

ТРИТЕРПЕНОВЫЕ ГЛИКОЗИДЫ ЦВЕТОЧНЫХ БУТОНОВ И СТЕБЛЕЙ КУССОНИИ МЕТЕЛЬЧАТОЙ *CUSSONIA PANICULATA*

Довгий И. И., Гришковец В. И., Качала В. В., Шашков А. С.

В наших предыдущих публикациях [1- 5] описано выделение и установление строения тритерпеновых гликозидов из листьев куссонии метельчатой *Cussonia paniculata* Eckl. et Zeih. - растения семейства аралиевых (*Araliaceae* Juss.). Целью настоящей статьи является продолжение изучения гликозидного состава различных органов этого растения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Цветочные бутоны и стебли *Cussonia paniculata* были получены из Ботанического сада Ботанического института РАН (г. Санкт-Петербург). При предварительном анализе спиртовых экстрактов с использованием двумерной ТСХ хроматографии [6] было показано, что в стеблях *Cussonia paniculata* наряду с нейтральными бисдесмозидными тритерпеновыми гликозидами присутствуют кислые гликозиды, в то же время не обнаружены ацилированные гликозиды, в бутонах наряду с нейтральными бисдесмозидными тритерпеновыми гликозидами были обнаружены ацилированные гликозиды и в следовых количествах кислые гликозиды.

Бутоны (12 г) и стебли (15,5 г) высушили, измельчили и обезжирили бензолом (3 порции по 200 мл в обоих случаях). Из бутонов гликозиды экстрагировали 80% изопропиловым спиртом (3 порции по 250 мл). При упаривании экстракта было получено 1,1 г сухого остатка. Для очистки суммы тритерпеновых гликозидов остаток растворили в бутаноле (300 мл) и промыли водой (3 порции по 150 мл), при упаривании бутанольного слоя получили 950 мг очищенной суммы тритерпеновых гликозидов. Для выделения индивидуальных тритерпеновых гликозидов очищенную сумму разделяли на силикагеле L при градиентном элюировании системой хлороформ-изопропиловый спирт (6:1→1:1), насыщенной водой. В результате были получены 10 фракций тритерпеновых гликозидов, обозначенных от А до J в порядке элюирования из хроматографической колонки (здесь и далее Fl (flowers) обозначает бутоны, а St (stems) - стебли). Фракции Fl-A (67 мг), Fl-B (25

мг), Fl-C (62 мг), Fl-E (153 мг), Fl-G (115 мг), Fl-H (43 мг), Fl-I (80 мг) и Fl-J (93 мг) представлялись индивидуальными веществами при ТСХ-анализе в различных системах растворителей. Фракции близких по полярности гликозидов Fl-D (68 мг) и Fl-F (240 мг) были разделены на микросферическом силикагеле «Silpearl» при элюировании системами растворителей хлороформ-изопропиловый спирт (4:1) и (3:1), насыщенными водой, в результате чего были получены гликозиды Fl-D₁ (30 мг), Fl-D₂ (35 мг), Fl-F₁ (146 мг) и Fl-F₂ (90 г).

Из стеблей тритерпеновые гликозиды также экстрагировали 80% изопропиловым спиртом (3 порции по 250 мл). Для очистки суммы гликозидов растворитель отгоняли, а сухой остаток (1,05 г) растворяли в бутаноле (300 мл) и промывали 5%-ным водным аммиаком (3 порции по 150 мл). При упаривании бутанольного слоя было получено 762 мг очищенной суммы тритерпеновых гликозидов. Разделение суммы гликозидов проводилось на силикагеле L при градиентном элюировании системой растворителей хлороформ-изопропиловый спирт (6:1→1:1), насыщенной водой. В результате было получено 9 фракций тритерпеновых гликозидов: St-A (63 мг), St-B (35 мг), St-C (43 мг), St-D (46 мг), St-E (213 мг), St-F (56 мг), St-G (62 мг), St-H (145 мг), St-I (93 мг). Фракция St-I была разделена на нейтральный гликозид St-I₁ (38 мг) и кислый гликозид St-I₂ (53 мг) на основном карбонате магния при элюировании системой растворителей хлороформ-изопропиловый спирт (1:1), насыщенной водой.

