

## ИССЛЕДОВАНИЕ ТРИТЕРПЕНОВЫХ И СТЕРОИДНЫХ САПОНИНОВ ФИТОКОМПЛЕКСА «ХЕДЕРИКС+»

Яковишин Л.А.<sup>1</sup>, Гришковец В.И.<sup>2</sup>, Корж Е.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Севастопольский государственный университет  
ул. Университетская, 33, г. Севастополь, 299053, РФ  
e-mail: chemsevntu@rambler.ru

<sup>2</sup>Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского  
пр. Вернадского, 4, г. Симферополь, 295033, РФ

**Аннотация.** Установлен состав сапонинов фитокомплекса «Хедерикс+». Показано, что в нем преобладают гликозиды хедерагенина. Наибольшее содержание отмечено для 3-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-О- $\alpha$ -L-арабинопиранозида хедерагенина ( $\alpha$ -хедерина), его 28-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-О- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-О- $\beta$ -D-глюкопиранозилового эфира (хедерасапонины С) и 3-О-сульфат-28-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-О- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-О- $\beta$ -D-глюкопиранозилового эфира олеаноловой кислоты (хедерасапонины F). В фитокомплексе также найдены стероидные сапонины 3-О- $\beta$ -D-глюкопиранозиды стигмастерина и  $\beta$ -ситостерина.

**Ключевые слова:** Хедерикс+, сапонины,  $\alpha$ -хедерин, хедерасапонин С, хедерасапонин F, ТСХ.

## RESEARCH OF TRITERPENE AND STEROID SAPONINS FROM THE PHYTOCOMPLEX HEDERIX+

Yakovishin L.A.<sup>1</sup>, Grishkovets V.I.<sup>2</sup>, Korzh E.N.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sevastopol State University  
Universitetskaya St., 33, Sevastopol, 299053, Russia  
e-mail: chemsevntu@rambler.ru

<sup>2</sup>V.I. Vernadsky Crimean Federal University  
pr. Vernadskogo, 4, Simferopol, 295033, Russia

**Abstract.** The saponins composition of the phytocomplex Hederix+ was established. In preparation are dominated hederagenin glycosides. The highest content was observed for hederagenin 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-O- $\alpha$ -L-arabinopyranoside ( $\alpha$ -hederin), its 28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (hederasaponin C) and oleanolic acid 3-O-sulfate-28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (hederasaponin F). In phytocomplex also were found steroid saponins stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosides.

**Key words:** Hederix+, saponins,  $\alpha$ -hederin, hederasaponin C, hederasaponin F, TLC.

Плющ обыкновенный *Hedera helix* L. (Araliaceae Juss.) издавна применяют для лечения кашля [1]. На основе его листьев разработано несколько лекарственных препаратов [1, 2], в том числе и комбинированные отхаркивающие средства: препараты «Бронхиал плюс с плющом, мальвой и витамином С» (Чешская Республика) [3] и «Бронхипрет» (Германия), включающий экстракт тимьяна обыкновенного [2].

Недавно был разработан фитокомплекс «Хедерикс+» (ООО «Витаукт-пром», Россия), содержащий экстракты листьев мать-и-мачехи обыкновенной *Tussilago farfara* L. (Asteraceae Bercht. & J. Presl), травы тимьяна ползучего (чабреца) *Thymus serpyllum* L. (Lamiaceae Lindl.) и листьев плюща обыкновенного *Hedera helix* L. [4]. «Хедерикс+» рекомендован в качестве отхаркивающего средства в комплексной терапии воспалительных заболеваний дыхательных путей.

Известно, что плющ обыкновенный содержит тритерпеновые гликозиды [1]. Они объясняют фармакологическое действие растения и препаратов на его основе. Главным действующим сапонином плюща является  $\alpha$ -хедерин (3-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-О- $\alpha$ -L-арабинопиранозид хедерагенина) [5].

