

УДК 547.918:577.112.37:547.757:543:42

МОЛЕКУЛЯРНОЕ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ С ТРИПТОФАНОМ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

Яковишин Л.А.¹, Гришковаец В.И.², Епишина Н.В.¹, Куртаматов И.С.³

¹ Севастопольский национальный технический университет, Севастополь, Украина

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

³ Севастопольская городская государственная инспекция по контролю качества лекарственных средств, Севастополь, Украина

E-mail: chemsevntu@rambler.ru

Впервые методом УФ-спектроскопии исследовано молекулярное комплексообразование триптофана с 3-О- α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 2)-О- α -L-арабинопиранозидом хедерагенина (α -хедерином) и его 28-О- α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 4)-О- β -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 6)-О- β -D-глюкопиранозиловым эфиром (хедерасапонин С) в водных растворах. Установлено, что гликозиды образуют комплексы с триптофаном состава 1:1. Сделан вывод о влиянии строения гликозидов и триптофана на процесс комплексообразования.

Ключевые слова: тритерпеновые гликозиды, α -хедерин, хедерасапонин С, триптофан, молекулярный комплекс, УФ-спектроскопия.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из возможных способов снижения терапевтических доз лекарственных веществ, повышения растворимости в воде и расширения спектра биологической активности является их клатрирование растительными гликозидами [1, 2]. Поэтому в последние годы значительно возрос интерес к изучению молекулярных комплексов сапонинов. В частности, были получены комплексы сапонинов с аминокислотами, как соединениями с высокой биологической активностью. Некоторые из аминокислот являются индивидуальными лекарственными веществами.

Недавно установлено комплексообразование тритерпенового гликозида α -хедерина (3-О- α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 2)-О- α -L-арабинопиранозид хедерагенина, гликозид **1**, рис. 1) с Gly, Ala, Val, Asp, Asn и His на основе ИК-спектроскопии [3, 4]. Масс-спектрометрически с ионизацией электрораспылением рассмотрено комплексообразование ароматических аминокислот с гликозидом **1** и его 28-О- α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 4)-О- β -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 6)-О- β -D-глюкопиранозиловым эфиром (хедерасапонин С, гликозид **2**, рис. 1) [5]. Гликозиды **1** и **2** входят в состав лекарственных препаратов «Проспан», «Геделикс», «Пектолван плющ», «Бронхипрет», «Бронхиал плюс с плющом, мальвой и витамином С» и других, содержащих экстракт листьев плюща обыкновенного *Hedera helix* L. [6-10].

Синтезированы комплексы аминокислот со стероидными агликонами неотигогенином и гитогенином, а также их гликозидами. Наиболее устойчивые

комплексы образует Ala, что было установлено методом времяпролетной плазменно-десорбционной масс-спектрометрии с ионизацией осколками деления ^{252}Cf [11, 12]. Однако Тгр не образует комплексов с биозидом и триозидом неотиогенина, но дает их с биозидом гитогенина (петуниозидом D).

Получены комплексы сердечных гликозидов дигоксина и К-строфантина- β с аминокислотами и тройные комплексы, содержащие дополнительно катионы Ca^{2+} и Mg^{2+} [13]. Соединения были охарактеризованы методами ЯМР- и УФ-спектроскопии. Показано, что комплекс дигоксина с Asp имеет наибольшую прочность среди бинарных комплексов. Константа устойчивости комплекса Тгр с строфантином меньше в 5.5 раза, а с дигоксином – в 2.2 раза.

Исследование комплексообразования Тгр с гликозидами **1** и **2** в водном растворе ранее не проводилось.

