

## КОМПЛЕКСЫ ВКЛЮЧЕНИЯ КВЕРЦЕТИНА С $\beta$ -ЦИКЛОДЕКСТРИНАМИ: УЛЬТРАФИОЛЕТОВАЯ И ИНФРАКРАСНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ, КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

© 2020 г. Т.В. Ильич\*, Е.А. Лапшина\*, А.А. Маскевич\*\*, А.Г. Вейко\*, А.В. Лавыш\*\*,  
Б. Палеч\*\*\*, А. Степняк\*\*\*, В.У. Буко\*\*\*\*, И.Б. Заводник\*

\*Кафедра биохимии Гродненского государственного университета имени Янки Купалы,  
230030, Гродно, бульв. Ленинского Комсомола, 50, Беларусь

\*\*Кафедра общей физики Гродненского государственного университета имени Янки Купалы,  
230023, Гродно, ул. Ожешко, 22, Беларусь

\*\*\*Химический факультет Университета г. Лодзь, ул. Поморска, 165, Лодзь, 90-236 Польша

\*\*\*\*Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси,  
230030, Гродно, бульв. Ленинского Комсомола, 50, Беларусь

E-mail: zavodnik\_il@mail.ru

Поступила в редакцию 11.09.2019 г.

После доработки 24.02.2020 г.

Принята к публикации 04.03.2020 г.

С использованием методов ультрафиолетовой и инфракрасной спектроскопии и квантово-химического моделирования оценены параметры формирования супрамолекулярного комплекса включения флавоноида кверцетина и молекулярного контейнера гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрина. Растворимость кверцетина, включаемого в супрамолекулярный комплекс, возрастала более чем в 50 раз (в присутствии 16 мМ гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрина), что указывает на повышение биодоступности кверцетина. Рассчитанная по методу Хигучи–Коннора константа ассоциации комплекса кверцетин–гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрин (1 : 1) равна  $3275 \pm 448 \text{ M}^{-1}$ . Формирование комплекса включения приводит к существенному изменению колебательных спектров компонентов по сравнению со спектром их физической смеси в результате изменения структуры компонентов, в том числе за счет формирования водородных связей. Молекулярное моделирование комплекса включения демонстрирует, что размещение молекулы кверцетина («гостя») во внутренней полости молекулы  $\beta$ -циклодекстрина («хозяина») приводит к изменению геометрии и свойств компонентов. Торсионный угол между кольцами планарной молекулы кверцетина равен  $149.5^\circ$  в комплексе с  $\beta$ -циклодекстрином и  $138.7^\circ$  – в комплексе с гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрином.

*Ключевые слова:* кверцетин,  $\beta$ -циклодекстрин, УФ- и ИК-спектроскопия, квантово-химическое моделирование, константа ассоциации.

DOI: 10.31857/S0006302920030047

Полифенолы, вторичные метаболиты высших растений, не синтезируемые в животных тканях, демонстрируют многочисленные благоприятные эффекты как *in vivo*, так и *in vitro*. Одним из наиболее изученных полифенолов является флавоноид кверцетин (3,3',4',5,7-пентагидроксифлавонон) (рис. 1а) – представитель семейства флавоноидов, обладающий 3-гидроксифлавоновым скелетом [1]. Кверцетин, один из компонентов диеты человека, присутствует в значительных количествах в цитрусовых, яблоках, луке, зеленом и черном чае и др. [2], повсеместно используется в

пищевой и фармацевтической промышленности, обладает противовоспалительной, антиаллергенной, антиоксидантной и противоопухолевой активностями, высоким терапевтическим потенциалом [3]. Предполагают, что антиоксидантные свойства растительных полифенолов обеспечивают благоприятное протекание важнейших физиологических процессов, определяют эффекты этих компонентов диеты при сердечно-сосудистых заболеваниях, старении, воспалительных процессах [4].

Фармакологическое применение кверцетина ограничено его плохой растворимостью в воде (около 1 мкг/мл) [5] и низкой биодоступностью (усваивается только около 20% введенного квер-

Сокращения: CD – циклодекстрины, HP- $\beta$ -CD – 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрин.

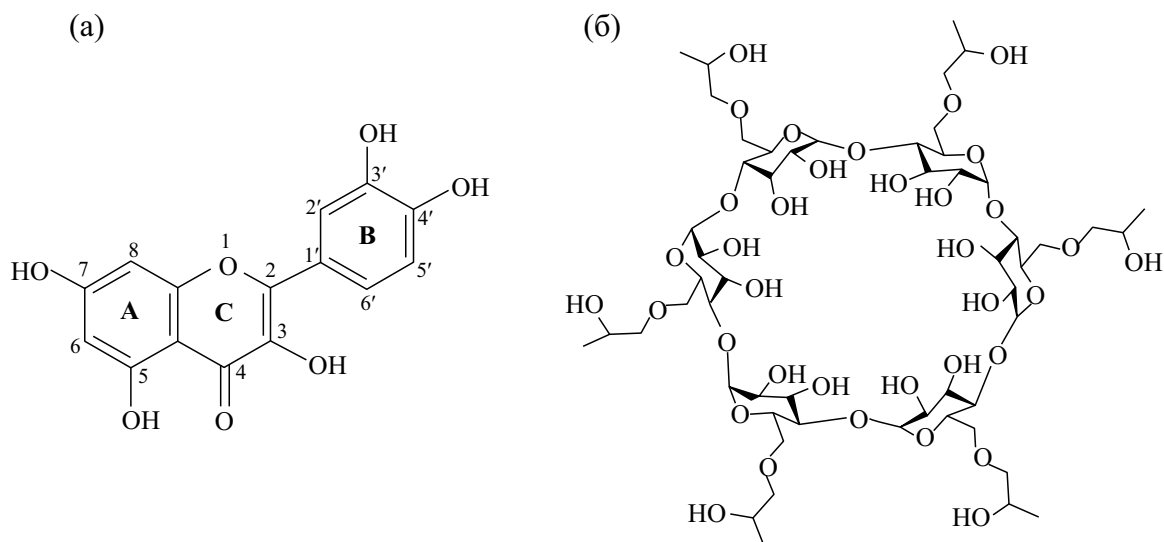


Рис. 1. Структурная формула кверцетина (а) и (2-гидроксипропил)-β-циклодекстрина (б).

