

## Вплив тритерпенових глікозидів та їх комплексів на молюсків

Л.О. Яковішин\*, В.А. Єртахова, К.А. Базюра

Севастопольський національний технічний університет  
Стрільцька балка, Студмістечко, Севастополь, 99053, Україна

**Резюме.** Проведено порівняльне дослідження молюскоцидної активності глікозидів хедерагеніну і гліцирретинової кислоти, а також їх комплексів з холестерином, гліцином, *L*-аланіном і *L*-валіном проти *Planorbis corneus*, *Planorbis corneus var. rubra* та *Melanoides tuberculata*. Показано, що монодесмозидні глікозиди хедерагеніну мають більш виражену токсичність у порівнянні з його бідесмозидним глікозидом і гліцирризиною кислотою. Додавання холестерину до глікозидів знижує їх молюскоцидність. Комплекси 3-*O*- $\alpha$ -*L*-рамнопіранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\alpha$ -*L*-арабінопіранозиду хедерагеніну з гліцином і аланіном виявилися високотоксичними.

**Ключові слова:** тритерпенові глікозиди, молюскоцидна активність, комплекс, *Planorbis corneus*, *Planorbis corneus var. rubra*, *Melanoides tuberculata*.

**Вступ.** Тритерпенові та стероїдні глікозиди (сапоніни) виявляють токсичну активність проти молюсків (молюскоцидну активність) і риб [1-3]. Механізм токсичної дії сапонінів пов'язують з їхньою взаємодією із зябровими мембранами, що призводить до збільшення їх проникності і втрати важливих фізіологічно активних речовин [3].

Для вивчення закономірностей у ряді «структура-біологічна активність» і пошуку перспективних фармакологічно активних речовин нами розглянуто вплив тритерпенових глікозидів 1-4 (рис. 1) та їх молекулярних комплексів із протеїногенними амінокислотами (гліцином, *L*-валіном, *L*-аланіном) і холестерином на котушку рогову *Planorbis corneus* (родина *Planorbidae*), її різновид котушку рогову червону *Planorbis corneus var. rubra*, а також на меланію піщану *Melanoides tuberculata* (родина *Melaniidae*).

*Planorbis corneus* належить до прісновод-

них сидячооких молюсків (*Bassomatophora*). Вона часто зустрічається в різних прісних водоймах. *Melanoides tuberculata* поширена від Єгипту до Індонезії [4] і, на відміну від *Planorbis corneus* та багатьох інших молюсків, дихає не легенями, а зябрами. Це живородний равлик. *Planorbis corneus*, *Planorbis corneus var. rubra* і *Melanoides tuberculata* часто використовують як акваріумні види [4].

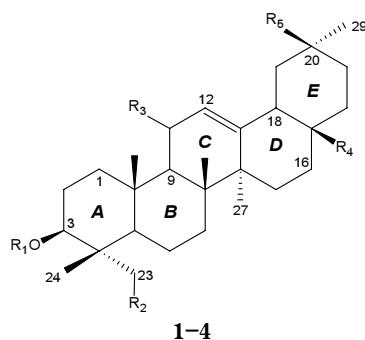
Сапоніни 1-3 є глікозидами хедерагеніну — одного з найпоширеніших агліконів тритерпенових глікозидів [3]. Вони знайдені в рослинах родини *Araliaceae* — родах *Hedera* й *Kalopanax*, а також в *Aralia elata* й *Acanthopanax sieboldianus*. Глікозид 1 також виявлений у *Polyscias dichroostachya*, а 3 — у *Schefflera octophylla*. Глікозид 2 виділений з *Hedera helix*, *Hedera taurica* і *Fatsia japonica* [1, 3, 5-10]. Глікозиди 1 і 3 є діючими речовинами лікарських препаратів геделікс® і проспан®, що застосовуються для лікування кашлю [11, 12]. Глікозид 4 міститься в солодці голій *Glycyrrhiza glabra* й уральській *Glycyrrhiza uralensis* [13].

**Матеріали й методи.** Молюскоцидну активність визначали на *Planorbis corneus*, *Planorbis*

\* Corresponding author.

