

Молекулярне комплексоутворення тритерпенового глікозиду α -хедерину з кофеїном у водному розчині

Л.О. Яковішин

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

Резюме. Уперше описано утворення молекулярного комплексу тритерпенового глікозиду α -хедерину (3-О- α -L-рамнопіранозил-(1 \rightarrow 2)-О- α -L-арабінопіранозид хедерагеніну) з кофеїном у водному розчині. Комплексоутворення підтверджено даними УФ-спектроскопії. Встановлено, що комплекс включає дві молекули α -хедерину та молекулу кофеїну. Вивчено молюскоцидну активність α -хедерину, кофеїну та їхнього комплексу на *Planorbis corneus*.

Ключові слова: тритерпенові глікозиди, α -хедерин, кофеїн, молекулярний комплекс, клатрат, УФ-спектроскопія, *Planorbis corneus*, молюскоцидна активність.

Вступ. Для лікування кашлю часто використовують лікарські засоби на основі плюща звичайного *Hedera helix* («Проспан», «Геделікс», «Пектолван плющ» та ін.). Секретолітичний і бронхоспазмолітичний ефекти цих препаратів пояснюються наявністю в їхньому складі тритерпенових глікозидів [1-3]. Серед них основною діючою речовиною вважається α -хедерин (сапіндозид А, калопанакс-сапонін А, 3-О- α -L-рамнопіранозил-(1 \rightarrow 2)-О- α -L-арабінопіранозид хедерагеніну) [4]. Він перешкоджає інактивації β_2 -адренорецепторів у клітинах епітелію легенів і м'язів бронхів. При цьому альвеоцити II типу утворюють сурфактант, що знижує в'язкість слизу та полегшує процес відкашлювання. Активація β_2 -рецепторів знижує вміст внутрішньоклітинного Ca^{2+} у м'язах бронхів. Це приводить до розслаблення м'язів і розширення бронхів [4-7].

В останні роки широко вивчається комплексоутворення тритерпенових глікозидів з різноманітними біологічно активними молекулами [8]. Зокрема, отримано комплекси α -хедерину з холестериним [9-11], силденафілом

(віагрою) [12] та протеїногенними амінокислотами [9-11, 13, 14]. Причому клатрування фармаконів за допомогою сапонінів є перспективним напрямом створення низькодозних лікарських препаратів [8, 15].

Раніше було досліджено гетероасоціацію кофеїну з деякими біологічно активними речовинами, наприклад, з метиленовим блакитним [16], антибіотиком мітоксантроном [17], саліцилатом натрію і рибофлавіном [18], α - [19] і β -циклодекстринами [20]. Недавно встановлено взаємодію кофеїну з тритерпеновим глікозидом хедерасапоніном С у водному розчині [21]. Особливості комплексоутворення α -хедерину з кофеїном у водному розчині не досліджено.

Відомо, що молюски є переносниками низки захворювань. Вони завдають шкоди сільському господарству, оскільки при масовому розмноженні можуть ушкоджувати посіви. Для боротьби з молюсками зазвичай використовують метальдегід, розчин CuSO_4 , трифенморф та інші засоби [22]. Однак сучасні молюскоциди досить токсичні і тому шкідливі для навколишнього середовища. Зараз відбувається пошук природних, «екологічно чистих» речовин для боротьби з молюсками. Такими перспективними сполуками є тритерпенові глікозиди [1, 9] та кофеїн, молюскоцидну активність яко-

* Corresponding author.

Tel./fax: +380692-435106

E-mail address: chemseventu@rambler.ru

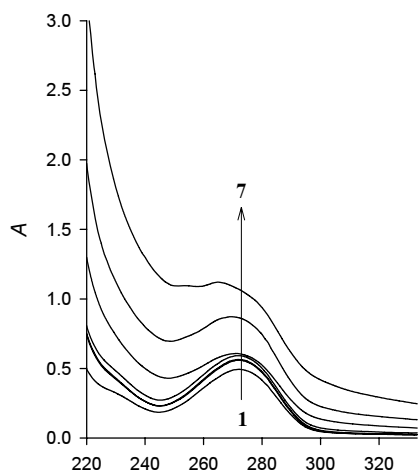


Рис. 1. УФ-спектри розчинів кофеїну ($0,50 \times 10^{-4}$ моль/л = const) за різних концентрацій α -хедерину: 0 моль/л (крива 1), $0,25 \times 10^{-4}$ моль/л (2), $0,50 \times 10^{-4}$ моль/л (3), 10^{-4} моль/л (4), $0,25 \times 10^{-3}$ моль/л (5), $0,50 \times 10^{-3}$ моль/л (6) і 10^{-3} моль/л (7).

