Тритерпеновые гликозиды лекарственного препарата “Гедерин”

Л.А. Яковишин[1], В.И. Гришковец[2], И.А. Жолудь[1]

[1]Севастопольский национальный технический университет, ул. Университетская 33, 99053, Севастополь, Украина, e-mail: chemsevntu@rambler.ru

[2]Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, пр. Вернадского 4, 95007, Симферополь, Украина, e-mail:vladgri@ukr.net

Поступила в редакцию: 28 декабря 2010г. / Принята к публикации: 10 февраля 2011 г.

ТСХ-анализом установлен гликозидный состав препарата “Гедерин”. Показано, что в препарате преобладают гликозиды хедерагенина. Наибольшее содержание отмечено для 3-О-α-L-рамнопиранозил-(1→2)-О-α-L-арабинопиранозида хедерагенина, его 28-О-α-L-рамнопиранозил-(1→4)-О-β-D-глюкопиранозил-(1→6)-О-β-D-глюкопиранозилового эфира и 3-О-сульфат-28-О-α-L-рамнопиранозил-(1→4)-О-β-D-глюкопиранозил-(1→6)-О-β-D-глюкопиранозида олеаноловой кислоты.

L.A. YAKOVISHIN, V.I. GRISHKOVETS, I.A. ZHOLUD. TRITERPENE GLYCOSIDES OF THE MEDICINAL PREPARATION “HEDERIN” - Using a method of TLC, the glycoside composition of the medicinal preparation “Hederin” was established. In preparation are dominated hederagenin glycosides. The highest content was observed for hederagenin 3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-O-α-L-arabinopyranoside, its 28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-O-β-D-glucopyranosyl ester and oleanolic acid 3-O-sulfate-28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-O-β-D-glucopyranoside.

Ключевые слова: тритерпеновые гликозиды, хедерагенин, олеаноловая кислота, “Гедерин”, ТСХ.

Keywords: triterpene glycosides, hederagenin, oleanolic acid, “Hederin”, TLC.

ВВЕДЕНИЕ

Листья плюща обыкновенного *Hedera helix* L. (семейство *Araliaceae* Juss.) уже на протяжении нескольких столетий используют в народной медицине Европы для лечения инфекционно-воспалительных заболеваний органов дыхания, которые сопровождаются кашлем [1–3]. На основе их экстрактов разработан ряд зарубежных лекарственных средств. Это немецкие монокомпонентные препараты “Проспан” [1, 2, 4] и “Геделикс” [2, 4], а также комбинированные препараты “Бронхипрет” (Германия) [2, 4] и “Бронхиал плюс с плющом, мальвой и витамином С” (Чехия) [4]. Недавно арсенал лекарственных средств на основе плюща пополнился отечественными препаратами “Гедерин” (“Фармацевтическая фабрика”, Житомир) [4] и “Пектолван плющ” (“Фармак”, Киев) [5]. На фармацевтическом рынке Украины и стран СНГ препараты плюща являются одними из наиболее популярных средств для лечения кашля [6].

В медицинской практике также используют комбинированное гомеопатическое средство “Галиум-хеель” (Германия), содержащее экстракт *Hedera helix*. Оно показано для активации неспецифических защитных механизмов организма, в частности при хронических заболеваниях [4].

Известно, что терапевтический эффект препаратов плюща объясняется наличием тритерпеновых гликозидов [7]. Установлено, что среди них основным действующим веществом является α-хедерин (α-гедерин, сапиндозид А, калопанакс-сапонин А, 3-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→2)-О-α-*L*-арабинопиранозид хедерагенина) [8]. Однако, в экстрактах плюща преобладает его пролекарственная форма – хедерасапонин С (гедерасапонин С, хедеракозид С, гедеракозид С, 3-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→2)-О-α-*L*-арабинопиранозил-28-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→4)-О-β-*D*-глюкопиранозил-(1→6)-О-β-*D*-глюкопиранозид хедерагенина) [1, 3], при гидролизе которого образуется α-хедерин.

α-Хедерин стимулирует β_2-адренорецепторы в клетках эпителия легких и мышц бронхов. При этом альвеоциты 2-ого типа образуют сурфактант, снижающий вязкость слизи и облегчающий откашливание. Активация β_2-рецепторов приво-

© Л.А. Яковишин, В.И. Гришковец, И.А. Жолудь

дит к расслаблению мышц и расширению бронхов [7–9].

