

Молекулярні комплекси тритерпенового глікозиду α -хедерину з аліфатичними протеїногенними амінокислотами

Л.О. Яковішин*, М.А. Рубінсон

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

Резюме. Уперше описано утворення молекулярних комплексів тритерпенового глікозиду α -хедерину (3-О- α -L-рамнопіранозил-(1 \rightarrow 2)-О- α -L-арабінопіранозид хедерагеніну) з аліфатичними протеїногенними амінокислотами (гліцином, L-аланіном і L-валіном). Комплексоутворення підтверджено даними ІЧ-спектроскопії. Проведено порівняльне дослідження впливу α -хедерину і його комплексів на проростання насіння *Avena sativa* L.

Ключові слова: тритерпенові глікозиди, α -хедерин, гліцин, L-аланін, L-валін, молекулярний комплекс, ІЧ-спектроскопія, *Avena sativa* L., проростання насіння.

Вступ. В останні роки значна увага приділяється комплексоутворенню стероїдних глікозидів з амінокислотами і нуклеозидами [1-3]. Водночас взаємодію тритерпенових глікозидів із компонентами біополімерів широко вивчено в основному тільки для гліцирризинової кислоти [4-6]. Нами отримано комплекси тритерпенового глікозиду α -хедерину з протеїногенними амінокислотами — гліцином, L-аланіном і L-валіном (рис. 1). На сьогодні комплексоутворення α -хедерину з амінокислотами не досліджено.

α -Хедерин (сапіндозид А, калопанакс сапонін А), що є 3-О- α -L-рамнопіранозил-(1 \rightarrow 2)-О- α -L-арабінопіранозидом хедерагеніну, — один із найпоширеніших тритерпенових глікозидів рослин родини аралієвих (*Araliaceae* Juss.). Його знайдено в *Aralia elata* (листя), *Kalopanax pictus* (стебла і листя), *Kalopanax septemlobus* (корінь і листя), *Polyscias dichroostachya* (листя) і *Acanthopanax sieboldianus* (ли-

стя), рослинах роду плющ *Hedera* L. [7-11]. α -Хедерин входить до складу геделіксу® і проспану® — широко відомих лікарських препаратів, призначених для лікування кашлю, що створені на основі листя *Hedera helix* [12-14].

Матеріали і методи. α -Хедерин виділяли із плющів кримського *Hedera taurica* Carr. і канарського *Hedera canariensis* Willd. (родина *Araliaceae*) за методикою, описаною в роботі [10]. ТПХХ проводили на аналітичних пластинках «Sorbfil» (Російська Федерація) марки «ПТСХ-П-А-УФ-254» з розмірами часток си-

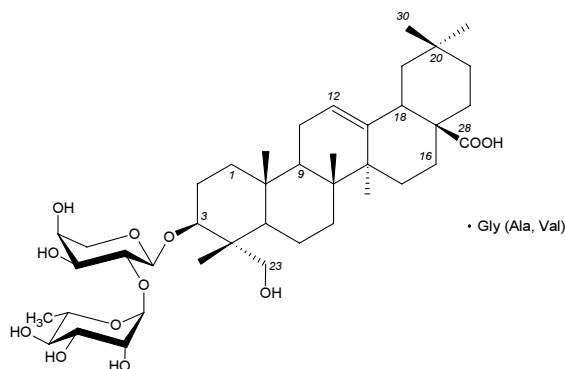


Рис. 1. Комплекси α -хедерину з гліцином, L-аланіном і L-валіном.

* Corresponding author.

Tel: +380692-235106

E-mail address: chemseventu@rambler.ru

лікагелю 5-7 мкм (тип сорбенту СТХ-1А). Використовували системи розчинників CHCl_3 - CH_3OH -25 % водний NH_3 (100:20:3 і 100:30:5). Проявник — 0,2 % розчин пара-оксидбензалдегіду в 1 М розчині H_2SO_4 [15]. Хроматограми нагрівали до 100 °С. R_f глікозиду — 0,12 і 0,49 (відповідно в зазначених вище системах розчинників).