го було недавно виявлено [23, 24]. Тому певний інтерес становить дослідження їхньої активності при спільному використанні.

Матеріали і методи. α -Хедерин виділяли з плющів кримського *Hedera taurica* і канарського *Hedera canariensis* (родина *Araliaceae*) за методикою, описаною в роботі [25]. ТШХ проводили, як вказано в [14].

Комплекс отримували шляхом змішування водних розчинів глікозиду й кофеїну. Одержані суміші витримували за кімнатної температури (20–22 °С) протягом 40 хв при постійному перемішуванні.

УФ-спектри (рис. 1) отримані за кімнатної температури (20–22 °С) на спектрофотометрі Unico UV-Vis 4802 (США) у кварцових кюветах ($l=1$ см). Для складання ізомолярної серії використовували 10^{-4} моль/л розчини глікозиду та кофеїну. Ізомолярну криву наведено на рис. 2, величини гіпсохромного зсуву — в табл. 1.

Молюскоцидну активність речовин визначали на *Planorbis corneus* (родина *Planorbidae*). Використовували розчини глікозиду, кофеїну, їхнього комплексу та CuSO_4 в дистильованій воді. Для вивчення дії кожної окремої концентрації речовин було взято по 20 равликів, яких поміщали в розчини і визначали час $t_{LD_{100}}$, протягом якого відбувався 100 % летальний результат. Летальні концентрації LD_{100} і $t_{LD_{100}}$ наведено в табл. 2. Активність сполук досліджували при кімнатній температурі (20–22 °С).

Таблиця 1
Гіпсохромний зсув при комплексоутворенні α -хедерину з кофеїном

Розчин	$c(\text{кофеїну})$, моль/л	$c(\alpha\text{-хедерину})$, моль/л	λ_{max} , нм
1	0,50·10 ⁻⁴	0	272
2		$0,25 \cdot 10^{-4}$	272
3		$0,50 \cdot 10^{-4}$	272
4		10^{-4}	272
5		$0,25 \cdot 10^{-3}$	271
6		$0,50 \cdot 10^{-3}$	269
7		10^{-3}	265

Довірчий інтервал обчислювали зі ступенем надійності $\alpha=0,95$.

Результати й обговорення. Наявність міжмолекулярних взаємодій підтверджено даними УФ-спектроскопії. Так, при концентрації α -хедерину, що збільшується, і постійної концентрації кофеїну ($0,50 \times 10^{-4}$ моль/л) спостерігається підвищення оптичної густини розчинів (гіперхромний ефект) (рис. 1). Також спостерігається гіпсохромний зсув, у результаті якого λ_{max} розчинів зменшується із 272 ($0,50 \times 10^{-4}$ моль/л розчин кофеїну) до 265 нм (розчин, який містить $0,50 \times 10^{-4}$ моль/л кофеїну та 10^{-3} моль/л α -хедерину) (рис. 1, табл. 1).

Склад комплексу визначено методом ізомолярних серій [26]. На рис. 2 видно, що максимум кривої лежить в області молярного відношення $\approx 2,3$. Це відповідає складу комплексу α -хедерин-кофеїн як 2:1. Аналогічне співвідношення отримано для деяких клатратних комплексів гліцирризинової кислоти, яка також, як і α -хедерин, є біозидом [8]. Раніше в процесі дослідження самоасоціації α -хедерину було встановлено, що для нього є характерним утворення димеру і димерного комплексу

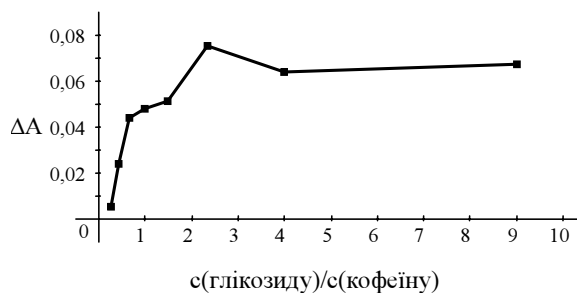


Рис. 2. Залежність зміни оптичної густини ΔA від співвідношення компонентів ізомолярної серії при $\lambda=272$ нм: $c(\alpha\text{-хедерину})=10^{-4}$ моль/л, $c(\text{кофеїну})=10^{-4}$ моль/л.