Недавно сообщалось об исследовании комплексов тритерпеновых гликозидов препаратов “Геделикс” [10, 11], “Проспан” [12] и “Пектолван плющ” [5]. Об особенностях гликозидного состава препарата “Гедерин” ранее не сообщалось. Известно, что наряду с сухим экстрактом листьев плюща, включающим хедерасапонин С, препарат “Гедерин” содержит сорбит, сорбат калия, ксантановую камедь, натрия карбоксиметилцеллюлозу и ароматизатор [13].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследована готовая лекарственная форма “Гедерин” сироп (производитель “Фармацевтическая фабрика”, Житомир, Украина; регистрационное удостоверение № UA/7526/01/01). К 1 мл препарата приливали 1 мл *н*-бутанола, предварительно насыщенного водой. Смесь перемешивали и оставляли для расслоения жидкостей. Верхний (водно-спиртовый) слой отделяли и далее анализировали методом восходящей ТСХ. Тритерпеновые гликозиды препарата идентифицировали с заведомыми образцами гликозидов известного строения, выделенных нами ранее из листьев плющей канарского *Hedera canariensis* [14], крымского *Hedera taurica* [15] и обыкновенного *Hedera helix* [16, 17]. Чистоту выделенных гликозидов контролировали ТСХ. Строение гликозидов устанавливали химическими (кислотный и щелочной гидролиз, метилирование диазометаном) и физическими (спектроскопия ЯМР ^{1}H и ^{13}C) методами [14–17].

Получение водно-бутанольных экстрактов сиропов от кашля “Пектолван плющ”, “Геделикс” и “Проспан” описано, соответственно, в работах [5, 11, 12].

ТСХ-анализ проводили на высокоэффективных пластинках “Sorbfil” (“Сорбполимер”, Российская Федерация) марки ПТСХ-П-В-УФ-254 с размером частиц силикагеля 8–12 мкм (тип сорбента СТХ-1ВЭ). Длина пластинок 8 см. На пластинки наносили по 0,02 мл водно-бутанольного экстракта препарата. Экстракт гликозидов препарата и образцы гликозидов известного строения наносили на одну и ту же пластинку для ТСХ. Для элюирования использовали системы растворителей $CHCl_3$–CH_3OH–H_2O (100:25:3), $CHCl_3$–CH_3OH–25% водный NH_3 (100:100:8), $CHCl_3$–CH_3OH–25% водный NH_3 (100:40:4) и $CHCl_3$–CH_3OH–25% водный NH_3 (100:15:5). Хроматографировали дважды.

Детектирование тритерпеновых гликозидов осуществляли 0,2% раствором *пара*-оксибензальдегида в 1 М растворе серной кислоты [18]. Хроматограммы после обработки реагентом нагревали до 100°С. Величины R_f тритерпеновых гликозидов приведены в табл. 1 (для трех параллельных экспериментов). Значения R_f для компонентов экстракта отличаются от R_f заведомых образцов тритерпеновых гликозидов на ±0,01–0,02.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

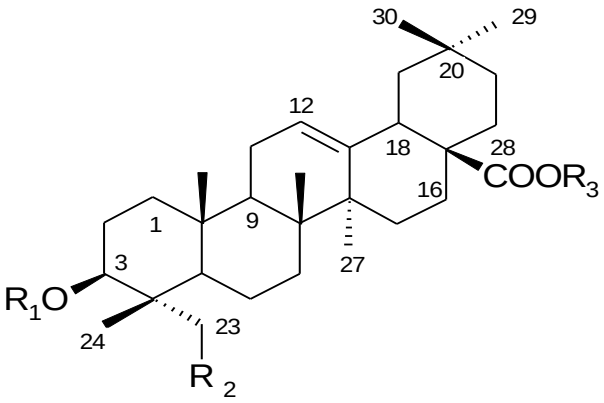
Известно, что чистые низкомолекулярные спирты или только вода не дают полного извлечения сапонинов из растительного сырья, т.к. малополярные тритерпеновые сапонины плохо растворяются в воде, а высокополярные – в спирте. По этой причине тритерпеновые гликозиды экстрагируют водно-спиртовыми смесями, например, *н*-бутанолом, насыщенным водой [1, 19]. Поэтому сумму тритерпеновых гликозидов из препарата “Гедерин” извлекали *н*-бутанолом, насыщенным водой. Водно-бутанольный экстракт отделяли и далее анализировали методом восходящей ТСХ. Для лучшего разделения гликозидов элюирование проводили двукратно.