кетина [6]). Для специфической и безопасной доставки лекарственных средств (биоактивных молекул) к тканям и клеткам-мишеням, снижения токсичности, повышения стабильности, предотвращения деструкции разрабатываются и тестируются разнообразные транспортные системы (пищевые и непивные). В качестве одного из наиболее перспективных пищевых инкапсулирующих полисахаридов в настоящее время рассматриваются β-циклодекстрины, которые широко используются при разработке способов направленной доставки, создании функциональных продуктов питания, детоксикации организма [7]. Циклодекстрины (CD) представляют собой циклические водорастворимые углеводы, состоящие из 6, 7 или 8 единиц глюкопиранозы (α-, β- и γ-циклодекстрины, соответственно) (рис. 1б). Использование циклодекстринов как молекулярных контейнеров доставки биологически активных веществ направлено, в первую очередь, на увеличение биологической активности включаемых молекул, повышение биодоступности и функциональности. CD обладают гидрофобной внутренней полостью и гидрофильной поверхностью и способны формировать супрамолекулярные комплексы включения с разнообразными органическими соединениями по типу «гость—хозяин». Они широко используются в медицинской, фармацевтической, пищевой промышленности, сельском хозяйстве и других областях. В литературе широко представлены данные о механизмах комплексообразования кверцетина и β-CD, стехиометрии, константах стабильности комплексов включения, физико-химических и биохимических свойствах [8–10]. В тоже время β-CD имеет ограниченную растворимость в воде (0.0185 г/мл), проявляет нефротоксичность [11], в

связи с этим мы использовали модифицированный циклодекстрин (2-гидроксипропил)-β-циклодекстрин (HP-β-CD), который значительно менее токсичен и характеризуется высокой растворимостью в воде (>0.45 мг/мл) [12]. Целью настоящей работы было выяснение физико-химические параметры супрамолекулярного комплекса включения флавоноида кверцетина с β-циклодекстринами, формируемого с целью повышения биодоступности и фармакологической эффективности инкапсулируемого соединения, используя методы УФ- и ИК-спектроскопии и квантово-химического моделирования.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использовали кверцетин (Sigma-Aldrich GmbH, Германия), β-циклодекстрин, гидроксипропил-β-циклодекстрин (CycloLab Ltd, Венгрия), остальные реактивы соответствовали квалификации «х.ч.» («Реахим», Россия). Комплекс включения кверцетин-HP-β-CD был получен согласно методу, предложенному в работе [13] – суспензированием кверцетина (50 мг) и HP-β-CD (250 мг) в 96%-м этаноле (50 мл). Суспензию перемешивали на магнитной мешалке в течение 24 ч при 60 об/мин и 20°C. Для предотвращения реакции фотодеградации кверцетина колбу закрывали алюминиевой фольгой. Физическую смесь кверцетина и HP-β-CD готовили простым смешиванием в соотношении 1:1 в этаноле. После получения комплексов (или смеси) растворитель выпаривали при 60°C, используя вакуумный роторный испаритель []. Для приготовления растворов использовали воду, которую очищали с помощью системы Milli-Q (Millipore, США).

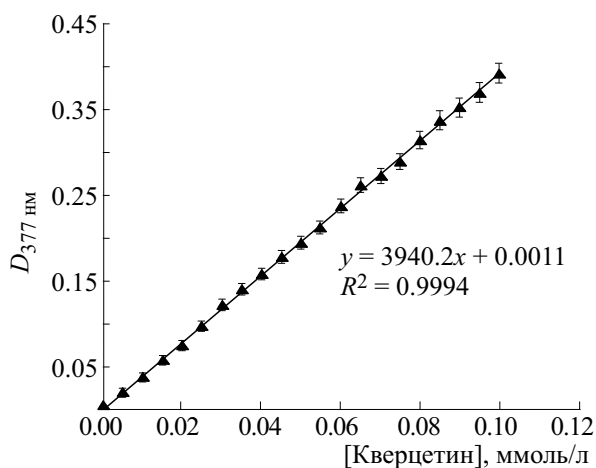


Рис. 2. Зависимость оптической плотности водного раствора кверцетина от его концентрации.

Исследование фазовой растворимости полифенолов в суспензии циклодекстринов проводили по методу, описанному в работе [14]. Одинаковое количество полифенола добавляли к водному раствору, содержащему  $\beta$ -CD или HP- $\beta$ -CD в диапазоне концентраций 0–16 мМ, рН 6.8;  $T = 298$  К. Образцы инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 72 ч для достижения равновесия, фильтровали через бумажный фильтр, затем фильтрат центрифугировали при 13500 г в течение 10 мин при комнатной температуре. Количество растворенного полифенола определяли спектрофотометрически, используя ранее построенную калибровочную кривую. Константу ассоциации ( $K_s$ ) комплекса включения рассчитывали по следующей формуле:

$$K_s = \frac{\text{slope}}{S^0(1 - \text{slope})}, \quad (1)$$

где  $S^0$  — растворимость кверцетина в отсутствие циклодекстрина при 25°C, slope — угол наклона фазовой диаграммы растворимости, представляющей зависимость концентрации кверцетина от концентрации HP- $\beta$ -CD или  $\beta$ -CD.

Инфракрасные спектры образцов (кверцетин, HP- $\beta$ -CD, комплекс включения «кверцетин–HP- $\beta$ -CD», физическая смесь компонентов) регистрировали в диапазоне волновых чисел 4000–400  $\text{см}^{-1}$  с разрешением 0.5  $\text{см}^{-1}$  в порошкообразном состоянии с помощью ИК-Фурье-спектрометра Nicolet iS10 (Thermo Fisher Scientific, США), используя алмазную призму нарушенного полного внутреннего отражения.

Теоретические расчеты: в настоящей работе для оценки геометрии комплекса и возможных механизмов его формирования мы теоретически рассмотрели структуры молекул кверцетина и комплекса «кверцетин– $\beta$ -циклодекстрин», их

электронные свойства. Были использованы полуэмпирический метод молекулярных орбиталей и расчеты *ab initio*.

Преоптимизация структуры молекулы была проведена методом молекулярной механики ММ+ [15]. Полная оптимизация структуры проведена в рамках модели Остина (Austin model 1, AM1) (полуэмпирический метод с использованием неограниченного формализма Хартри–Фока (unrestricted Hartree-Fock, UHF, formalism) (метод самосогласованного поля). Электронную структуру систем рассчитывали, используя неэмпирический метод *ab initio*. Расчеты проводили, используя пакет HyperChem 8.0 и базис 6-31G.

Статистический анализ проводили с использованием пакета программ Statistica 6.0. Достоверность различий оценивали при помощи непараметрического критерия Колмогорова–Смирнова.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

**Оценка параметров комплексообразования кверцетина и  $\beta$ -циклодекстринов методом УФ-спектроскопии.** На начальном этапе оценки параметров комплексообразования кверцетина и циклодекстринов мы определили молярный коэффициент экстинкции ( $\epsilon$ ) кверцетина в водном растворе (рис. 2), измеряя зависимость оптической плотности водных растворов кверцетина от его концентрации ( $0 - 1 \cdot 10^{-4}$  моль/л) при  $\lambda_{\text{max}} = 377$  нм. Зависимость, представленная на рис. 2, описывается уравнением  $y = 3940x + 0.0011$  ( $R^2 = 0.999$ ), что соответствует молярному коэффициенту экстинкции флавоноида  $\epsilon = 3940 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  при  $\lambda_{\text{max}} = 377$  нм.

