

УДК 547.918:547.466.46:543.42

## ИК-ФУРЬЕ-СПЕКТРОСКОПИЯ МЕЖМОЛЕКУЛЯРНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЭСЦИНА С L-ЛИЗИНОМ

Яковичин Л.А.<sup>1</sup>, Гришконец В.И.<sup>2</sup>, Кравчук Ж.Н.<sup>3</sup>, Никитина В.Н.<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup>Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина

<sup>3</sup>Корпорация «Артериум», Киев, Украина

E-mail: chemsevntu@rambler.ru

Методом ИК-Фурье-спектроскопии исследовано межмолекулярное взаимодействие эсцина с L-лизином. Показано, что эсцин образует соль с L-лизином. Во взаимодействии принимает участие группа COOH остатка глюкуроновой кислоты эсцина и группа ε-NH<sub>2</sub> L-лизина.

**Ключевые слова.** тритерпеновые гликозиды, каштан конский *Aesculus hippocastanum*, эсцин, L-лизин, L-лизина эсцинат, ИК-Фурье-спектроскопия.

### ВВЕДЕНИЕ

В последнее время значительно возрос интерес к исследованию взаимодействия протеиногенных аминокислот с тритерпеновыми гликозидами [1–10]. Молекулярное комплексообразование с участием сапонинов можно использовать для создания новых низкодозных лекарственных препаратов, улучшения растворимости, повышения биодоступности и расширения спектра биологической активности различных веществ [11].

Ранее была получена соль эсцина с L-лизином, на основе которой создан украинский препарат L-лизина эсцинат, выпускаемый корпорацией «Артериум» (г. Киев) [12–14]. Эсцин представляет собой сумму более 30 тритерпеновых гликозидов, выделенных из каштана конского *Aesculus hippocastanum* L. (Hippocastanaceae) [15]. Среди них преобладает β-эсцин, являющийся смесью двух гликозидов 3-O-[β-D-глюкопиранозил-(1→2)]-O-[β-D-глюкопиранозил-(1→4)]-O-β-D-глюкуронопиранозида 21β-тиглоил-22α-ацетилпротоэсцигенина (эсцин Ia) и 3-O-[β-D-глюкопиранозил-(1→2)]-O-[β-D-глюкопиранозил-(1→4)]-O-β-D-глюкуронопиранозида 21β-ангелоил-22α-ацетилпротоэсцигенина (эсцин Ib) (рис. 1) [15–20].

Эсцин обладает противовоспалительными, противоотечными, мембранотропными и капилляропротекторными свойствами, улучшает трофику тканей при недостатке кровообращения и отеках [21, 22]. L-Лизин – незаменимая аминокислота, входящая в состав белков, пептидов и активных центров ферментов. Она обладает противовирусным действием [23, 24]. L-Лизина эсцинат назначают при посттравматических и послеоперационных отеках, контузиях, сотрясениях мозга и при нарушении венозного кровообращения [21].

Разработан метод спектрофотометрического определения L-лизина эсцината в субстанции и лекарственной форме в виде комплекса с хлоридом кобальта (II) [12]. Соли L-лизина с биологически активными гликозидами, содержащими остаток глюкуроновой кислоты, проанализированы с использованием ИК- и ЯМР-спектроскопии, а также ВЭЖХ [25, 26]. Ранее было показано, что в ИК-спектрах (таблетки KBr) таких солей, включая L-лизина эсцинат, полоса поглощения свободной группы COOH остатка глюкуроновой кислоты при  $\sim 1740\text{ см}^{-1}$  отсутствует, но были найдены полосы поглощения  $\text{COO}^-$  при 1615 и 1410  $\text{см}^{-1}$  [25, 26]. Более детальный анализ ИК-спектров в литературе не приводился. В настоящей статье рассмотрено межмолекулярное взаимодействие L-лизина с эцином методом ИК-Фурье-спектроскопии. Спектры получены в суспензии в вазелиновом масле. Ранее ИК-спектроскопия была нами использована для изучения молекулярных комплексов некоторых протеиногенных аминокислот с тритерпеновыми гликозидами  $\alpha$ -хедерином и хедерасапонином С [6, 7].

