

## Спектрофотометрія супрамолекулярних комплексів тритерпенових глікозидів плюща і солодцю з левоміцетином (хлорамфеніколом)

Л.О. Яковішин\*, О.М. Корж, О.Д. Дегтяр, А.В. Клименко

Севастопольський національний технічний університет  
вул. Університетська, 33, Севастополь, 99053, Україна

**Резюме.** Методом спектрофотометрії досліджено комплексоутворення левоміцетину (хлорамфеніколу) із тритерпеновими глікозидами  $\alpha$ -хедерином (3-О- $\alpha$ -L-рамнопіранозил-(1→2)-О- $\alpha$ -L-арабінопіранозидом хедерагеніну), хедерасAPONІНОМ С (3-О- $\alpha$ -L-рамнопіранозил-(1→2)-О- $\alpha$ -L-арабінопіранозил-28-О- $\alpha$ -L-рамнопіранозил-(1→4)-О- $\beta$ -D-глюкопіранозил-(1→6)-О- $\beta$ -D-глюкопіранозидом хедерагеніну) і гліцирамом (моноамонійною сіллю гліциризинової кислоти) у водних розчинах при рН 7,2. Глікозиди утворюють комплекси з левоміцетином складу 1:1. Встановлено константи стійкості комплексів:  $4,24 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$  для комплексу левоміцетин— $\alpha$ -хедерин,  $2,15 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$  для комплексу левоміцетин—хедерасAPONІН С та  $8,57 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$  для комплексу левоміцетин—гліцирам. Найбільш стійким є комплекс левоміцетину з гліцирамом.

**Ключові слова:** тритерпенові глікозиди, гліциризинова кислота, гліцирам,  $\alpha$ -хедерин, хедерасAPONІН С, левоміцетин, молекулярний комплекс, спектрофотометрія.

**Вступ.** Левоміцетин (хлорамфенікол, Lev, рис. 1) є антибіотиком широкого спектра дії. Він знаходить застосування для лікування сальмонельозу, бруцельозу, менінгіту, хламідіозів, черевного тифу, очних інфекцій, гнійних ран і ряду інших захворювань. Однак Lev має ряд побічних ефектів. Він може чинити токсичну дію на кровотворну систему, пригнічувати мікрофлору кишечника, викликати психомоторні розлади, сплутаність свідомості, галюцинації, алергійні реакції та знижувати слух і зір [1].

Перспективним методом зниження побічних ефектів лікарських речовин є їх молекулярне інкапсулювання тритерпеновими глікозидами [2]. Крім того, супрамолекулярні комплекси з глікозидами дають змогу знижувати дози лікарських речовин, розширюють спектр

їхньої біологічної активності і є зручною формою для доставки в організм. Недавно отримано комплексні сполуки головного тритерпенового глікозиду солодцю гліциризинової кислоти з Lev [3, 4]. Комплекс виявився більш активним, ніж індивідуальні компоненти. Він підвищував стійкість мишей до інфекційних захворювань і стимулював їхній імунітет [3]. Отримано комплекси 18-дегідрогліциретової кислоти (глідериніну) та її натрієвої солі з Lev [4, 5]. Методом мас-спектрометрії з іонізацією електророзпиленням досліджено комплексоутворення Lev з  $\alpha$ -хедерином (3-О- $\alpha$ -L-рамнопіранозил-(1→2)-О- $\alpha$ -L-арабінопіранозидом хедерагеніну, глікозидом **1**, рис. 1), хедерасAPONІНОМ С (3-О- $\alpha$ -L-рамнопіранозил-(1→2)-О- $\alpha$ -L-арабінопіранозил-28-О- $\alpha$ -L-рамнопіранозил-(1→4)-О- $\beta$ -D-глюкопіранозил-(1→6)-О- $\beta$ -D-глюкопіранозидом хедерагеніну, глікозидом **2**, рис. 1) [6] та гліциризиною кислотою [7]. Глікозиди **1** і **2** є переважними сапонінами різних видів плющів [8].

У літературі відсутні дані про спектрофо-

\* Corresponding author.

