

УДК 547.918:547.551:543.42

СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ СОЛОДКИ И ПЛЮЩА С БРОМГЕКСИНО

Яковичин Л.А.¹, Гришковец В.И.², Корж Е.Н.¹, Клименко А.В.¹, Дегтяр А.Д.¹

¹Севастопольский национальный технический университет, Севастополь, Украина

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

Впервые методом спектрофотометрии исследовано комплексообразование моноаммонийной соли глицирризиновой кислоты (глицирама), α -хедерина (3-*O*- α -*L*-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -*L*-арабинопиранозида хедерагенина) и хедерасапонина С (3-*O*- α -*L*-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -*L*-арабинопиранозил-28-*O*- α -*L*-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -*D*-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 6)-*O*- β -*D*-глюкопиранозидом хедерагенина) с бромгексином в водных растворах при pH 7,2. Показано, что α -хедерин, хедерасапонин С и глицирам образуют с бромгексином комплексы состава 1:1. Определены константы устойчивости комплексов. Рассчитаны свободные энергии Гиббса процессов комплексообразования.

Ключевые слова. тритерпеновые гликозиды, глицирризиновая кислота, глицирам, α -хедерин, хедерасапонин С, бромгексин, молекулярный комплекс, спектрофотометрия, константа устойчивости.

ВВЕДЕНИЕ

Бромгексин (бисольвон, флегамин, *N*-(2-амино-3,5-дибромбензил)-*N*-метилциклогексиламина гидрохлорид, BG, рис. 1) широко применяют как муколитическое и отхаркивающее средство для лечения острых и хронических бронхитов и пневмоний, при туберкулезе легких и бронхиальной астме. GC способствует выработке эндогенного сурфактанта, улучшает реологию мокроты и уменьшает ее вязкость [1]. Активным метаболитом BG является амброксол (лазолван), который также используется в качестве отхаркивающего средства [1, 2]. Обычно BG хорошо переносится, однако он может вызвать аллергию и диспепсию. BG мало растворим в воде и этаноле [1].

Клатрирование лекарственных веществ циклодекстринами или растительными тритерпеновыми гликозидами является перспективным методом снижения их побочных эффектов и повышения растворимости [3–6]. Получены комплексы BG с β -циклодекстрином [7] и его метилированным производным [8], имеющие состав 1:1. При этом было показано, что растворимость BG повышается в присутствии циклодекстринов.

В качестве комплексообразователей предложены глицирризиновая кислота (3-*O*- β -*D*-глюкуронопиранозил-(1 \rightarrow 2)-*O*- β -*D*-глюкуронопиранозид глицирретиневой кислоты), являющаяся преобладающим тритерпеновым гликозидом корней солодки *Glycyrrhiza glabra* L., и ее моноаммонийная соль (глицирам, GC, рис. 1) [4–6]. Глицирризиновая кислота и GC обладают солюбилизующими свойствами для ряда лекарственных веществ [9, 10]. Кроме того, корень солодки издавна

применяют как отхаркивающее средство [1, 9, 11], а GC также обладает отхаркивающим действием [1].

Получены молекулярные комплексы тритерпеновых гликозидов плющей α -хедерина (3-O- α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 2)-O- α -L-арабинопиранозида хедерагенина, гликозид **1**, рис. 1) и хедерасопонина C (3-O- α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 2)-O- α -L-арабинопиранозил-28-O- α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 4)-O- β -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-глюкопиранозида хедерагенина, гликозид **2**, рис. 1) с фармаконами различной природы [12]. Гликозиды **1** и **2** входят в состав препаратов на основе листьев плюща обыкновенного *Hedera helix* L., используемых для лечения инфекционно-воспалительных заболеваний органов дыхания, сопровождающихся кашлем [9].

Комплексообразование ВГ с тритерпеновыми гликозидами в водных растворах ранее не рассматривалось. В настоящей статье приведены результаты спектрофотометрического исследования молекулярных комплексов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали образец GC фирмы Calbiochem (США). Тритерпеновые гликозиды **1** и **2** выделяли из листьев плющей крымского *Hedera taurica* Cart. и канарского *Hedera canariensis* Willd. (Araliaceae Juss.). Методики выделения и установления строения приведены в работах [13, 14].

