

УДК 547.918:547.466.46:543.42

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

Яковичин Л.А.¹, Гришкова В.И.², Кравчук Ж.Н.³, Никитина В.Н.³

¹Севастопольский национальный технический университет, Севастополь, Украина

²Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина

³Корпорация «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 -NH₂ 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 21 β -тиглоил-22 α -ацетилпротоэсцигенина (эсцин Ia) и 3-O-[β -D-глюкопиранозил-(1→2)]-O-[β -D-глюкопиранозил-(1→4)]-O- β -D-глюкуронопиранозида 21 β -ангелоил-22 α -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 COO^- при 1615 и 1410 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 α -хедерином и хедерасапонином С [6, 7].

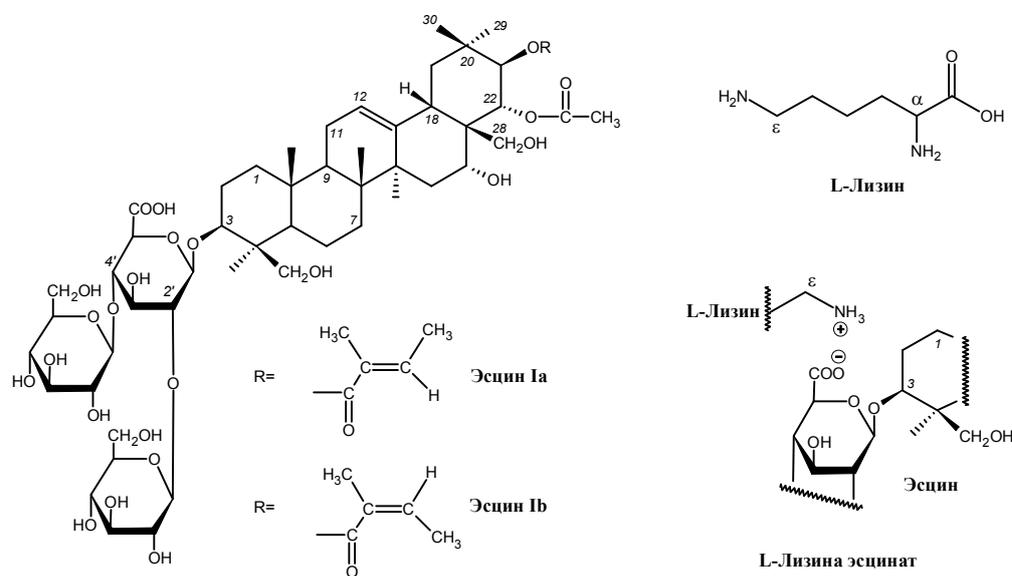


Рис. 1. Структура эсцинов Ia и Ib, образующих β -эсцин, L-лизина и L-лизина эсцината.

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 см^{-1} в диапазоне 400–4000 см^{-1} . Спектры приведены на Рис. 2.

ИК-спектр эсцина (вазелиновое масло, ν , см^{-1}): ~ 3370 (ОН), 1735 ($\text{CO}_{\text{сл. эфира}}$), 1714 (CO_{COOH} , $\text{CO}_{\text{сл. эфира}}$), 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, ν , см^{-1}): ~ 3300 ($\epsilon\text{-NH}_2$), ~ 3150 ($\alpha\text{-NH}_3^+$), ~ 2110 ($\alpha\text{-NH}_3^+$), 1635 ($\alpha\text{-NH}_3^+$ – аминокислотная полоса I), 1612 (COO^-), 1560 ($\epsilon\text{-NH}_2$), 1502 ($\alpha\text{-NH}_3^+$ – аминокислотная полоса II).

ИК-спектр гидрохлорида L-лизина (вазелиновое масло, ν , см^{-1}): 3135 (NH_3^+), ~ 2090 (NH_3^+), 1640 ($\alpha\text{-NH}_3^+$ – аминокислотная полоса I), 1625 (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, ν , см^{-1}): ~ 3350 (ОН, NH_3^+), 1717 ($\text{CO}_{\text{сл. эфира}}$), ~ 1600 ($\alpha\text{-NH}_3^+$ – аминокислотная полоса I, $\epsilon\text{-NH}_3^+$, 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 см^{-1} присутствуют интенсивные пики колебаний связей СН вазелинового масла (рис. 2). В спектре эсцина в области ~ 3370 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 см^{-1} (тиглоил и англоил) (рис. 2), что характерно, соответственно, для насыщенных и α,β -ненасыщенных сложных эфиров [27]. При этом полоса ацетила слабо разрешилась на правом плече основного сигнала при 1714 см^{-1} .