Tel.: +380692-435106

E-mail address: chemseventu@rambler.ru

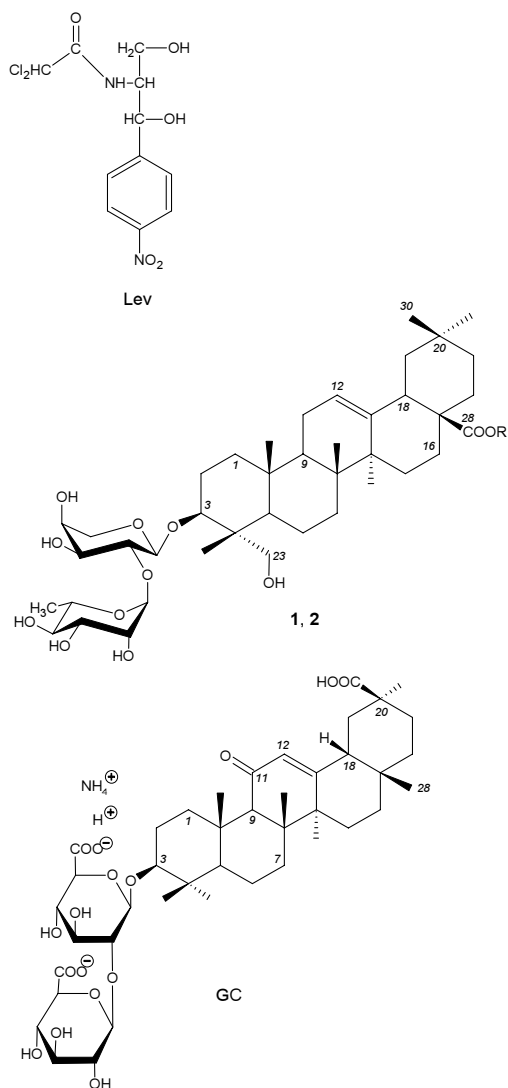
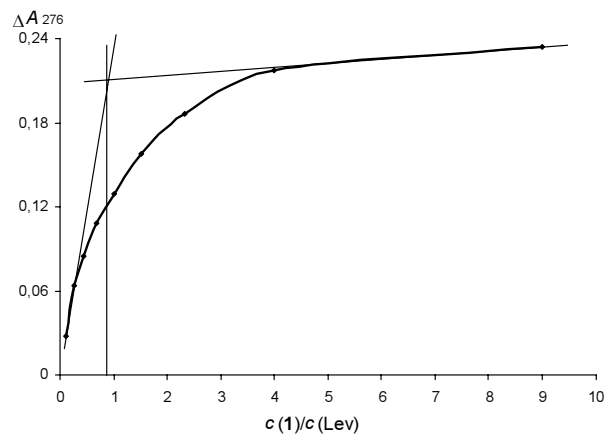


Рис. 1. Левоміцетин (Lev), гліцирам (GC),  $\alpha$ -хедерин (**1**; R=H) і хедерасапонін C (**2**; R= $\leftarrow\beta$ Glc<sub>p</sub>-(6 $\leftarrow$ 1)- $\beta$ Glc<sub>p</sub>-(4 $\leftarrow$ 1)- $\alpha$ Rha<sub>p</sub>).

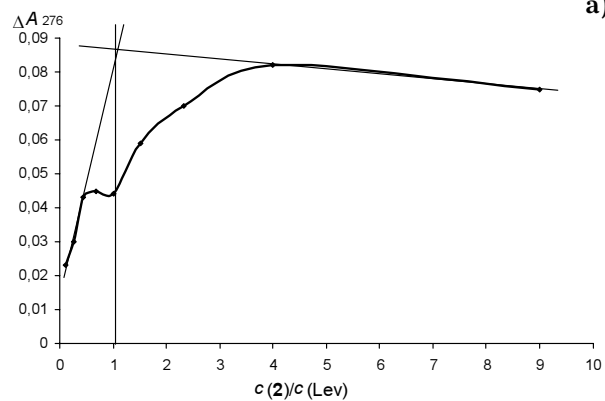
тометричне дослідження комплексоутворення Lev з моноамонійною сіллю гліциризинової кислоти (гліцирамом, GC; рис. 1) та глікозидами **1** і **2** у водних розчинах. У статті описано визначення складу комплексів методом спектрофотометрії і розрахунок їхніх термодинамічних параметрів.

**Матеріали і методи.** Глікозиди **1** і **2** виділяли з листя *Hedera taurica* Carr. та *Hedera capanriensis* Willd. Методики виділення і встановлення структури наведено в роботах [9, 10]. Використовували зразок GC фірми «Calbiochem» (США).