УФ-спектры получены при температуре 19 °С на спектрофотометре Unico UV-Vis 4802 (США) в кварцевых кюветках ($l=1$ см). Для составления изомолярных серий использовали 10^{-4} М водные растворы ВГ, GC и гликозидов **1** и **2** (рН 7,2, фосфатный буфер $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$). Полученные смеси выдерживали при температуре 19 °С в течение 40 мин при постоянном перемешивании.

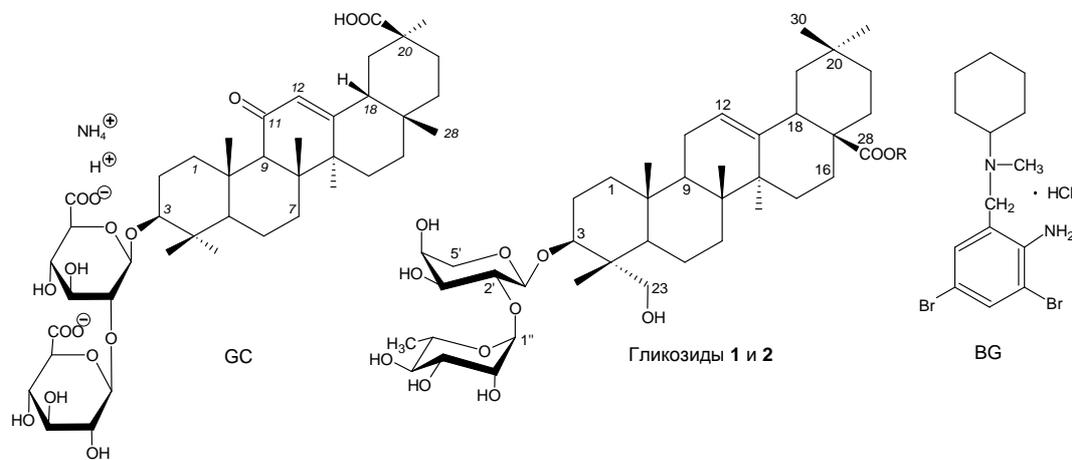


Рис. 1. Бромгексин (ВГ), моноаммонийная соль глицирризиновой кислоты (глицирам, GC) и гликозиды α -хедерин (**1**; R=H) и хедерасопонин C (**2**; R= $\leftarrow\beta\text{Glc}_p$ - $(6\leftarrow 1)\text{-}\beta\text{Glc}_p$ - $(4\leftarrow 1)\text{-}\alpha\text{Rha}_p$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Состав комплексов ВГ с тритерпеновыми гликозидами определен методом изомолярных серий (методом Остромысленского–Жоба) [15]. Изомолярные кривые, полученные для смесей ВГ с гликозидами **1** и **2**, приведены на Рис. 2 и 3. Для компонентов получены молярные соотношения $\approx 1,0$, которые указывают на состав комплексов, равный 1:1.

Аналогичным образом установлен состав комплекса ВГ с ГС (рис. 4). Для него также получено молярное соотношение $\approx 1,0$, что отвечает составу комплекса 1:1. Комплексы аналогичного состава были получены ранее для глицирризиновой кислоты с некоторыми биологически активными веществами [5, 6].

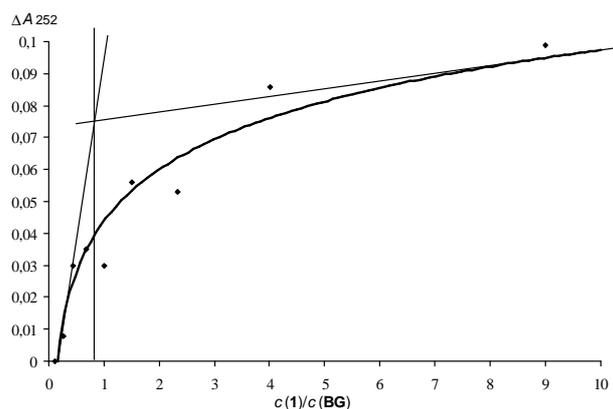


Рис. 2. Зависимость изменения оптической плотности ΔA от соотношения компонентов изомолярной серии при $\lambda=252$ нм ($c(BG)=10^{-4}$ М, $c(1)=10^{-4}$ М, pH 7,2).