Комплекси одержували шляхом змішування розчинів, що містять по 1 ммоль α -хедерину й амінокислоти (розчинник — суміш 70 % водяного розчину $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ і CHCl_3 у співвідношенні 3:1, за об'ємом). Отриману суміш витримували при 50 °С протягом 1,5 год за постійного перемішування. Органічні розчинники видаляли у вакуумі.

ІЧ-спектри знімали на приладі «Specord IR 75» у таблетках із KBr.

ІЧ-спектр α -хедерину (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).

ІЧ-спектр гліцину (KBr, ν , cm^{-1}): 3140 (NH_3^+), 3040 (NH_3^+), 2900 (CH), 2675 (NH_3^+), 2580 (NH_3^+), 2235 (NH_3^+), 2110 (NH_3^+), 1565 (CO), 1500 (амінокислотна смуга II — NH_3^+), 1390 (CO), 1315 (CH), 1095 (CCN, NH_3^+), 900 (CH), 880 (CCN), 680 (CO), 600 (CO), 490 (NH_3^+).

ІЧ-спектр комплексу α -хедерин—гліцин (KBr, ν , cm^{-1}): 3400 (OH), 3045 (NH_3^+), 2905 (CH), 2710 (NH_3^+), 2500 (NH_3^+), 2065 (NH_3^+), 1685 (амінокислотна смуга I — NH_3^+), 1615 (CO), 1515 (амінокислотна смуга II — NH_3^+), 1445 ($\text{CO}_{\text{глікозиду}}$), 1370 (COgly), 1250 (CH_3), 1120 (CCN, C-O-C, C-OH), 1040 (C-O-C, C-OH), 900 (CH), 885 (CCN), 660 (CO), 610 (CO), 490 (NH_3^+).

ІЧ-спектр *L*-аланіну (KBr, ν , cm^{-1}): 3055 (NH_3^+), 2900 (CH), 2715 (NH_3^+), 2575 (NH_3^+), 2250 (NH_3^+), 2100 (NH_3^+), 1635 (амінокислотна смуга I — NH_3^+), 1595 (CO), 1525 (амінокислотна смуга II — NH_3^+), 1475 (CH_3), 1420 (CO), 1370 (CH_3),

1230 (NH_3^+), 1175 (CCN), 1095 (NH_3^+), 1000 (CH_3), 925 (CCN, CCH_3), 850 (CCN), 735 (CO), 630 (CO), ~500 (NH_3^+).

ІЧ-спектр комплексу α -хедерин—*L*-аланін (KBr, ν , cm^{-1}): 3400 (OH), 3050 (NH_3^+), 2905 (CH), ~2600 (NH_3^+), 2050 (NH_3^+), 1625 (амінокислотна смуга I — NH_3^+), 1615 (CO), 1515 (амінокислотна смуга II — NH_3^+), 1450 ($\text{CO}_{\text{глікозиду}}$), 1440 (CH_2 , CH_3), 1415 (COAla), 1400-1250 (CH_3), 1040 (C-O-C, C-OH), 850 (CCN), 740 (CO), 640 (CO), ~500 (NH_3^+).

ІЧ-спектр *L*-валіну (KBr, ν , cm^{-1}): 3200 (NH_3^+), 3140 (NH_3^+), 3020 (NH_3^+), 2940 (CH), 2600 (NH_3^+), 2100 (NH_3^+), 1610 (амінокислотна смуга I — NH_3^+), 1585 (CO), 1505 (амінокислотна смуга II — NH_3^+), 1430 (CH_3), 1395 (CO), 1350 ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 1325 ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 1260 (CH_3), 1135 (CCN, NH_3^+), 1025 (CH_3), 780 ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$, CO), 650 (CO), 530-500 (CO, NH_3^+).

