

УДК 547.918:547.564.4:543.42

СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ СОЛОДКИ И ПЛЮЩА С ПАРАЦЕТАМОЛОМ

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

¹Севастопольский национальный технический университет, Севастополь, Украина

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

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 парацетамолом в водных растворах. Показано, что α -хедерин, хедерасапонин С и глицирам образуют с парацетамолом 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, парацетамол, молекулярный комплекс, спектрофотометрия, константа устойчивости.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из самых значимых анальгетиков-антипиретиков является парацетамол (*para*-ацетаминофенол, Par, рис. 1) [1]. Однако при длительном применении он оказывает нефротоксическое и гепатотоксическое действие [1, 2]. Для снижения побочных эффектов и терапевтических доз лекарственных веществ предложено их клатрирование растительными гликозидами [3].

Начато исследование комплексообразования тритерпеновых гликозидов α -хедерина (3-*O*- α -*L*-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -*L*-арабинопиранозида хедерагенина, гликозид **1**, рис. 1) 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*-глюкопиранозида хедерагенина, гликозид **2**, рис. 1) [4, 5]. Тритерпеновые гликозиды **1** и **2** характерны для растений различных видов рода плющ *Hedera* L. [6]. Получены молекулярные комплексы глицирризиновой кислоты, являющейся преобладающим тритерпеновым гликозидом корней солодки *Glycyrrhiza glabra* L., и ее моноаммонийной соли (глицирама, GC, рис. 1) с различными фармаконами [7, 8].

Недавно изучено комплексообразование Par с гликозидами **1** и **2** методом электроспрей-ионизационной масс-спектрометрии [9]. В продолжение исследования комплексообразования Par с тритерпеновыми гликозидами нами рассмотрено их взаимодействие в водных растворах методом спектрофотометрии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали образец GC фирмы Calbiochem (США). Тритерпеновые гликозиды **1** и **2** выделяли из листьев плющей крымского *Hedera taurica* Carr. и канарского *Hedera canariensis* Willd. (Araliaceae Juss.). Методики выделения и установления строения приведены в работах [10, 11].

УФ-спектры получены при температуре 19 °С на спектрофотометре Unicо UV-Vis 4802 (США) в кварцевых кюветах ($l=1$ см). Для составления изомолярных серий использовали 10^{-4} М водные растворы Par, 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.