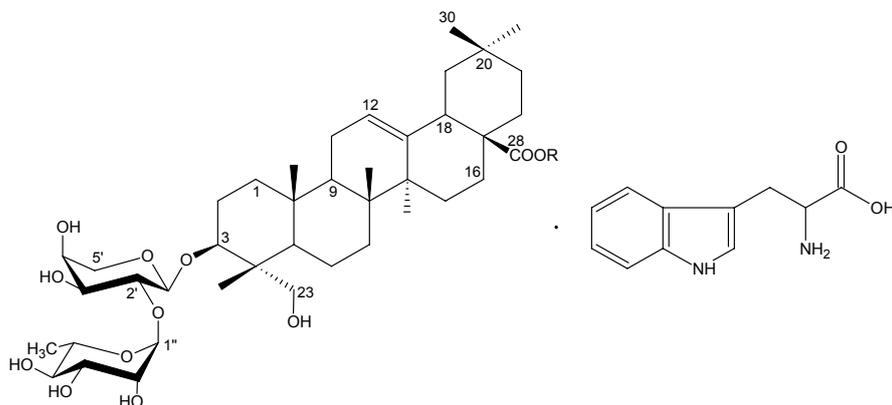


Рис. 1. Структура компонентов молекулярных комплексов (гликозид **1**: R=H; гликозид **2**: R= $\leftarrow\beta\text{Glc}p-(6\leftarrow 1)-\beta\text{Glc}p-(4\leftarrow 1)-\alpha\text{Rhap}$).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Гликозиды **1** и **2** выделяли из листьев плющей *Hedera taurica* Carr. и *Hedera canariensis* Willd. и подтверждали их строение по методикам, приведенным в работах [14, 15].

Комплексы получали путем смешивания водных растворов Тгр и гликозидов **1** и **2**. Полученные смеси выдерживали при комнатной температуре (20-22 °С) в течение 40 мин при постоянном перемешивании.

УФ-спектры получены при комнатной температуре (20-22 °С) на спектрофотометре Unico UV-Vis 4802 (США) в кварцевых кюветах ($l = 1$ см). Для составления изомолярной серии использовали 10^{-4} М растворы гликозидов и Тгр. УФ-спектры приведены на рис. 2 и 3, изомолярные кривые – на рис. 4.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Наличие межмолекулярных взаимодействий между триптофаном и гликозидами **1** и **2** установлено на основе УФ-спектроскопии. Нами показано, что

при увеличивающейся концентрации гликозидов **1** и **2** и постоянной концентрации Тгр (10^{-4} М) наблюдается повышение оптической плотности растворов – гиперхромный эффект (см. рис. 2 и 3). Для серии растворов, содержащих гликозид **2** и Тгр, также отмечен слабый батахромный сдвиг, в результате которого λ_{\max} растворов увеличивается с 278 (10^{-4} М раствор Тгр) до 281 нм (раствор, содержащий 10^{-4} М Тгр и 10^{-3} М гликозида **2**).

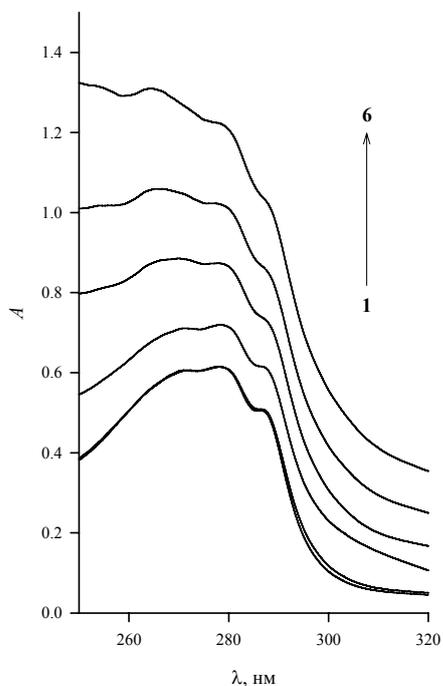


Рис. 2. УФ-спектры растворов Тгр (10^{-4} М = const) при различных концентрациях гликозида **1**: 0 М (кривая 1), $0.50 \cdot 10^{-4}$ М (2), 10^{-4} М (3), $0.25 \cdot 10^{-3}$ М (4), $0.50 \cdot 10^{-3}$ М (5) и $0.75 \cdot 10^{-3}$ М (6).

Состав комплексов определен методом изомолярных серий [16]. Для комплекса–гликозида **1** с Тгр получено молярное отношение 0.81 (рис. 4), что соответствует комплексу состава 1:1 (рис. 1). Для комплекса гликозида **2** и Тгр получено молярное отношение ≈ 0.84 (рис. 4). Таким образом, состав комплекса равен 1:1 (рис. 1). Образование комплексов аналогичного состава между Тгр и гликозидами **1** и **2** было недавно подтверждено масс-спектрометрически с ионизацией электрораспылением [5].

Аминокислоты в растворах и твердом виде преимущественно существуют в цвиттер-ионной форме $\text{RCH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$. Ранее было установлено, что комплексообразование аминокислот с макроциклическими лигандами происходит посредством группы NH_3^+ [17]. На основе ИК-спектроскопии было показано, что в

межмолекулярном взаимодействии в основном участвуют карбоксильная группа агликона хедерагенина гликозида **1** и цвиттер-ион аминокислот [3, 4].