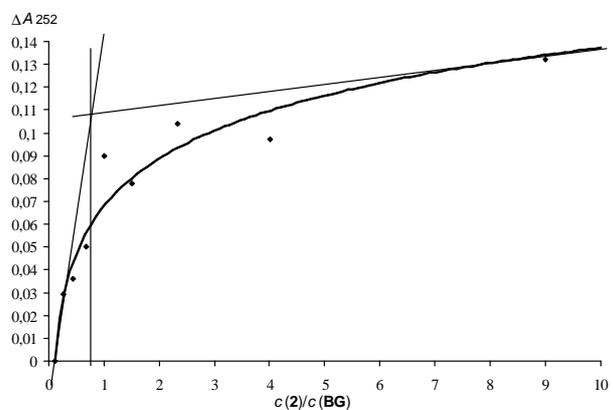
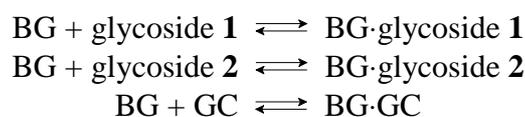


Рис. 3. Зависимость изменения оптической плотности ΔA от соотношения компонентов изомолярной серии при $\lambda=252$ нм ($c(BG)=10^{-4}$ М, $c(2)=10^{-4}$ М, pH 7,2).

В растворах устанавливаются равновесия между BG и гликозидами следующего вида:



$$K_{\text{BG-1}} = \frac{[\text{BG} \cdot \text{glycoside 1}]}{[\text{BG}][\text{glycoside 1}]}; K_{\text{BG-2}} = \frac{[\text{BG} \cdot \text{glycoside 2}]}{[\text{BG}][\text{glycoside 2}]}; K_{\text{BG-GC}} = \frac{[\text{BG} \cdot \text{GC}]}{[\text{BG}][\text{GC}]}, \quad (1)$$

где $K_{\text{BG-1}}$, $K_{\text{BG-2}}$ и $K_{\text{BG-GC}}$ – константы равновесия, являющиеся константами устойчивости соответствующих комплексов.

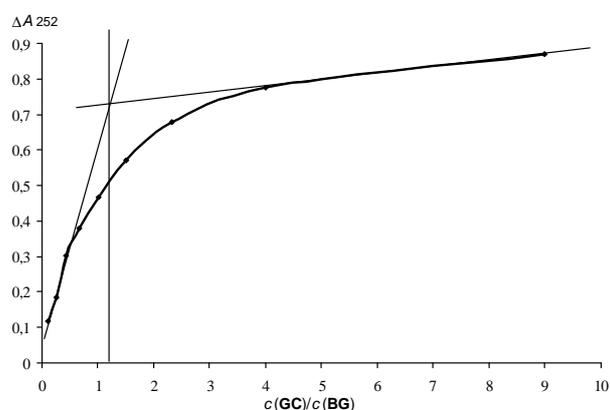


Рис. 4. Зависимость изменения оптической плотности ΔA от соотношения компонентов изомолярной серии при $\lambda=252$ нм ($c(\text{BG})=10^{-4}$ М, $c(\text{GC})=10^{-4}$ М, pH 7,2).

На основе изомолярных кривых по формуле 2 рассчитали константы устойчивости комплексов K по методу [16], применимому для комплексов состава 1:1 (табл. 1).

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

где c – концентрация вещества, М, а α – степень диссоциации комплекса, которую находили по формуле 3.

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

где ΔA_0 – изменение оптической плотности, соответствующее комплексу при полном отсутствии диссоциации, а ΔA_1 – изменение оптической плотности, соответствующее значению на фактической кривой.

Свободная энергия Гиббса ΔG для процессов комплексообразования определена по формуле 4. Результаты расчетов K и ΔG приведены в табл. 1.

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

Комплекс ВГ–ГС является наиболее устойчивым, т.к. $K_{\text{ВГ}\cdot\mathbf{1}} < K_{\text{ВГ}\cdot\mathbf{2}} < K_{\text{ВГ}\cdot\text{ГС}}$ (табл. 1). У ранее полученных комплексов лекарственных веществ состава 1:1, включающих ГС и гликозиды **1** и **2**, K были равны 10^4 – 10^5 M^{-1} [17, 18].

Межмолекулярное взаимодействие гликозидов с ВГ может происходить за счет ОН-групп моносахаридных остатков. Соединения ВГ и ГС являются солями, и поэтому при комплексообразовании они могут участвовать в ионных взаимодействиях. Кроме того, возможны гидрофобные взаимодействия неполярной агликонной части гликозидов с бензольным и циклогексановым кольцами ВГ.

