpha$ -ЦД, 4-АСК $\cdots\beta$ -ЦД, 4-АСК $\cdots\gamma$ -ЦД, 5-АСК $\cdots\alpha$ -ЦД, 5-АСК $\cdots\gamma$ -ЦД установлено, что стехиометрическое отношение “гость : хозяин” также равно 1:1.

Определение констант устойчивости комплексных соединений

Константы устойчивости комплексных соединений находили с помощью метода молярных отношений^[18,19] в интервале температур 296–321 К. Согласно данному методу, спектральные изменения в исследуемых реакционных системах описываются уравнением (1):

$$\frac{[\text{АСК}]}{\Delta A} = \frac{1}{\Delta \epsilon} + \frac{1}{\Delta \epsilon \cdot K \cdot [\text{ЦД}]}, \quad (1)$$

где $[\text{АСК}]$ – концентрация 4- или 5-аминосалициловой кислоты, моль/л; ΔA – разность оптических плотностей растворов комплексного соединения и соответствующей кислоты; $\Delta \epsilon$ – разность молярных коэффициентов поглощения комплексного соединения и соответствующей кислоты, л/(моль · см); K – константа устойчивости комплексного соединения, л/моль; $[\text{ЦД}]$ – концентрация α -, β - или γ -циклодекстрина, моль/л.

Для определения K строили графики зависимости $[\text{АСК}]/\Delta A$ от $1/[\text{ЦД}]$, из которых по отношению отсечений к тангенсам углов наклона находили значения констант устойчивости комплексных соединений. Полученные значения K представлены в Таблицах 1 и 2.

Анализ таблиц показывает, что в разбавленных водных растворах 4- и 5-аминосалициловые кислоты образуют с α -, β - и γ -циклодекстринами сравнительно прочные комплексы включения ($K \sim 10-10^4 \text{ л/моль}$). Из Таблиц 1 и 2 также следует, что константы устойчивости комплексных соединений уменьшаются с ростом температуры.

Таблица 1. Температурные зависимости констант устойчивости комплексных соединений, образованных 4-аминосалициловой кислотой и α -, β -, γ -циклодекстринами в воде.

T, K	$K \cdot 10^{-3}$, л/моль*		
	4-АСК... α -ЦД	4-АСК... β -ЦД	4-АСК... γ -ЦД
296	8.8	55.4	27.7
301	6.2	16.3	16.8
306	2.6	9.1	7.0
311	1.6	3.0	5.9
316	0.60	1.6	3.6
321	0.40	–	–

* Погрешность определения констант устойчивости не более 35%.

Таблица 2. Температурные зависимости констант устойчивости комплексных соединений, образованных 5-аминосалициловой кислотой и α -, β -, γ -циклодекстринами в воде.

T, K	$K \cdot 10^{-3}$, л/моль*		
	5-АСК... α -ЦД	5-АСК... β -ЦД	5-АСК... γ -ЦД
296	10.1	64.1	33.2
301	5.1	18.7	17.9
306	1.6	10.5	9.4
311	1.0	2.9	6.7
316	0.4	1.1	3.4
321	0.3	–	1.8

* Погрешность определения констант устойчивости не более 35%.

Определение термодинамических параметров комплексообразования

Данные Таблиц 1 и 2 были использованы для расчета стандартных термодинамических параметров (изменения энтальпии – ΔH° , изменения энтропии – ΔS°) реакций взаимодействия 4- и 5- аминосалициловых кислот с циклодекстринами в водной среде. Для этого использовали уравнение (2)^[20]:

$$\ln K = \frac{\Delta S^\circ}{R} - \frac{\Delta H^\circ}{R} \cdot \frac{1}{T}, \quad (2)$$

связывающее термодинамические параметры с константой устойчивости образующегося комплексного соединения.