ІЧ-спектр комплексу α -хедерин—*L*-валін (KBr, ν , cm^{-1}): 3400 (OH), 3215 (NH_3^+), 3015 (NH_3^+), 2925 (CH), 2510 (NH_3^+), 2080 (NH_3^+), 1630 (амінокислотна смуга I — NH_3^+), 1615 (CO), 1500 (амінокислотна смуга II — NH_3^+), 1455 ($\text{CO}_{\text{глікозиду}}$), 1435 (CH_3), 1390 (COVal), 1360 ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 1325 ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 1130 (CCN, NH_3^+), 1045 (C-O-C, C-OH), 780 ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$, CO), 650 (CO), 530-500 (CO, NH_3^+).

Біологічна активність. Вплив на проростання перевіряли на насінні вівса посівного *Avena sativa* L. (родина *Poaceae* (*Gramineae*)). Використовували 10^{-4} і 10^{-2} молярні водяні розчини α -хедерину, амінокислот та їх комплексів. До насіння в кількості 50 шт. додавали 5 мл досліджуваного розчину і витримували їх у ньому 20 год за температури 20 °С. Розчини зливали, насіння промивали дистильованою водою і поміщали в чашки Петрі на вату, змочену дистильованою водою. Проростання насіння визначали через 24 год (табл. 1).

Результати й обговорення. В ІЧ-спектрі

Таблиця 1

Проростання насіння *Avena sativa* L., %*

с, моль/л	Сполука						
	α -хедерин	гліцин	<i>L</i> -валін	<i>L</i> -аланін	α -хедерин- гліцин	α -хедерин- <i>L</i> -валін	α -хедерин- <i>L</i> -аланін
10^{-4}	50	63	67	54	73	57	76
10^{-2}	34	73	63	64	67	57	44

* Під час вимочування насіння в дистильованій воді їх проростання склало 67 %.

глікозиду ідентифіковано смуги поглинання, що ставляться до асиметричних (1610 см^{-1}) і симетричних (1410 см^{-1}) валентних коливань групи СО аглікону хедерагеніну. Їх положення вказує на іонізований стан карбоксильної групи [7, 16]. В області 3400 см^{-1} виявлено широку інтенсивну смугу валентних коливань асоційованих ОН-груп. Валентні коливання зв'язків за участі атомів кисню (С-О-С, С-ОН) перебувають при 1040 см^{-1} . Зв'язки СН поглинають при 2900 см^{-1} (валентні коливання). Спектри амінокислот містять сигнали, що характерні для цвітер-іонної форми амінокислот $\text{RCH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$ [16].

Комплексоутворення α -хедерину з гліцином, *L*-валіном і *L*-аланіном підтверджено даними ІЧ-спектроскопії. В утворенні комплексів амінокислот і α -хедерину беруть участь цвітер-іон амінокислоти і група COO^- аглікону. Це підтверджується високочастотним зсувом амінокислотної смуги II гліцину в ІЧ-спектрі комплексу на 15 см^{-1} і груп COO^- (асиметричні валентні коливання) амінокислоти і глікозиду відповідно на 50 і 10 см^{-1} . Також змінюються смуги симетричних валентних коливань зв'язків С=О. Для глікозиду в комплексі смугу поглинання групи СО знайдено при 1445 см^{-1} ($\Delta\nu=+35\text{ см}^{-1}$), для гліцину — при 1370 см^{-1} ($\Delta\nu=-20\text{ см}^{-1}$). Інтенсивної смуги поглинання групи NH_3^+ гліцину при 3140 см^{-1} у комплексі не виявлено, але проявляється поглинання при 2710 і 2500 см^{-1} . Комбінаційна смуга NH_3^+ гліцину (2110 см^{-1}) у спектрі комплексу змістилася до 2065 см^{-1} .

У спектрі комплексу аланін—глікозид спостерігається зміна частот поглинання валентних коливань груп С=О. Для глікозиду зсув становить $+10$ і $+40\text{ см}^{-1}$ (відповідно асиметричні і симетричні коливання), для амінокислоти — $+20$ і -5 см^{-1} (відповідно асиметричні і симетричні коливання). Симетричні деформаційні коливання групи NH_3^+ (амінокислотна смуга II) спостерігаються при 1515 ($\Delta\nu=-10\text{ см}^{-1}$), тоді як асиметричні деформаційні і крутильні коливання (комбінаційна смуга) — при 2050 см^{-1} ($\Delta\nu=-50\text{ см}^{-1}$).

