

УДК 547.918:543.421/.424:577.112.37

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ ТРИТЕРПЕНОВОГО ГЛИКОЗИДА α -ХЕДЕРИНА С ГИДРОФИЛЬНЫМИ ПРОТЕИНОГЕННЫМИ АМИНОКИСЛОТАМИ

Яковшин Л.А., Гришковец В.И., Рубинсон М.А., Корж Е.Н.

В статье описано получение комплексов тритерпенового гликозида α -хедерина с гидрофильными протеиногенными аминокислотами (аспарагином, аспарагиновой кислотой и гистидином). Комплексообразование подтверждено данными ик-спектроскопии.

Ключевые слова: молекулярный комплекс, тритерпеновые гликозиды, α -хедерин, ик-спектроскопия, аминокислоты.

ВВЕДЕНИЕ

На протяжении нескольких десятилетий широко изучается молекулярное капсулирование различных фармаконов. При этом клатрирование проводят разнообразными веществами, в том числе и сапонинами. Особенно хорошо изучено комплексообразование лекарственных веществ с глицирризиновой кислотой, являющейся для них хорошей транспортной формой [1]. Также получены комплексы стероидных гликозидов с аминокислотами [2 – 4]. Ранее мы сообщали о комплексообразовании тритерпенового гликозида α -хедерина с силденафилом [5], гидрофобными протеиногенными аминокислотами и холестерином [6, 7]. В настоящей статье рассмотрено образование молекулярных комплексов тритерпенового гликозида α -хедерина с аспарагиновой кислотой, аспарагином и гистидином. Ранее комплексы α -хедерина с данными аминокислотами получены не были.

α -Хедерин (сапиндозид А, калопанакс сапонин А), представляющий собой 3-О- α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 2)-О- α -L-арабинопиранозид хедерагенина, является одним из самых распространенных тритерпеновых гликозидов растений семейства аралиевых (*Araliaceae* Juss.) [8, 9]. Он входит в состав широко известных лекарственных препаратов для лечения кашля геделикса[®] и проспана[®], созданных на основе листьев плюща обыкновенного *Hedera helix* L. [8, 10 – 12].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выделение и ТСХ-анализ α -хедерина. Для получения комплексов использовали α -хедерин, выделенный нами из плющей крымского *Hedera taurica* Carr. и канарского *Hedera canariensis* Willd., по методике, приведенной в работах

[13, 14]. Чистоту выделенного гликозида контролировали ТСХ. ТСХ проводили на аналитических пластинках Sorbfil (Российская Федерация) марки ПТСХ-П-А-УФ-254 с размерами частиц силикагеля 5–7 мкм (тип сорбента СТХ-1А). Использовали системы растворителей CHCl_3 – CH_3OH –25 % водный NH_3 (100:20:3 и 100:30:5). Проявитель – 0,2 % раствор *пара*-оксибенальдегида в 2 н. H_2SO_4 [15]. Хроматограммы нагревали до 100 °С. R_f 0.12 и 0.49 (соответственно в указанных выше системах растворителей).

Получение комплексов. Комплексы получали путем смешивания растворов, содержащих по 1 ммоль α -хедерина и аминокислоты (растворитель – смесь 70 % водного раствора $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ и CHCl_3 в соотношении 3:1, по объему). Полученную смесь выдерживали при 50 °С в течение 1,5 часов при постоянном перемешивании. Органические растворители отгоняли в вакууме.

Спектральные данные. ИК-спектры получали на приборе «Specord» IR 75 в таблетках с KBr.

ИК-спектр α -хедерина (KBr, ν , cm^{-1}): 3400 (OH), 2900 (CH), 2840 (CH), 1605 (CO), 1440 (CH_2 , CH_3), 1410 (CO), 1400–1250 (CH_3), 1110 (C–O–C, C–OH), 1040 (C–O–C, C–OH).

ИК-спектр D,L-аспарагиновой кислоты (KBr, ν , cm^{-1}): 3415 (OH), ~3125 (NH_3^+), ~2990 (CH), 2930 (CH), 2845 (CH), 2250 (NH_3^+), 2150 (NH_3^+), 1950 (NH_3^+), 1900 (NH_3^+), 1670 (CO, аминокислотная полоса 1 – NH_3^+), 1600 (COO^-), 1475 (аминокислотная полоса 2, NH_3^+), 1415 (COO^-), 1300 (CO), 1195 (C(CO)O), 1125 (NH_3^+), 1060 (CN), 880 (CN), 840 (CH), 470 (NH_3^+).