Далее мы оценили растворимость кверцетина в присутствии различных концентраций  $\beta$ -CD (0–16 мМ) (рис. 3) и его модифицированной формы HP- $\beta$ -CD (0–16 мМ) (рис. 4). Зависимость концентрации растворенного лиганда (кверцетина) от концентрации внесенного циклодекстрина (фазовая диаграмма растворимости) описывается линейным уравнением  $y = 0.0002x \pm 8 \cdot 10^{-7}$  ( $R^2 = 0.9931$ ) в случае  $\beta$ -CD (рис. 3) и  $y = 0.008x \pm 7 \cdot 10^{-7}$  ( $R^2 = 0.9928$ ) в случае HP- $\beta$ -CD (рис. 4).

Растворимость кверцетина увеличивалась более чем в 5 раз в случае  $\beta$ -CD (16 мМ) (рис. 3) и более чем в 50 раз (рис. 4) в случае HP- $\beta$ -CD (16 мМ). Диаграмма фазовой растворимости кверцетина в соответствии с концепцией авторов работы [14] может быть классифицирована как диаграмма  $A_L$ -типа, что предполагает возрастание растворимости лиганда в результате образования комплекса включения 1:1. Рассчитанные нами с помощью метода, предложенного в

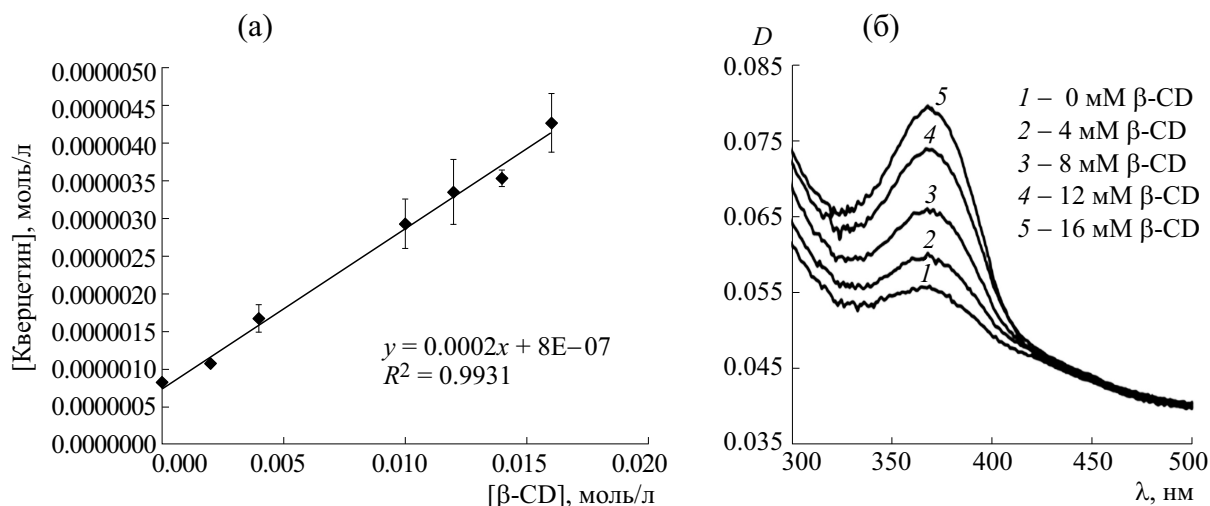


Рис. 3. Зависимости растворимости кверцетина от концентрации  $\beta$ -CD: (а) – диаграмма фазовой растворимости кверцетина в водных растворах  $\beta$ -CD; (б) – спектры поглощения при 298 К в диапазоне 300–500 нм кверцетина, инкубируемого в отсутствие (1) и в присутствии (2–5)  $\beta$ -CD (0–16 мМ).

работе [14], константы ассоциации  $K_s$  равны в случае  $\beta$ -CD  $301 \pm 47 \text{ M}^{-1}$  и в случае HP- $\beta$ -CD –  $3275 \pm 448 \text{ M}^{-1}$ .

**ИК-спектроскопия комплекса включения кверцетина и HP- $\beta$ -CD.** Формирование комплекса включения может быть подтверждено характерными изменениями колебательных спектров кверцетина и HP- $\beta$ -CD, которые мы регистрировали методом Фурье-ИК-спектроскопии.

На рис. 5 представлены ИК-спектры кверцетина, HP- $\beta$ -CD и комплекса включения «кверцетин–HP- $\beta$ -CD». HP- $\beta$ -CD был выбран нами в качестве объекта исследования в связи со значи-

тельно более высокой константой устойчивости комплекса включения с кверцетином по сравнению с немодифицированным  $\beta$ -CD.

Колебательные спектры свободного кверцетина исследованы рядом авторов [16–22], которые провели отнесение основных колебательных полос спектра. Так широкая полоса в спектре кверцетина с максимумами  $3315$  и  $3399 \text{ cm}^{-1}$  соответствует валентным колебаниям (O–H) групп, которые, вероятно, участвуют в формировании меж- и внутримолекулярных водородных связей [16–23]. Авторы работ [16, 17], основываясь на данных ИК- и ЯМР- спектроскопии, отнесли полосу средней интенсивности при  $1664 \text{ cm}^{-1}$  к ва-