Таблиця 2
Дія α -хедерину, кофеїну, їхнього комплексу і CuSO_4 на *Planorbis corneus*

Сполука	LD_{100} , моль/л	Час експозиції $t_{LD_{100}}$ до летального результату, хв
Кофеїн	10^{-1}	$40 \pm 3,0$
	10^{-2}	$90 \pm 1,5$
	$\leq 10^{-4}$	Не активні протягом доби
α -Хедерин	10^{-2}	$3,3 \pm 0,2$ [9]
	10^{-4}	$56,0 \pm 1,0$ [9]
	$0,50 \cdot 10^{-4}$	$82 \pm 1,7$
Комплекс α -хедерину і кофеїну	по $0,50 \cdot 10^{-4}$	$180 \pm 2,1$
CuSO_4	10^{-2}	$2,3 \pm 0,2$
	10^{-4}	$7,7 \pm 2,4$

з катіоном Na^+ , а великі агрегати кофеїну (тример і гексамер) не можуть ефективно зайняти порожнину, яка утворена двома молекулами цього глікозиду [27].

Таким чином, можна припустити, що гетероасоціація кофеїну й α -хедерину відбувається за типом клатрату за рахунок гідрофобних взаємодій між агліконом глікозиду, ароматичною системою і метильними групами кофеїну (рис. 3). Також можливе утворення додаткових міжмолекулярних водневих зв'язків за участі карбонільних груп піримідинового й атома нітрогену імідазольного кілець кофеїну та ОН-груп моносахаридних залишків α -хедерину. Недавно показано, що клатрування кофеїну β -циклодекстрином проявляється у вигляді гіперхромного ефекту [20]. У нашому випадку спостерігається аналогічна спектральна зміна.

Біологічна активність комплексу. Нами

розглянуто токсичну дію α -хедерину, кофеїну та їхнього комплексу на катушку рогову *Planorbis corneus* (родина *Planorbidae*), що належить до прісноводних сидячооких моллюсків. Вона часто зустрічається в прісних водоймах. Її широко використовують як акваріумний вид [28].

Показано, що 100 % летальний результат відбувається в 10^{-1} моль/л розчині кофеїну через $40 \pm 3,0$ хв. Розчин із концентрацією кофеїну 10^{-2} моль/л викликає загибель моллюсків через $90 \pm 1,5$ хв, а розчини з низькою концентрацією ($\leq 10^{-4}$ моль/л) не активні протягом доби (табл. 2). При цьому для стандартного моллюскоциду CuSO_4 (концентрація 10^{-2} моль/л) $t_{LD_{100}}$ складає $2,3 \pm 0,2$ хв, тобто він є більш токсичним.

Загибель моллюсків в $0,50 \cdot 10^{-4}$ моль/л розчині α -хедерину відбувається за $82 \pm 1,7$ хв, а в розчині його комплексу з кофеїном, що містить по $0,50 \cdot 10^{-4}$ моль/л кожного компонента, — за $180 \pm 2,1$ хв. Можливо, зниження активності глікозиду пов'язане з комплексоутворенням, при якому його карбоксильна група залучена в асоціацію, оскільки глікозиди з вільною групою COOH у С-17 аглікону зазвичай є сильними моллюскоцидами [1, 9]. Таким чином, комплекс α -хедерину з кофеїном виявився менш токсичним у порівнянні з індивідуальним глікозидом і більш токсичним у порівнянні з кофеїном. α -Хедерин більш токсичний, ніж кофеїн.

Висновки. Уперше отримано молекулярний комплекс тритерпенового глікозиду α -хедерину з кофеїном у водному розчині. Комплексо-