ИК-спектр комплекса α -хедерина и D,L-аспарагиновой кислоты (KBr, ν , cm^{-1}): 3420 (OH), 2915 (CH), 2840 (CH), 2235 (NH_3^+), ~1890 (NH_3^+), 1670 (CO, аминокислотная полоса 1 – NH_3^+), 1620–1590 (COO^-), 1505 (аминокислотная полоса 2, NH_3^+), 1440 (COO^-), 1370 (CO), 1400–1250 (CH_3), 1115 (C–O–C, C–OH), 1040 (C–O–C, C–OH).

ИК-спектр L-аспарагина (KBr, ν , cm^{-1}): 3440 (NH), 3350 (NH), ~3080 (NH_3^+), 2930 (CH), ~2630 (NH_3^+), 2500 (NH_3^+), 2215 (NH_3^+), 2120 (NH_3^+), 2000 (NH_3^+), 1650 (Амид I – CO-NH_2 , аминокислотная полоса 1 – NH_3^+), 1600 (COO^-), 1525 (Амид II – CO-NH_2), 1500 (аминокислотная полоса 2, NH_3^+), 1415 (COO^-), 1395 (CH, CN), 1340 (CO), 1285 (CH), 1220 (C(CO)O), 1125 (NH_3^+), 1050 (CN), 870 (CN), 820 (CH), 780 (CH, COO^-), ~650 (NH), 500 (NH_3^+).

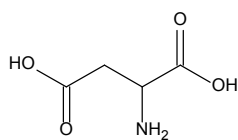
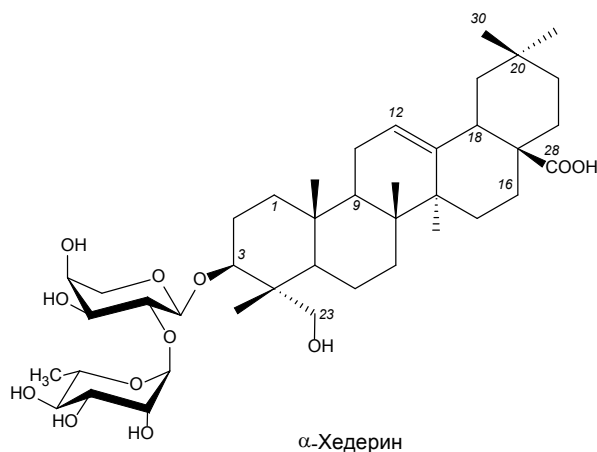
ИК-спектр комплекса α -хедерина и L-аспарагина (KBr, ν , cm^{-1}): ~3380 (связанная NH, OH), 3190 (связанная NH), ~3070 (NH_3^+), 2900 (CH), 2840 (CH), 2665 (NH), 1640 (Амид I – CO-NH_2 , аминокислотная полоса 1 – NH_3^+), 1610 (COO^-), 1565 (Амид II – CO-NH_2), 1495 (аминокислотная полоса 2 – NH_3^+), 1440 (CH_2 , CH_3), 1400 (COO^-), 1220 (C(CO)O), 1110 (C–O–C, C–OH), 1040 (C–O–C, C–OH), 510 (NH_3^+).

ИК-спектр L-гистидина (KBr, ν , cm^{-1}): ~3000 (NH, NH_3^+ , CH), 2555 (NH_3^+), 2285 (NH_3^+), 2140 (NH_3^+), 2080 (NH_3^+), 2000 (NH_3^+), 1675 (аминокислотная полоса 1 – NH_3^+), 1605 (COO^-), 1550 (колебания кольца, аминокислотная полоса 2 – NH_3^+), 1440 (колебания кольца), 1400 (COO^-), 1320 (колебания кольца), 1300 (CH), 1240 (C(CO)O), 1120 (NH_3^+), 1050 (CN), 960 (CH), 830 (CH), 525 (NH_3^+).

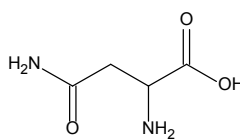
ИК-спектр комплекса α -хедерина и L-гистидина (KBr, ν , cm^{-1}): ~3400-3300 (OH, NH), 2910 (CH), 2845 (CH), 1980 (NH_3^+), 1670 (аминокислотная полоса 1 – NH_3^+), 1615 (COO^-), 1550 (колебания кольца, аминокислотная полоса 2 – NH_3^+), 1440 (колебания кольца), 1390 (COO^-), 1110 (C–O–C, C–OH), 1035 (C–O–C, C–OH), 840 (CH), 520 (NH_3^+).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

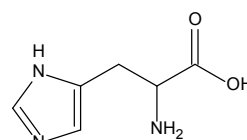
α -Хедерин выделяли из плющей крымского *Hedera taurica* Carr. и канарского *Hedera canariensis* Willd. Сухие листья плюща после измельчения обезжиривали смесью хлороформа и бензола. Гликозиды экстрагировали 90 % водным изопропиловым спиртом. Полученную сумму экстрактивных веществ разделяли на SiO_2 при элюировании смесью хлороформ – этанол, насыщенной водой. Дополнительную очистку и хроматографическое разделение тритерпеновых гликозидов выполнили на силикагеле «Silpearl». Комплекс аминокислот и α -хедерина получали путем смешивания эквимольных количеств веществ. Взаимодействие аминокислот с α -хедерином подтверждали данными ИК-спектроскопии.



