

Супрамолекулярний комплекс тритерпенового глікозиду хедерасAPONiну С і цитрату силденафілу

Л.О. Яковiшин*, I.P. Яровий, Д.Ю. Бiлаш

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

Резюме. Уперше описано утворення супрамолекулярного комплексу тритерпенового глікозиду хедерасAPONiну С (3-*O*- α -L-рамнопіранозил-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -L-арабінопіранозил-28-*O*- α -L-рамнопіранозил-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -D-глюкопіранозил-(1 \rightarrow 6)-*O*- β -D-глюкопіранозид хедерагеніну) із цитратом силденафілу. Комплексоутворення підтверджено даними IЧ- та УФ-спектроскопії. Встановлено, що глікозид утворює комплекс із цитратом силденафілу складу 1:1. Вивчено іхтіотоксичну активність отриманого супрамолекулярного комплексу проти *Poecilia reticulata*.

Ключові слова: хедерасAPONiн С, цитрат силденафілу, супрамолекулярний комплекс, УФ-спектроскопія, IЧ-спектроскопія, *Poecilia reticulata*, іхтіотоксичність.

Вступ. Глікозидне клатрування лікарських сполук є одним із перспективних методів створення нових низькодозних фармацевтичних препаратів. Супрамолекулярні комплекси рослинних глікозидів також можуть використовуватися для поліпшення розчинності, підвищення біодоступності й розширення спектра біологічної активності лікарських речовин [1].

Як перспективні комплексоутворювачі біологічно активних молекул нами запропоновано тритерпенові глікозиди плющів [2], зокрема хедерасAPONiн С (3-*O*- α -L-рамнопіранозил-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -L-арабінопіранозил-28-*O*- α -L-рамнопіранозил-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -D-глюкопіранозил-(1 \rightarrow 6)-*O*- β -D-глюкопіранозид хедерагеніну (рис. 1). ХедерасAPONiн С знайдено у *Hedera helix* L. [3, 4], *Hedera canariensis* Willd. [5], *Hedera taurica* Carr. [6], *Hedera nepalensis* C. Koch. [7], *Hedera rhombea* Bean. [8], *Hedera caucasigena* Pojark. [9, 10], *Hedera scotica* A. Che-

val. [11], *Hedera colchica* C. Koch. [12, 13] і *Hedera pastuchovii* G. Woron. [14, 15].

Препарати на основі цитрату силденафілу (віагра, дженагра, еректил, інтагра ІС та ін.) широко використовують для лікування еректильної дисфункції (рис. 1) [16]. Раніше нами було отримано молекулярні комплекси тритерпенового глікозиду α -хедерину, також виділеного з плющів, з основою [17] і цитратом силденафілу [18]. Синтезовано комплекс моноамонійної солі гліцирризинової кислоти (гліцираму) із цитратом силденафілу [19]. Дослід-

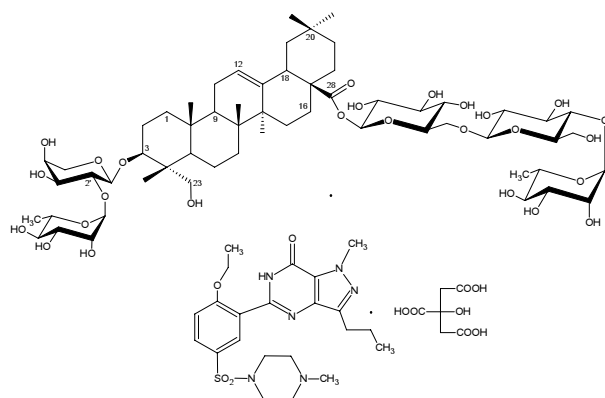


Рис. 1. Супрамолекулярний комплекс хедерасAPONiну С і цитрату силденафілу.

* Corresponding author.

Tel./fax: +380692-435106

E-mail address: chemseventu@rambler.ru

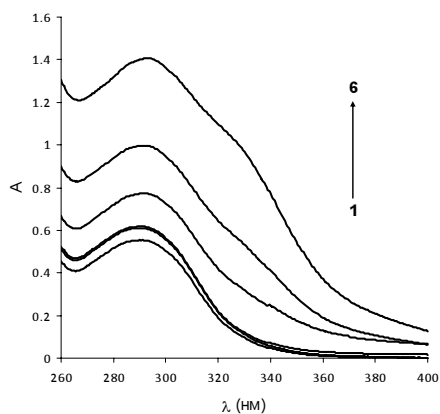


Рис. 2. УФ-спектри розчинів цитрату силденафілу (10^{-4} M=const) за різних концентрацій хедерасAPONІНУ С: 0 М (крива 1), $0,25 \cdot 10^{-4}$ М (2), $0,50 \cdot 10^{-4}$ М (3), $0,25 \cdot 10^{-3}$ М (4), $0,50 \cdot 10^{-3}$ М (5) і 10^{-3} М (6).