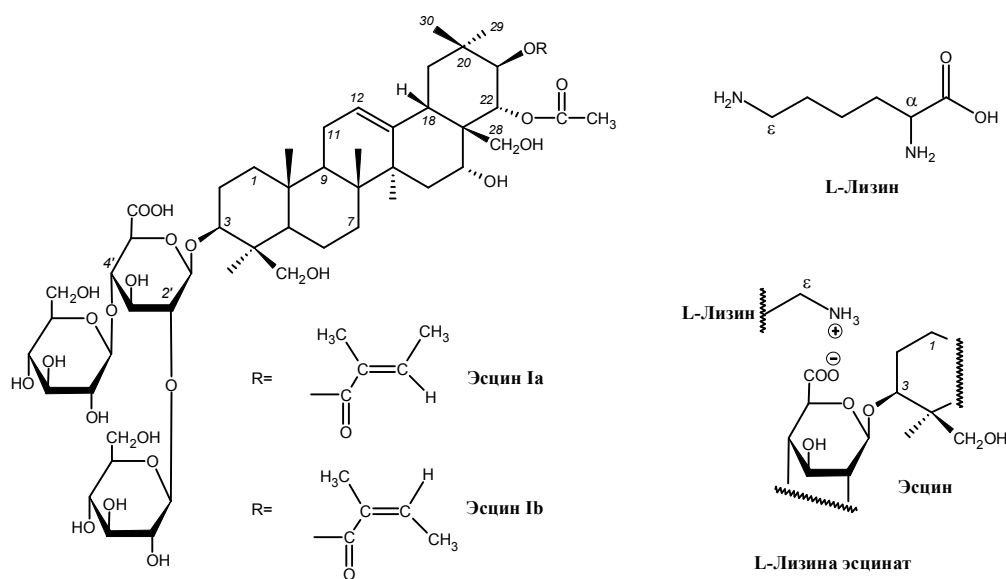


Рис. 1. Структура эсцинов Ia и Ib, образующих  $\beta$ -эсцин, L-лизина и L-лизина эсцината.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали образцы эсцина и L-лизина эсцината корпорации «Артериум» (г. Киев, Украина) без дополнительной очистки. ИК-спектры сняты на ИК-Фурье-спектрометре ИнфраЛЮМ® ФТ-02 (Россия) в суспензии в вазелиновом масле при разрешении  $1\text{ см}^{-1}$  в диапазоне  $400\text{--}4000\text{ см}^{-1}$ . Спектры приведены на Рис. 2.

**ИК-спектр эсцина** (вазелиновое масло,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ ):  $\sim 3370$  (ОН),  $1735$  ( $\text{CO}_{\text{сл. эфир}}$ ),  $1714$  ( $\text{CO}_{\text{COOH}}$ ,  $\text{CO}_{\text{сл. эфир}}$ ),  $1648$  ( $\text{C}=\text{C}$ ),  $1304$  (СН),  $1268$  (СН),  $1160$  (С–О–С, С–ОН),  $1106$  (С–О–С, С–ОН),  $1075$  (С–О–С, С–ОН),  $1044$  (С–О–С, С–ОН),  $1024$  (С–О–С, С–ОН),  $980$  ( $=\text{CH}$ ).

**ИК-спектр L-лизина** (вазелиновое масло,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ ):  $\sim 3300$  ( $\epsilon\text{-NH}_2$ ),  $\sim 3150$  ( $\alpha\text{-NH}_3^+$ ),  $\sim 2110$  ( $\alpha\text{-NH}_3^+$ ),  $1635$  ( $\alpha\text{-NH}_3^+$  – аминокислотная полоса I),  $1612$  ( $\text{COO}^-$ ),  $1560$  ( $\epsilon\text{-NH}_2$ ),  $1502$  ( $\alpha\text{-NH}_3^+$  – аминокислотная полоса II).

**ИК-спектр гидрохлорида L-лизина** (вазелиновое масло,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ ):  $3135$  ( $\text{NH}_3^+$ ),  $\sim 2090$  ( $\text{NH}_3^+$ ),  $1640$  ( $\alpha\text{-NH}_3^+$  – аминокислотная полоса I),  $1625$  ( $\text{COO}^-$ ),  $1600$  ( $\epsilon\text{-NH}_3^+$ ),  $1528$  ( $\epsilon\text{-NH}_3^+$ ),  $1502$  ( $\alpha\text{-NH}_3^+$  – аминокислотная полоса II).