Asp



Asn



His

В ИК-спектре тритерпенового гликозида α -хедерина найдены сигналы ионизированной группы COOH агликона, ассоциированных OH -групп углеводов остатков и колебания CH -связей. Полоса поглощения тризамещенной двойной связи хедерагенина перекрыта интенсивным пиком поглощения CO -группы [16].

Спектры аминокислот содержат сигналы, характерные для цвиттер-ионной формы аминокислот [16 – 19]: множество полос поглощения до 2000 см^{-1} (валентные колебания NH_3^+), комбинационная полоса около 2000 (асимметричные деформационные и крутильные колебания NH_3^+), аминокислотные полосы 1 и 2 (асимметричные и симметричные деформационные колебания NH_3^+), симметричные и асимметричные валентные колебания COO^- .

При образовании комплекса гликозида и гистидина в ИК-спектре наблюдается уменьшение частот поглощения симметричных валентных колебаний групп COO^- . Так, для гликозида смещение составляет -20 см^{-1} , а для аминокислоты – -10 см^{-1} . Также изменяется и положение полос поглощения асимметричных валентных колебаний этих групп. Комбинационная полоса NH_3^+ в спектре комплекса сместилась до 1980 см^{-1} . Такие изменения спектральных данных можно объяснить электростатическими взаимодействиями цвиттер-ионной формы гистидина и карбоксилата гликозида.

В ИК-спектре комплекса аспарагина и гликозида полосы поглощения, характерные для первичного амида, имеют низкие значения (3380 и 3190 см^{-1}), что соответствует связанной аминогруппе в CO-NH_2 [16]. При этом частоты поглощения в спектре индивидуальной аминокислоты соответствуют свободной амидогруппе [16]. Очевидно, это указывает на участие амидогруппы аспарагина в образовании дополнительных водородных связей с ОН-группами α -хедерина в комплексе. Кроме того, полоса поглощения ОН-групп гликозида в комплексе смещается в сторону меньших частот, и наблюдается смещение полосы Амид I на -10 см^{-1} , что также свидетельствует об образовании межмолекулярных водородных связей с участием амидной NH_2 -группы аспарагина. Наоборот, ассоциация вызывает сдвиг полосы Амид II в сторону больших частот, что согласуется с литературными данными [16]. В комплексе аспарагин–гликозид это смещение составляет 40 см^{-1} . При комплексообразовании также отмечено изменение частот поглощения групп COO^- .

В образовании комплекса аспарагиновой кислоты и гликозида участвуют группы COO^- агликона и NH_3^+ аминокислоты, что подтверждается смещением аминокислотной полосы 2 в комплексе до 1505 см^{-1} и карбоксилата в область 1620 – 1590 см^{-1} . Комбинационная полоса NH_3^+ в спектре сместилась до $\sim 1890\text{ см}^{-1}$. Положение полосы асимметричного валентного колебания β -карбоксильной группы COOH аминокислоты при комплексообразовании не изменяется. Ее поглощение найдено при 1670 см^{-1} .

ВЫВОДЫ

1. Впервые получены комплексы тритерпенового гликозида α -хедерина с гистидином, аспарагином и аспарагиновой кислотой.
2. Комплексообразование α -хедерина с аминокислотами подтверждено данными спектроскопии ИК.
3. В межмолекулярном взаимодействии аминокислот и гликозида в основном участвуют ионизированная карбоксильная группа агликона хедерагенина и группа NH_3^+ цвиттер-ионной формы аминокислоты.

4. Ассоциация аспарагина и гликозида дополнительно осуществляется за счет водородных связей.