Обработав данные Таблиц 1 и 2 в координатах уравнения (2) (Рисунки 3, 4), были рассчитаны изменения энтальпий и энтропий реакций комплексообразования аминосалициловых кислот с циклодекстринами в воде (Таблица 3). Стандартное значение изменения энергии Гиббса находили по уравнению (3)^[20]:

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T \cdot \Delta S^\circ \quad (3)$$

Из Таблицы 3 видно, что все стандартные термодинамические параметры (ΔG° , ΔH° и ΔS°) имеют отрицательный знак. Полученные данные свидетельствуют, соответственно, о самопроизвольном протекании реакций комплексообразования в изученном температурном интервале (296–321 К), их экзотермичности и уменьшении числа частиц вследствие ассоциации молекул “гостя” с молекулами “хозяина” при погружении во внутреннюю полость циклодекстринов. Результаты, полученные в настоящей работе, в целом соизмеримы с имеющимися в литературе данными по комплексообразованию циклодекстринов со структурно схожими соединениями. Так, например, полученные калориметрическим методом значения изменений энергии Гиббса реакций образования комплексных соединений бензойной, *para*- и *meta*-аминобензойной кислот с α -циклодекстрином равны, соответственно, $-(16.9 \pm 0.5)$, $-(18.3 \pm 1.1)$ и $-(10.3 \pm 1.1)$ кДж/моль; с β -циклодекстрином: $-(14.7 \pm 0.7)$, $-(16.6 \pm 0.6)$ и $-(10.3 \pm 0.6)$ кДж/моль.^[21]

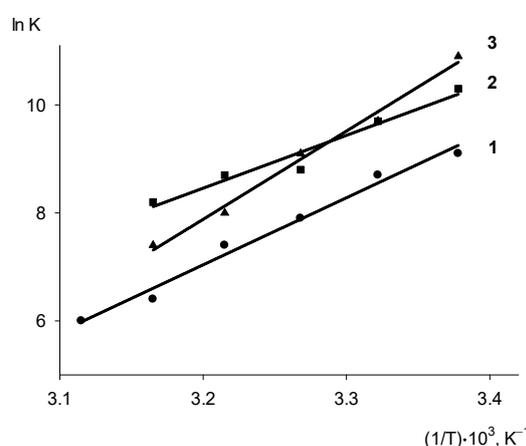


Рисунок 3. Линеаризация температурных зависимостей констант устойчивости комплексных соединений, образованных 4-аминосалициловой кислотой и α - (1), β - (2), γ - (3) циклодекстринами, в координатах уравнения (2).

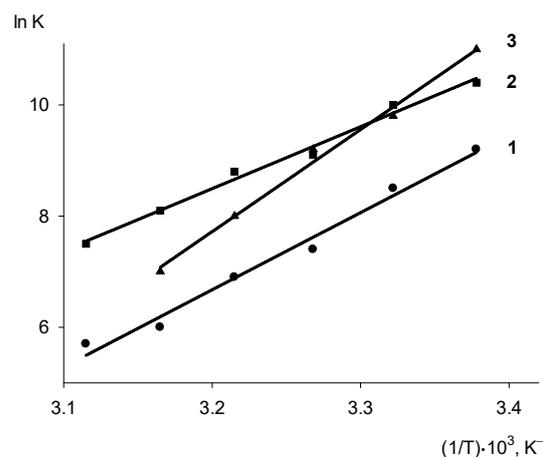


Рисунок 4. Линеаризация температурных зависимостей констант устойчивости комплексных соединений, образованных 5-аминосалициловой кислотой и α - (1), β - (2), γ - (3) циклодекстринами, в координатах уравнения (2).

Таблица 3. Стандартные термодинамические параметры реакций образования комплексных соединений 4-, 5-аминосалициловых кислот с α -, β -, γ -циклодекстринами в воде.

№	Комплексное соединение	$\Delta H^\circ \cdot 10^{-2}$, кДж/моль	$\Delta S^\circ \cdot 10^{-2}$, Дж/(моль·К)	ΔG° (296 К), кДж/моль
1	4-АСК... α -ЦД	-1.0 ± 0.1	-2.7 ± 0.3	-20 ± 2
2	4-АСК... β -ЦД	-1.4 ± 0.2	-3.7 ± 0.5	-30 ± 3
3	4-АСК... γ -ЦД	-0.8 ± 0.1	-1.9 ± 0.2	-24 ± 3
4	5-АСК... α -ЦД	-1.2 ± 0.2	-3.2 ± 0.5	-25 ± 3
5	5-АСК... β -ЦД	-1.6 ± 0.2	-4.3 ± 0.5	-33 ± 5
6	5-АСК... γ -ЦД	-0.9 ± 0.1	-2.2 ± 0.2	-25 ± 3

Следует также обратить внимание на следующий интересный момент: в ряду исследуемых комплексов включения с одним и тем же “хозяйном” (1 и 4; 2 и 5; 3 и 6) при переходе от 4-АСК к 5-АСК величины ΔH° и ΔS° одновременно увеличиваются (Таблица 3). Аналогичная зависимость наблюдается и в ряду комплексов с одинаковым “гостем” (3,1, и 2; 6,4 и 5). Данный факт позволяет предположить наличие в изучаемых реакционных системах термодинамического компенсационного эффекта.