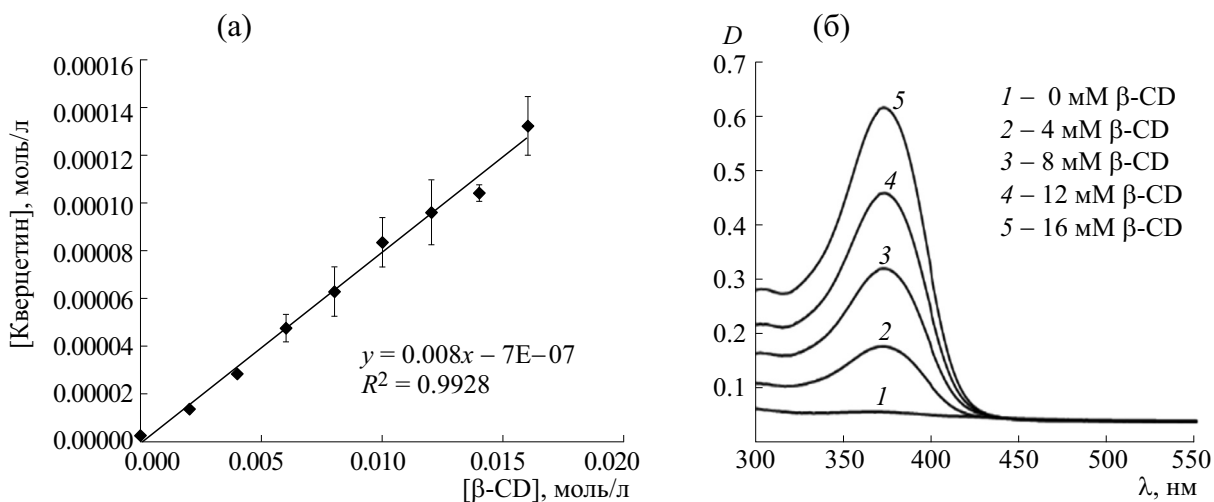


Рис. 4. Зависимости растворимости кверцетина от концентрации HP- $\beta$ -CD: (а) – диаграмма фазовой растворимости кверцетина в водном растворе HP- $\beta$ -CD; (б) – спектры поглощения при 298 К в диапазоне 300–550 нм кверцетина, инкубируемого в отсутствие (1) и в присутствии (2–5) HP- $\beta$ -CD (0–16 мМ).

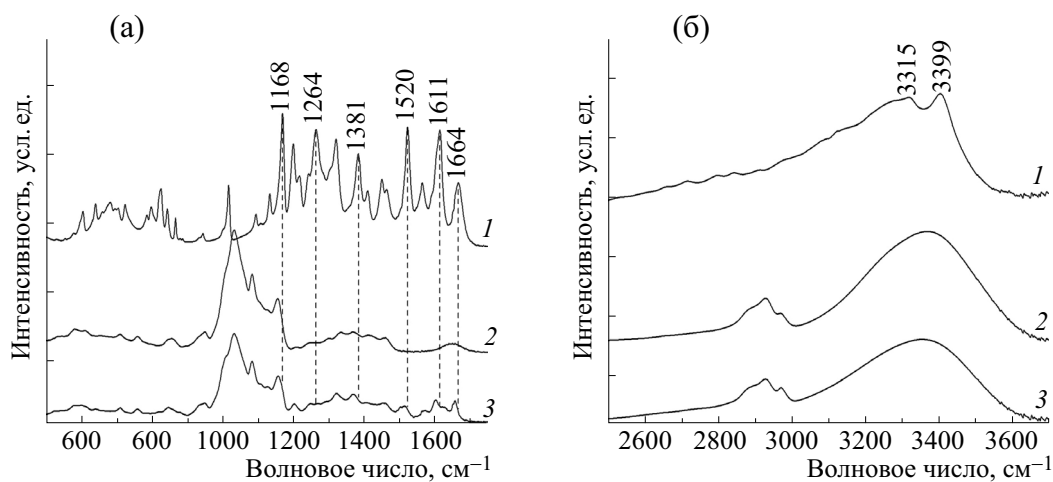


Рис. 5. ИК-Фурье-спектры кверцетина (1); HP- $\beta$ -CD (2) и комплекса «кверцетин-HP- $\beta$ -CD» (3) в низкочастотной (а) и высокочастотной (б) области.

лентным  $C=O$  колебаниям растяжения негидратированной формы кверцетина. Аналогичное отнесение данной полосы выполнено также рядом других авторов [17, 20–22]. Интенсивную полосу при 1611 см<sup>-1</sup> авторы работ [16–18, 20–23] соотносят с колебаниями  $C=C$ -групп ароматических колец молекулы, конъюгированных с карбонильной группой ( $C=O$ ). Авторы работы [21] предполагают, что интенсивная полоса 1520 см<sup>-1</sup>, вероятнее всего, также соответствует колебаниям  $C=C$ -групп ароматических колец кверцетина.

Ряд авторов полагает, что колебательная полоса при 1381 см<sup>-1</sup> образована плоскостными валентными  $C-OH$ -колебаниями в молекуле кверцетина [17–23]. Отметим также полосу 1264 см<sup>-1</sup>,

которую ряд авторов относит к валентным колебаниям группы  $-C-O-C-$ , и полосу 1168 см<sup>-1</sup>, связанную с деформационными колебаниями  $C-OH$ -связи [17–19, 23].

Как видно из рис. 6, колебательный спектр физической смеси представляет собой суперпозицию индивидуальных спектров компонентов. В колебательном спектре комплекса сохраняются основные полосы, характерные для кверцетина и HP- $\beta$ -CD (рис. 5 и 6). Изменения в спектральных областях колебаний функциональных групп позволяют проследить структурные изменения кверцетина и образование новых связей при включении в комплекс с HP- $\beta$ -CD. В комплексе включения полоса кверцетина при 1664 см<sup>-1</sup> смещается