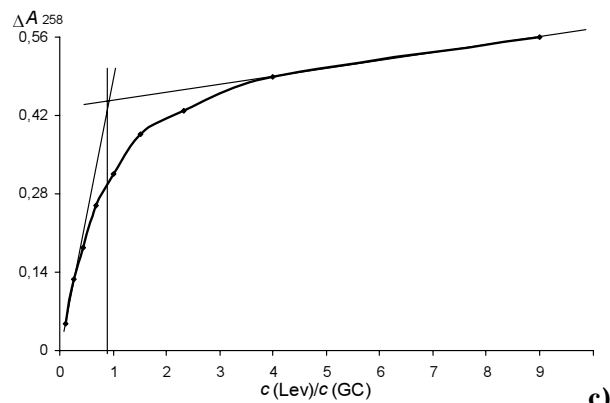
Ізомоллярні серії складали із  $10^{-4}$  М водних розчинів глікозидів та Lev (рН 7,2; фосфатний буфер  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ — $\text{Na}_2\text{PO}_4$ ), які змішували і витримували за температури 20 °С протягом



а)



б)



в)

Рис. 2. Залежності зміни оптичної густини  $A$  від співвідношення компонентів ізомоллярних серій при  $\lambda=276$  нм для глікозидів **1** (а) і **2** (б) та  $\lambda=258$  нм для GC (в):  $c(\text{Lev})=10^{-4}$  М,  $c(1)=10^{-4}$  М,  $c(2)=10^{-4}$ ,  $c(\text{GC})=10^{-4}$  М (рН 7,2).

40 хв при постійному перемішуванні. УФ-спектри отримано за температури 20 °С на спектрофотометрі «Unico UV-Vis 4802» (США) у кварцових кюветах ( $l=1$  см).

**Результати й обговорення.** Склад комплексів визначено методом ізомоллярних серій [11]. При цьому для всіх випадків отримано мольярне відношення  $\approx 1,0$  (рис. 2). Це відповідає складу комплексів, рівному 1:1. Раніше в мас-

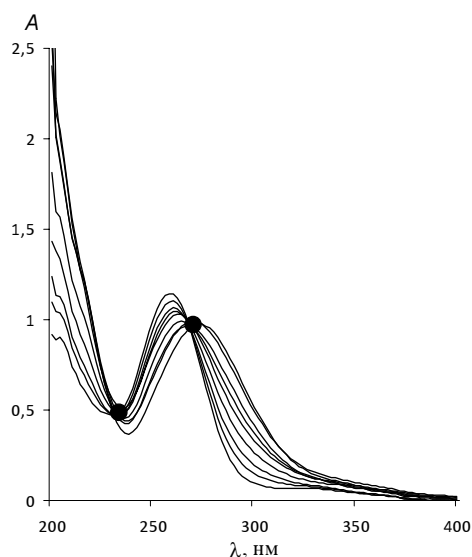
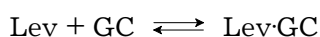
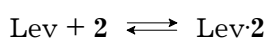
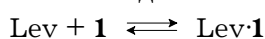


Рис. 3. Криві поглинання ізомолярної серії розчинів:  $c(\text{Lev})=10^{-4}$  М,  $c(\text{GC})=10^{-4}$  М (рН 7,2).

спектрах (іонізація електророзпиленням) було знайдено піки іонів  $[\text{M}^1+\text{M}^{\text{Lev}}-\text{H}]$ ,  $[\text{M}^2+\text{M}^{\text{Lev}}+\text{H}]^+$  і  $[\text{M}^2+\text{M}^{\text{Lev}}-\text{H}]$ , що також відповідають комплексам глікозидів **1** і **2** з Lev складу 1:1 [6]. Комплекси складу 1:1 було нещодавно отримано для GC та глікозидів **1** і **2** з деякими біологічно активними речовинами [12, 13].

Спектр поглинання ізомолярної серії для суміші Lev і GC має чіткі ізобестичні точки при 232 і 268 нм (рис. 3). Наявність ізобестичних точок вказує на формування тільки одного типу комплексу між Lev і GC.

У розчинах встановлюються рівноваги між Lev і глікозидами такого виду:



$$K_1 = \frac{[\text{Lev}\cdot\mathbf{1}]}{[\text{Lev}][\mathbf{1}]}; K_2 = \frac{[\text{Lev}\cdot\mathbf{2}]}{[\text{Lev}][\mathbf{2}]}; K_3 = \frac{[\text{Lev}\cdot\text{GC}]}{[\text{Lev}][\text{GC}]},$$

де  $K_1$ ,  $K_2$  і  $K_3$  — константи рівноваги, що є константами стійкості відповідних комплексів.

На основі отриманих ізомолярних кривих розраховали константи стійкості комплексів за методом [14]:

$$K = \frac{\Delta A_0 \Delta A_1}{c(\Delta A_0 - \Delta A_1)^2},$$

де  $\Delta A_0$  — зміна оптичної щільності, що відповідає комплексу при повній відсутності дисоціації,  $\Delta A_1$  — зміна оптичної щільності, що відповідає значенню на фактичній кривій,  $c$  — концентрація речовини, М.