жено вплив цитрату силденафілу та його комплексів із тритерпеновими глікозидами на електричну активність нейронів молюска *Helix albescens* [20]. Про особливості міжмолекулярної взаємодії хедерасAPONІНУ С і цитрату силденафілу в літературі не повідомлялося.

Матеріали і методи. ХедерасAPONІН С виділяли з листя *Hedera taurica* Carr. і *Hedera cypripedium* Willd. Методики виділення і встановлення структури наведено в роботах [5, 6]. Використовували цитрат силденафілу фірми Shilpa Medicare Limited (Індія) (партія NPV0080309).

Ізомоларну серію складали з 10^{-4} М водних розчинів хедерасAPONІНУ С і цитрату силденафілу, які змішували і витримували за кімнатної температури (20–22 °С) протягом 40 хв при постійному перемішуванні.

УФ-спектри отримано за кімнатної температури (20–22 °С) на спектрофотометрі Unicо UV-Vis 4802 (США) у кварцових кюветах ($l=1$ см). ІЧ-спектри знято на ІЧ-Фур'є-спектрометрі ІнфраЛЮМ® ФТ-02 (Росія) в суспензії вазелінової олії за розрешенням 1 см^{-1} у діапазоні 400–4000 см^{-1} .

Комплекс препаративно отримали змішуванням по 0,1 ммоль глікозиду і цитрату силденафілу у 25 мл суміші 70% водного розчину $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ і CHCl_3 (співвідношення 3:1 за об'ємом) за температури 40–50 °С протягом 1,5 год при постійному перемішуванні. Розчинник видаляли у вакуумі, сухий залишок сушили до постійної ваги і потім знімали ІЧ-спектри.

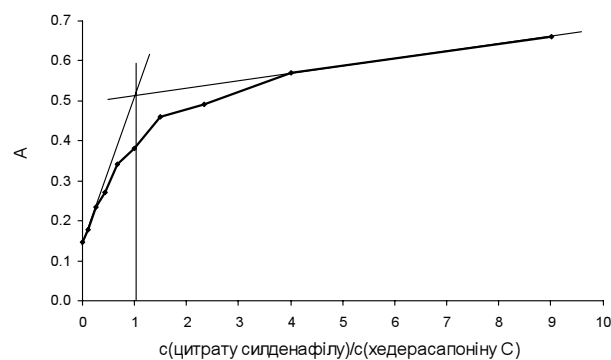


Рис. 3. Залежність оптичної густини А від співвідношення компонентів ізомоларної серії при $\lambda=291$ нм: $c(\text{цитрату силденафілу})=10^{-4}$ М, $c(\text{хедерасAPONІНУ С})=10^{-4}$ М.

ІЧ-спектр хедерасAPONІНУ С (вазелінова олія, ν , см^{-1}): ~ 3330 (ОН), 1729 (СО), 1647 (C=C), 1340 (СН), 1303 (СН), 1262 (СН), 1232 (СН), 1205 (СН), 1140 (C-O-C, C-OH), 1059 (C-O-C, C-OH), 1030 (C-O-C, C-OH), 981 (=СН).

ІЧ-спектр цитрату силденафілу (вазелінова олія, ν , см^{-1}): 3607 (ОН), 3450 (NH), 3295 (NH), 1700 (СО, CONH), 1602 (Ar), 1579 (COO⁻), 1540 (Ar), 1356 (SO), 1340 (CN), 1301 (СН), 1279 (CN, NH), 1250 (C-O-C), 1215 (СН), 1172 (SO), 1156 (SO), 1078 (C-O-C, C-OH, CN), 1026 (C-O-C, C-OH), 939 (SN), 817 (Ar), 805 (Ar), 785 (O=C-N).

