

УДК 547.918:543.42:615.074

САПОНИНЫ ФИТОКОМПЛЕКСА «ХЕДЕРИКС+»

Яковишин Л. А.¹, Гришковец В. И.², Корж Е. Н.¹

¹ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», Севастополь,
Республика Крым, Россия

²Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный
университет им. В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: chemsevntu@rambler.ru

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

Ключевые слова: Хедерикс+, сапонины, α -хедерин, хедерасапонин С, хедерасапонин F, ТСХ.

ВВЕДЕНИЕ

Плющ обыкновенный *Hedera helix* L. (Araliaceae Juss.) издавна применяют для лечения кашля [1]. На основе его листьев разработано несколько лекарственных препаратов [1, 2]. В России и странах СНГ препараты плюща являются одними из наиболее популярных средств для лечения кашля [3].

Разработаны комбинированные отхаркивающие средства, содержащие экстракт листьев плюща. Это, например, препараты «Бронхиал плюс с плющом, мальвой и витамином С» (Чешская Республика) [4] и «Бронхипрет» (Германия) [2]. «Бронхипрет» включает экстракт тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris*) [2].

Недавно был разработан фитокомплекс «Хедерикс+» (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 [5]. «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 α -хедерин (3-О- α -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-О- α -L-арабинопиранозид хедерагенина) [6]. Установлено, что он стимулирует β_2 -адренорецепторы в клетках эпителия легких и мышц бронхов. При этом альвеоциты 2-го типа образуют сурфактант, снижающий

вязкость слизи и облегчающий откашливание. Активация β_2 -рецепторов приводит к расслаблению мышц и расширению бронхов [6, 7].

Исследованы комплексы тритерпеновых гликозидов препаратов плюща «Геделикс» [8, 9] и «Проспан» [10]. Об особенностях гликозидного состава фитокомплекса «Хедерикс+» ранее не сообщалось. Поэтому в настоящей статье приведены результаты выделения и ТСХ-анализа суммы сапонинов этого фитокомплекса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали фитокомплекс «Хедерикс+» производства ООО «Витаукт-пром» (Россия), свидетельство о государственной регистрации № RU.77.99.11.003.Е.046250.11.11 от 04.11.2011.

Получение суммы сапонинов (1 способ). К 1 мл фитокомплекса приливали 5×1 мл гексана (рис. 1). Смесь перемешивали и оставляли для расслоения жидкостей. Верхний (гексановый) слой отделяли. К полученному остатку добавляли 1 мл *n*-бутанола, предварительно насыщенного водой. Смесь перемешивали и оставляли для расслоения жидкостей. Верхний (водно-спиртовый) слой отделяли и далее анализировали на наличие сапонинов методом восходящей ТСХ.

Получение суммы сапонинов (2 способ). К 1 мл фитокомплекса приливали 5×1 мл смеси хлороформ-бензол (7:3 по объему) (рис. 1). Смесь перемешивали и оставляли для расслоения жидкостей. Нижний (хлороформ-бензольный) слой отделяли. К полученному остатку добавляли 1 мл *n*-бутанола, предварительно насыщенного водой. Смесь перемешивали и оставляли для расслоения. Верхний (водно-спиртовый) слой отделяли и далее анализировали на наличие сапонинов методом восходящей ТСХ.

Вещества идентифицировали с известными образцами сапонинов известного строения, выделенных нами ранее из листьев плющей канарского *Hedera canariensis* Willd. [11], крымского *Hedera taurica* Carr. [12] и обыкновенного *Hedera helix* L. [13, 14].

ТСХ-анализ проводили на высокоэффективных пластинках «Sorbfil» («Сорбполимер», Россия) 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. Экстракт гликозидов фитокомплекса и образцы гликозидов известного строения наносили на одну и ту же пластинку для ТСХ. Для элюирования использовали системы растворителей $\text{CHCl}_3\text{--CH}_3\text{OH--H}_2\text{O}$ (100:25:3) и $\text{CHCl}_3\text{--CH}_3\text{OH--25\% водный NH}_3$ (100:40:4). Хроматографировали дважды.