Явление энтропийно-энтальпийной компенсации заключается в линейной зависимости между величинами ΔH° и ΔS° в серии однотипных реакций. Для рассмотренных в настоящей работе реакций образования комплексных соединений АСК...ЦД (Таблица 3) получена следующая линейная корреляция (Рисунок 5) между стандартными термодинамическими параметрами (изменением энтальпии и изменением энтропии):

$$\Delta H^\circ = -(14 \pm 1) + (0.34 \pm 0.04) \cdot \Delta S^\circ \quad (r = 0.996).$$

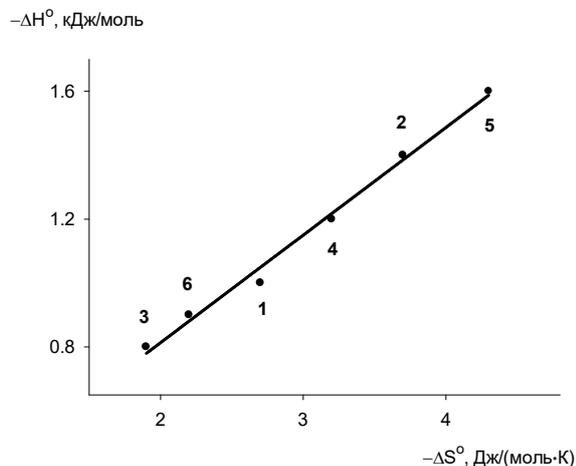


Рисунок 5. Зависимость ΔH° от ΔS° для реакций образования комплексных соединений 4-АСК... α -ЦД (1), 4-АСК... β -ЦД (2), 4-АСК... γ -ЦД (3), 5-АСК... α -ЦД (4), 5-АСК... β -ЦД (5), 5-АСК... γ -ЦД (6).

Наличие компенсационного эффекта свидетельствует о возможном сходстве механизмов комплексообразования между 4-, 5-аминосалициловыми кислотами и α -, β -, γ -циклодекстринами в водном растворе. Из Таблиц 1, 2 следует, что нахождение аминогруппы в *para*- или *meta*-положении бензольного кольца АСК не сильно сказывается на величинах констант устойчивости комплексных соединений (значения К для комплексов 4- и 5-АСК с одним и тем же ЦД примерно одинаковы в

пределах погрешности их определения). Большое влияние на значения констант устойчивости оказывают размеры полостей циклодекстринов. Так, для образования комплексов включения молекулы “гостя” должны иметь небольшие размеры, которые позволят им свободно проникать внутрь циклодекстринового тора, но при этом достаточные, чтобы быть стабилизированными внутри полости за счет водородных связей и других взаимодействий. Согласно результатам проведенных исследований (Таблицы 1, 2), наиболее устойчивые соединения включения, как с 4-АСК, так и с 5-АСК, образует β -циклодекстрин, размер внутренней полости которого является наиболее подходящим для большинства “гостей”^[4,22] Этим, вероятно, и обусловлена большая прочность его комплексов в водных растворах. Наименее устойчивые комплексы образует α -циклодекстрин, что, возможно, связано с неполным погружением молекулы 4- или 5-аминосалициловой кислоты в его полость ввиду ее малого размера. Промежуточные значения констант устойчивости имеют комплексные соединения аминсалициловых кислот с γ -циклодекстрином, обладающим самой большой полостью среди рассматриваемых в настоящей работе циклических олигосахаридов.

Разработка методики синтеза комплексных соединений, наработка одного из комплексов

Полученные сведения о составе, константах устойчивости и термодинамических параметрах были использованы при разработке методики синтеза комплексов АСК...ЦД (см. Экспериментальную часть), заключающейся в смешении эквимоллярных количеств исходных веществ (АСК и ЦД) в воде, выдерживании реакционной смеси при температурах близких к физиологическому максимуму в течение определенного времени и последующем удалении растворителя.