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. Пилипенко В. В. Взаємодія стероїдних глікозидів з амінокислотами: дослідження методом плазменно-десорбційної мас-спектрометрії / В. В. Пилипенко, С. О. Аксьонов, О. М. Калінкевич [и др.] // Биополимеры и клетка. – 2000. – Т. 16/- № 3. – С. 212-219.
3. Pilipenko V. V. Mass spectrometry study of plant steroid glycosides and their interactions with biomolecules / V. V. Pilipenko, L. F. Sukhodub // Биополимеры и клетка. – 2002. – Т. 18. - № 2. – С. 139-141.
4. Pilipenko V. V. Complexation of steroid glycosides with amino acids, nucleosides and adenosine-5-monophosphate / V. V. Pilipenko, L. F. Sukhodub, S. A. Bobeyko [et al] // Book of abstracts international conf. on saponins "Phytochemistry & application of plant saponins". – Puławy (Poland). – 2004. – P. 39.
5. Яковишин Л. А. Молекулярный комплекс тритерпенового гликозида α -хедерина с силденафилом (виагрой) / Л. А. Яковишин, М. А. Рубинсон, А. Л. Кузнецова [и др.] // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Сер. «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). - № 1. – С. 179–182.
6. Яковишин Л. А. Влияние тритерпеновых гликозидов и их комплексов с холестерином и аминокислотами на рыб *Brachydanio rerio* / Л. А. Яковишин, Е. А. Базюра, В. А. Ертахова [и др.] // Природничий альманах. Сер. «Біологічні науки». – 2006. – Вип. 8. – С. 329–335.
7. Яковішин Л. О. Вплив тритерпенових глікозидів та їх комплексів на молюсків / Л. О. Яковішин, В. А. Єртахова, К. А. Базюра // Ukrainica Bioorganica Acta. – 2006. – Т. 4. - № 2. – С. 22–26.
8. Hostettmann K. Saponins / K. Hostettmann, A. Marston. – Cambridge: Cambridge University Press. - 1995. – 548 p.
9. Деканосидзе Г. Е. Биологическая роль, распространение и химическое строение тритерпеновых гликозидов / Г. Е. Деканосидзе, В. Я. Чирва, Т. В. Сергиенко. – Тбилиси: Мецниереба, 1984. – 349 с.
10. Зузук Б. М. Плющ вьющийся *Hedera helix* L. / Б. М. Зузук, Р. В. Куцик, Л. И. Зузук // Провизор. – 2003. – № 12. – С. 13-14.
11. Яковишин Л. А. Комплекс тритерпеновых гликозидов лекарственного препарата Hedelix® / Л. А. Яковишин, В. И. Гришковец // Химия природ. соед. – 2003. – № 5. – С. 417-418.
12. Яковишин Л. А. Исследование тритерпеновых гликозидов лекарственного препарата проспан® / Л. А. Яковишин, М. А. Вожжова, А. Л. Кузнецова [и др.] // Журнал орг. и фарм. химии. – 2005. – Т. 3, вып. 1 (9). – С. 57-59.
13. Шашков А. С. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* I. Строение таурозида E из листьев *Hedera taurica* / А. С. Шашков, В. И. Гришковец, А. А. Лолойко [и др.] // Химия природ. соед. – 1987. – № 3. – С. 363-366.
14. Гришковец В. И. 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. Яковишин // Химия природ. соед. – 1996. – № 3. – С. 377-383.
15. Яковишин Л. А. Детектирующие реагенты для тсх тритерпеновых гликозидов / Л. А. Яковишин // Химия природ. Соедин. – 2003. – № 5. – С. 419-420.
16. Казицына Л. А. Применение УФ-, ИК-, ЯМР- и масс-спектропии в органической химии / Л. А. Казицына, Н. Б. Куплетская. – М.: Изд-во МГУ, 1979. – 240 с.
17. Смит А. Прикладная ИК-спектроскопия / А. Смит. – М.: Мир, 1982. – 328 с.
18. Наканиси К. Инфракрасные спектры и строение органических соединений / К. Наканиси. – М.: Мир, 1965. – 216 с.
19. Физико-химические методы исследования в органической и биологической химии / [Паперно Т. Я., Поздняков В. П., Смирнова А. А., Елагин Л.М.]. – М.: Просвещение, 1977. – 176 с.

Яковішин Л.О., Гришковець В.І., Рубінсон М.А., Корж О.М. Комплексоутворення тритерпенового глікозиду α -хедерину з гідрофільними протеїногенними амінокислотами // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2009. – Т.22 (61). – № 1. – С. 208-213.

В статті описано одержання комплексів тритерпенового глікозиду α -хедерину з гідрофільними протеїногенними амінокислотами (аспарагіном, аспарагіноювюю кислотою та гістидином). Комплексоутворення підтверджено даними іч-спектроскопії.

Ключові слова: молекулярний комплекс, тритерпенові глікозиди, α -хедерин, іч-спектроскопія, амінокислоти.

Yakovishin L.A., Grishkovets V.I., Rubinson M.A., Korzh E.N. The complex's formation of triterpene glycoside α -hederine with hydrophilic proteinogenous amino acids // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 1. – P. 208-213.

In this paper the obtaining complexes of triterpene glycoside α -hederine with hydrophilic proteinogenous amino acids (asparagine, aspartic acids and histidine) is described. The complex's formation is confirmed by IR-spectroscopy.

Keywords: molecular complex, triterpene glycosides, α -hederine, IR-spectroscopy, amino acids.

Поступила в редакцію 18.04.2009 з.