Детектирование тритерпеновых гликозидов осуществляли 0,2% раствором *пара*-оксибензальдегида в 1 М растворе серной кислоты [15]. Хроматограммы после обработки реагентом нагревали до 100°C. Величины R_f сапонинов приведены в табл. 1 (для трех параллельных экспериментов; погрешность определения R_f составляет $\pm(0,01\text{--}0,03)$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Предварительно из фитокомплекса удаляли малополярные вещества (хлорофиллы и другие) двумя способами – путем обработки его гексаном (1 способ) или смесью хлороформ-бензол (2 способ) (рис. 1). Сапонины из остатков извлекали *n*-бутанолом, насыщенным водой. Полученные бутанольные экстракты, по данным ТСХ, идентичны и содержат несколько соединений, обозначенных нами цифрами 1'–2' для стероидных гликозидов и 1–9 для тритерпеновых гликозидов.

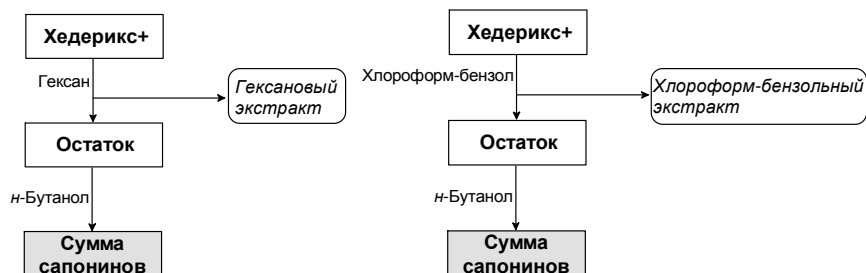
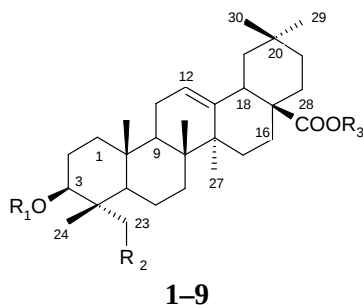


Рис. 1. Схема выделения суммы сапонинов фитокомплекса «Хедерикс+».

Стероидные гликозиды 1' и 2' идентичны по своей хроматографической подвижности 3-О-β-*D*-глюкопиранозидам стигмастерина и β-ситостерина (соответственно). На хроматограммах пятна гликозидов 1' и 2' имеют малиновый и красный цвет.



Гликозид	R ₁	R ₂	R ₃
1	Arapα→	H	H
2	Arapα→	OH	H
3	ˉO ₃ S→	H	H
4	Rhapα-(1→2)-Arapα→	H	H
5	Rhapα-(1→2)-Arapα→	OH	H
6	Arapα→	OH	←βGlc _p -(6←1)-βGlc _p -(4←1)-αRhap
7	ˉO ₃ S→	H	←βGlc _p -(6←1)-βGlc _p -(4←1)-αRhap
8	Rhapα-(1→2)-Arapα→	H	←βGlc _p -(6←1)-βGlc _p -(4←1)-αRhap
9	Rhapα-(1→2)-Arapα→	OH	←βGlc _p -(6←1)-βGlc _p -(4←1)-αRhap

Тритерпеновые сапонины **2**, **5**, **6** и **9** идентичны по своей хроматографической подвижности в различных системах растворителей (табл. 1) и цвету пятен, соответственно, 3-О- α -L-арабинопиранозиду хедерагенина, 3-О- α -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-О- α -L-арабинопиранозиду хедерагенина, 3-О- α -L-арабинопиранозил-28-О- α -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-О- β -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-О- β -D-глюкопиранозиду хедерагенина и 3-О- α -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-О- α -L-арабинопиранозил-28-О- α -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-О- β -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-О- β -D-глюкопиранозиду хедерагенина. Гликозиды хедерагенина на пластинках для ТСХ имеют сине-фиолетовый цвет.

