

УДК 547.918:547.587.11:543.42

## ПАРАМЕТРЫ МОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСОВ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ СОЛОДКИ И ПЛЮЩА С АСПИРИНОМ

Яковишин Л.А.<sup>1</sup>, Гришковец В.И.<sup>2</sup>, Корж Е.Н.<sup>1</sup>, Клименко А.В.<sup>1</sup>, Дегтяр А.Д.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Севастопольский национальный технический университет, Севастополь, Украина

<sup>2</sup>Таврический национальный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Украина  
E-mail: chemsevntu@rambler.ru

Определены константы устойчивости комплексов аспирина с тритерпеновыми гликозидами  $\alpha$ -хедерином (3- $O$ - $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)- $O$ - $\alpha$ -L-арабинопиранозидом хедерагенина), хедерасапонином С (3- $O$ - $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)- $O$ - $\alpha$ -L-арабинопиранозил-28- $O$ - $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)- $O$ - $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)- $O$ - $\beta$ -D-глюкопиранозидом хедерагенина) и глицирамом (моноаммонийной солью глицирризиновой кислоты). Рассчитаны свободные энергии Гиббса процессов комплексообразования.

**Ключевые слова.** тритерпеновые гликозиды, глицирризиновая кислота, глицирам,  $\alpha$ -хедерин, хедерасапонин С, аспирин, молекулярный комплекс, спектрофотометрия, константа устойчивости.

### ВВЕДЕНИЕ

Ранее мы сообщали о комплексообразовании аспирина (ацетилсалициловой кислоты, AcSal, рис. 1) с тритерпеновыми гликозидами  $\alpha$ -хедерином (3- $O$ - $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)- $O$ - $\alpha$ -L-арабинопиранозидом хедерагенина, гликозид **1**, рис. 1), хедерасапонином С (3- $O$ - $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)- $O$ - $\alpha$ -L-арабинопиранозил-28- $O$ - $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)- $O$ - $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)- $O$ - $\beta$ -D-глюкопиранозидом хедерагенина, гликозид **2**, рис. 1) и глицирамом (моноаммонийной солью глицирризиновой кислоты, GC, рис. 1) [1–3]. Гликозиды **1** и **2** являются сапонинами плюща [4]. Глицирризиновая кислота – преобладающий гликозид корней солодки [5].

В настоящей статье рассмотрено определение термодинамических параметров молекулярного комплексообразования AcSal с GC и гликозидами **1** и **2** в водных растворах методом спектрофотометрии.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали образец GC фирмы «Calbiochem» (США). Тритерпеновые гликозиды **1** и **2** выделяли из листьев плющевой крымского *Hedera taurica* Carr. и канарского *Hedera canariensis* Willd. (Araliaceae Juss.). Методики выделения и установления строения приведены в работах [6, 7].

УФ-спектры получены при температуре 28 °C на спектрофотометре Unico UV-Vis 4802 (США) в кварцевых кюветах ( $l=1$  см). Для составления изомолярных серий использовали  $5 \cdot 10^{-4}$  М водные растворы AcSal и гликозидов **1** и **2**, а также  $10^{-4}$  М

растворы AcSal и GC (pH 7,2, фосфатный буфер  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ – $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ). Полученные смеси выдерживали при температуре 28 °C в течение 40 мин при постоянном перемешивании.

Для определения  $K$  комплекса AcSal·GC<sub>2</sub> смешивали 10<sup>-4</sup> М растворы AcSal и GC (pH 7,2) в объемном отношении 1:2, полученную смесь выдерживали при температуре 28 °C в течение 40 мин при постоянном перемешивании и измеряли ее оптическую плотность  $A_1$ . Затем смесь разбавляли буферным раствором в 2 раза и измеряли ее оптическую плотность  $A_2$ .