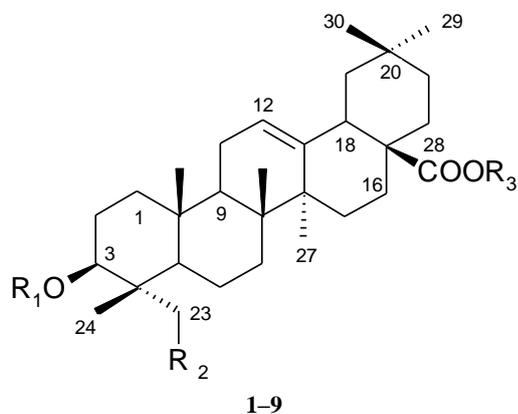
Исследованы комплексы тритерпеновых гликозидов препаратов плюща «Геделикс» [6, 7] и «Проспан» [8]. Об особенностях гликозидного состава фитокомплекса «Хедерикс+» ранее не сообщалось.

Предварительно из фитокомплекса удаляли малополярные вещества путем обработки его гексаном. Сапонины из остатка извлекали *n*-бутанолом, насыщенным водой. Полученный бутанольный экстракт анализировали восходящей ТСХ в различных системах растворителей с заведомыми образцами сапонинов известного строения, выделенных нами ранее из листьев плющей канарского *Hedera canariensis* Willd., крымского *Hedera taurica* Sagt. и обыкновенного *Hedera helix* L. ТСХ-анализ проводили на высокоэффективных пластинках «Sorbfil» («Сорбполимер», Россия).

В результате установлено, что комплекс содержит стероидные гликозиды: 3-О- $\beta$ -D-глюкопиранозиды стигмастерина и  $\beta$ -ситостерина. Тритерпеновые сапонины (см. рис. 1) представлены: 3-О- $\alpha$ -L-арабинопиранозидом, 3-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-О- $\alpha$ -L-арабинопиранозидом, 3-О- $\alpha$ -L-арабинопиранозил-28-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-О- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-О- $\beta$ -D-глюкопиранозидом и 3-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-О- $\alpha$ -L-арабинопиранозил-28-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-О- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-О- $\beta$ -D-глюкопиранозидом хедерагенина, а также 3-О-сульфатом, 3-О-сульфат-28-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-О- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-О- $\beta$ -D-глюкопиранозиловым эфиром, 3-О- $\alpha$ -L-

арабинопиранозидом, 3-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-О- $\alpha$ -L-арабинопиранозидом и 3-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-О- $\alpha$ -L-арабинопиранозил-28-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-О- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-О- $\beta$ -D-глюкопиранозидом олеаноловой кислоты.

В сумме сапонинов наибольшее содержание отмечено для 3-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-О- $\alpha$ -L-арабинопиранозида хедерагенина ( $\alpha$ -хедерина), его 28-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-О- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-О- $\beta$ -D-глюкопиранозилового эфира (хедерасапонина С) и 3-О-сульфат-28-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-О- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-О- $\beta$ -D-глюкопиранозилового эфира олеаноловой кислоты (хедерасапонина F).



Гликозид	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
1	Arar $\alpha$ $\rightarrow$	H	H
2	Arar $\alpha$ $\rightarrow$	OH	H
3	$\text{^-O}_3\text{S}$ $\rightarrow$	H	H
4	Rhap $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 2)-Arar $\alpha$ $\rightarrow$	H	H
5	Rhap $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 2)-Arar $\alpha$ $\rightarrow$	OH	H
6	Arar $\alpha$ $\rightarrow$	OH	$\leftarrow$ $\beta$ Glc $p$ -(6 $\leftarrow$ 1)- $\beta$ Glc $p$ -(4 $\leftarrow$ 1)- $\alpha$ Rhap
7	$\text{^-O}_3\text{S}$ $\rightarrow$	H	$\leftarrow$ $\beta$ Glc $p$ -(6 $\leftarrow$ 1)- $\beta$ Glc $p$ -(4 $\leftarrow$ 1)- $\alpha$ Rhap
8	Rhap $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 2)-Arar $\alpha$ $\rightarrow$	H	$\leftarrow$ $\beta$ Glc $p$ -(6 $\leftarrow$ 1)- $\beta$ Glc $p$ -(4 $\leftarrow$ 1)- $\alpha$ Rhap
9	Rhap $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 2)-Arar $\alpha$ $\rightarrow$	OH	$\leftarrow$ $\beta$ Glc $p$ -(6 $\leftarrow$ 1)- $\beta$ Glc $p$ -(4 $\leftarrow$ 1)- $\alpha$ Rhap

Рисунок 1 – Тритерпеновые гликозиды фитокомплекса «Хедерикс+»

По разнообразию тритерпеновых гликозидов фитокомплекс «Хедерикс+» существенно не отличается от лекарственных препаратов «Проспан» и «Геделикс».