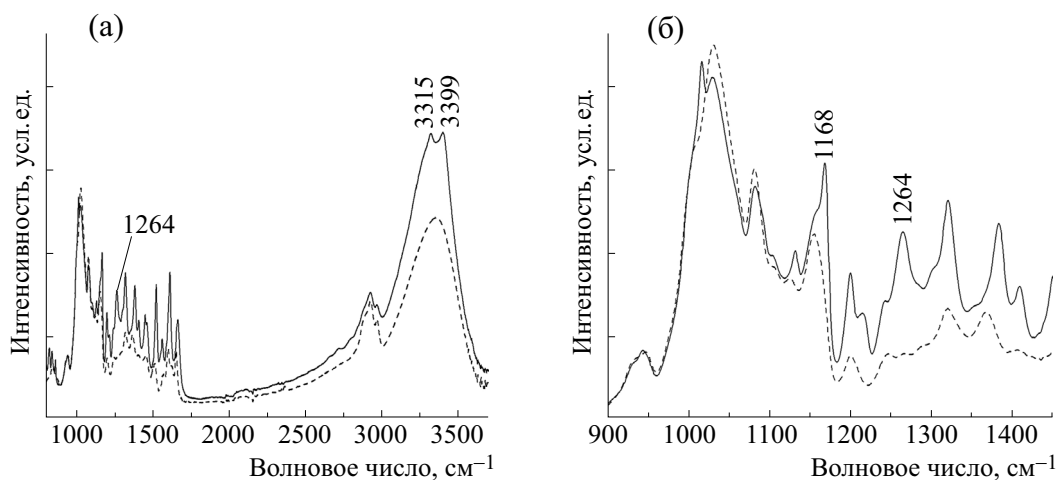
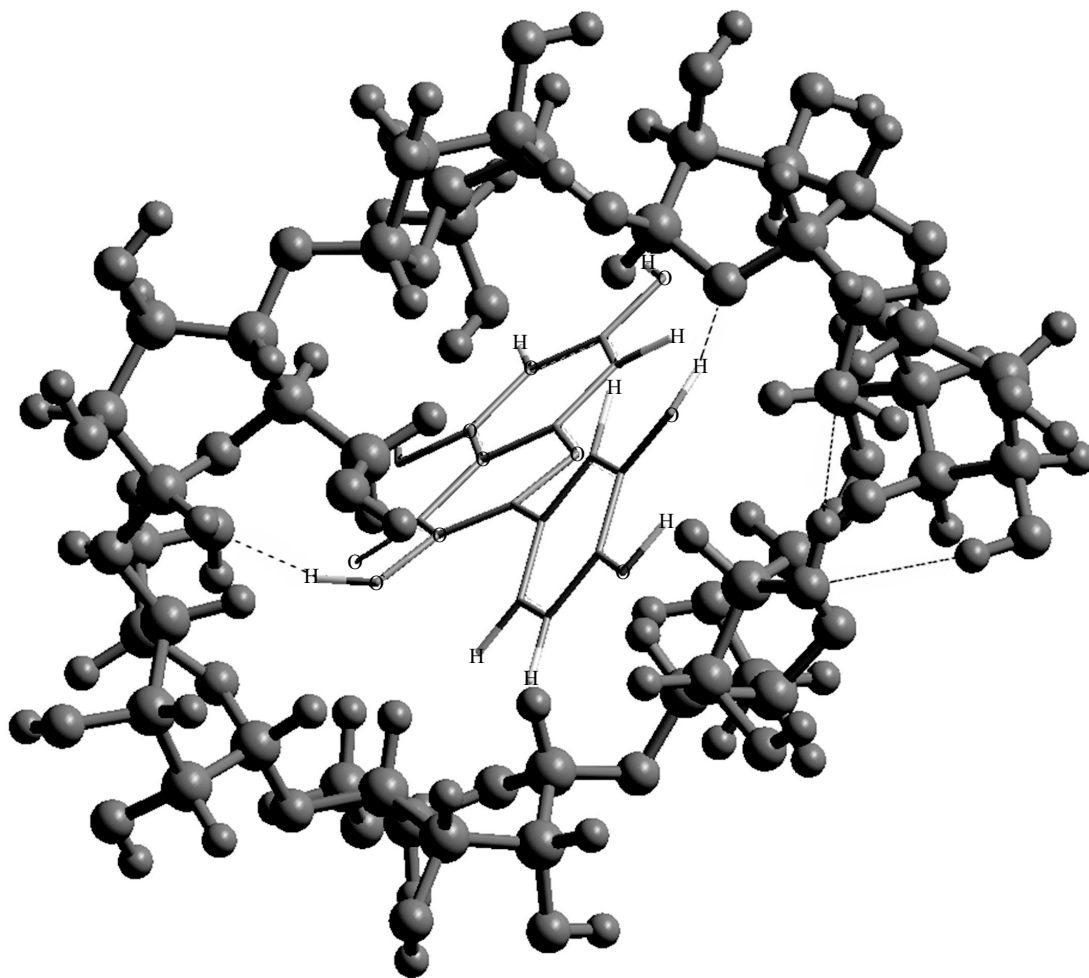


Рис. 6. ИК-Фурье-спектры физической смеси кверцетина и HP- $\beta$ -CD (сплошная линия) и комплекса включения «кверцетин-HP- $\beta$ -CD» (прерывистая линия).



**Рис. 7.** Оптимизированная структура комплекса «кверцетин-β-CD». Показаны водородные связи, образуемые в комплексе.

в низкочастотную область на  $\sim 10 \text{ см}^{-1}$  ( $1654 \text{ см}^{-1}$ ) за счет образования водородных связей с О-Н-группами в молекуле НР-β-CD, еще больший низкочастотный сдвиг ( $\sim 13 \text{ см}^{-1}$ ) претерпевают полосы валентных С=C-колебаний. В колебательном спектре комплекса полоса  $1264 \text{ см}^{-1}$  практически не проявляется, что может быть следствием изменения геометрии молекулы при встраивании кверцетина в полость НР-β-CD. Колебательная полоса при  $1381 \text{ см}^{-1}$  (рис. 6) испытывает значительный низкочастотный сдвиг ( $\sim 12 \text{ см}^{-1}$ ), что также указывает на образование комплекса включения (рис. 5).

Включение молекулы кверцетина в полость НР-β-CD приводит к изменению ИК-спектра в высокочастотной области ( $3000\text{--}3600 \text{ см}^{-1}$ ): колебательные полосы ОН-групп испытывают дополнительное уширение, колебательная структура

полосы кверцетина в области  $3300\text{--}3400 \text{ см}^{-1}$  исчезает. Спектральные изменения, очевидно, являются результатом взаимодействия функциональных групп НР-β-CD и кверцетина и структурных изменений молекул при формировании комплекса.

**Структура и электронные свойства молекул кверцетина, β-циклодекстрина, гидроксипропил-β-циклодекстрина и их комплексов включения.** Мы рассчитали некоторые молекулярные параметры кверцетина, β-циклодекстрина, гидроксипропил-β-циклодекстрина, их комплексов включения и кверцетина после удаления из комплексов, используя полуэмпирическую теорию молекулярных орбиталей [15]. Полученная нами оптимизированная структура (метод AM1) комплекса включения «кверцетин-β-циклодекстрин» представлена на рис. 7. Молекула кверцетина комплементарна внутренней полости молекул β-цикло-

декстринов. При включении наблюдаем определенную «подгонку» структур молекул кверцетина и циклодекстринов. Так, оцененный нами линейный размер внутренней полости молекулы  $\beta$ -CD равен 5.5 Å, молекулы HP- $\beta$ -CD – 8.3 Å, линейные размеры полости увеличиваются после включения кверцетина. Молекула кверцетина практически планарна, оптимизация геометрии молекулы демонстрирует, что торсионный угол между кольцами АС и В равен 180°, внутри полости молекулы хозяина происходит «скручивание» молекулы кверцетина, торсионный угол между кольцами становится равен 149.5° в случае  $\beta$ -CD и 138.7° – в случае HP- $\beta$ -CD. Данные представлены в таблице. Дипольный момент кверцетина, рассчитанный нами методом AM1, равен  $\mu = 3.01$  Дебая, что отражает достаточно высокую полярность молекулы. После включения в комплекс с  $\beta$ -CD молекула кверцетина становится еще более полярна, а в комплексе с HP- $\beta$ -CD – менее полярна (см. таблицу). Ранее авторы работы [15] получили значения дипольного момента  $\mu$  кверцетина и семихинон-радикала кверцетина (локализованного в положении С4' кольца В), составляющие 3.013 и 4.963 Дебая соответственно. Одновременно происходит увеличение площади поверхности и объема молекулы кверцетина при встраивании в полость молекулы  $\beta$ -CD (см. таблицу).