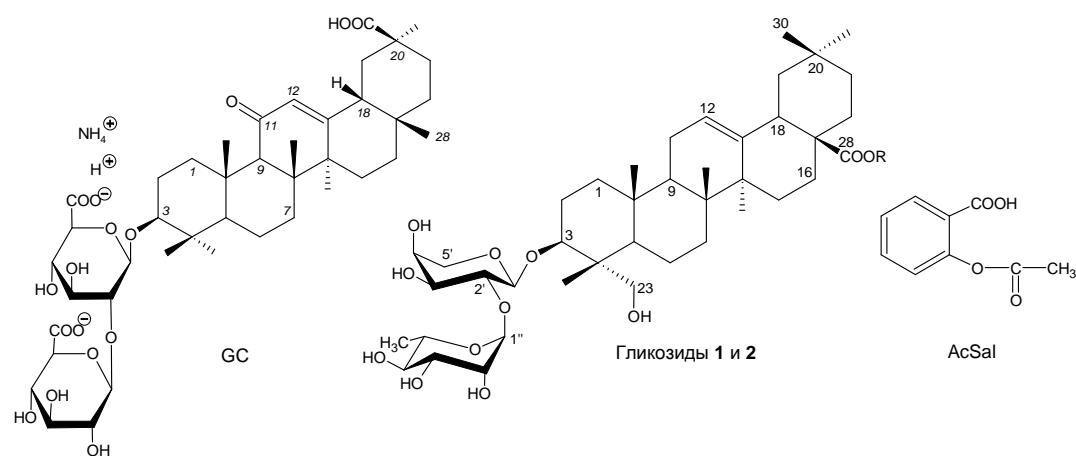
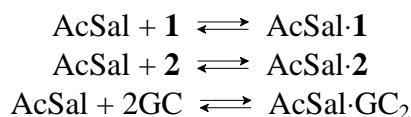


Рис. 1. Аспирин (AcSal),monoаммонийная соль глицирризиновой кислоты (глицирам, GC) и гликозиды  $\alpha$ -хедерин (1; R=H) и хедерасапонин C (2; R= $\leftarrow\beta\text{Glc}_p$ -(6 $\leftarrow$ 1)- $\beta\text{Glc}_p$ -(4 $\leftarrow$ 1)- $\alpha\text{Rha}_p$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Состав комплексов AcSal с гликозидами определен методом изомолярных серий (методом Остромысленского–Жоба) [8]. Изомолярные кривые, полученные при этом, приведены в работе [3]. Для комплексов AcSal с гликозидами 1 и 2 установлен состав 1:1. Комплекс AcSal с GC имеет состав 1:2.

В растворах устанавливаются равновесия между AcSal и гликозидами следующего вида:



$$K_1 = \frac{[\text{AcSal}\cdot\mathbf{1}]}{[\text{AcSal}][\mathbf{1}]}; \quad K_2 = \frac{[\text{AcSal}\cdot\mathbf{2}]}{[\text{AcSal}][\mathbf{2}]}; \quad K_3 = \frac{[\text{AcSal}\cdot\text{GC}_2]}{[\text{AcSal}][\text{GC}]^2}, \quad (1)$$

где  $K_1$ ,  $K_2$  и  $K_3$  – константы равновесия, являющиеся константами устойчивости соответствующих комплексов.

**Молекулярные комплексы гликозидов плюща с AcSal.** На основе изомолярных кривых [3] рассчитали константы нестабильности комплексов  $K_n$  ( $K_n=1/K$ ) по методу [9], используя закон разбавления Оствальда (формула 2). Метод применим для комплексов состава 1:1.

$$K_n = \frac{\alpha^2 c}{1-\alpha}, \quad (2)$$

где  $c$  – концентрация вещества, М, а  $\alpha$  – степень диссоциации комплекса, которую находили по формуле 3. Т.к. AcSal и ее комплексы с гликозидами плюща **1** и **2** имеют максимумы поглощения при 269 нм, то величину  $\alpha$  определяли с учетом  $\Delta A = A_{\text{смеси}} - A_{\text{AcSal}}$ .

$$\alpha = \frac{\Delta A_0 - \Delta A_1}{\Delta A_0}, \quad (3)$$

где  $\Delta A_0$  – изменение оптической плотности, соответствующее комплексу при полном отсутствии диссоциации, а  $\Delta A_1$  – изменение оптической плотности, соответствующее значению на фактической кривой.