**ИК-спектр L-лизина эсцината** (вазелиновое масло,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ ):  $\sim 3350$  (ОН,  $\text{NH}_3^+$ ),  $1717$  ( $\text{CO}_{\text{сл. эфир}}$ ),  $\sim 1600$  ( $\alpha\text{-NH}_3^+$  – аминокислотная полоса I,  $\epsilon\text{-NH}_3^+$ ,  $\text{COO}^-$ ),  $1520$  ( $\epsilon\text{-NH}_3^+$ ),  $1500$  ( $\alpha\text{-NH}_3^+$  – аминокислотная полоса II),  $1306$  (СН),  $1268$  (СН),  $1159$  (С–О–С, С–ОН),  $1106$  (С–О–С, С–ОН),  $1073$  (С–О–С, С–ОН),  $1041$  (С–О–С, С–ОН),  $1028$  (С–О–С, С–ОН),  $980$  ( $=\text{CH}$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

ИК-спектроскопия является универсальным методом для анализа межмолекулярных взаимодействий. Поэтому ее часто используют для подтверждения комплексообразования и солеобразования.

В ИК-спектрах всех образцов при  $2900$ ,  $1460$  и  $1380$   $\text{см}^{-1}$  присутствуют интенсивные пики колебаний связей СН вазелинового масла (рис. 2). В спектре эсцина в области  $\sim 3370$   $\text{см}^{-1}$  обнаружена широкая интенсивная полоса валентных колебаний ассоциированных ОН-групп моносахаридных остатков. Связь С=О (асимметричные валентные колебания) в составе сложноэфирных групп С–О в молекуле эсцина поглощает при  $1735$  (ацетил) и  $1714$   $\text{см}^{-1}$  (тиглоил и англоил) (рис. 2), что характерно, соответственно, для насыщенных и  $\alpha,\beta$ -ненасыщенных сложных эфиров [27]. При этом полоса ацетила слабо разрешилась на правом плече основного сигнала при  $1714$   $\text{см}^{-1}$ .

Асимметричные валентные колебания С=О в составе СООН-группы остатка глюкуроновой кислоты в эсцине также проявляются при  $1714$   $\text{см}^{-1}$ , что хорошо согласуется с литературными данными, полученными для моноаммонийной соли глицирризиновой кислоты (глицирама) при тех же самых условиях снятия спектров [28]. Молекула глицирризиновой кислоты, главного тритерпенового гликозида солодок, содержит два остатка глюкуроновой кислоты. Поглощение при  $1648$   $\text{см}^{-1}$  обусловлено С=С связями агликона протоэсцигенина, а также тиглоильного и англоильного остатков. В области  $1400\text{--}1200$   $\text{см}^{-1}$  находятся полосы поглощения деформационных колебаний связей СН. Валентные колебания связей с участием атомов кислорода (С–О–С, С–ОН) проявляются в области  $1200\text{--}1000$   $\text{см}^{-1}$ .

ИК-спектр L-лизина (рис. 2) содержат сигналы, характерные для цвиттер-ионной формы  $\alpha$ -аминокислот [27, 29]: комбинационную полосу при  $\sim 2110$   $\text{см}^{-1}$  (асимметричные деформационные и крутильные колебания  $\text{NH}_3^+$ ), аминокислотные полосы I и II (асимметричные и симметричные деформационные колебания  $\text{NH}_3^+$ ) и

полосу асимметричных валентных колебаний  $\text{COO}^-$ . Дополнительно присутствует полоса поглощения группы  $\varepsilon\text{-NH}_2$  при  $1560\text{ см}^{-1}$  (деформационные колебания).

В ИК-спектре L-лизина эсцината (рис. 2) в области  $1800\text{--}1500\text{ см}^{-1}$  основными являются полосы поглощения при  $1717$  и  $1600\text{ см}^{-1}$ . Первая полоса отнесена к асимметричным валентным колебаниям связи  $\text{C}=\text{O}$  в составе сложноэфирных групп. Уширенная полоса при  $\sim 1600\text{ см}^{-1}$  является составной и отвечает поглощению группы  $\varepsilon\text{-NH}_3^+$  лизина и  $\text{COO}^-$  остатка глюкуроновой кислоты (асимметричные валентные колебания). На ее правом плече плохо разрешились полосы, соответствующие поглощению групп  $\text{COO}^-$  и  $\alpha\text{-NH}_3^+$  лизина.