Таблиця 1

Термодинамічні параметри комплексоутворення Lev із GC та глікозидами **1** і **2** у водних розчинах за 20 °С (рН 7,2)

Комплекс	$K$ , М <sup>-1</sup>	$\Delta G$ , Дж/моль
Lev· <b>1</b>	$4,24 \cdot 10^4$	$-2,59 \cdot 10^4$
Lev· <b>2</b>	$2,15 \cdot 10^4$	$-2,43 \cdot 10^4$
Lev·GC	$8,57 \cdot 10^4$	$-2,76 \cdot 10^4$

Вільна енергія Гіббса  $\Delta G$  для процесів комплексоутворення визначена за формулою:

$$\Delta G = -2,3RT \lg K.$$

Результати розрахунків  $K$  і  $\Delta G$  наведено в табл. 1. Комплекс глікозиду **1** є більш стійким, ніж глікозиду **2**, оскільки  $K_{\text{Lev}\cdot\mathbf{1}} > K_{\text{Lev}\cdot\mathbf{2}}$  (табл. 1). Методом мас-спектрометрії з іонізацією електророзпиленням раніше було встановлено, що інтенсивність піка іона  $[\text{M}^1+\text{M}^{\text{Lev}}-\text{H}]$  більше інтенсивності піка іона  $[\text{M}^2+\text{M}^{\text{Lev}}-\text{H}]$  [6]. Більшу стабільність комплексу глікозиду **1** з Lev можна пояснити наявністю вільної карбоксильної групи в агліконої частини цього глікозиду. Карбоксильна група аглікону глікозиду **2** залучена в утворення ацилглікозидного зв'язку з трисахаридним фрагментом. Найбільш стабільним виявився комплекс Lev·GC.  $K_{\text{Lev}\cdot\text{GC}}$  більше  $K_{\text{Lev}\cdot\mathbf{1}}$  у 2 рази, а  $K_{\text{Lev}\cdot\mathbf{2}}$  — у 4 рази. В раніше отриманих комплексів гліциризинової кислоти  $K$  становили  $10^3$ – $10^5$  М<sup>-1</sup> [15, 16].

У молекулі Lev є полярні групи (ОН, NH, С=О, NO<sub>2</sub>), які можуть брати участь в утворенні водневих зв'язків з карбоксильними і гідроксильними групами глікозиду **1** і GC, а також із гідроксильними групами глікозиду **2**. Високу стабільність комплексу Lev·GC можна пояснити більшими можливостями GC для взаємодії з Lev, оскільки в його агліконої і вуглеводної частин є карбоксильні групи. Крім того, GC є сіллю і тому може брати участь в утворенні іон-молекулярного водневого зв'язку типу -COO<sup>-</sup>...H-O- та іон-дипольних взаємодіях.

**Висновки.** Отримано супрамолекулярні комплекси Lev з тритерпеновими глікозидами **1**, **2** і GC у водних розчинах. Комплексоутворення підтверджено спектрофотометрично. Усі комплекси мають склад 1:1. На основі ізомолярних серій визначено константи стійкості комплексів. Комплекс Lev із GC виявився найбільш стабільним.

Надійшла в редакцію 21.06.2013 р.

**Spectrophotometry of the supramolecular complexes of ivy and licorice triterpene glycosides with laevomycesin (chloramphenicol)**

L.A. Yakovishin, E.N. Korzh, A.D. Degtyar, A.V. Klimenko

Sevastopol National Technical University  
33, University Str., Sevastopol, 99053, Ukraine

**Summary.** Using a method of spectrophotometry, the complexation of laevomycesin (chloramphenicol) with triterpene glycosides  $\alpha$ -hederin (hederagenin 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-O- $\alpha$ -L-arabinopyranoside), hederasaponin C (hederagenin 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- $\beta$ -D-glucopyranoside) and glycyram (monoammonium glycyrrhizinate) in aqueous solutions at pH 7,2 was investigated. Glycosides form complexes with laevomycesin in the 1:1 molar proportion. The stability constants were determined equal to  $4,24 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$  for laevomycesin— $\alpha$ -hederin complex,  $2,15 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$  for laevomycesin—hederasaponin C complex and  $8,57 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$  for laevomycesin—glycyram complex. The glycyram—laevomycesin complex is more stable.

**Keywords:** triterpene glycosides, glycyrrhizic acid, glycyram,  $\alpha$ -hederin, hederasaponin C, laevomycesin, molecular complex, spectrophotometry.