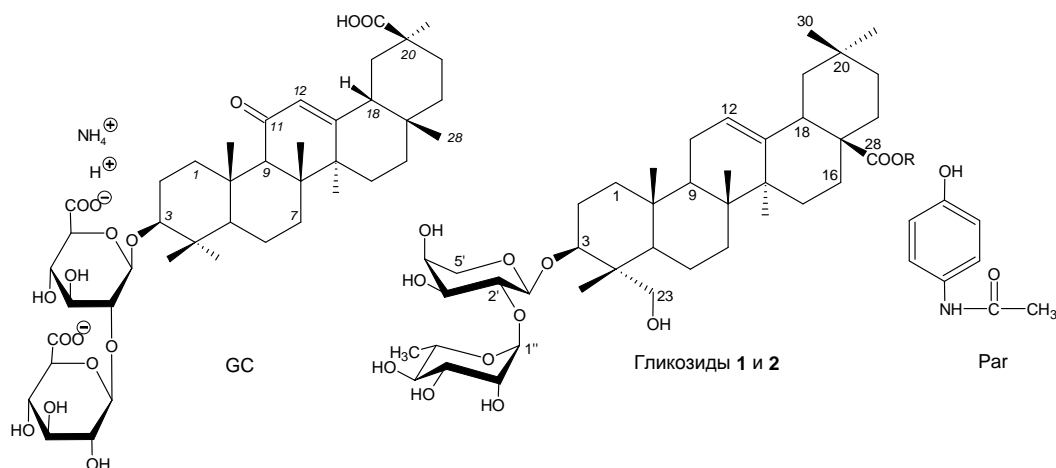


Рис. 1. Парацетамол (Par), моноаммонийная соль глицирризиновой кислоты (глицирам, GC) и гликозиды α -хедерин (**1**; R=H) и хедерасапонин С (**2**; R= $\leftarrow\beta\text{Glc}_p\text{-(6}\leftarrow\text{1)-}\beta\text{Glc}_p\text{-(4}\leftarrow\text{1)-}\alpha\text{Rha}_p$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Состав комплексов Par с тритерпеновыми гликозидами определен методом изомолярных серий (методом Остромысленского–Жоба) [12]. Изомолярные кривые, полученные для смесей Par с гликозидами **1** и **2**, приведены на Рис. 2 А и 3 А. На их основе для комплексов Par с гликозидами **1** и **2** установлен состав 1:1. Ранее в масс-спектрах (ионизация электрораспылением) смесей Par с гликозидами **1** и **2** были идентифицированы пики ионов $[\text{M}^1+\text{M}^{\text{Par}}-\text{H}]^-$, $[\text{M}^2+\text{M}^{\text{Par}}-\text{H}]^-$ и $[\text{M}^2+\text{M}^{\text{Par}}+\text{H}]^+$ [9], также отвечающие комплексам состава 1:1. Полученные недавно комплексы гликозидов **1** и **2** с рядом лекарственных веществ в большинстве случаев имеют аналогичный состав [4, 15].

Состав комплекса Par с GC определен на длине волны поглощения GC (258 нм; рис. 4) и Par (246 нм; рис. 5 А). При этом получены молярные отношения $\approx 1,0$, что отвечает составу комплекса 1:1. Комплексы аналогичного состава были получены

для глицирризиновой кислоты и GC с некоторыми биологически активными молекулами [7, 8, 13, 14].

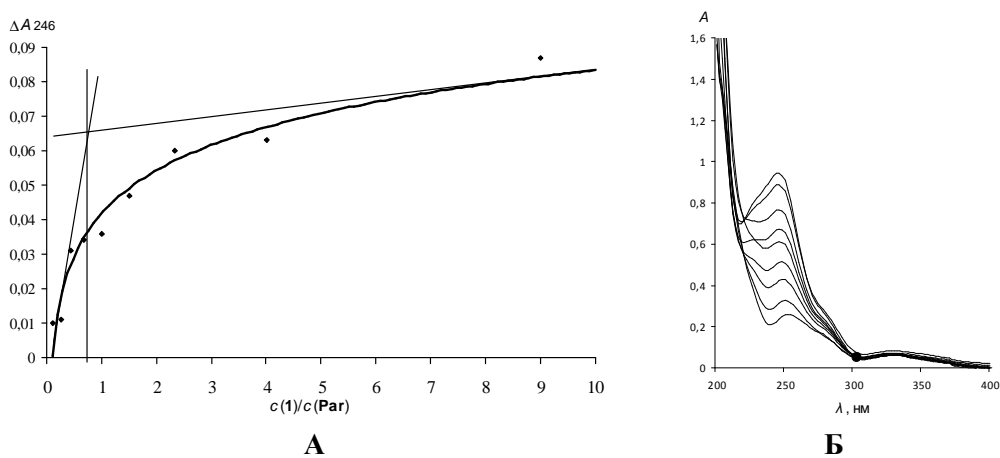


Рис. 2. Зависимость изменения оптической плотности ΔA от соотношения компонентов изомолярной серии при $\lambda=246$ нм ($c(\text{Par})=10^{-4}$ М, $c(\mathbf{1})=10^{-4}$ М (А), рН 7,2) (А) и кривые поглощения изомолярной серии растворов ($c(\text{Par})=10^{-4}$ М, $c(\mathbf{1})=10^{-4}$ М, рН 7,2) (Б).

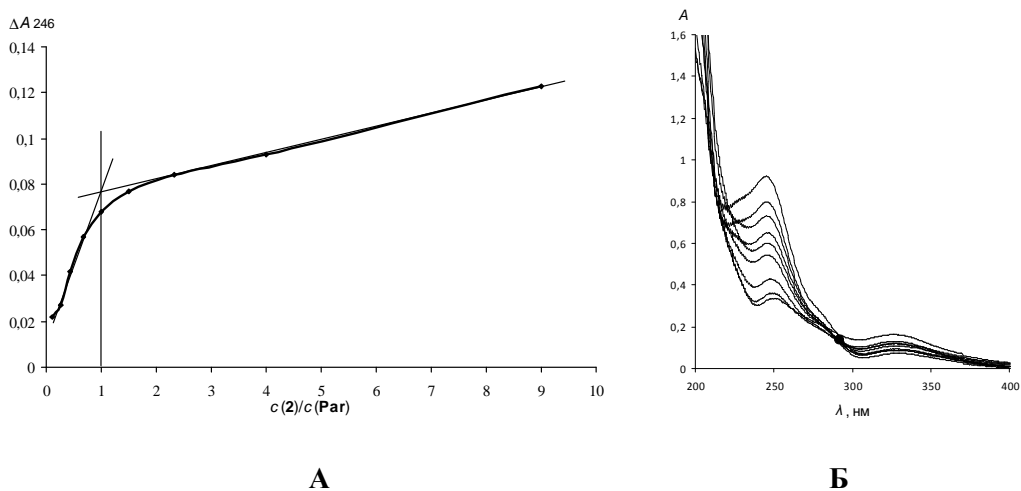
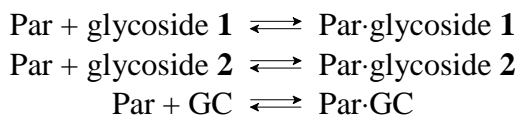