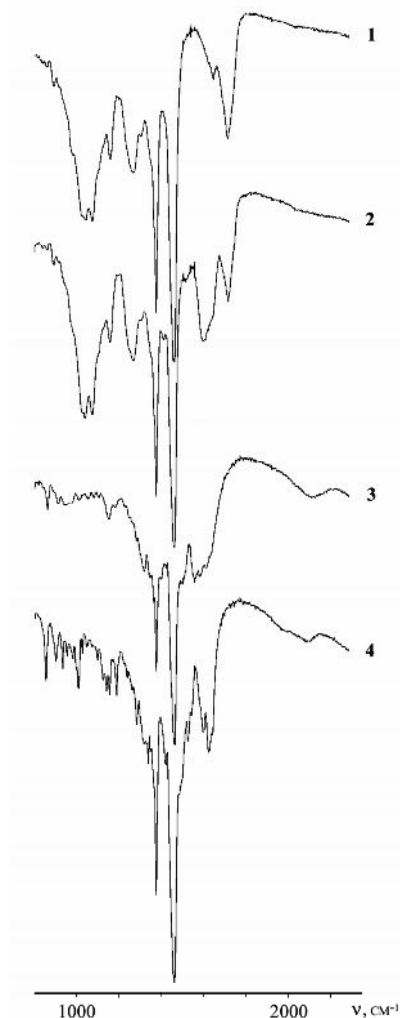


Рис. 2. Фрагменты ИК-Фурье-спектров эсцина (1), L-лизина эсцината (2), L-лизина (3) и гидрохлорида L-лизина (4).

У L-лизина эсцината и свободного эсцина  $\nu_{C=O}$  остатков глюкуроновой кислоты отличаются более, чем на  $100\text{ см}^{-1}$ . Низкое значение  $\nu_{C=O}$  у глюкуроновой кислоты в эсцинате свидетельствует об участии ее карбоксильной группы в солеобразовании с лизином. Так, например, при солеобразовании по карбоксильной группе остатка глюкуроновой кислоты в молекуле глицирризиновой кислоты максимум ее поглощения  $\nu_{COO^-}$  понижался до  $1590\text{ см}^{-1}$  [28]. Кроме того, в спектре L-лизина эсцината имеются полосы деформационных колебаний протонированной группы  $\epsilon\text{-NH}_2$  лизина (при  $1600$  и  $1520\text{ см}^{-1}$ ).

Аналогичные изменения наблюдаются при образовании гидрохлорида лизина. В его спектре (рис. 2) также присутствуют интенсивные полосы деформационных колебаний  $\epsilon\text{-NH}_3^+$  при  $1600$  и  $1528\text{ см}^{-1}$ , указывающие на участие в солеобразовании группы  $\epsilon\text{-NH}_2$  лизина. Известно, что после солеобразования асимметричные и симметричные деформационные колебания  $\text{NH}_3^+$  проявляются в виде интенсивных полос около  $1600$  и  $1550\text{--}1505\text{ см}^{-1}$ , соответственно [27, 29].

Таким образом, спектральные данные подтверждают строение L-лизина эсцината как соли (рис. 1). При солеобразовании L-лизина с эсцином полосы деформационных колебаний связей  $\text{CH}$  и валентных колебаний связей с участием атомов кислорода ( $\text{C-O-C}$ ,  $\text{C-OH}$ ) остаются практически неизменными.

### ВЫВОДЫ

1. Впервые детально рассмотрено взаимодействие эсцина с L-лизином методом ИК-Фурье-спектроскопии. Подтвержден солеобразный характер L-лизина эсцината.
2. Межмолекулярное взаимодействие происходит при участии группы  $\text{COOH}$  остатка глюкуроновой кислоты углеводной части сапонинов, образующих эсцин, и  $\epsilon$ -аминогруппы L-лизина.