Таблица 1
Термодинамические параметры комплексообразования ВГ с ГС и гликозидами 1 и 2 в водных растворах при 19 °С (рН 7,2)

| Комплекс | K, M^{-1} | $\Delta G, \text{Дж/моль}$ |
|--------------|--------------------|----------------------------|
| ВГ· 1 | $2,00 \cdot 10^4$ | $-2,89 \cdot 10^3$ |
| ВГ· 2 | $2,55 \cdot 10^4$ | $-2,96 \cdot 10^3$ |
| ВГ·ГС | $7,78 \cdot 10^4$ | $-2,73 \cdot 10^4$ |

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Получены новые комплексы тритерпеновых гликозидов плюща и солодки с ВГ в водных растворах. Комплексообразование исследовано спектрофотометрически.
2. Методом изомольных серий установлено, что супрамолекулярные комплексы ВГ с ГС и гликозидами плюща **1** и **2** имеют состав 1:1.
3. Рассчитаны K комплексов гликозидов с ВГ. Показано, что $K_{\text{ВГ}\cdot\mathbf{1}} < K_{\text{ВГ}\cdot\mathbf{2}} < K_{\text{ВГ}\cdot\text{ГС}}$. Для процессов комплексообразования найдены ΔG .

Список литературы

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства: в 2 т. / М.Д. Машковский. – [13-е изд.]. – Харьков: Торсинг, 1997. – Т. 1. – 560 с.
2. Симонова О.И. Клинические эффекты амброксола гидрохлорида (лазолвана®): от чего зависит эффективность препарата? / О.И. Симонова // Педиатрия. – 2011. – Т. 90, № 5. – С. 128–133.
3. Cyclodextrins in drug delivery: an updated review / R. Challa, A. Ahuja, J. Ali, R.K. Khar // AAPS Pharm. Sci. Tech. – 2005. – Vol. 6, № 2. – P. E329–E357.
4. 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.
5. 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.
6. 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.

7. Ammar H.O. Improvement of some pharmaceutical properties of drugs by cyclodextrin complexation. 3. Bromhexine hydrochloride / H.O. Ammar, S.A. El-Nahhas // Pharmazie. – 1995. – Vol. 50, № 6. – P. 408–410.
8. Enhanced bromhexine hydrochloride solubility and dissolution by inclusion complexation with methylated β -cyclodextrin / N. Kaewnopparat, T. Chuchom, A. Sunthornpit [et al.] // Isan J. Pharm. Sci. – 2009. – Vol. 5, № 2. – P. 114–122.
9. Hostettmann K. Saponins / K. Hostettmann, A. Marston. – Cambridge: Cambridge University Press, 1995. – 548 p.
10. Solubilizing properties of glycyrrhizin and its derivatives solubilization of saikosaponin-a, the saponin of bupleuri radix / Y. Sasaki, K. Mizutani, R. Kasai, O. Tanaka // Chem. Pharm. Bull. – 1988. – Vol. 36, № 9. – P. 3491–3495.
11. A history of the therapeutic use of liquorice in Europe / C. Fiore, M. Eisenhut, E. Ragazzi [et al.] // J. Ethnopharmacol. – 2005. – Vol. 99, № 3. – P. 317–324.
12. 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.
13. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* I. Строение таурозида E из листьев *Hedera taurica* / А.С. Шашков, В.И. Гришковец, А.А. Полойко [и др.] // Химия природ. соедин. – 1987. – № 3. – С. 363–366.
14. 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-I1 из листьев *Hedera canariensis* / В.И. Гришковец, Д.Ю. Сидоров, Л.А. Яковичин [и др.] // Химия природ. соедин. – 1996. – № 3. – С. 377–383.
15. Булатов М.И. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа / М.И. Булатов, И.П. Калинин. – [5-е изд.]. – Л.: Химия, 1986. – 432 с.
16. Бабко А.К. Физико-химический анализ комплексных соединений в растворах / А.К. Бабко. – К.: Изд-во АН УССР, 1955. – 328 с.
17. Спектрофотометрія супрамолекулярних комплексів тритерпенових глікозидів плюща і солодко з левоміцетином (хлорамфеніколом) / Л.О. Яковичин, О.М. Корж, О.Д. Дегтяр, А.В. Клименко // Ukr. Bioorg. Acta. – 2013. – Т. 11, № 1. – С. 33–36.
18. Супрамолекулярные комплексы тритерпеновых гликозидов солодки и плюща с парацетамолом / Л.А. Яковичин, В.И. Гришковец, Е.Н. Корж [и др.] // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Сер. «Биология, химия». – 2013. – Т. 26 (65), № 3. – С. 335–342.