Рис. 3. Зависимость изменения оптической плотности ΔA от соотношения компонентов изомолярной серии при $\lambda=246$ нм ($c(\text{Par})=10^{-4}$ М, $c(\mathbf{2})=10^{-4}$ М, рН 7,2) (А) и кривые поглощения изомолярной серии растворов ($c(\text{Par})=10^{-4}$ М, $c(\mathbf{2})=10^{-4}$ М, рН 7,2) (Б).

Спектр поглощения изомолярной серии растворов Par и гликозида **1** имеет изобестическую точку при 302 нм (рис. 2 Б). Для изомолярной серии, составленной

для растворов Par и гликозида **2**, изобестическая точка найдена при 290 нм (рис. 3 Б). Спектр поглощения изомолярной серии Par–GC имеет изобестические точки при 252 и 284 нм (рис. 5 Б). Наличие изобестических точек указывает на формирование лишь одного типа комплексов между Par и гликозидами.

В растворах устанавливаются равновесия между Par и гликозидами следующего вида:



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

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

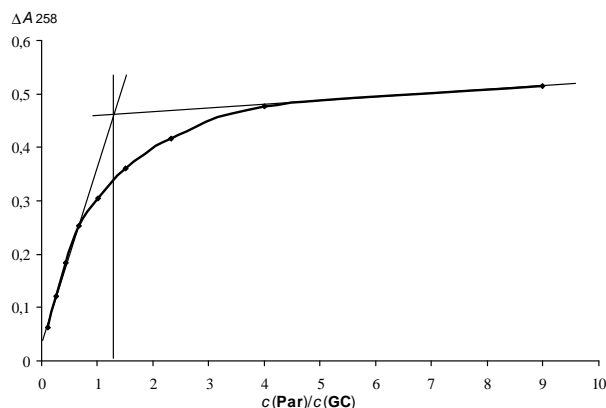


Рис. 4. Зависимость изменения оптической плотности ΔA от соотношения компонентов изомолярной серии при $\lambda=258$ нм (рН 7,2): $c(\text{Par})=10^{-4}$ М, $c(\text{GC})=10^{-4}$ М.

На основе изомолярных кривых по формуле 2 рассчитали константы нестойкости комплексов K_n ($K_n=1/K$) по методу [16], применимому для комплексов состава 1:1.

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

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.