Реагент Комаровского, используемый для идентификации стероидов и тритерпеновых гликозидов, ранее был нами модифицирован [18] и предложен для ТСХ-анализа тритерпеновых гликозидов препаратов “Геделикс” [11], “Проспан” [12] и “Пектолван плющ” [5]. Реагент использован нами и для идентификации гликозидов препарата “Гедерин”. При нагревании хроматограмм, обработанных этим реагентом, гликозиды хедерагенина проявляются на них в виде сине-фиолетовых пятен. Гликозиды олеаноловой кислоты дают розовые пятна.

Препарат “Гедерин” содержит экстракт листьев *Hedera helix*. Поэтому ТСХ-идентификация его тритерпеновых гликозидов с заведомыми образцами гликозидов известного строения, выделенных из плющей, вполне допустима без привлечения дополнительных методов. По данным ТСХ в препарате “Гедерин” содержится несколько тритерпеновых гликозидов, обозначенных нами цифрами **1–8** (см. рис. 1).

Гликозиды **1**, **4**, **5** и **8** идентичны по своей хроматографической подвижности в различных системах растворителей (табл. 1) и цвету пятен, соответственно, 3-О-α-*L*-арабинопиранозиду, 3-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→2)-О-α-*L*-арабинопиранозиду, 3-О-α-*L*-арабинопиранозил-28-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→4)-О-β-*D*-глюкопиранозил-(1→6)-О-β-*D*-глюкопиранозиду и 3-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→2)-О-α-*L*-арабинопиранозил-28-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→4)-О-β-*D*-глюкопиранозил-(1→6)-О-β-*D*-глюкопиранозиду хедерагенина.

Соединения **3** и **7** представляют собой 3-О-сульфат олеаноловой кислоты и его 28-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→4)-О-β-*D*-глюкопиранозил-(1→6)-О-β-*D*-глюкопиранозиловый эфир.



1–8

Гликозид	R_1	R_2	R_3
1	Ara*p*α→	OH	H
2	Rha*p*α-(1→2)-Ara*p*α→	H	H
3	$^{-}O_3S$→	H	H
4	Rha*p*α-(1→2)-Ara*p*α→	OH	H
5	Ara*p*α→	OH	←βGl*cp*-(6←1)-βGl*cp*-(4←1)-αRha*p*
6	Rha*p*α-(1→2)-Ara*p*α→	H	←βGl*cp*-(6←1)-βGl*cp*-(4←1)-αRha*p*
7	$^{-}O_3S$→	H	←βGl*cp*-(6←1)-βGl*cp*-(4←1)-αRha*p*
8	Rha*p*α-(1→2)-Ara*p*α→	OH	←βGl*cp*-(6←1)-βGl*cp*-(4←1)-αRha*p*

Рис. 1. Строение тритерпеновых гликозидов препарата “Гедерин”.

Таблица 1. Величины R_f гликозидов **1**–**8**, содержащихся в препарате “Гедерин”

Гликозид	Величины R_f гликозидов			
	система $CHCl_3$–CH_3OH–H_2O (100:25:3)	система $CHCl_3$–CH_3OH–NH_3 (100:40:4)	система $CHCl_3$–CH_3OH–NH_3 (100:15:5)	система $CHCl_3$–CH_3OH–NH_3 (100:100:8)
1	0,87±0,02	0,63±0,01	0,65±0,02	0,85±0,02
2	0,80±0,01	0,60±0,01	0,53±0,01	0,80±0,01
3	0,78±0,01	0,58±0,01	0,50±0,01	0,86±0,01
4	0,62±0,02	0,31±0,02	0,33±0,01	0,70±0,02
5	0,11±0,01	0,12±0,01	0,14±0,01	0,43±0,01
6	0,09±0,01	0,11±0,01	0,12±0,01	0,40±0,01
7	0,09±0,01	0,11±0,01	0,12±0,01	0,65±0,01
8	0,04±0,01	0,04±0,01	0,06±0,02	0,30±0,02

Известно, что при нагревании хроматографических пластинок, предварительно обработанных модифицированным реагентом Комаровского, пятна сульфатированных соединений ярко-розового цвета появляются в первую очередь [5, 12]. Поэтому, на пластинке пятна соединений **3** и **7** проявились раньше остальных гликозидов. Гликозиды **2** и **6** идентифицированы как 3-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→2)-О-α-*L*-арабинопиранозид и 3-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→2)-О-α-*L*-арабинопиранозил-28-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→4)-О-β-*D*-глюкопиранозил-(1→6)-О-β-*D*-глюкопиранозид олеаноловой кислоты.