Яковичин Л.О. Супрамолекулярні комплекси тритерпенових глікозидів солодко та плюща з бромгексином / Л.О. Яковичин, В.І. Гришковець, О.М. Корж, А.В. Клименко, О.Д. Дегтяр // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 4. – С. 428–435.

Вперше методом спектрофотометрії досліджено комплексоутворення моноамонійної солі гліциризинової кислоти (гліцираму), α -хедерину (3-*O*- α -*L*-рамнопіранозил-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -*L*-арабінопіранозиду хедерагеніну) та хедерасAPONІНУ С (3-*O*- α -*L*-рамнопіранозил-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -*L*-арабінопіранозил-28-*O*- α -*L*-рамнопіранозил-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -*D*-глюкопіранозил-(1 \rightarrow 6)-*O*- β -*D*-глюкопіранозиду хедерагеніну) з бромгексином у водних розчинах при рН 7,2. Показано, що α -хедерин, хедерасAPONІН С і гліцирам утворюють з бромгексином молекулярні комплекси складу 1:1. Визначено константи стійкості комплексів. Розраховано вільні енергії Гіббса процесів комплексоутворення.

Ключові слова. тритерпенові глікозиди, гліциризинова кислота, гліцирам, α -хедерин, хедерасAPONІН С, бромгексин, молекулярний комплекс, спектрофотометрія, константа стійкості.

SUPRAMOLECULAR COMPLEXES OF LICORICE AND IVY TRITERPENE GLYCOSIDES WITH BROMHEXINE

Yakovishin L.A.¹, Grishkovets V.I.², Korzh E.N.¹, Klimenko A.V.¹, Degtyar A.D.¹,

¹Sevastopol National Technical University, Sevastopol, Ukraine

²Taurida V.I. Vernadsky National University, Simferopol, Ukraine

E-mail: chemsevntu@rambler.ru

Bromhexine (bisolvon, flegamin, *N*-(2-amino-3,5-dibromobenzyl)-*N*-methylcyclohexanamine hydrochloride, BG) is widely used as a mucolytic and expectorant for the treatment of acute and chronic bronchitis and pneumonia, pulmonary tuberculosis and bronchial asthma. BG usually well tolerated, but it can cause allergies and dyspepsia. BG slightly soluble in water and ethanol.

One possible method for reducing therapeutic doses of drugs, increasing their solubility, and expanding the spectrum of biological activity is to form clathrates with cyclodextrins and plant triterpene glycosides.

Glycyrrhizic acid is the main triterpene saponin of licorice roots *Glycyrrhiza glabra* L. Molecular complexes of glycyrrhizic acid and monoammonium glycyrrhizate (glycyram, GC) with different pharmacocons were prepared. Triterpene glycosides α -hederin (hederagenin 3-*O*- α -*L*-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -*L*-arabinopyranoside, glycoside **1**) and hederasaponin C (hederagenin 3-*O*- α -*L*-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -*L*-arabinopyranosyl-28-*O*- α -*L*-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -*D*-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-*O*- β -*D*-glucopyranoside, glycoside **2**) are suggested as perspective molecular complexing agents. Glycosides **1** and **2** were discovered in representatives of most species of the ivy genus *Hedera* L.

We prepared molecular complexes of ivy and licorice triterpene glycoside with BG. Using a method of spectrophotometry, the complexation of BG with **1**, **2** and GC in aqueous solutions at pH 7,2 (phosphate buffer) was investigated for the first time. Triterpene glycosides from ivy **1** and **2** form complexes with BG in the 1:1 molar proportion. GC make complex of 1:1 composition.

Stability constants for complexes $K_s(\text{BG}\cdot\mathbf{1})=2,00\cdot 10^4$, $K_s(\text{BG}\cdot\mathbf{2})=2,55\cdot 10^4$ and $K_s(\text{BG}\cdot\text{GC})=7,78\cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ were determined. Gibbs's free energies of complexation processes are calculated.

Keywords: triterpene glycosides, glycyrrhizic acid, glycyram, α -hederin, hederasaponin C, bromhexine, molecular complex, spectrophotometry, stability constant.