## ДИСКУССИЯ

В настоящей работе мы рассмотрели стехиометрию, константы ассоциации, геометрию, молекулярные свойства и спектральные параметры комплексов включения кверцетин- $\beta$ -CD и кверцетин-HP- $\beta$ -CD, получаемых методом длительного перемешивания в растворе и со-выпаривания. Ранее нами было проведено сравнение антиоксидантной и регуляторной активности кверцетина и комплекса его включения с гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрином, рассчитана оптимальная структура молекул кверцетина и его окисленных форм, их молекулярные и электронные свойства, определены реакционные центры молекулы и наиболее стабильные продукты [24]. В настоящей работе методами квантовой химии мы показали, что формирование комплекса включения изменяет геометрию молекул «гостя» и «хозяина», увеличивает размеры внутренней полости  $\beta$ -CD и HP- $\beta$ -CD, расположение колец в молекуле кверцетина и ее полярность. Полярность молекулы кверцетина определяется, во-многом, расположением гидроксильных групп, которое, вероятно, различно в комплексе «кверцетин-HP- $\beta$ -CD» и «кверцетин- $\beta$ -CD». Оптимизированная структура комплекса «кверцетин- $\beta$ -CD» представлена на рис. 7, молекула кверцетина размещается во внутренней полости.

При этом несколько изменяются параметры, характеризующие сродство кверцетина к электрону и потенциал ионизации (параметры НОМО, LUMO), уменьшается стабильность молекулы кверцетина (незначительно уменьшается теплота образования, изменяется дипольный момент молекулы) (см. таблицу). Стабилизация комплекса происходит за счет образования нескольких межмолекулярных водородных связей (рис. 7), что регистрирует метод ИК-спектроскопии и демонстрирует квантово-химический расчет. Нами обнаружены различия в геометрии молекулы кверцетина во внутренней полости HP- $\beta$ -CD и  $\beta$ -CD. Согласно нашей оценке размер внутренней полости комплекса «кверцетин-HP- $\beta$ -CD» превышает размер полости комплекса «кверцетин- $\beta$ -CD»). Известно, что гидрофобные взаимодействия играют определяющую роль в формировании комплекса включения с  $\beta$ -циклодекстринами. При этом энтропийный (за счет удаления из гидрофобной полости циклодекстринов и реорганизация молекул воды) и энтальпийный (за счет прямого взаимодействия молекул «гостя» и «хозяина», в том числе за счет формирования водородных связей) эффекты вносят вклад в спонтанный процесс формирования комплекса [25].

Представленные нами ИК-Фурье-спектры кверцетина соответствуют полученным ранее [16–22]. Колебательные спектры молекулы флавоноида можно представить как результат слабого сопряжения бензопиранового (хромонового) и фенильного колец молекулы, при этом полагают, что полосы в области  $1600\text{ см}^{-1}$  не могут быть отнесены к колебаниям С=О-группы. Колебания гидроксильных групп сопряжены с колебаниями колец флавоноида [26]. Формирование комплекса включения кверцетина и HP- $\beta$ -CD приводит к существенным изменениям колебательных спектров компонентов по сравнению со спектром физической смеси. Изменения интенсивности и частот колебаний функциональных групп компонентов позволяют проследить структурные изменения кверцетина и образование новых связей в комплексе включения. Вероятно, карбонильная группа кверцетина участвует в формировании водородных связей с молекулой HP- $\beta$ -CD. Включение кверцетина в супрамолекулярный комплекс сопровождается длинноволновым сдвигом его УФ-спектра поглощения, вероятно, за счет разрушения ассоциатов молекул кверцетина при включении в комплекс (рис. 3 и 4). При этом, вероятно, не все группировки кверцетина погружены в полость циклодекстринов. Полярность молекулы кверцетина и его конформация различны в полости двух циклодекстринов.

Обнаруженное нами значительное увеличение растворимости кверцетина, включаемого в супрамолекулярный комплекс, по сравнению с на-

Рассчитанные молекулярные параметры кверцетина,  $\beta$ -циклодекстринов, комплексов «кверцетин- $\beta$ -CD» и «кверцетин-HP- $\beta$ -CD», а также кверцетина в структуре комплекса

	Кверцетин	$\beta$ -CD	Комплекс включения «кверцетин- $\beta$ -CD»	Кверцетин в структуре комплекса с $\beta$ -CD	HP- $\beta$ -CD	Комплекс включения «кверцетин-HP- $\beta$ -CD»	Кверцетин в структуре комплекса с HP- $\beta$ -CD
AM1							
Общая энергия, ккал/моль	-99165.11	-405061.73	-504212.81	-99155.97	-532187.24	-631342.68	-99161.99
Энергия связывания, ккал/моль	-3717.94	-14512.35	-18216.26	-3708.80	-21064.15	-24772.42	-3714.82
Теплота образования, ккал/моль	-216.659	-1603.265	-1805.892	-207.522	-1961.187	-2168.171	-213.542
E(HOMO), eV	-8.7458	-10.3033	-8.9054	-8.6285	-10.1299	-8.7635	-8.7788
E(LUMO), eV	-1.1319	1.2447	-1.0744	-0.7871	-11.4331	-7.3241	-7.74
$\Delta E = E(\text{HOMO}) - E(\text{LUMO}), \text{eV}$	-7.6138	-11.5480	-7.8309	-7.8414	-11.4331	-7.3241	-7.74
Дипольный момент, D	3.011	7.497	13.619	5.303	7.616	9.163	2.691
QSAR properties							
Объем, Å <sup>3</sup>	751.12	2337.23	2711.59	764.29	3397.81	3776.27	761.53
Масса, а.е.м	302.24	1135	1437.24	302.24	1541.56	1843.80	302.24
Преломляющая способность	75.43	226.89	290.48	72.33	335.12	413.76	75.43
Поляризуемость	28.54	93.95	123.76	29.81	136.94	165.48	28.54
Энергия гидратации, ккал/моль	-32.67	-62.3	-	-30.52	-60.10	-	-33.16
Торсионный угол (C3 C2 B1' B2')	180			149.5			138.7

Примечание. Оптимизация структуры проведена в рамках полуэмпирического метода AM1 (The Austin Model 1) с использованием неограниченного метода Хартри-Фока.