### Список литературы

1. Molecular complexation of ivy saponins with some drugs and biologically active substances / L.A. Yakovishin, V.I. Grishkovets, G. Schroeder, N.I. Borisenko // Functionalized molecules – synthesis, properties and application; ed. V.I. Rybachenko. – Donetsk: Schidnyj wydawnyczyj dim, 2010. – Chapter 4. – P. 85–103.
2. Молекулярное комплексообразование тритерпеновых гликозидов с триптофаном в водных растворах / Л.А. Яковишин, В.И. Гришковец, Н.В. Епишина [и др.] // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2010. – Т. 23 (62), № 2. – С. 270–275.
3. Молекулярное комплексообразование тритерпеновых гликозидов с L-фенилаланином в водных растворах / Л.А. Яковишин, В.И. Гришковец, Ю.И. Сергиенко [и др.] // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2010. – Т. 23 (62), № 3. – С. 255–261.
4. Молекулярное комплексообразование тритерпеновых гликозидов с L-тирозином в водных растворах / Л.А. Яковишин, В.И. Гришковец, Ю.И. Сергиенко [и др.] // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2011. – Т. 24 (63), № 1. – С. 232–238.

5. Электроспрей-ионизационная масс-спектрометрия смесей тритерпеновых гликозидов с L-фенилаланином / А.В. Лекарь, Е.В. Ветрова, Н.И. Борисенко [и др.] // Журн. прикл. спектр. – 2011. – Т. 78, № 4. – С. 535–540.
6. Комплексообразование тритерпенового гликозида  $\alpha$ -хедерина с гидрофильными протеиногенными аминокислотами / Л.А. Яковишин, В.И. Гришковец, М.А. Рубинсон [и др.] // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2009. – Т. 22 (61), № 1. – С. 208–213.
7. Яковішин Л.О. Молекулярні комплекси тритерпенового глікозиду  $\alpha$ -хедерину з аліфатичними протеїногенними амінокислотами / Л.О. Яковішин, М.А. Рубінсон // Ukr. Bioorg. Acta. – 2009. – Т. 7, № 1. – С. 32–35.
8. Молекулярные комплексы тритерпеновых гликозидов с L-гистидином и их биологическая активность / Л.А. Яковишин, А.В. Лекарь, Е.В. Ветрова [и др.] // Biopolym. Cell. – 2011. – Т. 27, № 4. – С. 300–305.
9. Молекулярные комплексы тритерпеновых гликозидов с L-тирозином и их биологическая активность / Л.А. Яковишин, А.В. Лекарь, Е.В. Ветрова [и др.] // Biopolym. Cell. – 2012. – Т. 28, № 1. – С. 62–67.
10. Молекулярное комплексообразование сапонинов плюща с L-триптофаном / Л.А. Яковишин, А.В. Лекарь, С.Н. Борисенко [и др.] // Химия растит. сырья. – 2011. – № 4. – С. 65–70.
11. Толстикова Т.Г. На пути к низкодозным лекарствам / Т.Г. Толстикова, А.Г. Толстиков, Г.А. Толстиков // Вестник РАН. – 2007. – Т. 77, № 10. – С. 867–874.
12. Шовковий А.В. Кількісне визначення лізину есцинату у субстанції та в ін'єкційній лікарській формі / А.В. Шовковий, Ю.Й. Лапкіна, І.П. Ковальов // Фарм. журн. – 1999. – № 4. – С. 74–77.
13. L-Лизина эсцинат: препарат, который спасает жизнь // Провизор. – 2000. – № 12. – С. 26–27.
14. Куцик Р.В. Каштан конский (*Aesculus hippocastanum* L.) / Р.В. Куцик, Б.М. Зузук, В.В. Дьячок // Провизор. – 2002. – № 5. – С. 36–40.
15. Hostettmann K. Saponins / K. Hostettmann, A. Marston. – Cambridge: Cambridge University Press, 1995. – 548 p.
16. Шовковий А.В. Исследование состава биологически активного природного вещества эсцин / А.В. Шовковий, А.Т. Шеин // Провизор. – 1999. – № 12. – С. 42–43.
17. Costantini A. Escin in pharmaceutical oral dosage forms: quantitative densitometric HPTLC determination / A. Costantini // Il Farmaco. – 1999. – Vol. 54. – P. 728–732.
18. High-performance liquid chromatographic analysis of  $\beta$ -escin / P. Pietta, P. Mauri, R.M. Facino [et al.] // J. Chromatogr. – 1989. – Vol. 478. – P. 259–263.
19. Simultaneous analysis of isomers of escin saponins in human plasma by liquid chromatography–tandem mass spectrometry: application to a pharmacokinetic study after oral administration / X. Wua, L. Liu, M. Zhang [et al.] // J. Chromatogr. B. – 2010. – Vol. 878. – P. 861–867.
20. Bioactive saponins and glycosides. III. Horse chestnut. (1): the structures, inhibitory effects on ethanol absorption, and hypoglycemic activity of escins Ia, Ib, IIa, IIb, and IIIa from the seeds of *Aesculus hippocastanum* L. / M. Yoshikawa, T. Murakami, H. Matsuda [et al.] // Chem. Pharm. Bull. – 1996. – Vol. 44, № 8. – P. 1454–1464.
21. Куцик Р.В. Каштан конский (*Aesculus hippocastanum* L.) / Р.В. Куцик, Б.М. Зузук, В.В. Дьячок // Провизор. – 2002. – № 4. – С. 28–32.
22. Машковский М.Д. Лекарственные средства: в 2 т. / Машковский М.Д. – [13-е изд.]. – Харьков: Торсинг, 1997. – Т. 1. – 1997. – 560 с.
23. Лизин – одна из важнейших незаменимых аминокислот в обеспечении полноценного питания / [О.В. Бобрешова, А.С. Фаустов, М.И. Чубирко и др.]. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 2003. – 80 с.
24. Химическая энциклопедия: в 5 т. / [гл. ред. Зефирова Н.С.]. – М.: Большая Рос. энцикл., 1988. – Т. 4. – 1995. – 639 с.
25. К выбору методов определения нового биологически активного соединения – L-лизина байкалината – в субстанции и некоторых лекарственных формах / А.В. Шовковий, Л.Я. Черныш, А.Т. Шеин [и др.] // Фармаком. – 1999. – № 2. – С. 32–35.
26. Шовковий А.В. Розробка методів аналізу нових біологічно активних сполук у ряду похідних амінокислот для стандартизації лікарських засобів на їх основі: автореф. дис. на здобуття наук.