### Перелік літератури

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства, 13-е изд. — Харьков: Торсинг, 1997. — Т. 2. — 592 с.
2. Толстикова Т.Г., Толстиков А.Г., Толстиков Г.А. На пути к низкодозным лекарствам // Вестник РАН. — 2007. — Т. 77, № 10. — С. 867-874.
3. Кондратенко Р.М., Балтина Л.А., Мустафина С.Р., Исмаилова А.Ф., Зарудий Ф.С., Давыдова В.А., Базекин Г.В., Сулейманова Г.Ф., Толстиков Г.А. Комплексные соединения глицирризиновой кислоты с противомикробными препаратами // Хим.-фарм. журн. — 2003. — Т. 37, № 9. — С. 32-35.
4. Арыстанова Т.А., Джембаев Б.Ж., Рахимов К.Д., Ордабаева С.К., Шукирбекова А.Б., Оспанов Е.С., Муразахметов Г.К., Филиппович Г.С. Лекарственные средства на основе растительного сырья: достижения и перспективы // Материалы Междунар. науч.-практ. конф. «Фармация Казахстана: интеграция науки, образования и производства». — Шымкент (Казахстан). — 2009. — Т. 1. — С. 83-86.
5. Медетбеков Б.М., Ордабаева С.К., Арыстанова Т.А., Джембаев Б.Ж. Получение нового комплексного соединения кислоты 18-дегидроглицирретовой // Материалы Междунар. науч.-практ. конф. «Фармация Казахстана: интеграция науки, образования и производства». — Шымкент (Казахстан). — 2009. — Т. 1. — С. 125-127.
6. Лекарь А.В., Яковішин Л.А., Борисенко С.Н., Ветрова Е.В., Борисенко Н.И. Комплексообразование антибиотика левомецетина (хлорамфеникола) с  $\alpha$ -хедерином и хедерасапонином С в условиях ионизации электрораспылением // Масс-спектрометрия. — 2011. — Т. 8, № 2. — С. 111-114.
7. Казьмина М.А., Сушкова С.Н., Лекарь А.В., Борисенко Н.И. Процесс комплексообразования глицирризиновой кислоты и антибиотика хлорамфеникола (левомецетина) // Материалы VIII Междунар. науч.-техн. конф. «Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ — 2012». — Севастополь (Украина). — 2012. — С. 276-277.
8. Hostettmann K., Marston A. Saponins. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. — P. 321-322.
9. Гришковаец В.И., Сидоров Д.Ю., Яковішин Л.А., Арнаутов Н.Н., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera canariensis* I. Строение гликозидов L-A, L-B<sub>1</sub>, L-B<sub>2</sub>, L-C, L-D, L-E<sub>1</sub>, L-G<sub>1</sub>, L-G<sub>2</sub>, L-G<sub>3</sub>, L-G<sub>4</sub>, L-H<sub>1</sub>, L-H<sub>2</sub> и L-I<sub>1</sub> из листьев *Hedera canariensis* // Химия природ. соедин. — 1996. — № 3. — С. 377-383.
10. Гришковаец В.И., Толкачева Н.В., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* IX. Строение таурозидов G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub>, H<sub>1</sub> и H<sub>2</sub> из листьев плюща крымского // Химия природ. соедин. — 1992. — № 5. — С. 522-528.
11. Булатов М.И., Калинин И.П. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа, 5-е изд., перераб. — Л.: Химия, 1986. — 432 с.
12. Яковішин Л.А., Белаш Д.Ю., Яровой И.Р., Гришковаец В.И. Молекулярный комплекс моноаммонийной соли глицирризиновой кислоты (глицирама) с цитратом силденафила // Журн. орг. та фарм. хімії. — 2011. — Т. 9, вип. 3 (35). — С. 60-63.
13. Yakovishin L.A., Grishkovets V.I., Schroeder G., Borisenko N.I. Molecular complexation of ivy saponins with some drugs and biologically active substances / Functionalized molecules — synthesis, properties and application. — Ed. V.I. Rybachenko. — Donetsk: Schidnyj vydavnyczyj dim, 2010. — Chapter 4. — P. 85-103.
14. Бабко А.К. Физико-химический анализ комплексных соединений в растворах. — К.: Изд-во АН УССР, 1955. — 328 с.
15. 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. — 2009. — Vol. 9, No. 11. — P. 1317-1328.
16. Polyakov N.E., Leshina T.V. Glycyrrhizic acid as a novel drug delivery vector: synergy of drug transport and efficacy // Open Conf. Proc. J. — 2011. — Vol. 2. — P. 64-72.