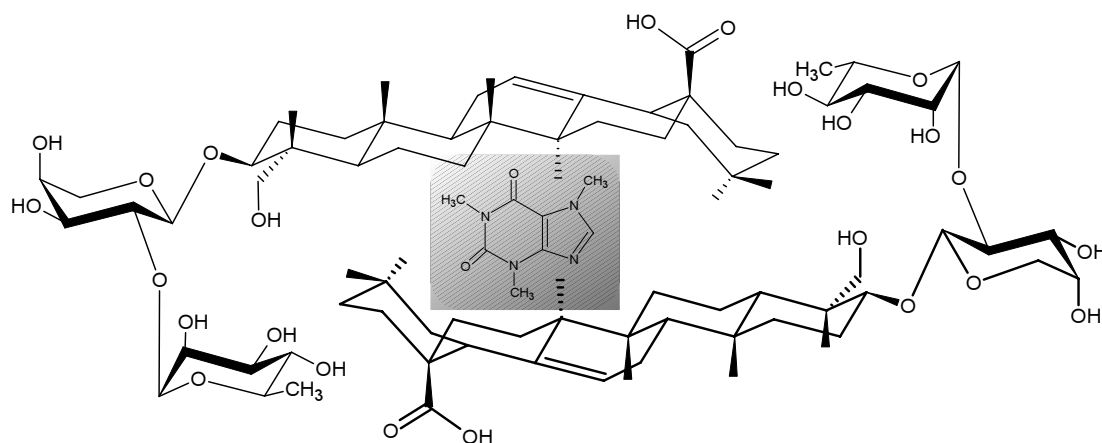


Рис. 3. Можлива структура клатрату α -хедерину і кофеїну.

утворення встановлено методом УФ-спектроскопії. Показано, що комплекс включає дві молекули α -хедерину і молекулу кофеїну. Зроблено припущення, що взаємодія між компонентами комплексу відбувається за типом

клатрування. Комплекс виявився менш токсичним, ніж глікозид, і більш токсичним, ніж кофеїн.

Надійшла в редакцію 11.02.2010 р.

Molecular complex's formation of the triterpene glycoside α -hederin with caffeine in aqueous solution

L.A. Yakovishin

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

Summary. For the first time molecular complex of the triterpene glycoside α -hederin (3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-O- α -L-arabinopyranoside of hederagenin) with caffeine in aqueous solution is received. The complex's formation is confirmed by UV-spectroscopy. Established that the complex includes two molecules of α -hederin and a molecule of caffeine. The molluscicidal activity of α -hederin, caffeine and their complex was investigated on *Planorbis corneus*.

Keywords: triterpene glycosides, α -hederin, caffeine, molecular complex, clathrate, UV-spectroscopy, *Planorbis corneus*, molluscicidal activity.

Перелік літератури

1. Hostettmann K., Marston A. Saponins. — Cambridge: Cambridge University Press, 1995. — 548 p.
2. Зузук Б.М., Куцук Р.В., Зузук Л.И. Плющ вьющийся *Hedera helix* L. // Провизор. — 2003. — № 12. — С. 13-14.
3. Büechli S., Bolli R. Efeu — Expectorans, mukolytikum und broncholytikum. Botanische und klinische Aspekte // Phytotherapie. — 2003. — No. 3. — S. 19-22.
4. Boltshauser V. Wirkmechanismus von efeu entschlüsselt. Efeusaponine entfalten eine β -adrenerge Wirkung in den Atemwegen // Phytotherapie. — 2006. — No. 4. — S. 20-22.
5. Schlenger R. Wirkungsmechanismus von efeuextrakt entschlüsselt // Deutsche Apotheker Zeitung. — 2003. — Bd. 143, № 49. — S. 54-55.
6. Зайцева О.В., Степанова И.Г., Клендар Г.А., Мисуренко О.Н. Результаты изучения эффективности проспана® в лечении острых респираторных заболеваний у детей // Педиатрия. — 2006. — Т. 85, № 5. — С. 77-81.
7. Овсянникова Е.М., Коровина Н.А., Захарова И.Н., Юркин И.Я. Эффективность и переносимость препарата проспан® при лечении воспалительных заболеваний респираторного тракта у детей (по результатам многоцентрового исследования) // Педиатрия. — 2007. — Т. 86, № 5. — С. 88-93.
8. Толстиков Г.А., Балтина Л.А., Гранкина В.П., Кондратенко Р.М., Толстикова Т.Г. Солодка: Биоразнообразии, химия, применение в медицине. — Новосибирск: Академическое изд-во «Гео», 2007. — 311 с.
9. Яковішин Л.О., Єртахова В.А., Базюра К.А. Вплив тритерпенових глікозидів та їх комплексів на моллюсків // Ukr. Bioorgan. Acta. — 2006. — Т. 4, № 2. — С. 22-26.
10. Яковішин Л.А., Базюра Е.А., Єртахова В.А., Корж Е.Н., Рубинсон М.А. Влияние тритерпеновых гликозидов и их комплексов с холестерином и аминокислотами на рыб *Brachydanio rerio* // Природничий альманах. Сер. «Биологичні науки». — 2006. — Вип. 8. — С. 329-335.
11. Яковішин Л.О., Рубінсон М.А., Корж О.М. Дія тритерпенових глікозидів та їх молекулярних комплексів на риб *Brachydanio albolineatus*, *Poecilia reticulata* і могиля *Chironomus plumosus* // Вісник Запорізького національного університету: Збірник наукових статей. Біологічні науки. — 2007. — № 1. — С. 223-228.