References

1. Mashkovskii M.D., Drugs, 2 vols., 13 ed., 1, 560 p. (Torsing, Kharkov, 1997). (in Russ.).
2. Simonova O.I., The clinical effects of ambroxol hydrochloride (lazolvan): what determines the effectiveness of the drug?, *Pediatrics*, **90** (5), 128 (2011).
3. Challa R., Ahuja A., Ali J., Khar R.K., Cyclodextrins in drug delivery: an updated review, *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, **6** (2), E329 (2005).
4. Tolstikova T.G., Tolstikov A.G., Tolstikov G.A., On the way to low-dose drugs, *Vestnik RAN*, **77** (10), 867 (2007).

5. Tolstikova T.G., Khvostov M.V., Bryzgalov A.O., The complexes of drugs with carbohydrate-containing plant metabolites as pharmacologically promising agents, *Mini Rev. Med. Chem.*, **9** (11), 1317 (2009).
6. Polyakov N.E., Leshina T.V., Glycyrrhizic acid as a novel drug delivery vector: synergy of drug transport and efficacy, *Open Conf. Proc. J.*, **2**, 64 (2011).
7. Ammar H.O., El-Nahhas S.A., Improvement of some pharmaceutical properties of drugs by cyclodextrin complexation. 3. Bromhexine hydrochloride, *Pharmazie*, **50** (6), 408 (1995).
8. Kaewnopparat N., Chuchom T., Sunthornpit A., Jangwang A., Kaewnopparat S., Enhanced bromhexine hydrochloride solubility and dissolution by inclusion complexation with methylated β -cyclodextrin, *Isan J. Pharm. Sci.*, **5** (2), 114 (2009).
9. Hostettmann K., Marston A., *Saponins*, 548 p. (Cambridge University Press, Cambridge, 1995).
10. Sasaki Y., Mizutani K., Kasai R., Tanaka O., Solubilizing properties of glycyrrhizin and its derivatives solubilization of saikosaponin-a, the saponin of bupleuri radix, *Chem. Pharm. Bull.*, **36** (9), 3491 (1988).
11. Fiore C., Eisenhut M., Ragazzi E., Zanchin G., Armanini D., A history of the therapeutic use of liquorice in Europe, *J. Ethnopharmacol.*, **99** (3), 317 (2005).
12. Yakovishin L.A., Grishkovets V.I., Schroeder G., Borisenko N.I., Molecular complexation of ivy saponins with some drugs and biologically active substances, in *Functionalized molecules – synthesis, properties and application*, edited by Rybachenko V.I. (Schidnyj wydawnyczyj dim, Donetsk, 2010), 85 p.
13. Shashkov A.S., Grishkovets V.I., Loloyko A.A., Chirva V.Ya. Triterpene glycosides of *Hedera taurica* I. Structure of tauroside E from the leaves of *Hedera taurica*, *Khim. Prirod. Soedin.*, **3**, 363 (1987).
14. Grishkovets V.I., Sidorov D.Yu., Yakovishin L.A., Arnautov N.N., Shashkov A.S., Chirva V.Ya. Triterpene glycosides of *Hedera canariensis* I. Structures of glycosides L-A, L-B₁, L-B₂, L-C, L-D, L-E₁, L-G₁, L-G₂, L-G₃, L-G₄, L-H₁, L-H₂, and L-I₁ from the leaves of *Hedera canariensis*, *Khim. Prirod. Soedin.*, **3**, 377 (1996).
15. Bulatov M.I., Kalinkin I.P., *Practical guide of photometric methods of analysis*, 5 ed., 432 p. (Khimiya, Leningrad, 1986). (in Russ.).
16. Babko A.K., *Physico-chemical analysis of complex compounds in the solutions*, 328 p. (Izd-vo AN USSR, Kiev, 1955). (in Russ.).
17. Yakovishin L.A., Korzh E.N., Degtyar A.D., Klimenko A.V., Spectrophotometry of the supramolecular complexes of ivy and licorice triterpene glycosides with laevomycetin (chloramphenicol), *Ukr. Bioorg. Acta*, **11** (1), 33 (2013).
18. Yakovishin L.A., Grishkovets V.I., Korzh E.N., Degtyar A.D., Klimenko A.V., Supramolecular complexes of licorice and ivy triterpene glycosides with paracetamol, *Sci. Not. Taurida V.I. Vernadsky Nat. Univ, Ser. Biology, chemistry*, **26** (3), 335 (2013).

Поступила в редакцию 20.11.2013 г.