Спектральні зміни виявлено і для комплексу α -хедерин—валін. Поглинання груп СО (асиметричні валентні коливання) глікозиду й

амінокислоти в комплексі проявляються при 1615 см^{-1} . Таким чином, зміни склали відповідно $+10$ і $+30\text{ см}^{-1}$. Смуги поглинання, що відповідають симетричним валентним коливанням групи С=О, у α -хедерину в комплексі збільшилися на 45 , а у валіну зменшилися на 5 см^{-1} . Також виявлено зсув ряду смуг поглинання, що відповідають валентним коливанням NH_3^+ . Відзначено незначну зміну положення амінокислотної смуги II ($\Delta\nu=-5\text{ см}^{-1}$) й істотну — для амінокислотної смуги I ($\Delta\nu=+20\text{ см}^{-1}$).

Під час аналізу ІЧ-спектрів механічних сумішей амінокислот і глікозиду комплексоутворення не встановлено.

Біологічна активність комплексів. Три-терпенові глікозиди проявляють різноманітну біологічну активність [7]. Зокрема, вони є факторами алелопатичної взаємодії у фітоценозах [17-19], що пов'язано з їх токсичною дією, яка призводить до пригнічення росту і розвитку рослин. З метою розгляду впливу комплексоутворення на загальну токсичність α -хедерину нами розглянуто вплив отриманих комплексів на проростання насіння вівса посівного *Avena sativa L.* (табл. 1).

Результати аналізу активності α -хедерину та його комплексів засвідчили зниження токсичності комплексів у порівнянні з глікозидом. Можливо, це пов'язано з частковим залученням карбоксильної групи α -хедерину в іонну взаємодію з амінокислотами, оскільки висока активність індивідуального глікозиду зумовлена наявністю вільної групи COOH у його агліконної частини. За підвищення концентрації речовин зберігається тенденція зниження загальної токсичності комплексу в порівнянні з α -хедерином. Найбільш сильно інгібує проростання насіння комплекс із валіну (10^{-4} і 10^{-2} молярні розчини) й аланіну (10^{-2} молярний розчин).

Висновки. Уперше описано молекулярні комплекси тритерпенового глікозиду α -хедерину з гліцином, аланіном і валіном. На основі даних ІЧ-спектроскопії встановлено участь у комплексоутворенні цвітер-іонів амінокислот і карбоксилату аглікону. Показано, що комплекси інгібують проростання насіння *Avena sativa L.* у меншому ступені, ніж α -хедерин.

Надійшла в редакцію 26.05.2009 р.

Molecular complexes of the triterpene glycoside α -hederine with aliphatic proteinogenous amino acids

L.A. Yakovishin, M.A. Rubinson

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

Summary. For the first time molecular complexes of the triterpene glycoside α -hederine (3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-O- α -L-arabinopyranoside of hederagenin) with aliphatic proteinogenous amino acids (glycine, L-alanine and L-valine) are received. The complex's formation is confirmed by IR-spectroscopy. Comparative study of influence of α -hederine and its complexes on seeds germination *Avena sativa* L. has been made.

Keywords: triterpene glycosides, α -hederine, glycine, L-alanine, L-valine, molecular complex, IR-spectroscopy, *Avena sativa* L., seeds germination.