Ранее^[16] нами было обнаружено, что комплексное соединение 5-аминосалициловой кислоты с β -циклодекстрином (5-АСК... β -ЦД) обладает противоязвенным действием при поражении СОЖ крыс индометацином. Показано, что комплекс 5-АСК... β -ЦД в дозе 50 мг/кг проявил более выраженную активность по сравнению с исходными веществами (5-АСК и β -ЦД) и примерно такую же активность, как у препарата сравнения Омез. В связи с этим представляет немалый интерес исследование противоязвенных свойств данного комплексного соединения и на других моделях воспроизведения язв. Поэтому для проведения дальнейших биологических испытаний на основании предложенной методики был синтезирован комплекс 5-АСК... β -ЦД.

Таблица 4. Влияние комплексного соединения 5-аминосалициловой кислоты с β -циклодекстрином и препарата сравнения на СОЖ крыс, измененную ацетилсалициловой кислотой (количество животных в группе N = 6).

№ группы	Наименование соединения	Доза, мг/кг	Среднее количество деструкций СОЖ	Противоязвенная активность
1	5-АСК... β -ЦД	50	3.74 \pm 0.50	1.86
2	Карбеноксолон	100	3.03 \pm 0.34	2.30
3	Контроль	–	6.96 \pm 0.34	–

Таблица 5. Влияние комплексного соединения 5-аминосалициловой кислоты с β -циклодекстрином и препарата сравнения на СОЖ крыс, измененную гистамином (количество животных в группе N = 6).

№ группы	Наименование соединения	Доза, мг/кг	Среднее количество деструкций СОЖ	Противоязвенная активность
1	5-АСК... β -ЦД	50	5.01 \pm 0.40	2.39
2	Карбеноксолон	100	3.45 \pm 0.10	3.47
3	Контроль	–	12.0 \pm 1.2	–

Изучение противоязвенной активности комплексного соединения 5-аминосалициловой кислоты с β -циклодекстрином.

Противоязвенную активность комплекса 5-АСК... β -ЦД исследовали на двух экспериментальных моделях язв, вызванных ацетилсалициловой кислотой и гистамином.

Известно,^[23,24] что прием ацетилсалициловой кислоты в качестве нестероидного противовоспалительного средства или антитромбоцитарного препарата вызывает эрозивно-язвенные изменения СОЖ. Механизм повреждающего действия данного соединения, прежде всего, связан с угнетением активности циклооксигеназы-1, фермента, играющего ключевую роль в синтезе метаболитов арахидоновой кислоты – простагландинов, обладающих противовоспалительным эффектом и непосредственно участвующих в формировании болевых ощущений. Дефицит простагландина I₂ приводит к ухудшению кровотока в стенке желудка; снижение синтеза простагландина E₂ ведет к уменьшению секреции бикарбонатов и слизи, а также к повышению кислотопродукции. При этом происходит накопление пероксида водорода и активных радикалов кислорода в ишемизированных участках СОЖ. Усиление свободно-радикальных процессов приводит к росту перекисного окисления липидов мембран и нарушению целостности слизистой оболочки желудка.

Гистамин – биогенное соединение, образующееся в организме при декарбоксилировании аминокислоты гистидина. Гистамин является одним из эндогенных медиаторов, участвующих в регуляции жизненно важных функций организма и играющих важную роль в патогенезе ряда болезненных состояний. В обычных условиях данное соединение находится в организме преимущественно в связанном, неактивном состоянии. Свободный гистамин, появляющийся в результате стимуляции гистаминовых H₂-рецепторов, обладает высокой физиологической активностью, в том числе вызывает усиление секреции желудочного сока и, как следствие, язвенную болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки.^[24]

В качестве препарата сравнения в обеих сериях экспериментов использовали карбеноксолон. Данный

препарат стимулирует образование и секрецию слизи, повышает ее вязкость, усиливая, таким образом, защитный барьер для соляной кислоты в желудке. Также установлено, что карбеноксолон способен понижать активность пепсина.^[25,26]

Результаты исследований противоязвенного действия комплексного соединения 5-аминосалициловой кислоты с β -циклодекстрином (5-АСК... β -ЦД), а также препарата сравнения (карбеноксолон) при лечебном введении на моделях ацетилсалициловой и гистаминовой язв приведены в Таблицах 4 и 5, соответственно.