ІЧ-спектр комплексу хедерасAPONІНУ С і цитрату силденафілу (вазелінова олія, ν , см^{-1}): ~ 3400 (ОН, NH), 1729 (СО), 1702 і 1696 (СО, CONH), 1647 (C=C), 1600 (Ar), 1579 (COO⁻), 1538 (Ar), 1340 (СН, CN), 1303 (СН), 1278 (CN, NH), 1249 (C-O-C), 1235 (СН), 1207 (СН), 1169 (SO), 1156 (SO), 1140 (C-O-C, C-OH), 1075 (C-O-C, C-OH, CN), 1028 (C-O-C, C-OH), 980 (=СН), 939 (SN).

Іхтіотоксичність визначали на *Poecilia reticulata* (Poeciliidae). Використовували 10^{-4} М водні розчини речовин. Для вивчення дії кожної речовини було взято по 10 риб (тригизневі самці), яких поміщали в розчини і визначали час $t_{LD_{100}}$, протягом якого відбувався 100% летальний результат (табл. 1). Довірчий інтервал обчислювали зі ступенем надійності $\alpha=0,95$.

Результати й обговорення. При концентрації хедерасAPONІНУ С, що збільшується, і постійної концентрації цитрату силденафілу (10^{-4} М) спостерігається гіперхромний ефект, проте λ_{max} практично не змінюється (рис. 2).

Нещодавно ми також повідомляли про спостереження гіперхромного ефекту при утворенні молекулярного комплексу хедерасAPONiну С і кофеїну [21].

Склад комплексу визначено методом ізомоларних серій [22]. При цьому для суміші водних розчинів хедерасAPONiну С і цитрату силденафілу отримано молярне відношення $\approx 1,0$ (рис. 3). Це відповідає складу комплексу, рівному 1:1. Комплекси аналогічного складу раніше було отримано для хедерасAPONiну С з ароматичними протейногенними амінокислотами [2].

В ІЧ-спектрах усіх зразків при 2900, 1460 і 1380 cm^{-1} присутні інтенсивні смуги коливань зв'язків СН вазелінової олії. У спектрі хедерасAPONiну С в області 3330-3360 cm^{-1} виявлено широку інтенсивну смугу валентних коливань асоційованих ОН-груп моносахаридних залишків. Валентні коливання зв'язків за участі атомів Оксигену (С-О-С, С-ОН) спостерігаються в області 1200-1000 cm^{-1} . Зв'язок С=О у складі естерної групи СО-О в молекулі хедерасAPONiну С (валентні коливання) поглинає при 1729 cm^{-1} . Поглинання при 1647 cm^{-1} обумовлено тризаміщеним подвійним зв'язком аглікону хедерагеніну. В області 1400-1200 cm^{-1} знаходяться смуги поглинання деформаційних коливань зв'язків СН.

Валентні коливання зв'язків ОН цитратіона і зв'язку NH у складі амідної групи CONH молекули цитрату силденафілу проявляються в області 3600-3300 cm^{-1} . Смуга поглинання симетричних валентних коливань зв'язків SO розщеплюється в ІЧ-спектрі на піки з більшою (при 1172 cm^{-1}) і меншою (при 1156 cm^{-1}) інтенсивністю. Частота поглинання асиметричних валентних коливань зв'язків SO становить 1356 cm^{-1} . Валентні коливання зв'язків СО виявлено при 1700 cm^{-1} (COOH цитрату і CONH силденафілу) і при 1579 cm^{-1} (COO⁻ цитрату). В ІЧ-спектрі також знайдено характерні смуги поглинання зв'язків С-О-С, CN і ароматичних кілець.

В ІЧ-спектрі комплексу хедерасAPONiну С і цитрату силденафілу відсутні смуги поглинання NH-зв'язків 3450 і 3295 cm^{-1} , які характерні для спектра індивідуального цитрату силденафілу. Проте спостерігається розширена смуга поглинання зв'язків NH і ОН при-

Таблиця 1
Дія хедерасAPONiну С, цитрату силденафілу та їх комплексу на *Poecilia reticulata*

| Сполука | LD_{100} , М | Час експозиції $t_{LD_{100}}$ до летального результату, хв |
|---|---|--|
| ХедерасAPONiн С | $0,50 \cdot 10^{-3}$ | $2153,7 \pm 7,3$ |
| Цитрат силденафілу | $0,50 \cdot 10^{-3}$ | $159,7 \pm 6,8$ |
| Комплекс хедерасAPONiну С і цитрату силденафілу | по $0,50 \cdot 10^{-3}$ кожного з компонентів | $42,4 \pm 2,5$ |

близно при 3400 cm^{-1} , форма якої і значення вказують на утворення водневих зв'язків [23].