**Список литературы:**

1. Hostettmann K., Marston A. *Saponins*. Cambridge: Cambridge University Press, 1995, 548 p.
2. Зузук Б.М., Куцик Р.В., Зузук Л.И. Площ вьющийся *Hedera helix* L. (аналитический обзор). *Провизор*, 2003, № 12, с. 13-14. [Zuzuk B.M., Kutsik R.V., Zuzuk L.I. Ivy creeping *Hedera helix* L. (analytical review). *Provizor*, 2003, no. 12, pp. 13-14. (In Russ.)]
3. Луценко Ю.О., Гасюк Г.Д., Дармограй Р.С. Маркетингове та фармакоеконімічне дослідження ринку лікарських засобів України на основі площі звичайного. *Клініч. фармац., фармакотер. та мед. стандартиз.*, 2009, т. 1-2, с. 170-174. [Lutsenko Yu.O., Gasjuk A.D., Darmohray R.Ye. Marketing and pharmaco-economic investigations of the medicines, based on the *Hedera helix* content, in ukrainian market. *Clinic. Pharm., Pharmacother. & Med. Standardiz.*, 2009, vol. 1-2, pp. 170-174. (In Ukr.)]
4. *Хедерикс+ (Hederix+)*. Инструкция по применению фитокомплекса. ООО «Витаукт-пром» (Россия), свидетельство о государственной регистрации № RU.77.99.11.003.E.046250.11.11 от 04.11.2011. [*Hederix+*, Instructions for use of phytocomplex, Vitauct-prom (Russia), certificate of state registration № RU.77.99.11.003.E.046250.11.11 on 04.11.2011. (In Russ.)]
5. Sieben A., Prenner L., Sorkalla T., Wolf A., Jakobs D., Runkel F., Häberlein H.  $\alpha$ -Hederin, but not hederacoside C and hederagenin from *Hedera helix*, affects the binding behavior, dynamics, and regulation of  $\beta_2$ -adrenergic receptors. *Biochemistry*, 2009, vol. 48, no. 15, pp. 3477-3482.
6. Yakovishin L.A., Grishkovets V.I. Triterpene glycosides of the medicinal preparation Hedelix®. *Chem. Nat. Compd.*, 2003, vol. 39, no. 5, pp. 508-509.
7. Яковішин Л.О., Кузнецова Г.Л., Рубінсон М.А., Корж О.М. Визначення тритерпенових глікозидів у препараті «Геделікс» за допомогою тонкошарової хроматографії. *Фармац. журн.*, 2006, т. 6, с. 62-65.

[Yakovishin L.A., Kuznetsova A.L., Rubinson M.A., Korzh E.N. Determination of the triterpene glycosides in the medicinal preparation hedelix by TLC. *Farm. Zhurn.*, 2006, vol. 6, pp. 62-65. (In Ukr.)]

8. Яковишин Л.А., Вожжова М.А., Кузнецова А.Л., Гришковец В.И. Исследование тритерпеновых гликозидов лекарственного препарата проспан®. *Журн. орг. и фарм. химии*, 2005, т. 3, вып. 1 (9), с. 57-59. [Yakovishin L.A., Vozhzhova M.A., Kuznetsova A.L., Grishkovets V.I. Study of triterpene glycosides of the drug prospan®. *Zhurn. Org. Farm. Khim.*, 2005, vol. 3, iss. 1 (9), pp. 57-59. (in Russ.)]

### ЛАККАЗНОЕ ОКИСЛЕНИЕ МНОГОАТОМНЫХ ФЕНОЛОВ

Ревенко Д.К., Бовт Е.А., Кравченко Е.М., Дорошкевич В.С., Одарюк И.Д., Баранова О.В.