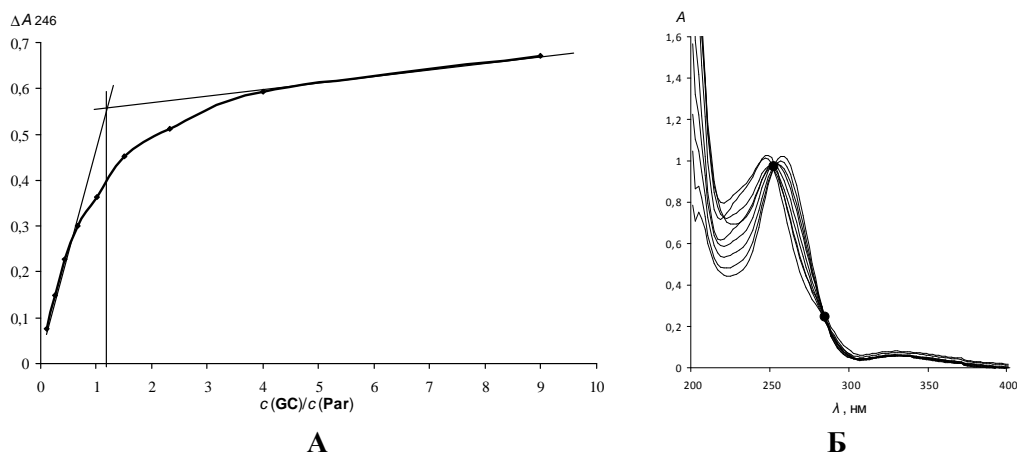


Рис. 5. Зависимость изменения оптической плотности ΔA от соотношения компонентов изомолярной серии при $\lambda=246$ нм ($c(\text{Par})=10^{-4}$ М, $c(\text{GC})=10^{-4}$ М, рН 7,2) (А) и кривые поглощения изомолярной серии растворов ($c(\text{Par})=10^{-4}$ М, $c(\text{GC})=10^{-4}$ М, рН 7,2) (Б).

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

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

Установлено, что $K_{\text{Par-1}} < K_{\text{Par-2}}$, поэтому комплекс гликозида **2** является более устойчивым (табл. 1). При анализе масс-спектров также было показано, что относительная интенсивность пика иона комплекса $[\text{M}^2 + \text{M}^{\text{Par}} - \text{H}]^-$ больше, чем у иона $[\text{M}^1 + \text{M}^{\text{Par}} - \text{H}]^-$ [9]. Для недавно полученных комплексов гликозидов **1** и **2** с аспирином и левомицетином были найдены K , равные 10^3 – 10^4 М $^{-1}$ [15, 17].

При определении термодинамических параметров комплекса Par с GC при 246 и 258 нм получены близкие значения $K_{\text{Par-GC}}$ (табл. 1). У ранее описанных комплексов фармаконов с глицерризиновой кислотой и GC состава 1:1 K составляли 10^3 – 10^5 М $^{-1}$ [7, 17].

Таблица 1

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

Комплекс	K, M^{-1}	$\Delta G, \text{Дж/моль}$
Par·1	$2,72 \cdot 10^4$	$-2,48 \cdot 10^4$
Par·2	$7,35 \cdot 10^5$	$-3,28 \cdot 10^4$
Par·GC	$8,44 \cdot 10^4$ (при $\lambda=246$ нм)	$-2,75 \cdot 10^4$ (при $\lambda=246$ нм)
	$9,18 \cdot 10^4$ (при $\lambda=258$ нм)	$-2,77 \cdot 10^4$ (при $\lambda=258$ нм)

В агликонных частях **1** и GC содержится по одной группе COOH. У гликозида **2** в агликонной части отсутствуют COOH группа. Очевидно, что существенная роль в стабилизации комплексов Par с **1** и GC не принадлежит водородным связям с участием этих групп COOH, т.к. $K_{\text{Par}\cdot\mathbf{1}} < K_{\text{Par}\cdot\text{GC}} < K_{\text{Par}\cdot\mathbf{2}}$. Межмолекулярное взаимодействие гликозидов с Par происходит за счет OH-групп моносахаридных остатков. Наибольшую устойчивость комплекса гликозида **2** можно объяснить наличием большего количества OH-групп, способных образовать дополнительные водородные связи с группами O–H, N–H и C=O в молекуле Par. Кроме того, возможны гидрофобные взаимодействия неполярной агликонной части гликозидов с бензольным кольцом Par.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Впервые получены комплексы тритерпеновых гликозидов плюща и солодки с парацетамолом в водных растворах. Комплексообразование исследовано спектрофотометрически.
2. Методом изомольярных серий установлено, что супрамолекулярные комплексы Par с гликозидами плюща **1** и **2** имеют состав 1:1. Комплекс Par с GC характеризуется составом 1:1.
3. Рассчитаны K комплексов гликозидов с Par. Показано, что $K_{\text{Par}\cdot\mathbf{1}} < K_{\text{Par}\cdot\text{GC}} < K_{\text{Par}\cdot\mathbf{2}}$. 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. 2. – С. 163–164.
2. Updates on acetaminophen toxicity / A.K. Rowden, J. Norvell, D.L. Eldridge, M.A. Kirk // Med. Clin. N. Am. – 2005. – Vol. 89. – P. 1145–1159.
3. 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.
4. 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.
5. Complexation of triterpene and steroid glycosides with aromatic proteinogenous amino acids / L. Yakovishin, V. Grishkovets, A. Kovalenko [et al.] // From molecules to functional architecture.