При комплексоутворенні смуга коливань зв'язку СО у складі групи COO⁻ цитрату не зміщується. У спектрах комплексу й індивідуального цитрату силденафілу вона знайдена при 1579 cm^{-1} . Очевидно, ця група не бере участі в міжмолекулярній взаємодії. В ІЧ-спектрі комплексу валентним коливанням зв'язків СО (COOH цитрату і CONH силденафілу) відповідають дві смуги поглинання при 1702 і 1696 cm^{-1} . В індивідуального цитрату силденафілу ці смуги поглинання перекриті. Незначне зміщення відзначено для смуг поглинання зв'язків С-О-С і С-ОН.

Одну зі смуг поглинання зв'язків SO (симетричні валентні коливання) комплексу знайдено при 1169 cm^{-1} , тобто для неї зсув становить -3 cm^{-1} . При цьому інша смуга поглинання 1156 cm^{-1} не зміщується. Причому смуги 1169 і 1156 cm^{-1} мають практично однакову інтенсивність, хоча в спектрі індивідуального цитрату силденафілу смуги поглинання були різної інтенсивності.

При комплексоутворенні відмічено незначне зміщення деяких смуг поглинання СН-зв'язків. Це може вказувати на гідрофобні взаємодії неполярного аглікону глікозиду і ароматичних кілець цитрату силденафілу.

Таким чином, у формуванні комплексу беруть участь гідроксильні групи глікозиду, а також зв'язки СО (COOH і амідна) та SO цитрату силденафілу. Комплекс утворюється за рахунок водневих зв'язків і гідрофобних взаємодій.

Біологічна активність. Відомо, що бісдесмозидні тритерпенові глікозиди олеананового типу зазвичай володіють низькою токсичністю

[24]. Дійсно, хедерасAPONIN C, який є таким глікозидом, проявив слабку дію проти *Poecilia reticulata* (табл. 1). Цитрат силденафілу виявився більш активним. Їх комплекс складу 1:1 в середньому в 50 разів активніше глікозиду і в 4 рази активніше цитрату силденафілу.

Висновки. Уперше отримано супрамолекулярний комплекс тритерпенового глікозиду хедерасAPONIN C і цитрату силденафілу. Комплексотворення підтверджено методами ІЧ-

та УФ-спектроскопії і супроводжується гіперхромним ефектом. Склад комплексу, рівний 1:1, визначено методом ізомольярних серій. Комплекс виявився більш активним, ніж його індивідуальні компоненти.

Автори висловлюють подяку С.М. Кашуцькому (ВАТ «ІнтерХім», м. Одеса) за наданий зразок цитрату силденафілу.

Надійшла в редакцію 20.05.2011 р.

Supramolecular complex of the triterpene glycoside hederasaponin C and sildenafil citrate

L.A. Yakovishin, I.R. Yarovoy, D.Yu. Belash

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

Summary. Supramolecular complex of the triterpene glycoside 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) with sildenafil citrate is received for the first time. The complexation is confirmed by IR- and UV-spectroscopy. The glycoside form complex with sildenafil citrate in a 1:1 molar ratio. The ichthyotoxic activity of the supramolecular complex was investigated on *Poecilia reticulata*.

Keywords: hederasaponin C, sildenafil citrate, supramolecular complex, UV-spectroscopy, IR-spectroscopy, *Poecilia reticulata*, ichthyotoxic activity.