Донецкий национальный университет

ул. Университетская, 24, г. Донецк, 283001, Украина

e-mail: bio-chem@mail.ru

**Аннотация.** Проведено изучение оптимальных условий действия фермента лакказы *Trametes Versicolor*, определен оптимум pH и температуры. Рассчитаны максимальная скорость реакции  $V_{max}$ , константа Михаэлиса-Ментен  $K_m$  и эффективная константа скорости  $k_{cat}$  для потенциальных субстратов лакказы. Проведено сопоставление активности лакказы в реакции окисления изучаемых субстратов.

**Ключевые слова:** лакказа, окисление, оптимум pH, фенолы, медиаторы лакказного окисления, спектрофотометрия.

### LACCASE OXIDATION OF THE POLYHYDRIC PHENOLS

Revenko D.K., Bovt E.A., Kravchenko E.M., Doroshkevich V.S., Odaryuk I.D., Baranova O.V.

Donetsk National University

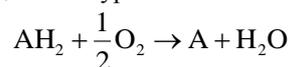
Universitetskaya St., 24, Donetsk, 283001, Ukraine

e-mail: bio-chem@mail.ru

**Annotation.** The study of the optimal conditions for the action of the enzyme laccase *Trametes Versicolor*. The pH and temperature optimum was been identified. The maximum reaction rate  $V_{max}$ , Michaelis-Menten constant  $K_m$ , and  $k_{cat}$  effective rate constant with the potential substrates for laccase have been calculate. The laccase activity in the reaction of substrate oxidation has been done.

**Key words:** laccase, oxidation, optimum pH, phenols, mediators of laccase oxidation, spectrophotometry.

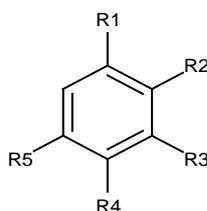
**Введение.** В настоящее время одной из актуальных проблем ферментативного катализа и биотехнологии является изучение каталитических свойств лакказ, выделенных из грибов [1-3]. Известно, что эти ферменты эффективно разрушают лигнин, извлекая из растительных объектов низкомолекулярные вещества, обладающие в том числе и антиоксидантными свойствами. Лакказа (*п.*-дифенол: кислород оксидоредуктаза) относится к группе медьсодержащих оксидаз, катализирующих восстановление молекулярного кислорода до воды. В качестве восстановителей используются различные по природе соединения, которые выступают субстратами лакказы. Формально этот процесс можно представить уравнением:



Лакказа гриба *Trametes Versicolor*, находит широкое применение в самых разных технологических процессах, благодаря высокой удельной активности и относительно низкой субстратной специфичности [4]. Это значит, что число субстратов, которые фермент может использовать в качестве восстановителей кислорода, может определяться широким кругом органических веществ.

Целью данной работы является расширение круга субстратов лакказного окисления и получение кинетических параметров окисления возможных субстратов фермента, определение оптимумов температуры и pH лакказы *Trametes Versicolor*.

**Экспериментальная часть.** В качестве объектов исследования ферментативной реакции окисления использовались двух-, трехатомные фенолы: пирокатехин (1), гидрохинон (2), метилгидрохинон (3), трет.-бутилгидрохинон (4), 4-трет.-бутил – пирокатехин (5), резорцин (6), пирогаллол (7), флороглюцин (8).



$R_1=R_2=OH, R_3=R_4=R_5=H$  – пирокатехин (1)

$R_1=R_4=OH, R_2=R_3=R_5=H$  – гидрохинон (2)

$R_1=R_4=OH, R_3=R_5=H, R_2=CH_3$  – метилгидрохинон (3)

$R_1=R_4=OH, R_3=R_5=H, R_2=(CH_3)_3C$  – трет.-бутилгидрохинон (4)

$R_1=R_2=OH, R_3=R_5=H, R_4=(CH_3)_3C$  – 4-трет.-бутил – пирокатехин (5)

$R_1=R_3=OH, R_2=R_4=R_5=H$  – резорцин (6)

$R_1=R_2=R_3=OH, R_4=R_5=H$  – пирогаллол (7)

$R_1=R_3=R_5=OH, R_2=R_4=H$  – флороглюцин (8)