- Supramolecular interactions; ed. V.I. Rybachenko. – Donetsk: East Publisher House, 2012. – 538 p. – Chapter 4. – P. 71–86.
- Hostettmann K. Saponins / K. Hostettmann, A. Marston. – Cambridge: Cambridge University Press, 1995. – 548 p.
 - 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.
 - 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.
 - Электроспрей-ионизационная масс-спектрометрия смесей тритерпеновых гликозидов с парацетамолом / Лекарь А.В., Ветрова Е.В., Борисенко Н.И. [и др.] // Журн. прикл. спектр. – 2010. – Т. 77, № 5. – С. 668–672.
 - Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* I. Строение таурозида E из листьев *Hedera taurica* / А.С. Пашков, В.И. Гришкoveц, А.А. Лолойко [и др.] // Химия природ. соедин. – 1987. – № 3. – С. 363–366.
 - 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. Гришкoveц, Д.Ю. Сидоров, Л.А. Яковичин [и др.] // Химия природ. соедин. – 1996. – № 3. – С. 377–383.
 - Булатов М.И. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа / М.И. Булатов, И.П. Калинин. – [5-е изд.]. – Л.: Химия, 1986. – 432 с.
 - Молекулярный комплекс моноаммонийной соли глицирризиновой кислоты (глицирама) с цитратом сидненафила / Л.А. Яковичин, Д.Ю. Белаш, И.Р. Яровой, В.И. Гришкoveц // Журн. орг. та фарм. хімії. – 2011. – Т. 9, вип. 3 (35). – С. 60–63.
 - Яковичин Л.А. Молекулярный комплекс моноаммонийной соли глицирризиновой кислоты (глицирама) с β-циклодекстрином / Л.А. Яковичин // Журн. орг. та фарм. хімії. – 2012. – Т. 10, вип. 4 (40). – С. 71–75.
 - Яковичин Л.А. Спектрофотометрия молекулярного комплексообразования тритерпеновых гликозидов солодки и плюща с аспирином / Л.А. Яковичин // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Сер. «Биология, химия». – 2012. – Т. 25 (64), № 4. – С. 279–284.
 - Бабко А.К. Физико-химический анализ комплексных соединений в растворах / А.К. Бабко. – К.: Изд-во АН УССР, 1955. – 328 с.
 - Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. уч. «Актуальні питання біології, екології, медицини та фармакології», 26–27 вер. 2013 р., Дніпропетровськ. – Харків: Екограф. – 2013. – С. 109–110.

Яковичин Л.О. Супрамолекулярні комплекси тритерпенових глікозидів солодко та плюща з парацетамолом / Л.О. Яковичин, В.І. Гришкoveць, О.М. Корж, О.Д. Дегтяр, А.В. Клименко // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 3. – С. 335–342.

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

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

SUPRAMOLECULAR COMPLEXES OF LICORICE AND IVY TRITERPENE GLYCOSIDES WITH PARACETAMOL

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

¹Sevastopol National Technical University, Sevastopol, Ukraine

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

E-mail: chemsevntu@rambler.ru

Paracetamol (*para*-acetaminophenol, Par) is currently one of the most common medicines. It exhibits analgesic and weak anti-inflammatory activity. Nephrotoxic and hepatotoxic effects occur with prolonged use. One possible method for reducing therapeutic doses of drugs, increasing their solubility, and expanding the spectrum of biological activity is to form clathrates with plant saponins.

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., in which they are dominant saponins. 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.

We prepared molecular complexes of ivy and licorice triterpene glycoside with Par. Using a method of spectrophotometry, the complexation of Par 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 Par in the 1:1 molar proportion. GC make complex of 1:1 composition.

Stability constants for complexes $K_s(\text{Par}\cdot\mathbf{1})=2,72\cdot 10^4$, $K_s(\text{Par}\cdot\mathbf{2})=3,75\cdot 10^5$ and $K_s(\text{Par}\cdot\text{GC})=8,44\cdot 10^4$ (at 246 nm) or $K_s(\text{Par}\cdot\text{GC})=9,18\cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ (at 258 nm) were determined. Gibbs's free energies of complexation processes are calculated.

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

Поступила в редакцию 19.08.2013 г.