Перелік літератури

1. Толстикова Т.Г., Толстиков А.Г., Толстиков Г.А. На пути к низкодозным лекарствам // Вестник РАН. — 2007. — Т. 77, № 10. — С. 867-874.
2. 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: Schidnyy vydavnytsy dim, 2010. — Chapter 4. — P. 85-103.
3. Elias R., Diaz-Lanza A. M., Vidal-Ollivier E., Balansard G., Faure R., Babadjamian A. Triterpenoid saponins from the leaves of *Hedera helix* // J. Nat. Prod. — 1991. — Vol. 54, No. 1. — P. 98-103.
4. Гришкова В.И., Кондратенко А.Е., Толкачева Н.В., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera helix* I. 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. соедин. — 1994. — № 6. — С. 742-746.
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-B₁, L-B₂, L-C, L-D, L-E₁, L-G₁, L-G₂, L-G₃, L-G₄, L-H₁, L-H₂ и L-I из листьев *Hedera canariensis* // Химия природ. соедин. — 1996. — № 3. — С. 377-383.
6. Гришкова В.И., Толкачева Н.В., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* IX. Строение таурозидов G₁, G₂, G₃, H₁ и H₂ из листьев плюща крымского // Химия природ. соедин. — 1992. — № 5. — С. 522-528.
7. Kizu H., Kitayama S., Nakatani T., Tomimori T., Namba T. Studies on nepalese crude drugs III. On the saponins of *Hedera nepalensis* K. Koch. // Chem. Pharm. Bull. — 1985. — Vol. 33, No. 8. — P. 3324-3329.
8. Shimizu M., Arisawa M., Morita N., Kizu H., Tomimori T. Studies of the constituents of *Hedera rhombea* Bean. I. Glycosides of hederagenin // Chem. Pharm. Bull. — 1978. — Vol. 26, No. 2. — P. 655-659.
9. Деканосидзе Г.Е., Пхеидзе Т.А., Кемертелидзе Э.П. Исследование тритерпеновых гликозидов плюща кавказского // Сообщ. АН ГССР (фармакохимия). — 1970. — Т. 60, № 2. — С. 349-352.
10. Гришкова В.И. Тритерпеновые гликозиды листьев *Hedera caucasigena* // Химия природ. соедин. — 1999. — № 6. — С. 807-808.
11. Гришкова В.И. Тритерпеновые гликозиды листьев *Hedera scotica* // Химия природ. соедин. — 1999. — № 6. — С. 809-810.
12. Деканосидзе Г.Е., Кемертелидзе Э.П. Калопа-накс-сапонин В из *Hedera colchica* // Химия природ. соедин. — 1980. — № 2. — С. 259.
13. Mshvildadze V., Elias R., Faure R., Debrauwer L., Dekanosidze G., Kemertelidze E., Balansard G. Triterpenoid saponins from berries of *Hedera colchica* // Chem. Pharm. Bull. — 2001. — Vol. 49, No. 6. — P. 752-754.
14. Искендеров Г.Б. Тритерпеновые гликозиды *Hedera pastuchovii* // Фармация. — 1971. — Т. 20, № 4. — С. 27-30.
15. Mshvildadze V., Elias R., Faure R., Rondeau D., Debrauwer L., Dekanosidze G., Kemertelidze E., Balansard G. Triterpenoid saponins from the leaves of *Hedera pastuchovii* // Chem. Pharm. Bull. — 2004. — Vol. 52, No. 12. — P. 1411-1415.
16. Dreues S.E., George J., Khan F. Recent findings on natural products with erectile-dysfunction activity // Phytochemistry. — 2003. — Vol. 62. — P. 1019-1025.
17. Яковішин Л.А., Рубинсон М.А., Кузнецова А.Л., Гришкова В.И., Корж Е.Н. Молекулярный комплекс тритерпенового гликозида α -хедерина с силденафи-

лом (виагрой) // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Сер. «Биология, химия». — 2006. — Т. 19 (58), № 1. — С. 179-182.

18. Яковичин Л.А., Яровой И.Р., Белаш Д.Ю., Гришковец В.И., Корж Е.Н. Молекулярные комплексы сапонинов плющей и силденафила цитрата // Материалы VII Междунар. науч.-техн. конф. «Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ — 2011». — Севастополь (Украина), 2011. — С. 269-270.

19. Яковичин Л.О., Белаш Д.Ю., Яровой И.Р., Гришковец В.И., Копитов Ю.П., Корж О.М. Молекулярный комплекс моноамонийной соли глицирризиновой кислоты (глицираму) та цитрату силденафілу // Материалы VII Междунар. науч.-техн. конф. «Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ — 2011». — Севастополь (Украина), 2011. — С. 268-269.

20. Колотилова О.И., Яковичин Л.А., Коренюк И.И., Гришковец В.И., Хусаинов Д.Р., Гамма Т.В. Влияние

виагры и ее комплексов с тритерпеновыми гликозидами на электрическую активность нейронов моллюска *Helix albensis* // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Сер. «Биология, химия». — 2010. — Т. 23 (62), № 2. — С. 96-103.

21. Яковичин Л.А. Молекулярное комплексобразование тритерпенового гликозида хедерасапонина С и кофеина в водном растворе // Химия природ. соединений. — 2010. — № 5. — С. 629-631.

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

23. Казыцына Л.А., Куплетская Н.Б. Применение УФ-, ИК-, ЯМР- и масс-спектроскопии в органической химии. — М.: Изд-во МГУ, 1979. — 240 с.

24. Podolak I., Galanty A., Sobolewska D. Saponins as cytotoxic agents: a review // Phytochem. Rev. — 2010. — Vol. 9. — P. 425-474.