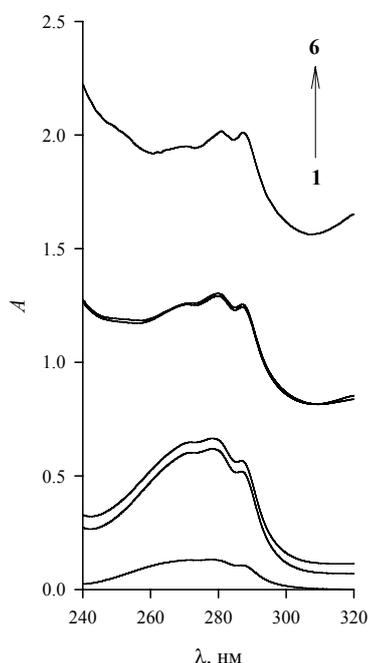


Рис. 3. УФ-спектры растворов Трп (10^{-4} М = const) при различных концентрациях гликозида 2: 0 М (кривая 1), $0.50 \cdot 10^{-4}$ М (2), 10^{-4} М (3), $0.50 \cdot 10^{-3}$ М (4), $0.75 \cdot 10^{-3}$ М (5) и 10^{-3} М (6).

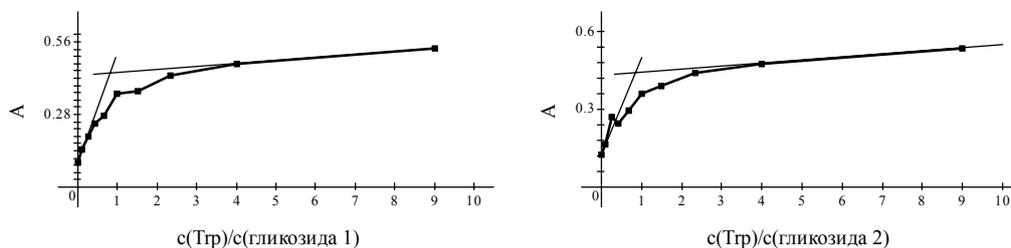


Рис. 4. Зависимость оптической плотности A от соотношения компонентов изомолярной серии при $\lambda = 278$ нм: $c(\text{гликозида } \mathbf{1} \text{ и } \mathbf{2}) = 10^{-4}$ М, $c(\text{Трп}) = 10^{-4}$ М.

С учетом вышесказанного, можно предположить, что группа NH_3^+ цвиттер-ионной формы аминокислоты образует водородную связь с группой CO карбоксила гликозида **1**. Гликозид **2** связывается с NH_3^+ триптофана посредством водородных связей с OH -группами моносахаридных остатков. Возможно, что связывание также происходит за счет взаимодействия NH -группы индольного кольца Трп с OH -

группами углеводных частей гликозидов и гидрофобных взаимодействий индольного кольца аминокислоты с неполярным агликоном гликозидов.

ВЫВОДЫ

1. Впервые получены молекулярные комплексы тритерпеновых гликозидов с ароматической аминокислотой Тгр в водных растворах.
2. Методом изолярических серий установлено, что Тгр формирует комплексы с гликозидами состава 1:1.
3. Показано, что межмолекулярное взаимодействие сопровождается гиперхромным эффектом, а в случае бисдесмозидного гликозида – еще и слабым батахромным сдвигом.
4. Сделано предположение об участии группы NH_3^+ аминокислоты в связывании с гликозидами.