Асимметричные валентные колебания С=О в составе СООН-группы остатка глюкуроновой кислоты в эсцине также проявляются при 1714 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 см^{-1} обусловлено С=С связями агликона протоэсцигенина, а также тиглоильного и англоильного остатков. В области $1400\text{--}1200$ см^{-1} находятся полосы поглощения деформационных колебаний связей СН. Валентные колебания связей с участием атомов кислорода (С–О–С, С–ОН) проявляются в области $1200\text{--}1000$ см^{-1} .

ИК-спектр L-лизина (рис. 2) содержат сигналы, характерные для цвиттер-ионной формы α -аминокислот [27, 29]: комбинационную полосу при ~ 2110 см^{-1} (асимметричные деформационные и крутильные колебания NH_3^+), аминокислотные полосы I и II (асимметричные и симметричные деформационные колебания NH_3^+) и

полосу асимметричных валентных колебаний COO^- . Дополнительно присутствует полоса поглощения группы $\varepsilon\text{-NH}_2$ при 1560 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 см^{-1} . Первая полоса отнесена к асимметричным валентным колебаниям связи C=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 COO^- остатка глюкуроновой кислоты (асимметричные валентные колебания). На ее правом плече плохо разрешились полосы, соответствующие поглощению групп COO^- и $\alpha\text{-NH}_3^+$ лизина.

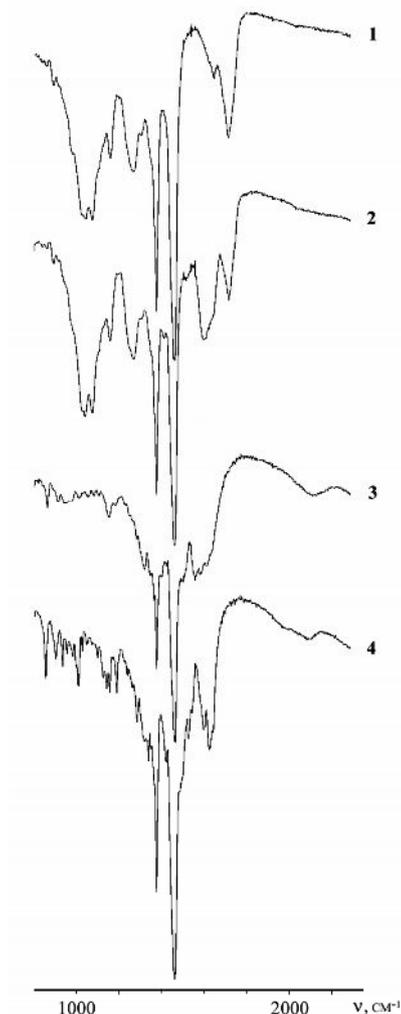


Рис. 2. Фрагменты ИК-Фурье-спектров эсцина (1), L-лизина эсцината (2), L-лизина (3) и гидрохлорида L-лизина (4).

У L-лизина эсцината и свободного эсцина $\nu_{C=O}$ остатков глюкуроновой кислоты отличаются более, чем на 100 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 ν_{COO^-} понижался до 1590 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 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 см^{-1} , указывающие на участие в солеобразовании группы $\epsilon\text{-NH}_2$ лизина. Известно, что после солеобразования асимметричные и симметричные деформационные колебания 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 CH и валентных колебаний связей с участием атомов кислорода (C-O-C , 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 COOH остатка глюкуроновой кислоты углеводной части сапонинов, образующих эсцин, и ϵ -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 α -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 α -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 β -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.

Яковишин Л.О. ІЧ-Фур'є-спектроскопія міжмолекулярної взаємодії есцину з L-лізином / Л.О. Яковишин, 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 ϵ -NH₂ 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 ϵ -NH₂ 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.