Tel.: +380692-235106

E-mail address: chemsevnntu@rambler.ru



1-4

Глікозид	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
1	Rhap $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 2)-Arap $\alpha$ $\rightarrow$	OH	H	COOH	CH <sub>3</sub>
2	Glc $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 2)-Glc $\beta$ $\rightarrow$	OH	H	COOH	CH <sub>3</sub>
3	Rhap $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 2)-Arap $\alpha$ $\rightarrow$	OH	H	CO-O $\leftarrow$ $\beta$ Glc $\rho$ -(6 $\leftarrow$ 1)- $\beta$ Glc $\rho$ -(4 $\leftarrow$ 1)- $\alpha$ Rhap	CH <sub>3</sub>
4	GlcUA $\rho$ $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 2)-GlcUA $\rho$ $\beta$ $\rightarrow$	H	O=	CH <sub>3</sub>	COOH

Рис. 1. Структура досліджуваних глікозидів.

*corneus var. rubra* (родина *Planorbidae*) і *Melanoides tuberculata* (родина *Melaniidae*). Використовували розчини глікозидів і комплексів у дистильованій воді. Для вивчення дії кожної окремої концентрації речовин було взято по 10 равликів, яких поміщали в розчини глікозидів та їх комплексів і визначали час  $t_{LD_{100}}$ , протягом якого відбувався 100 %-ий летальний результат. Довірчий інтервал визначали зі ступенем надійності  $\alpha=0,95$ . Летальні концентрації  $LD_{100}$  і  $t_{LD_{100}}$  подано в табл. 1.

Досліджувалися такі глікозиди, як 3-О- $\alpha$ -L-рамнопіранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-О- $\alpha$ -L-арабінопіранозид (1), 3-О- $\beta$ -D-глюкопіранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-О- $\beta$ -D-глюкопіранозид (2) і 3-О- $\alpha$ -L-рамнопіранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-О- $\alpha$ -L-арабінопіранозил-28-О- $\alpha$ -L-рамнопіранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-О- $\beta$ -D-глюкопіранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-О- $\beta$ -D-глюкопіранозид хедерагеніну (3), а також 3-О- $\beta$ -D-глюкуронопіранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-О- $\beta$ -D-глюкуронопіранозид гліциретинової кислоти (гліцирризинова кислота, глікозид 4) (рис. 1). Глікозиди виділяли за методиками, описаними в [5-9, 13]. Їх чистоту контролювали ТШХ на аналітичних платівках Sorbfil (Російська Федерація) марки ПТСХ-П-А-УФ-254 з розмірами часток силікагелю 5-7 мкм (тип сорбенту СТХ-1А). Використовували системи розчинників СНCl<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>OH-25 %-ий водний NH<sub>3</sub> (100:20:3 і 100:30:5) [14] і хлороформ-метанол (8:2) [15]. Проявник — 0,2 %-ий розчин пара-оксibenзальдегіду в 1 моль/л розчині H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> [14]. Хроматограми нагрівали до 100 °С.

Комплекси глікозиду 1 із гліцином, L-алані-

ном і L-валіном одержували за методикою, описаною в [16]. Холестерин додавали до розчинів глікозидів 1-4 в молярному співвідношенні 1:1 за 40-50 °С. Суміш витримували 20 хв, а потім охолоджували до кімнатної температури.

**Результати й обговорення.** Серед досліджуваних глікозидів хедерагеніну 1-3 найбільшу активність проти всіх молосків проявили монодесмозидні глікозиди 1 і 2 з вільною групою COOH у залишку хедерагеніну (табл. 1). Біозиди 1 і 2 відрізняються будовою вуглеводних ланцюгів. Очевидно, заміна залишків рамнози й арабінози на два залишки глюкози трохи знижує молоскоцидну активність проти *Planorbis corneus* і *Planorbis corneus var. rubra*. Однак глікозиди 1 і 2 практично однаково токсичні для *Melanoides tuberculata*. Бідесмозидний глікозид 3 виявляє меншу активність, що відповідає відомим даним про низьку токсичність глікозидів із глікозильованою карбоксильною групою аглікону [1-3, 17].