Полуколичественная оценка содержания компонентов в смесях возможна путем сравнения площади их пятен на пластинах для ТСХ [20, 21]. Используя этот подход, показано, что в

© Л.А. Яковишин, В.И. Гришковец, И.А. Жолудь

составе препарата “Гедерин” преобладают гликозиды хедерагенина, т.к. пятна соответствующих гликозидов на хроматограммах имели наибольшую площадь (рис. 2).

Максимальное содержание отмечено для гликозидов **4** (α-хедерин), **8** (хедерасапонин С) и **7**. Гликозид **8** является доминирующим среди всех сапонинов препарата. Аналогичный результат был получен при анализе другого отечественного препарата “Пектолван плющ” [5]. Однако для “Гедерина” отмечено несколько меньшее содержание гликозида **5**. В немецких препаратах “Проспан” [12] и “Геделикс” [11] гликозиды **4** и **8** также являются основными с преобладанием **8**, но сульфата олеаноловой кислоты (**3**) и его гликозида **7** содержится меньше. Кроме того, “Геделикс”, по сравнению с “Гедерином”, “Пектолваном” и “Проспаном”, содержит меньше гликозида **5**.

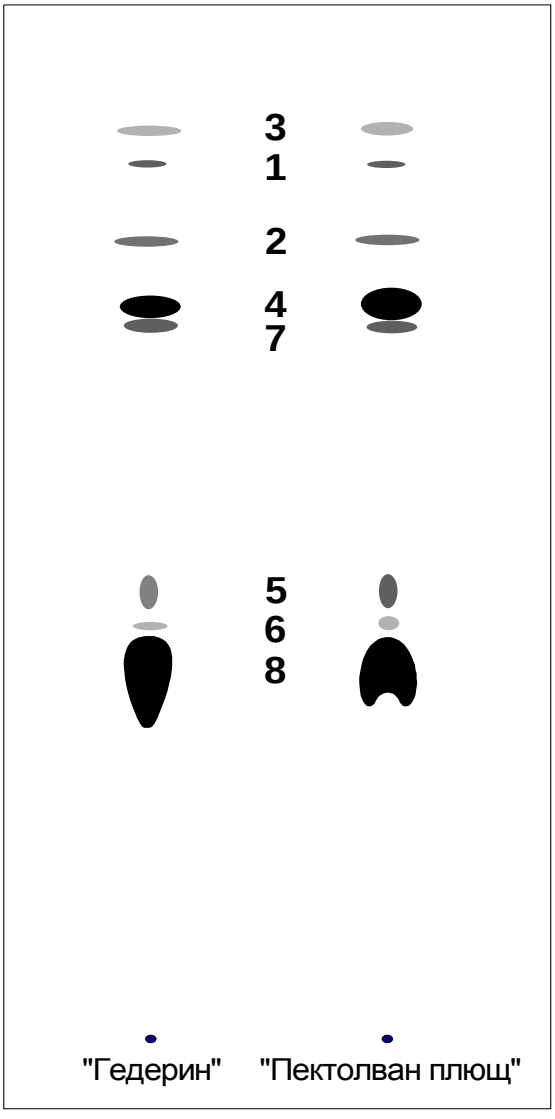


Рис. 2. Хроматограмма суммы тритерпеновых гликозидов **1**–**8** препаратов “Гедерин” и “Пектолван плющ” (подвижная фаза $CHCl_3$–CH_3OH–NH_3 (100:100:8)).

ВЫВОДЫ

Выделена сумма тритерпеновых гликозидов из лекарственного препарата “Гедерин” и проведен ее ТСХ-анализ в различных системах растворителей. Идентифицированы основные сапонины препарата, среди которых преобладают гликозиды хедерагенина.

Наибольшее содержание отмечено для 3-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→2)-О-α-*L*-арабинопиранозида хедерагенина, его 28-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→4)-О-β-*D*-глюкопиранозил-(1→6)-О-β-*D*-глюкопиранозилового эфира и 3-О-сульфат-28-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→4)-О-β-*D*-глюкопиранозил-(1→6)-О-β-*D*-глюкопиранозида олеаноловой кислоты. Препарат “Гедерин” по содержанию преобладающих гликозидов (3-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→2)-О-α-*L*-арабинопиранозида хедерагенина и его 28-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→4)-О-β-*D*-глюкопиранозил-(1→6)-О-β-*D*-глюкопиранозилового эфира) существенно не отличается от препаратов “Проспан”, “Геделикс” и “Пектолван плющ”.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Hostettmann K., Marston A.* Saponins. – Cambrige: Cambrige University Press, 1995.–548p.

2. *Зузук Б.М., Куцик Р.В., Зузук Л.И.* Плющ вьющийся *Hedera helix* L. // Провизор. – 2003. – № 12. – С. 13–14.