Свободная энергия Гиббса  $\Delta G$  для процессов комплексообразования определена по формуле 4. Результаты расчетов  $K$  и  $\Delta G$  приведены в табл. 1.

$$\Delta G = -2,3RT \lg K. \quad (4)$$

Установлено, что  $K_{\text{AcSal-1}} > K_{\text{AcSal-2}}$ , поэтому комплекс гликозида **1** является более устойчивым. Ранее методом масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением также было показано, что интенсивность пика иона комплекса  $[\text{M}^1 + \text{M}^{\text{AcSal}} - \text{H}]^-$  больше интенсивности пика иона комплекса  $[\text{M}^2 + \text{M}^{\text{AcSal}} - \text{H}]^-$  [2]. Большую стабильность комплекса AcSal-**1** можно объяснить наличием свободной карбоксильной группы в агликонной части гликозида, которая участвует в межмолекулярном взаимодействии с AcSal. У гликозида **2** карбоксильная группа отсутствует.

**Молекулярный комплекс GC с AcSal.** Комплекс GC с AcSal имеет состав 2:1 [3]. В этом случае  $K$  рассчитывали на основе рассмотрения отношения раствора комплекса к разбавлению по формуле 5 [9]. При этом учитывали, что GC и его комплекс поглощают при 258 нм, поэтому  $\Delta A = A_{\text{смеси}} - A_{\text{GC}}$ .

$$K = \frac{(c_1 \sqrt[3]{\Delta A_2} - c_2 \sqrt[3]{\Delta A_1})(\Delta A_1 \sqrt[3]{\Delta A_2} - \Delta A_2 \sqrt[3]{\Delta A_1})^2}{4(\Delta A_1 c_1 - \Delta A_2 c_1)^4}, \quad (5)$$

где  $c_1$  – общая концентрация веществ, М,  $c_2$  – общая концентрация после разбавления, М,  $\Delta A_1$  и  $\Delta A_2$  – соответствующие изменения оптических плотностей до и после разбавления. Результаты расчетов приведены в табл. 1.

Высокая стабильность данного комплекса связана с образованием циклического самоассоциата GC, в полости которого располагается молекула AcSal. Ранее были получены комплексы глицирризиновой кислоты, имеющие высокие значения  $K$ . Они так же, как и комплекс GC с AcSal, представляли собой клатраты, в которых полость

была сформирована молекулами глицирризиновой кислоты. Например, у комплекса глицирризиновой кислоты с блокатором кальциевых каналов нифедипином (состав 2:1)  $K=1,2 \cdot 10^5$  [10, 11]. Для комплекса с гиполипидемическим препаратом симвастатином (состав 4:1) установлена  $K=3 \cdot 10^{14}$  [11].

**Таблица 1**  
**Термодинамические параметры комплексообразования AcSal с GC и гликозидами 1 и 2 в водных растворах при 28 °C (pH 7,2)**

Комплекс	$K$	$\Delta G$ , Дж/моль
AcSal·1	$9203,80 \text{ M}^{-1}$	-22815,73
AcSal·2	$7500,02 \text{ M}^{-1}$	-22304,02
AcSal·GC <sub>2</sub>	$5,12 \cdot 10^{11} \text{ M}^{-2}$	-67396,01

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Впервые рассчитаны  $K$  комплексов главных гликозидов плюща с AcSal. Для процессов комплексообразования найдены  $\Delta G$ . Комплекс гликозида 1 с AcSal оказался более устойчивым.
2. Для комплекса GC с AcSal рассчитана  $K$ , составляющая  $5,12 \cdot 10^{11} \text{ M}^{-2}$ . Высокую устойчивость комплекса можно объяснить его клатратной структурой.