Для прояву високої токсичності важливим є місце розташування карбоксильної групи в молекулі глікозиду. Так, наприклад, у молекулі глікозиду 4 три групи COOH (одна — у кільці E атома C-20, і дві — у вуглеводній частині), однак він менш активний, ніж глікозиди 1 і 2, що містять карбоксильну групу в положенні 17 аглікону. При глікозилюванні карбоксильної групи в положенні 17 (глікозид 3) молоскоцидна активність знижується. Таким чином, для прояву високої біологічної дії на молосків в агліконній частині глікозиду не-

Молюскоцидна активність глікозидів 1-4 та їх комплексів

Сполука	$LD_{100}$ , моль/л	Час експозиції $t_{LD_{100}}$ , хв		
		<i>Planorbis corneus</i>	<i>Planorbis corneus</i> <i>var. rubra</i>	<i>Melanoides tuberculata</i>
1	$10^{-2}$	3,3±0,2	3,7±0,3	2,0±0,2
	$10^{-3}$	14,7±0,4	14,0±0,3	13,3±0,4
	$10^{-4}$	56,0±1,0	Протягом 60 хв не токсично	53,7±1,2
2	$10^{-2}$	4,5±0,3	4,7±0,1	2,0±0,1
	$10^{-3}$	12,0±0,7	8,0±0,8	10,0±0,5
	$10^{-4}$	38,5±1,0	32,3±1,5	29,0±1,3
3	$10^{-2}$	6,5±0,4	7,0±0,3	6,0±0,3
	$10^{-3}$	32,1±1,2	32,0±1,1	29,1±0,9
	$10^{-4}$	55,3±1,8	56,1±1,5	52,0±1,6
4	$10^{-2}$	8,6±0,2	9,0±0,1	8,1±0,3
	$10^{-3}$	24,0±1,2	27,0±0,9	17,1±0,9
	$10^{-4}$	Протягом 60 хв не токсично	Протягом 60 хв не токсично	Протягом 60 хв не токсично
Комплекс: 1-холестерин	$10^{-2}$	5,0±0,1	4,6±0,1	3,5±0,2
	$10^{-3}$	30,1±0,7	34,2±1,2	15,2±1,0
	$10^{-4}$	Протягом 60 хв не токсично	Протягом 60 хв не токсично	Протягом 60 хв не токсично
Комплекс: 2-холестерин	$10^{-2}$	6,9±0,4	7,0±0,2	3,3±0,2
	$10^{-3}$	48,6±1,3	50,1±1,5	40,1±0,9
	$10^{-4}$	Протягом 60 хв не токсично	Протягом 60 хв не токсично	Протягом 60 хв не токсично
Комплекс: 3-холестерин	$10^{-2}$	7,9±0,2	8,3±0,4	7,2±0,1
	$10^{-3}$	Протягом 60 хв не токсично	Протягом 60 хв не токсично	Протягом 60 хв не токсично
	$10^{-4}$	Протягом 60 хв не токсично	Протягом 60 хв не токсично	Протягом 60 хв не токсично
Комплекс: 4-холестерин	$10^{-2}$	9,1±0,3	9,5±0,5	9,0±0,2
	$10^{-3}$	25,5±1,3	26,1±0,9	21,2±0,7
	$10^{-4}$	Протягом 60 хв не токсично	Протягом 60 хв не токсично	Протягом 60 хв не токсично
Комплекс: 1-Gly	$10^{-4}$	10,1±0,2	10,2±0,4	9,2±0,3
Комплекс: 1-Val	$10^{-4}$	Протягом 60 хв не токсично	Протягом 60 хв не токсично	Протягом 60 хв не токсично
Комплекс: 1-Ala	$10^{-4}$	8,7±0,3	9,4±0,2	7,3±0,3

обхідна наявність вільної карбоксильної групи в положенні 17 аглікону. Присутність груп COOH у вуглеводному ланцюзі глікозиду не викликає підвищення його активності.

Загибель *Planorbis corneus* та її різновиду в усіх вивчених діапазонах концентрацій відбувається практично за один і той же час. Найбільш чутливими до дії глікозидів виявилися *Melanoides tuberculata*. Можливо, це пояснюється різними шляхами надходження глікозидів в організм тварини і різною швидкістю цього процесу. *Melanoides tuberculata* дихає зябрами, глікозиди з водного розчину про-

никають в її організм значно швидше і порушують цілісність зябрових капілярів. У *Planorbis corneus* легеневе дихання, тому глікозиди проходять через шкірний покрив, що відбувається повільніше. Проникаючи через шкіру у кров тварини, глікозид, очевидно, викликає гемоліз.