Соединения **3** и **7** представляют собой 3-О-сульфат олеаноловой кислоты и его 28-О- α -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-О- β -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-О- β -D-глюкопиранозильный эфир. Пятна сульфатированных соединений – ярко-розового цвета, появляются на ТСХ-пластинках в первую очередь [10].

Таблица 1

Величины R_f сапонинов, содержащихся в фитокомплексе «Хедерикс+»

Сапонин	Величины R_f сапонинов	
	система $\text{CHCl}_3\text{--CH}_3\text{OH--NH}_3$ (100:40:4)	система $\text{CHCl}_3\text{--CH}_3\text{OH--H}_2\text{O}$ (100:25:3)
1'	0,91	0,97
2'	0,89	0,95
1	0,83	0,91
2	0,75	0,89
3	0,71	0,66
4	0,68	0,89
5	0,53	0,79
6	0,29	0,18
7	0,25	0,07
8	0,21	0,13
9	0,19	0,10

Тритерпеновые гликозиды **1**, **4** и **8** были идентифицированы как 3-О- α -L-арабинопиранозид олеаноловой кислоты, 3-О- α -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-О- α -L-арабинопиранозид олеаноловой кислоты и 3-О- α -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-О- α -L-арабинопиранозил-28-О- α -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-О- β -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-О- β -D-глюкопиранозид олеаноловой кислоты. Пятна гликозидов олеаноловой кислоты на хроматограммах имеют розовый цвет.

В составе фитокомплекса преобладают сапонины, агликоном которых является хедерагенин, так как пятна соответствующих гликозидов на хроматограммах имели наибольшую площадь. Максимальное содержание отмечено для тритерпеновых гликозидов **4** (α -хедерин), **7** (хедерасапонин F) и **9** (хедерасапонин C). Гликозид **9** является доминирующим среди всех сапонинов фитокомплекса. Таким образом, по разнообразию тритерпеновых гликозидов фитокомплекс «Хедерикс+» существенно

не отличается от известных немецких лекарственных препаратов от кашля «Проспан» [5] и «Геделикс» [8, 9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Из фитокомплекса «Хедерикс+» выделена сумма сапонинов и проведен ее ТСХ-анализ в различных системах растворителей. Идентифицированы основные сапонины препарата, среди которых преобладают гликозиды хедерагенина.
2. В сумме сапонинов наибольшее содержание отмечено для 3-О- α -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-О- α -L-арабинопиранозида хедерагенина (α -хедерина), его 28-О- α -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-О- β -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-О- β -D-глюкопиранозилового эфира (хедерасапонина С) и 3-О-сульфат-28-О- α -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-О- β -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-О- β -D-глюкопиранозилового эфира олеаноловой кислоты (хедерасапонина F).
3. По разнообразию тритерпеновых гликозидов фитокомплекс «Хедерикс+» существенно не отличается от лекарственных препаратов «Проспан» и «Геделикс».

Список литературы

1. Hostettmann K. Saponins / K. Hostettmann, A. Marston. – Cambridge: Cambridge University Press, 1995. – 548 p.
2. Зузук Б. М. Плющ выходящий *Hedera helix* L. (аналитический обзор) / Б. М. Зузук, Р. В. Куцук, Л. И. Зузук // Провизор. – 2003. – № 12. – С. 13–14.
3. Розничный рынок препаратов для устранения симптомов простуды и кашля (R05) в России и странах СНГ // Ремедиум. – 2007. – № 8. – С. 62–64.
4. Луценко Ю. О. Маркетингове та фармакоеконімічне дослідження ринку лікарських засобів України на основі плюща звичайного / Ю. О. Луценко, Г. Д. Гасюк, Р. Є. Дармограй // Клініч. фармац., фармакотер. та мед. стандартиз. – 2009. – № 1–2. – С. 170–174.
5. 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.
6. α -Hederin, but not hederacoside C and hederagenin from *Hedera helix*, affects the binding behavior, dynamics, and regulation of β_2 -adrenergic receptors / A. Sieben, L. Prenner, T. Sorkalla [et al.] // Biochemistry. – 2009. – Vol. 48, № 15. – P. 3477–3482.
7. Boltshauser V. Wirkmechanismus von efeu entschlüsselt. Efeusaponine entfalten eine β -adrenerge Wirkung in den Atemwegen / V. Boltshauser // Phytotheraphie. – 2006. – № 4. – S. 20–22.
8. Яковишин Л. А. Комплекс тритерпеновых гликозидов лекарственного препарата Hedelix® / Л. А. Яковишин, В. И. Гришковец // Химия природ. соедин. – 2003. – № 5. – С. 417–418.
9. Визначення тритерпенових глікозидів у препараті «Геделікс» за допомогою тонкошарової хроматографії / Л. О. Яковішин, Г. Л. Кузнецова, М. А. Рубінсон, О. М. Корж // Фармац. журн. – 2006. – № 6. – С. 62–65.
10. Исследование тритерпеновых гликозидов лекарственного препарата проспан® / Л. А. Яковишин, М. А. Вожжова, А. Л. Кузнецова, В. И. Гришковец // Журн. орг. и фарм. химии. – 2005. – Т. 3, вып. 1 (9). – С. 57–59.
11. Тритерпеновые гликозиды *Hedera canariensis* L. 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* / В. И. Гришковец, Д. Ю. Сидоров, Л. А. Яковишин [и др.] // Химия природ. соедин. – 1996. – № 3. – С. 377–383.

12. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* I. Структура таурозида E из листьев *Hedera taurica* / А. С. Шашков, В. И. Гришковец, А. А. Лолойко [и др.] // Химия природ. соедин. – 1987. – № 3. – С. 363–366.
13. Тритерпеновые гликозиды *Hedera helix* I. Структура 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 / В. И. Гришковец, А. Е. Кондратенко, Н. В. Толкачева [и др.] // Химия природ. соедин. – 1994. – № 6. – С. 742–746.
14. Тритерпеновые гликозиды *Hedera helix* III. Структура тритерпеновых сульфатов и их гликозидов / В. И. Гришковец, А. Е. Кондратенко, А. С. Шашков, В. Я. Чирва // Химия природ. соедин. – 1999. – № 1. – С. 87–90.
15. Яковишин Л. А. Детектирующие реагенты для ТСХ тритерпеновых гликозидов / Л. А. Яковишин // Химия природ. соедин. – 2003. – № 5. – С. 419–420.

SAPONINS OF THE PHYTOCOMPLEX HEDERIX+

Yakovishin L. A.¹, Grishkovets V. I.², Korzh E. N.¹

¹Sevastopol State University, Sevastopol, Crimea, Russian Federation

²V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation

E-mail: chemsevntu@rambler.ru

A recently developed the phytocomplex Hederix+ (Vitauct-prom, Russia), containing extracts of common coltsfoot leaves *Tussilago farfara* L. (Asteraceae Bercht. & J. Presl), creeping thyme herb *Thymus serpyllum* L. (Lamiaceae Lindl.) and common ivy leaves *Hedera helix* L. (Araliaceae Juss.). Hederix+ is recommended as an expectorant in the treatment of inflammatory diseases of the respiratory tract.

It is known that different ivy species containing triterpene glycosides. Their presence explains the pharmacological effect of ivy and drugs based on it.

Beforehand a low polar substance (chlorophylls etc.) removed from phytocomplex by treating it with hexane or a mixture of chloroform-benzene. Saponins were extracted from obtained residue by *n*-butanol saturated with water. The butanol extracts were analyzed by TLC. According to TLC they containing several groups of saponins.

Saponins of Hederix+ were identified using authentic samples of triterpene and steroid glycosides of known structure that we isolated from leaves of Canary ivy *Hedera canariensis* Willd., common ivy *Hedera helix* L. and Crimean ivy *Hedera taurica* Carr.

By TLC analysis there were identified oleanolic acid 3-O-sulfate, 3-O-sulfate-28-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- β -D-glucopyranoside, 3-O- α -L-arabinopyranoside, 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-O- α -L-arabinopyranoside and 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.