тивным флавоноидом (растворимость возрастала более чем в 5 раз в случае 16 мМ  $\beta$ -CD и более чем в 50 раз – в случае 16 мМ HP- $\beta$ -CD) указывает на повышенную биодоступность. Наши данные согласуются с данными работы [18], авторы которой обнаружили повышение водорастворимости кверцетина в 4,6 раза при концентрации 18 мМ  $\beta$ -CD. Подобным же образом в работе [27] было продемонстрировано, что формирование комплекса «кверцетин–метил- $\beta$ -циклодекстрин» увеличивает растворимость комплекса (в 254 раза) и его антиоксидантную активность (на 10%).

Ранее разными авторами были описаны биохимические и фармакологические эффекты включения полифенолов в супрамолекулярные комплексы с циклодекстринами. В работе [28] было показано, что комплекс включения кверцетин-HP- $\beta$ -CD сохраняет параметры электрохимического окисления флавоноида и способность хелатировать ионы железа, что связано с высвобождением флавоноида из полости молекулы «хозяина». Авторы работы [29] продемонстрировали, что комплексообразование кверцетина с  $\beta$ -CD (и лецитином) существенно улучшает водорастворимость флавоноида (растворимость кверцетина в воде в комплексе с  $\beta$ -CD возрастала в 24,9 раза) и его антиоксидантную активность и радикал-скевенжерные свойства.

Оцененная нами методом, описанным в работе [14], константа ассоциации комплекса включения «кверцетин– $\beta$ -CD» (1:1) равна  $K_s = 301 \pm 47 \text{ M}^{-1}$ , что свидетельствует об относительно слабом взаимодействии между молекулами. Полученное нами значение кажущейся константы стабильности комплекса «кверцетин– $\beta$ -CD» соответствует значениям, полученным ранее: авторы работ [30–32] продемонстрировали следующие значения:  $K_s = 129 \text{ M}^{-1}$ ,  $396 \text{ M}^{-1}$  и  $402 \text{ M}^{-1}$  соответственно. С другой стороны, оно значительно ниже значений, представленных в работах [33–35] и составляющих  $K_s = 602 \text{ M}^{-1}$ ,  $709 \text{ M}^{-1}$  и  $1028 \text{ M}^{-1}$  соответственно. Эти различия могут отражать влияние ионизации молекулы кверцетина при различных pH среды. Ионизированная форма кверцетина обычно формирует менее стабильные комплексы, чем неионизированная форма. Это объясняется повышенной гидрофильностью вещества при ионизации, что снижает взаимодействие между флавоноидом и гидрофобной полостью циклодекстрина (например, гидрофобные и ван-дер-ваальсовы взаимодействия).

Константа ассоциации комплекса значительно возрастает в случае HP- $\beta$ -CD и равна  $3275 \pm 448 \text{ M}^{-1}$ . Известно, что размер внутренней полости в молекуле HP- $\beta$ -CD превышает размер полости в молекуле  $\beta$ -CD. Различия в значении констант комплексообразования в случае  $\beta$ -CD и

HP- $\beta$ -CD можно объяснить вовлечением гидроксипропильных радикалов на поверхности молекулы HP- $\beta$ -CD в формирование дополнительных связей между кверцетином и циклодекстрином и различиями в размерах внутренней полости  $\beta$ -CD и HP- $\beta$ -CD. Ранее также было показано, что константа связывания и растворимость кверцетина в комплексе с  $\beta$ -циклодекстринами существенно выше в случае HP- $\beta$ -CD по сравнению с  $\beta$ -CD, возрастающая с увеличением числа групп заместителей, участвующих во взаимодействии с молекулой кверцетина, и гидрофобности молекул циклодекстринов [33].

## ВЫВОДЫ

В настоящей работе мы рассмотрели стехиометрию, константы ассоциации и спектральные параметры комплекса включения «кверцетин–HP- $\beta$ -CD», получаемого методом перемешивания в растворе и совыпаривания. Достоверное знание структуры, физико-химических параметров и биохимических эффектов платформ-носителей ( $\beta$ -CD) и их комплексов включения – необходимое условие успешного конструирования эффективных и безопасных переносчиков лекарственных средств. Кверцетин образует комплекс включения по типу «гость–хозяин» с  $\beta$ -циклодекстринами в молярном соотношении 1 : 1. Образование комплекса сопровождается увеличением растворимости кверцетина с ростом концентрации циклодекстрина (растворимость возрастала более чем в 5 раз в случае  $\beta$ -CD и более чем в 50 раз – в случае HP- $\beta$ -CD), что указывает на повышенную биодоступность кверцетина в структуре комплекса. Оцененная нами методом построения фазовых диаграмм растворимости константа ассоциации комплекса с HP- $\beta$ -CD равна  $3275 \pm 448 \text{ M}^{-1}$ , что свидетельствует о высоком сродстве внутренней полости молекулы HP- $\beta$ -CD к кверцетину. В ИК-Фурье-спектре кверцетина можно выделить полосы с максимумами 3315 и 3399  $\text{cm}^{-1}$  (валентные колебания O–H-групп), полосу средней интенсивности 1664  $\text{cm}^{-1}$  (валентные колебания свободной кетонной группы C=O) и полосу 1381  $\text{cm}^{-1}$  (C–OH-колебания). Изменения интенсивности и частот колебаний функциональных групп компонентов при включении в комплекс свидетельствует о структурных изменениях кверцетина и образовании водородных связей, в которые вовлекаются карбонильная и гидроксильные группы молекул кверцетина и циклодекстринов. Квантово-химическое моделирование комплекса включения демонстрирует размещение молекулы кверцетина во внутренней