- ступеня канд. фарм. наук: спец. 15.00.03 «стандартизація та організація виробництва лікарських засобів» / А.В. Шовковий. – Харків, 1999. – 21 с.
27. Казицына Л.А. Применение УФ-, ИК-, ЯМР- и масс-спектрологии в органической химии / Л.А. Казицына, Н.Б. Куллетская. – М.: Изд-во МГУ, 1979. – 240 с.
28. Молекулярный комплекс моноаммонийной соли глицирризиновой кислоты (глицирама) с цитратом силденафила / Л.А. Яковишин, Д.Ю. Белаш, И.Р. Яровой [и др.] // Журн. орг. та фарм. хімії. – 2011. – Т. 9, вип. 3 (35). – С. 60–63.
29. Смит А. Прикладная ИК-спектроскопия / Смит А. – М.: Мир, 1982. – 328 с.

**Яковішин Л.О. ІЧ-Фур'є-спектроскопія міжмолекулярної взаємодії есцину з L-лізином / Л.О. Яковішин, В.І. Гришковець, Ж.М. Кравчук, В.М. Нікітіна // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2012. – Т. 25 (64), № 1. – С. 320-326.**

Методом ІЧ-Фур'є-спектроскопії досліджена міжмолекулярна взаємодія есцину з L-лізином. Показано, що есцин утворює сіль з L-лізином. У взаємодії приймають участь група COOH залишку глюкуронової кислоти есцину та група  $\epsilon$ -NH<sub>2</sub> L-лізину.

**Ключові слова.** тритерпенові глікозиди, гіркокаштан звичайний *Aesculus hippocastanum*, есцин, L-лізін, L-лізину есцинат, ІЧ-Фур'є-спектроскопія.

**Yakovishin L.A. FT-IR-spectroscopy of escin molecular interaction with L-lysine / L.A. Yakovishin, V.I. Grishkovets, Z.N. Kravchuk, V.M. Nikitina // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2012. – Vol. 25 (64), No. 1. – P. 320-326.**

The molecular interaction of escin with L-lysine was investigated using the method of FT-IR-spectroscopy. It was found that the escin form salt with L-lysine. The COOH group of the glucuronic acid moiety of escin takes part in interaction with  $\epsilon$ -NH<sub>2</sub> group of L-lysine.

**Keywords.** triterpene glycosides, horse chestnut *Aesculus hippocastanum*, escin, L-lysine, L-lysine escinate, FT-IR-spectroscopy.

*Поступила в редакцію 10.02.2012 г.*