Список литературы

1. 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.
2. Солодка: Биоразнообразие, химия, применение в медицине / [Г.А. Толстиков, Л.А. Балтина, В.П. Гранкина и др.]. – Новосибирск: Академическое изд-во «Гео», 2007. – 311 с.
3. 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. Сер. «Биология, химия». – 2009. – Т. 22, № 1. – С. 208–213.
4. Яковишин Л.О. Молекулярні комплекси тритерпенового глікозиду α -хедерину з аліфатичними протеїногенними амінокислотами / Л.О. Яковишин, М.А. Рубінсон // Ukr. Bioorgan. Acta. – 2009. – Т. 7, № 1. – С. 32–35.
5. Материалы X Междунар. семинара по магнитному резонансу (спектроскопия, томография и экология), 2–7 мар. 2010 г., Ростов-на-Дону. – Ростов-на-Дону: Рос. фонд фонд. исслед. – 2010. – С. 30.
6. Яковишин Л.А. Комплекс тритерпеновых гликозидов лекарственного препарата Hedelix® / Л.А. Яковишин, В.И. Гришковец // Химия природ. соедин. – 2003. – № 5. – С. 417–418.
7. Исследование тритерпеновых гликозидов лекарственного препарата проспан® / Л.А. Яковишин, М.А. Возжова, А.Л. Кузнецова [и др.] // Журн. орг. и фарм. химии. – 2005. – Т. 3, № 1. – С. 57–59.
8. Визначення тритерпенових глікозидів у препараті «Геделікс» за допомогою тонкошарової хроматографії / Л.О. Яковишин, Г.Л. Кузнецова, М.А. Рубінсон [и др.] // Фармац. журн. – 2006. – № 6. – С. 62–65.
9. Зузук Б.М. Плющ вьющийся *Hedera helix* L. / Б.М. Зузук, Р.В. Куцик, Л.И. Зузук // Провизор. – 2003. – № 12. – С. 13–14.
10. Актуальные вопросы теоретической и прикладной биофизики, физики и химии. БФФХ – 2010: матер. VI Междунар. науч.-техн. конф., 26–30 апр. 2010 г., Севастополь. Т. 1 / М-во образования и науки Украины, Севастоп. нац. тех. ун-т [и др.] – Севастополь: Изд-во СевНТУ, 2010. – С. 346–348.
11. Взаємодія стероїдних глікозидів з амінокислотами: дослідження методом плазменно-десорбційної мас-спектрометрії / В.В. Пилипенко, С.О. Аксьонов, О.М. Калінкевич [та ін.] // Biopolym. Cell. – 2000. – Т. 16, № 3. – С. 212–219.
12. ^{252}Cf Plasma desorption mass spectrometric study of interactions of steroid glycosides with amino acids / V.V. Pilipenko, L.F. Sukhodub, S.A. Aksyonov [et al.] // Rapid Commun. Mass Spectrom. – 2000. – Vol. 14. – P. 819–823.
13. Комплексообразование сердечных гликозидов с аминокислотами и щелочноземельными металлами / Н.А. Горчакова, Т.Г. Самарская, В.А. Самарский [и др.] // Фармакол. и токсикол. – 1992. – № 27. – С. 106–109.

14. Шашков А.С. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* L. Строение таурозида E из листьев *Hedera taurica* / А.С. Шашков, В.И. Гришковец, А.А. Лолойко [и др.] // Химия природ. соедин. – 1987. – № 3. – С. 363–366.
15. Тритерпеновые гликозиды *Hedera canariensis* L. 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.
16. Булатов М.И. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа / М.И. Булатов, И.П. Калинин. – [5-е изд.]. – Л.: Химия, 1986. – 432 с.
17. Куликов О.В. Термодинамика образования молекулярных комплексов в водных растворах аминокислот, пептидов, нуклеиновых оснований и макроциклических соединений: автореф. дис. на соиск. уч. степени докт. хим. наук: спец. 02.00.04 «Физическая химия» / О.В. Куликов. – Иваново, 2005. – 36 с.

Яковичин Л.О. Молекулярне комплексотворення тритерпенових глікозидів з триптофаном у водних розчинах / Л.О. Яковичин, В.І. Гришковець, Н.В. Єпішина [та ін.] // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2010. – Т. 23 (62). – № 2. – С. 270-275.

Уперше методом УФ-спектроскопії досліджено молекулярне комплексотворення триптофану з 3-О- α -L-рамнопіранозил-(1 \rightarrow 2)-О- α -L-арабінопіранозидом хедерагеніну (α -хедерином) та його 28-О- α -L-рамнопіранозил-(1 \rightarrow 4)-О- β -D-глюкопіранозил-(1 \rightarrow 6)-О- β -D-глюкопіранозиловым естером (хедераспоніном С) у водних розчинах. Встановлено, що глікозиди утворюють комплекси з триптофаном складу 1:1. Зроблено висновок про вплив будови глікозидів та триптофану на процес комплексотворення.

Ключові слова: тритерпенові глікозиди, α -хедерин, хедераспонін С, триптофан, молекулярний комплекс, УФ-спектроскопія.

Yakovishin L.A. Molecular complexation of the triterpene glycosides with tryptophan in water solutions / L.A. Yakovishin, V.I. Grishkovets, N.V. Epishina [et al.] // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2010. – V.23 (62). – № 2. – P. 270-275.

For the first time by UV-spectroscopy the molecular complexation of tryptophan with hederagenin 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-O- α -L-arabinopyranoside (α -hederin) and its 28-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-glucopyranosyl ester (hederasaponin C) in water solutions was investigated. The glycosides form complexes with tryptophan in 1:1 molar proportion. It was concluded about the impact of the structure of glycosides and tryptophan on the process of complexation.

Keywords: triterpene glycosides, α -hederin, hederasaponin C, tryptophan, molecular complex, UV-spectroscopy.

Поступила в редакцію 18.05.2010 г.