полости  $\beta$ -циклодекстринов, участие определенных группировок кверцетина и  $\beta$ -циклодекстринов в формировании комплекса, что приводит к изменению геометрии («скручиванию») и молекулярных свойств (дипольный момент, теплота образования) кверцетина, увеличению размеров полости, формированию водородных связей. Полученные результаты свидетельствуют о большем размере внутренней полости молекулы HP- $\beta$ -CD по сравнению с  $\beta$ -CD, определенных различиях в геометрии и молекулярных свойствах молекулы кверцетина во внутренней полости HP- $\beta$ -CD и  $\beta$ -CD, о формировании дополнительных связей, что объясняет значительно большее сродство кверцетина в случае HP- $\beta$ -CD.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- G. D'Andrea, *Fitoterapia* **106**, 265 (2015).
- D. Del Rio, A. Rodriguez-Mateos, J. P. E. Spencer, et al., *Antioxidants & Redox Signaling* **18** (14), 1818 (2013).
- M. T. Mercader-Ros, C. Lucas-Abellán, M. I. Fortea, et al., in *Quercetin: Dietary sources, functions and health benefits* (Nova Science Pub Inc., 2012), pp. 179–198.
- C. A. Rice-Evans, N. J. Miller, and G. Paganga, *Free Radic. Biol. Med.* **20**, 933 (1996).
- X. Cai, Z. Fang, J. Dou, et al., *Curr. Med. Chem.* **20**, 2572 (2013).
- X. Chen, O. Q. Yin, Z. Zuo, and M. S. Chow, *Pharm. Res.* **22**, 892 (2005).
- M. E. Davis and M. E. Brewster, *Nat. Rev. Drug Discov.* **3**, 1023 (2004).
- Z. Aytac, S. I. Kusku, E. Durgun, and T. Uyar, *Food Chem.* **197**, 864 (2016).
- M. Liu, L. Dong, A. Chen, et al., *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* **115**, 854 (2013).
- G. S. Borghetti, I. S. Lula, R. D. Sinisterra, and V. L. Bassani, *AAPS Pharm. Sci. Tech.* **10** (1), 235 (2009).
- D. W. Frank, J. E. Gray, and R. N. Weaver, *Am. J. Pathol.* **83** (2), 367 (1976).
- S. Gould and R. C. Scott, *Food Chem. Toxicol.* **43**, 1451 (2005).
- I. M. Savic, V. D. Nikolic, I. Savic-Gajic, et al., *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **82**, 383 (2015).
- T. Higuchi and K. A. Connors, *Adv. Anal. Chem. Instr.* **4** (2), 117 (1965).
- S. Erkoç, F. Erkoç, and N. Keskin, *J. Mol. Struct. (Theochem.)* **631**, 141 (2003).
- S. B. Bukhari, S. Memon, M. Mahroof-Tahir, and M. I. Bhangar, *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* **71** (5), 1901 (2009).
- A. M. Mendoza-Wilson, H. Santacruz-Ortega, and R. R. Balandrán-Quintana, *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* **81** (1), 481 (2011).
- G. S. Borghetti, I. S. Lula, R. D. Sinisterra, and V. L. Bassani, *AAPS Pharm. Sci. Tech.* **10** (1), 235 (2009).
- J. Zhou, L.-F. Wang, J. Y. Wang, and N. Tang, *J. Inorg. Biochem.* **83** (1), 41 (2001).
- K. Dias, S. Nikolaou, and W. F. De Giovanni, *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* **70**, 154 (2008).
- M. Heneczkowski, M. Kopach, D. Nowak, and A. Kuzniar, *Acta Polon. Pharmaceut. – Drug Res.* **58** (6), 415 (2001).
- R. F. V. Souza and W. F. Giovanni, *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* **61**, 1985 (2005).
- Э. Преч, Ф. Бюльманн и К. Аффольтер. *Определение строения органических соединений* (БИНОМ, М., 2006).
- Т. В. Ильич, А. Г. Вейко, Е. А. Лапшина и И. Б. Заводник, *Биофизика* **63** (4), 690 (2018).
- S. Belica, D. Jeziorska, P. Urbaniak, et al., *J. Chem. Thermodynamics* **70**, 160 (2014).
- G. Baranović and S. Šegota, *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* **192**, 473 (2018).
- K. Güleç and M. Demirel, *Curr. Drug Deliv.* **13** (3), 444 (2016).
- F. D'Aria, C. Serri, M. Niccoli, et al., *J. Therm. Anal. Calorim.* **130** (1), 451 (2017).
- Y. Zhang, J. Yu, X.-D. Dong, and H.-Y. Ji, *Molecules* **23**, 20 (2018).
- M. L. Calabrò, S. Tommasini, P. Donato, et al., *J. Pharm. Biomed. Anal.* **35**, 365 (2004).
- M. C. Bergonzi, A. R. Bilia, L. Di Bari, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **17**, 5744 (2007).
- T. Pralhad and K. Rajendrakumar, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **34**, 333 (2004).
- C. Jullian, L. Moyano, C. Yañez, and C. Olea-Azar, *Spectr. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* **67**, 230 (2007).
- E. R. C. Vinadé and P. R. Petrovick, *Rev. Port. Farm.* **XLVIII**, 149 (1998).
- Y. Zheng, I. S. Haworth, Z. Zuo, et al., *J. Pharm. Sci.* **94**, 1079 (2005).

## Inclusion Complexes of Quercetin with $\beta$ -Cyclodextrins: Ultraviolet and Infrared Spectroscopy, Quantum-Chemical Modeling

T.V. Ilyich\*, E.A. Lapshina\*, A.A. Maskevich\*\*, A.G. Veiko\*, A.V. Lavysh\*\*, B. Palecz\*\*\*, A. Stępnia\*\*\*\*, V.U. Buko\*\*\*\*, and I.B. Zavodnik\*

\*Department of Biochemistry, Yanka Kupala State University of Grodno,  
bul. Leninskogo Komsomola 50, Grodno, 230030 Belarus

\*\*Department of General Physics, Yanka Kupala State University of Grodno, ul. Ozheshko 22, Grodno, 230023 Belarus

\*\*\*Faculty of Chemistry, University of Lodz, ul. Pomorska 165, Lodz, 90-236 Poland

\*\*\*\*Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds, National Academy of Sciences of Belarus,  
bul. Leninskogo Komsomola 50, Grodno, 230030 Belarus

The aim of the present study was to evaluate the parameters of formation of supramolecular inclusion complex between quercetin, the flavonoid, and hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin, the molecular container, using ultraviolet and infrared spectroscopy and quantum-chemical modeling. The water solubility of quercetin increased by more than 50 times when included in the supramolecular complex with the concentration of hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin 16 mM. The results showed that quercetin bioavailability was improved after encapsulating by hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin. The association constant for the inclusion complex with a 1 : 1 mixture of quercetin and hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin determined by Higuchi and Connors method was equal to  $3275 \pm 448 \text{ M}^{-1}$ . The formation of the inclusion complex results in considerable changes in the vibrational spectra of components compared to the spectrum of physical mixture of quercetin and hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin; this also happens because of hydrogen bond formation. The molecular modeling of the inclusion complex has shown that after encapsulation of quercetin molecule (“guest”) inside the cavity of  $\beta$ -cyclodextrins (“host”), the geometry and properties of the components change. The torsion angle between the rings of the planar quercetin molecule in the complexes with  $\beta$ -cyclodextrin and hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin is equal to  $149.5^\circ$  and  $138.7^\circ$ , respectively.

*Keywords: quercetin,  $\beta$ -cyclodextrin, UV- and IR spectroscopy, quantum chemical modeling, association constant*