3. *Büechi S., Bolli R.* Efeu – Expektorans, mukolytikum und broncholytikum. Botanische und klinische aspekte // Phytotheraphie. – 2003. – No 3. – S. 19–22.

4. *Луценко Ю.О., Гасюк Г.Д., Дармограй Р.Є.* Маркетингове та фармакоекономічне дослідження ринку лікарських засобів України на основі плюща звичайного // Клініч. фармац., фармакотер. та мед. стандартиз. – 2009. – № 1–2. – С. 170–174.

5. *Яковішин Л.О., Гришковець В.І., Корж О.М.* Тритерпенові глікозиди лікарського препарату «Пектолван плющ» // Фармац. журн. – 2010. – № 3. – С. 56–60.

6. Розничный рынок препаратов для устранения симптомов простуды и кашля (R05) в России и странах СНГ // Ремедиум. – 2007. – № 8. – С. 62–64.

7. *Boltshauser V.* Wirkmechanismus von efeu entschlüsselt. Efeusaponine entfalten eine *β*-adrenerge wirkung in den atemwegen // Phytotheraphie. – 2006. – No 4. – S. 20–22.

8. *Sieben A., Prenner L., Sorkalla T., Wolf A., Jakobs D., Runkel F., Haberlein H.* α-Hederin, but

not hederacoside C and hederagenin from *Hedera helix*, affects the binding behavior, dynamics, and regulation of β_2-adrenergic receptors // Biochemistry. – 2009. – 48, No 15. – P. 3477–3482.

9. *Овсянникова Е.М., Коровина Н.А., Захарова И.Н., Юркив И.Я.* Эффективность и переносимость препарата Проспан® при лечении воспалительных заболеваний респираторного тракта у детей (по результатам многоцентрового исследования) // Педиатрия. – 2007. – 86, № 5. – С. 88–93.

10. *Яковишин Л.А., Гришковец В.И.* Комплекс тритерпеновых гликозидов лекарственного препарата Hedelix® // Химия природ. соедин. – 2003. – № 5. – С. 417–418.

11. *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. – № 6. – С. 62–65.

12. *Яковишин Л.А., Вожжова М.А., Кузнецова А.Л., Гришковец В.И.* Исследование тритерпеновых гликозидов лекарственного препарата проспан® // Журн. орг. и фарм. химии. – 2005. – 3, вып. 1. – С. 57–59.

13. *Гедерин сироп*. Листок-вкладіш. Інформація для пацієнта. Наказ МОЗ України № 9 від 15.01.08. Реєстр. посвід. № UA/7526/01/01.

14. *Гришковец В.И., Сидоров Д.Ю., Яковишин Л.А., Арнаутов Н.Н., Шашков А.С., Чирва В.Я.* Тритерпеновые гликозиды *Hedera canariensis* I. Строение гликозидов L-A, L-B_1, L-B_2, L-C, L-D, L-E_1, L-G_1, L-G_2, L-G_3, L-G_4, L-H_1, L-H_2 и L-I_1 из листьев *Hedera canariensis* // Химия природ. соедин. – 1996. – № 3. – С. 377–383.

15. *Шашков А.С., Гришковец В.И., Лолойко А.А., Чирва В.Я.* Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* I. Строение таурозида E из листьев *Hedera taurica* // Химия природ. соедин. – 1987. – № 3. – С. 363–366.

16. *Гришковец 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.

17. *Гришковец В.И., Кондратенко А.Е., Шашков А.С., Чирва В.Я.* Тритерпеновые гликозиды *Hedera helix* III. Строение тритерпеновых сульфатов и их гликозидов // Химия природ. соедин. – 1999. – № 1. – С. 87–90.

18. *Яковишин Л.А.* Детектирующие реагенты для ТСХ тритерпеновых гликозидов // Химия природ. соедин. – 2003. – № 5. – С. 419–420.

19. *Деканосидзе Г.Е., Чирва В.Я., Сергиенко Т.В., Уварова Н.И.* Исследование тритерпеновых гликозидов (установление строения и синтез). – Тбилиси: Мецниереба, 1982. – 152 с.

20. *Шаршунова М., Шварц В., Михалец Ч.* Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии: в 2-х ч. – М.: Мир, 1980. – Ч. 1. – 296 с.

21. *Гришковец В.И., Горбачева Л.А.* Количественное определение содержания тритерпеновых гликозидов в плодах *Sophora japonica* // Химия природ. соедин. – 1996. – № 1. – С. 104–106.

© Л.А. Яковишин, В.И. Гришковец, И.А. Жолудь