Перелік літератури

1. Пилипенко В.В., Аксьонов С.О., Калінкевич О.М., Суходуб Л.Ф. Взаємодія стероїдних глікозидів з амінокислотами: дослідження методом плазменно-десорбційної мас-спектрометрії // Біополімери і клітка. — 2000. — Т. 16, № 3. — С. 212-219.
2. Pilipenko V.V., Sukhodub L.F. Mass spectrometry study of plant steroid glycosides and their interactions with biomolecules // Біополімери і клітка. — 2002. — Т. 18, № 2. — С. 139-141.
3. Pilipenko V.V., Sukhodub L.F., Bobeyko S.A., Shvets V.A., Kintia P.K. Complexation of steroid glycosides with amino acids, nucleosides and adenosine-5-monophosphate // Book of abstracts international conf. on saponins «Phytochemistry & application of plant saponins». — Pulawy (Poland), 2004. — P. 39.
4. Кондратенко Р.М., Балтина Л.А., Мустафина С.Р., Исмагилова А.Ф., Зарудий Ф.С., Давыдова В.А., Базекін 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.
5. Хвостов М.В., Толстикова Т.Г., Брызгалов А.О., Лифшиц Г.И., Метелева Е.С., Душкин А.В. Клатрирование фармаконов — эффективный путь создания низкодозных лекарственных препаратов // Материалы III Всерос. научной конф. «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья». — Барнаул (Россия), 2007. — Кн. 2. — С. 73-77.
6. Толстикова Т.Г., Толстиков А.Г., Толстиков Г.А. На пути к низкодозным лекарствам // Вестник РАН. — 2007. — Т. 77, № 10. — С. 867-874.
7. Hostettmann K., Marston A. Saponins. — Cambridge: Cambridge University Press, 1995. — 548 p.
8. Гришковец В.И., Кондратенко А.Е., Толкачева Н.В., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera helix* L. Строение гликозидов L-1, L-2a, L-2b, L-3, L-4a, L-4b, L-6a, L-6b, L-6c, L-7a и L-7b из листьев плюща обыкновенного // Химия природ. соед. — 1994. — № 6. — С. 742-746.
9. Гришковец В.И., Годин С.В., Цветков О.Я., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* XVI. Строение гликозидов St-A, St-B₁, St-B₂, St-C, St-D₁, St-D₂, St-E, St-F₁ и St-F₂ из стеблей плюща крымского // Химия природ. соед. — 1997. — № 3. — С. 411-416.
10. Гришковец В.И., Сидоров Д.Ю., Яковичин Л.А., Арнаутов Н.Н., Шашков А.С., Чирва В.Я. 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* // Химия природ. соед. — 1996. — № 3. — С. 377-383.
11. Яковичин Л.А., Гришковец В.И., Арнаутов Н.Н., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera canariensis* V. Строение гликозидов из стеблей плюща канарского // Химия природ. соед. — 1999. — № 5. — С. 676-678.
12. Зузук Б.М., Куцик Р.В., Зузук Л.И. Плющ вьющийся *Hedera helix* L. // Провизор. — 2003. — № 12. — С. 13-14.
13. Яковичин Л.А., Гришковец В.И. Комплекс тритерпеновых гликозидов лекарственного препарата Hedelix® // Химия природ. соед. — 2003. — № 5. — С. 417-418.
14. Яковичин Л.А., Вожжова М.А., Кузнецова А.Л., Гришковец В.И. Исследование тритерпеновых гликозидов лекарственного препарата проспан® // Журнал орг. и фарм. химии. — 2005. — Т. 3, вып. 1 (9). — С. 57-59.
15. Яковичин Л.А. Детектирующие реагенты для ТСХ тритерпеновых гликозидов // Химия природ. соед. — 2003. — № 5. — С. 419-420.
16. Казыцына Л.А., Куплетская Н.Б. Применение УФ-, ИК-, ЯМР- и масс-спектроскопии в органической химии. — М.: Изд-во МГУ, 1979. — 240 с.
17. Waller G.R., Jurzysta M., Trohne R.L.Z. Root saponins from alfalfa (*Medicago sativa* L.) and their allelopathic activity on weeds and wheat // Allelopathy J. — 1995. — Vol. 2, No. 1. — P. 21-30.
18. Гришковец В.И., Годин С.В., Цветков О.Я., Чирва В.Я. Ингибирование процесса прорастания семян тритерпеновыми гликозидами из различных органов *Hedera taurica* // Труды I Всерос. конф. по ботаническому ресурсоведению. — С.-Петербург (Россия), 1996. — С. 215-216.
19. Анисимов М.М., Чирва В.Я. О биологической роли тритерпеновых гликозидов // Успехи современной биологии. — 1980. — Т. 6, № 3. — С. 351-364.