Відомо, що глікозиди 1 і 2 [3, 10, 17] високогемолітичні. Нами встановлено, що вони мають і найбільшу молюскоцидну активність. Глікозиди 3 і 4 мають низьку гемолітичну активність [3, 17], їх дія на досліджувані молюски також виявляється в меншій мірі, ніж дія

глікозидів **1** і **2**. Для деяких сапонінів така закономірність не була встановлена. Так, наприклад, у високогемолітичного стероїдного глікозиду дигітоніну активність проти молюсків була низькою [3].

Характерною рисою деяких тритерпенових глікозидів є їх здатність утворювати комплекси з холестерином [1-3, 18, 19]. Так, при додаванні холестерину до глікозидів голотурій *Actinopyga agassizi* і *Holothuria leucospilota* було показано зниження їх гемолітичної дії [19], до розчинів біозидів **1** і **2** — істотне зменшення їх токсичності в порівнянні з іншими глікозидами. Це, ймовірно, пов'язано з утворенням більш стійких комплексів. Усі вивчені комплекси глікозидів **1-4** з холестерином при концентрації  $10^{-4}$  моль/л виявилися нетоксичними при експозиції протягом більш ніж 60 хв.

Молекулярні комплекси глікозиду **1** із гліцином і *L*-аланіном [16] виявилися більш токсичними, ніж індивідуальний глікозид **1**. Їх  $t_{LD_{100}}$  при концентрації  $10^{-4}$  моль/л відрізняються в середньому в 6-8 разів. Більш токсичним є комплекс із *L*-аланіном. Комплекс глікозиду **1** з *L*-валіном не проявив молюскоцидної актив-

ності проти *Planorbis corneus*, *Planorbis corneus var. rubra* і *Melanoides tuberculata* під час витримування в його розчині більш ніж 60 хв.

**Висновки.** Показано, що монодесмозидні глікозиди хедерагеніну мають більш виражену молюскоцидну активність у порівнянні з його бідесмозидним глікозидом і гліцирризиною кислотою. Для прояву високої активності необхідна наявність вільної карбоксильної групи в положенні 17 аглікону глікозидів.

Молюскоцидна активність досліджуваних глікозидів співвідноситься з їх гемолітичною дією.

Додавання холестерину в інкубаційну суміш значно знижує молюскоцидність біозидів хедерагеніну.

Комплекси 3-*O*- $\alpha$ -*L*-рамнопіранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\alpha$ -*L*-арабінопіранозиду хедерагеніну з гліцином і аланіном більш активні проти молюсків, ніж сам глікозид. Комплекс глікозиду з валіном не проявив токсичної дії на *Planorbis corneus*, *Planorbis corneus var. rubra* і *Melanoides tuberculata*.

Надійшла до редакції 14.07.2006 р.

### Influence of the triterpene glycosides and their complexes on mollusks

L.A. Yakovishin, V.A. Ertahova, E.A. Bazyura

Sevastopol National Technical University  
Streletskaya balka, Studgorodok, Sevastopol, 99053, Ukraine

**Summary.** Comparative study of molluscicidal activity of triterpene glycosides of hederagenin and glycyrrhetic acid, and their complexes with cholesterol, glycine, *L*-alanine and *L*-valine on *Planorbis corneus*, *Planorbis corneus var. rubra* and *Melanoides tuberculata* has been performed. It is shown that hederagenin monodesmosidic glycosides possess higher toxicity as compared to its bidesmosidic glycoside and glycyrrhonic acid. For high activity of glycosides, the presence of free carboxyl group at C-17 position of the aglycone part is necessary. The addition of cholesterol to the glycosides reduces their molluscicidal activity. The complexes of hederagenin 3-*O*- $\alpha$ -*L*-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\alpha$ -*L*-arabinopyranoside with glycine and *L*-alanine revealed high toxicity. The glycoside complex with *L*-valine is not active on *Planorbis corneus*, *Planorbis corneus var. rubra*, and *Melanoides tuberculata*.