### Список литературы

1. Яковишин Л.А. Молекулярное комплексообразование тритерпеновых гликозидов с аспирином / Л.А. Яковишин, В.И. Гришковец, Е.Н. Корж // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Сер. «Биология, химия». – 2012. – Т. 25 (64), № 2. – С. 288–293.
2. Электроспрей-ионизация масс-спектрометрия смесей тритерпеновых гликозидов с ацетилсалициловой кислотой (аспирином) / А.В. Лекарь, Л.А. Яковишин, С.Н. Борисенко [и др.] // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Сер. «Биология, химия». – 2012. – Т. 25 (64), № 3. – С. 291–297.
3. Яковишин Л.А. Спектрофотометрия молекулярного комплексообразования тритерпеновых гликозидов солодки и плюща с аспирином / Л.А. Яковишин // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Сер. «Биология, химия». – 2012. – Т. 25 (64), № 4. – С. 279–284.
4. Hostettmann K. Saponins / K. Hostettmann, A. Marston. – Cambridge: Cambridge University Press, 1995. – 548 p.
5. Солодка: Биоразнообразие, химия, применение в медицине / [Г.А. Толстиков, Л.А. Балтина, В.П. Гранкина и др.]. – Новосибирск: Гео, 2007. – 311 с.
6. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* I. Строение тауразида E из листьев *Hedera taurica* / А.С. Шашков, В.И. Гришковец, А.А. Лолойко [и др.] // Химия природ. соедин. – 1987. – № 3. – С. 363–366.
7. Тритерпеновые гликозиды *Hedera canariensis* I. Строение гликозидов L-A, L-B1, L-B2, L-C, L-D, L-E1, L-G1, L-G2, L-G3, L-G4, L-H1, L-H2 и L-II из листьев *Hedera canariensis* / В.И. Гришковец, Д.Ю. Сидоров, Л.А. Яковишин [и др.] // Химия природ. соедин. – 1996. – № 3. – С. 377–383.
8. Булатов М.И. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа / М.И. Булатов, И.П. Калинкин. – [5-е изд.]. – Л.: Химия, 1986. – 432 с.
9. Бабко А.К. Физико-химический анализ комплексных соединений в растворах / А.К. Бабко. – К.: Изд-во АН УССР, 1955. – 328 с.

10. Tolstikova T.G. The complexes of drugs with carbohydrate-containing plant metabolites as pharmacologically promising agents / T.G. Tolstikova, M.V. Khvostov, A.O. Bryzgalov // Mini Rev. Med. Chem. – 2009. – Vol. 9, № 11. – P. 1317–1328.
11. Polyakov N.E. Glycyrrhizic acid as a novel drug delivery vector: synergy of drug transport and efficacy / N.E. Polyakov, T.V. Leshina // Open Conf. Proc. J. – 2011. – Vol. 2. – P. 64–72.

**Яковішин Л.О. Параметри молекулярних комплексів тритерпенових глікозидів солодцю та плюща з аспірином / Л.О. Яковішин, В.І. Гришковець, О.М. Корж, А.В. Клименко, О.Д. Дегтярь //** Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 268–272.

Визначено константи стійкості комплексів аспіруну з тритерпеновими глікозидами  $\alpha$ -хедерином (3-*O*- $\alpha$ -*L*-рамнопіранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\alpha$ -*L*-арабінопіранозидом хедерагеніну), хедерасапоніном С (3-*O*- $\alpha$ -*L*-рамнопіранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\alpha$ -*L*-арабінопіранозил-28-*O*- $\alpha$ -*L*-рамнопіранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-*O*- $\beta$ -*D*-глюкопіранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-*O*- $\beta$ -*D*-глюкопіранозидом хедерагеніну) та гліцирамом (моноамонійною сіллю гліциризинової кислоти). Розраховано вільні енергії Гіббса процесів комплексоутворення.

**Ключові слова.** тритерпенові глікозиди, гліциризинова кислота, гліцирам,  $\alpha$ -хедерин, хедерасапонін С, аспірин, молекулярний комплекс, спектрофотометрія, константа стійкості.

**Yakovishin L.A. Parameters of the molecular complexes of licorice and ivy triterpene glycosides with aspirin / L.A. Yakovishin, V.I. Grishkovets, E.N. Korzh, A.V. Klimenko, A.D. Degtyar //** Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 268–272.

Stability constants of aspirin complexes with triterpene glycosides  $\alpha$ -hederin (hederagenin 3-*O*- $\alpha$ -*L*-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\alpha$ -*L*-arabinopyranoside), hederasaponin C (hederagenin 3-*O*- $\alpha$ -*L*-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\alpha$ -*L*-arabinopyranosyl-28-*O*- $\alpha$ -*L*-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside) and glycyram (monoammonium glycyrrhizinate) were determined. Gibbs's free energies of complexation processes are calculated.

**Keywords.** triterpene glycosides, glycyrrhizic acid, glycyram,  $\alpha$ -hederin, hederasaponin C, aspirin, molecular complex, spectrophotometry, stability constant.

*Поступила в редакцію 14.05.2013 г.*