Из Таблиц 4 и 5 видно, что под влиянием исследуемых соединений (комплекс 5-АСК... β -ЦД и карбеноксолон) происходит уменьшение количества деструкций слизистой оболочки желудка крыс по сравнению с контрольной группой (P < 0.01) в обеих сериях экспериментов. Так, в случае язв, вызванных введением ацетилсалициловой кислоты, комплексное соединение и препарат сравнения снижали количество деструкций в 1.86 и 2.30 раза по сравнению с контролем. У подопытных животных с гистаминовыми язвами наблюдалось еще более существенное снижение числа деструкций СОЖ – в 2.39 и 3.47 раза, соответственно. При этом важно подчеркнуть, что карбеноксолон вводили в дозе 100 мг/кг, двукратно превышающей дозу 5-АСК... β -ЦД – 50 мг/кг.

Таким образом, исследуемое комплексное соединение 5-аминосалициловой кислоты с β -циклодекстрином проявляет противоязвенную активность и достоверно снижает поражение слизистой оболочки желудка, вызванное введением ацетилсалициловой кислоты, гистамина и, как было установлено ранее,^[16] индометацина.

Определение молярного коэффициента поглощения комплексного соединения 5-аминосалициловой кислоты с β -циклодекстрином

Была изучена зависимость оптической плотности водных растворов (A) синтезированного комплекса включения 5-АСК... β -ЦД от его концентрации ([5-АСК... β -ЦД]). По тангенсу угла наклона прямой $A = f([5-АСК... β -ЦД])$ был рассчитан молярный коэффициент поглощения комплексного соединения 5-

аминосалициловой кислоты с β -циклодекстрином в водном растворе: $\epsilon = 3420 \pm 160$ л/(моль·см).

Полученное значение ϵ совпадает (в пределах погрешности его определения) со значением молярного коэффициента поглощения $\epsilon = 3280$ л/(моль·см), найденным по уравнению (1). Следует отметить, что расхождение между приведенными величинами составляет всего 4%. Данный факт является дополнительным подтверждением идентичности комплексных соединений 4-АСК и β -ЦД, синтезированных по предложенной выше методике и полученных в разбавленных водных растворах.

Заключение

В настоящей работе установлено, что 4-, 5-аминосалициловые кислоты и α -, β -, γ -циклодекстрины в водных растворах взаимодействуют в молярном соотношении 1:1 с образованием сравнительно устойчивых комплексов включения ($K \sim 10^2 - 10^4$ л/моль). Изучена зависимость констант устойчивости комплексных соединений 4-АСК $\cdots\alpha$ -ЦД, 4-АСК $\cdots\beta$ -ЦД и 4-АСК $\cdots\gamma$ -ЦД, 5-АСК $\cdots\alpha$ -ЦД, 5-АСК $\cdots\beta$ -ЦД и 5-АСК $\cdots\gamma$ -ЦД от температуры в диапазоне 296–321 К и рассчитаны термодинамические параметры комплексообразования. На основе полученных данных разработана методика синтеза комплексных соединений аминсалициловых кислот с циклодекстринами, наработан опытный образец одного из комплексов (5-АСК $\cdots\beta$ -ЦД) и изучено его противоязвенное действие. Фармакологическими исследованиями показано, что данный комплекс в дозе 50 мг/кг проявляет противоязвенную активность, сопоставимую с карбеноксолоном в дозе 100 мг/кг, используемым в качестве препарата сравнения. Полученные результаты свидетельствуют о возможности образования комплексных соединений между 4-, 5-аминосалициловыми кислотами и α -, β -, γ -циклодекстринами, которые впоследствии могут быть использованы при получении новых противоязвенных препаратов.

Фондовая поддержка. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 19-73-20073, <https://rscf.ru/project/19-73-20073/>.