**Keywords:** triterpene glycosides, molluscicidal activity, complex, *Planorbis corneus*, *Planorbis corneus var. rubra*, *Melanoides tuberculata*.

## Перелік літератури

1. Деканосидзе Г.Е., Чирва В.Я., Сергиенко Т.В. Биологическая роль, распространение и химическое строение тритерпеновых гликозидов. — Тбилиси: Мецниереба, 1984. — 349 с.
2. Анисимов М.М., Чирва В.Я. О биологической роли тритерпеновых гликозидов // Успехи современной биологии. — 1980. — Т. 6, № 3. — С. 351-364.
3. Hostettmann K., Marston A. Saponins. — Cambridge: Cambridge University Press, 1995. — 548 p.
4. Агекян И.Н., Белов Н.В., Копылов И.Л. Энциклопедия «Аквариум». — М.: АСТ, Мн.: Харвест, 2002. — 352 с.
5. Гришкова 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.
6. Шашков А.С., Гришкова В.И., Лолойко А.А., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* I. Строение таурозиды E из листьев *Hedera taurica* // Химия природ. соедин. — 1987. — № 3. — С. 363-366.
7. Лолойко А.А., Гришкова В.И., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* III. Строение хедерозидов A<sub>3</sub>, B, E<sub>2</sub> и F из ягод плюща крымского // Химия природ. соедин. — 1988. — № 5. — С. 721-726.
8. Гришкова В.И., Толкачева Н.В., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* VIII. Таурозиды F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> и тритерпеноидный сульфат // Химия природ. соедин. — 1991. — № 6. — С. 860-861.
9. Яковішин Л.А., Гришкова В.И., Арнаутов Н.Н., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera canariensis* V. Строение гликозидов из стеблей плюща канарского // Химия природ. соедин. — 1999. — № 5. — С. 676-678.
10. Соболев-Бутовченко Є.О. Тритерпенові глікозиди фатсії японської *Fatsia japonica*: Автореф. дис. канд. хім. наук... — Одеса, 2005. — 19 с.
11. Яковішин Л.А., Гришкова В.И. Комплекс тритерпеновых гликозидов лекарственного препарата Hedelix® // Химия природ. соедин. — 2003. — № 5. — С. 417-418.
12. Яковішин Л.А., Вожжова М.А., Кузнецова А.Л., Гришкова В.И. Исследование тритерпеновых гликозидов лекарственного препарата проспан® // Журнал орг. и фарм. химии. — 2005. — Т. 3, вып. 1 (9). — С. 57-59.
13. Лазурьевский Г.В., Терентьева И.В., Шамшурин А.А. Практические работы по химии природных соединений. — М.: Высш. шк., 1961. — 192 с.
14. Яковішин Л.А. Детектирующие реагенты для ТСХ тритерпеновых гликозидов // Химия природ. соедин. — 2003. — № 5. — С. 419-420.
15. Арыстанова Т.П., Ирисметов М.П., Соббекова А.О. Хроматографический метод определения глицирризиновой кислоты в суммарном препарате *Glycyrrhiza glabra* // Химия природ. соедин. — 2001. — № 1. — С. 77-78.
16. Яковішин Л.А., Пуговкин А.М., Маркова П.А. Комплексообразование тритерпенового гликозида α-хедерина с алифатическими протеиногенными аминокислотами // Материалы II Международн. конф. «Лесные биологически активные ресурсы». — Хабаровск (Россия). — 2004. — С. 219-222.
17. Яковішин Л.О. Гемолітична і іхтіотоксична активність тритерпенових глікозидів плюща канарського *Hedera canariensis* Willd. // Тези доп. на III конф. молодих вчених та студентів-хіміків південного регіону України. — Одеса, 2000. — С. 29.
18. Деканосидзе Г.Е., Чирва В.Я., Сергиенко Т.В., Уварова Н.И. Исследование тритерпеновых гликозидов (установление строения и синтез). — Тбилиси: Мецниереба, 1982. — 152 с.
19. Калинин В.И., Левин В.С., Стоник В.А. Химическая морфология: тритерпеновые гликозиды голотурий (*Holothuriodea*, *Echinodermata*). — Владивосток: Дальнаука, 1994. — 284 с.