12. Яковішин Л.А., Рубинсон М.А., Кузнецова А.Л., Гришковице В.И., Корж Е.Н. Молекулярний комплекс тритерпенового глікозиду α -хедерина з силденафілом (віагрой) // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Сер. «Биология, химия». — 2006. — Т. 19 (58), № 1. — С. 179-182.
13. Яковішин Л.А., Гришковице В.И., Рубинсон М.А., Корж Е.Н. Комплексообразование тритерпенового гликозида α -хедерина с гидрофильными протеиногенными аминокислотами // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Сер. «Биология, химия». — 2009. — Т. 22 (61), № 1. — С. 208-213.
14. Яковішин Л.О., Рубінсон М.А. Молекулярні комплекси тритерпенового глікозиду α -хедерину з аліфатичними протеїногенними амінокислотами // Ukr. Bioorgan. Acta. — 2009. — Т. 7, № 1. — С. 32-35.
15. Толстикова Т.Г., Толстиков А.Г., Толстиков Г.А. На пути к низкодозным лекарствам // Вестник РАН. — 2007. — Т. 77, № 10. — С. 867-874.
16. Барановский С.Ф., Болотин П.А., Евстигнеев М.П. Агрегация 1,3,7-триметилксантина с метиленовым голубым в водном растворе // Журн. прикл. спект. — 2006. — Т. 73, № 2. — С. 158-163.
17. Евстигнеев М.П., Веселков Д.А., Дымант Л.Н., Дэвис Д.Б., Веселков А.Н. ¹H ЯМР анализ гетероассоциации кофеина с антибиотиком митоксантроном в водном растворе // Журн. структ. химии. — 2001. — Т. 42, № 5. — С. 928-935.
18. Барановский С.Ф., Болотин П.А. Ассоциация рибофлавина, кофеина и натриевого эфира салициловой кислоты в водном растворе // Журн. прикл. спект. — 2007. — Т. 74, № 2. — С. 188-194.
19. Терехова И.В., Лапшев П.В., Куликов О.В. Термодинамика комплексообразования α -циклодекстрина с основаниями нуклеиновых кислот и их производными // Коорд. химия. — 2003. — Т. 29, № 1. — С. 78-80.
20. Mejri M., BenSouissi A., Aroulmoji V., Rogé B.

Hydration and self-association of caffeine molecules in aqueous solution: comparative effects of sucrose and β -cyclodextrin // *Spectrochim. Acta Part A*. — 2009. — Vol. 73, No. 1. — P. 6-10.

21. Яковішин Л.А., Рубинсон М.А., Муждабаева А.Р., Куртаметов И.С., Смирнова В.И., Корж Е.Н. Молекулярное комплексобразование кофеина с тритерпеновым гликозидом хедеракозидом С // *Матеріали I Міжнародн. наук. конф. студентів, аспірантів та молодих учених «Фундаментальні та прикладні дослідження в біології»*. — Донецьк (Україна). — 2009. — Т. 2. — С. 179-180.

22. Химия. Большой энциклопедический словарь / Гл. ред. И.Л. Кнунянц. — 2-е изд. — М.: Большая Рос. энциклоп., 1998. — 792 с.

23. Hollingsworth R.G., Armstrong J.W., Campbell E. Caffeine as a repellent for slugs and snails // *Nature*. — 2002. — Vol. 417. — P. 915-916.

24. Simms L., Wilson M. Caffeine — bad for slugs,

good for the environment // *Pesticide Outlook*. — 2002. — Vol. 13, No. 6. — P. 270-271.

25. Гришковой В.И., Сидоров Д.Ю., Яковішин Л.А., Арнауттов 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. соедин.* — 1996. — № 3. — С. 377-383.

26. Булатов М.И., Калинин И.П. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа, 5-е изд., перераб. — Л.: Химия, 1986. — 432 с.

27. Яковішин Л.А., Борисенко Н.И., Руднев М.И., Ветрова Е.В., Гришковой В.И. Самоассоциация и комплексобразование тритерпеновых гликозидов, холестерина и кофеина // *Збірка матеріалів Міжнародн. конф. «Сучасні проблеми біології, екології та хімії»*. — Запоріжжя (Україна). — 2009. — С. 189-191.

28. Агекян И.Н., Белов Н.В., Копылов И.Л. Аквариум: энциклопедия. — М.: АСТ, Мн.: Харвест, 2002. — 352 с.