The hederagenin glycosides are predominant in studying phytocomplex. The highest content was observed for hederagenin 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-O- α -L-arabinopyranoside (α -hederin), oleanolic acid 3-O-sulfate-28-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- β -D-glucopyranoside (hederasaponin F) and 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

(hederasaponin C), with the latter dominating. Moreover, were found hederagenin 3-O- α -L-arabinopyranoside and 3-O- α -L-arabinopyranosyl-28-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- β -D-glucopyranoside.

In addition to triterpene glycosides there were identified two steroid glycosides: stigmasterol and β -sitosterol 3-O- β -D-glucopyranosides.

Keywords: Hederix+, saponins, α -hederin, hederasaponin C, hederasaponin F, TLC.

References

1. Hostettmann K., Marston A., *Saponins*, 548 p. (Cambridge University Press, Cambridge, 1995).
2. Zuzuk B.M., Kutsik R.V., Zuzuk L.I., Ivy creeping *Hedera helix* L. (analytical review), *Provizor*, 12, 13 (2003). (in Russ.).
3. The retail market for drugs to eliminate the symptoms of colds and cough (R05) in Russia and CIS countries, *Remedium*, 8, 62 (2007). (in Russ.).
4. Lutsenko Yu.O., Gasjuk A.D., Darmohray R.Ye., Marketing and pharmacoeconomic investigations of the medicines, based on the *Hedera helix* content, in ukrainian market, *Clinic. Pharm., Pharmacother. & Med. Standardiz.*, 1–2, 170 (2009). (in Ukr.).
5. *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.).
6. Sieben A., Prenner L., Sorkalla T., Wolf A., Jakobs D., Runkel F., Häberlein 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*, **48** (15), 3477 (2009).
7. Boltshauser V. Wirkmechanismus von efeu entschlüsselt. Efeusaponine entfalten eine β -adrenerge wirkung in den atemwegen, *Phytotheraphie*, 4, 20 (2006).
8. Yakovishin L. A., Grishkovets V.I., Triterpene glycosides of the medicinal preparation Hedelix®, *Khim. Prirod. Soedin.*, 5, 417 (2003). (in Russ.).
9. 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.*, 6, 62 (2006). (in Ukr.).
10. Yakovishin L. A., Vozzhova M. A., Kuznetsova A. L., Grishkovets V.I., Study of triterpene glycosides of the drug prospan®, *Zhurn. Org. Farm. Khim.*, **3** (1), 57 (2005). (in Russ.).
11. Grishkovets V. I., Sidorov D. Yu., Yakovishin L. A., Arnautov N. N., Shashkov A. S., Chirva V.Ya., Triterpene glycosides of *Hedera canariensis* I. Structures of glycosides L-A, L-B₁, L-B₂, L-C, L-D, L-E₁, L-G₁, L-G₂, L-G₃, L-G₄, L-H₁, L-H₂, and L-I₁ from the leaves of *Hedera canariensis*, *Khim. Prirod. Soedin.*, 3, 377 (1996). (in Russ.).
12. Shashkov A. S., Grishkovets V. I., Loloyko A. A., Chirva V. Ya., Triterpene glycosides of *Hedera taurica* I. Structure of tauroside E from the leaves of *Hedera taurica*, *Khim. Prirod. Soedin.*, 3, 363 (1987). (in Russ.).
13. Grishkovets V.I., Kondratenko A.E., Tolkacheva N.V., Shashkov A.S., Chirva V.Ya., Triterpene glycosides of *Hedera helix* I. The structures of glycosides L-1, L-2a, L-2b, L-3, L-4a, L-4b, L-6a, L-6b, L-6c, L-7a, and L-7b from the leaves of common ivy, *Khim. Prirod. Soedin.*, 6, 742 (1994). (in Russ.).
14. Grishkovets V. I., Kondratenko A. E., Shashkov A. S., Chirva V. Ya., Triterpene glycosides of *Hedera helix* III. Structure of the triterpene sulfates and their glycosides, *Khim. Prirod. Soedin.*, 1, 87 (1999). (in Russ.).
15. Yakovishin L. A., Developers for TLC of triterpene glycosides, *Khim. Prirod. Soedin.*, 5, 419 (2003). (in Russ.).