Соблюдение этических стандартов. Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Список литературы

References

- Loftsson T., Jarho P., Måsson M., Järvinen T. *Expert Opin. Drug Deliv.* **2005**, 2, 335–351.
- Fedorova P.Yu., Anderson R.K., Alekhin E.K., Usanov N.G. *Bashkortostan Medical Journal* [Федорова П.Ю., Андресон П.К., Алехин Е.К., Усанов Н.Г. *Медицинский вестник Башкортостана*] **2011**, 6(4), 125–131.
- Szejtli J. *Cyclodextrin Technology*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, **1988**. 321 p.
- Szejtli J. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1743–1753.
- Jug M., Bećirević-Laćan M. *Rad CASA Medical Sciences* **2008**, 9–26.
- Loftsson T., Brewster M.E. *J. Pharm. Pharmacol.* **2010**, 62, 1607–1621.
- Terekhova I.V., Kuranov D.Yu., Sergeeva Yu.A., Brusnikina M.A., Volkova T.V. In: *Abstracts of the 20th Mendeleev Congress on General and Applied Chemistry*. Ekaterinburg, **2016**, p. 620.
- Loftsson T. *Int. J. Pharm.* **2017**, 531, 276–280.
- Saokham P., Loftsson T. *Int. J. Pharm.* **2017**, 516, 278–292.
- Jansook P., Ogawa N., Loftsson T. *Int. J. Pharm.* **2018**, 535, 272–284.
- Ibrakova N.F., Kutlugildina G.G., Zimin Yu.S. *PeriodicoTche Quimica* **2020**, 17(36), 302–314.
- Smirnova A.L., Agafonov M.A., Terekhova I.V. In: *Collection of works of the 14th International Scientific and Practical Conference "Fundamental and Related Problems of Obtaining New Materials: Research, Innovation and Technology"*. Astrahan', Russia, **2020**, p. 29–33.
- Mashkovsky M.D. *Medicines, Vol. 2* [Машковский М.Д. *Лекарственные средства. Т. 2*], Moscow: Novaya volna, **2002**. 608 p.
- Sutherland L., Roth D., Beck P., May G., Makiyama K. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2002**, (4), CD000544.
- Belousova E.A., Nikitina N.V. *Clinician* [Белоусова Е.А., Никитина Н.В. *Клиницист*] **2008**, 3, 57–62.
- Borisova N.S., Gimadieva A.R., Zimin Yu.S., Murzakova L.I. *BIO Web of Conferences* **2023**, 65.
- Kortum G., Vogel W., Andrussow K. *Dissociation Constants of Organic Acids in Aqueous Solution*. Oxford: Butterworth, **1981**. 347 p.
- Bulatov M.I., Kalinkin I.P. *A Practical Guide to Photometric Analysis Methods* [Булатов М.И., Калинин И.П. *Практическое руководство по фотометрическим методам анализа*], Leningrad: Khimiya, **1986**. 432 p.
- Bek M., Nad'pal I. *Study of Complex Formation by the Latest Methods* [Бек М., Надьпал И. *Исследование комплексообразования новейшими методами*], Moscow: Mir, **1989**. 413 p.
- Poltorak O.M. *Thermodynamics in Physical Chemistry* [Полторак О.М. *Термодинамика в физической химии*], Moscow: Vyssh. Shkola, **1991**. 319 p.
- Terekhova I.V. *Complexation of Cyclodextrins with Some Biologically Active Compounds in Aqueous Solutions*. Abstract of Doctor's thesis [Терехова И.В. *Комплексообразование циклодекстринов с некоторыми биологически активными соединениями в водных растворах*. Автореф. д.х.н.], Ivanovo, **2013**. 37 p.
- Challa R., Ahuja A., Ali J., Khar R.K. *AAPS PharmSciTech.* **2005**, 6, E329–E357.
- Vjarnason I., Scarpignato C., Holmgren E., Olszewski M., Rainsford K.D., Lanas A. *Gastroenterology* **2018**, 154, 500–514.
- Mashkovsky M.D. *Medicines, Vol. 1* [Машковский М.Д. *Лекарственные средства, Т. 1*], Moscow: Novaya volna, **2002**. 540 p.
- Craig O., Hunt T., Kimerling J.J., Parke D.V. *The Practitioner* **1967**, 199, 109–111.
- Sircus W. *Gut* **1972**, 13, 816–824.

Received 24.03.2024

Accepted 06.07.2024