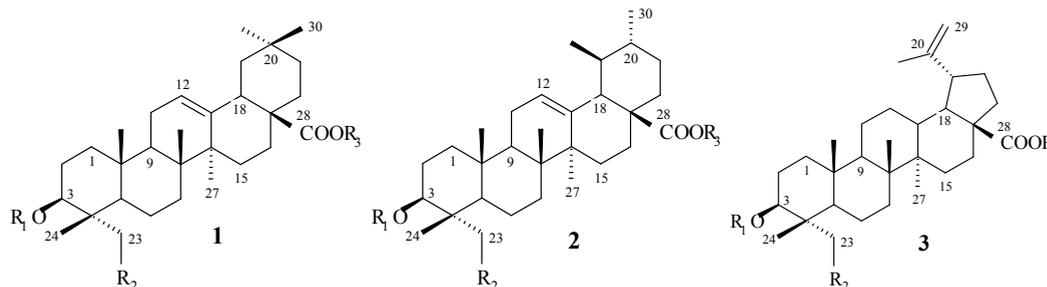
Химические методы установления строения тритерпеновых гликозидов (кислотный, щелочной и мягкий щелочной гидролиз описаны в [2]). ЯМР-спектры получены на приборе Bruker DRX-500 (500 МГц для ¹H и 125 МГц для ¹³C) в дейтеропиридине.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении спектров ЯМР ¹³C было показано, что, как и в листьях, многие гликозиды представляют собой смеси изомерных хроматографически неразделимых гликозидов. Гликозиды Fl-A₁, Fl-A₂, Fl-B, Fl-C, Fl-D_{1a}, Fl-D_{1b}, Fl-D_{2a}, Fl-D_{2b}, Fl-E_{1a}, Fl-E_{1b}, Fl-E_{2a}, Fl-E_{2b}, Fl-F₁, Fl-F_{2a}, Fl-F_{2b}, Fl-G₁, Fl-G₂, Fl-H, Fl-I₁, Fl-I₂, Fl-J, выделенные из бутонов, были идентичны выделенным ранее из листьев *Cussonia paniculata*, их строение было подтверждено результатами кислотного, щелочного и мягкого щелочного гидролиза, а также идентификацией с ранее выделенными гликозидами по ТСХ. Кроме того, строение всех гликозидов было подтверждено сравнением величин химических сдвигов атомов ¹³C в спектре ЯМР ¹³C с химическими сдвигами атомов ¹³C гликозидов, выделенных ранее. Соотношения изомерных гликозидов во фракциях также были близки к таковым для гликозидов, выделенных из листьев. Структуры гликозидов, выделенных из бутонов, приведены в таблице 1. Строение известных гликозидов St-A, St-D, St-F, St-G, St-H, St-I, St-J, выделенных из стеблей, было установлено аналогично гликозидам, выделенным из бутонов. Структуры гликозидов, выделенных из стеблей, приведены в таблице 2.

Установление строения гликозидов St-B, St-C и St-E производилось следующим образом. В кислотном гидролизате гликозидов St-B и St-C были идентифицированы глюкоза и агликон, имеющий одинаковую с хедерагенином

хроматографическую подвижность, но отличающийся светло-коричневой окраской хроматографической зоны при детектировании фосфорновольфрамовой кислотой (зоны гликозидов хедерагенина имеют синюю окраску). При щелочном гидролизе гликозида был получен агликон, что указывало на отсутствие углеводной цепи по атому С-3 агликона. В спектрах ЯМР ^{13}C гликозидов по ранее опубликованным данным [2] были отнесены сигналы 23-гидроксиурсоловой кислоты. В качестве углеводных фрагментов по данным спектров ЯМР ^{13}C в St-B был определен β -D-глюкопиранозильный фрагмент, а в St-C - β -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-глюкопиранозильный фрагмент. На основании этих данных гликозид St-B является новым 28-O- β -D-глюкопиранозидом 23-гидроксиурсоловой кислоты, а St-C - 28-O- β -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-глюкопиранозидом 23-гидроксиурсоловой кислоты, и оба этих гликозида являются новыми веществами. Данные спектров ЯМР ^{13}C гликозидов St-B и St-C приведены в таблицах 3 и 4. При кислотном гидролизе гликозида St-E в его составе были определены глюкоза, рамноза и агликон, идентичный по ТСХ агликону гликозидов St-B и St-C. Прогенин, полученный при щелочном гидролизе, идентичен самому агликону. В спектре ЯМР ^{13}C St-E по литературным данным были отнесены сигналы α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 4)-O- β -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-глюкопиранозильного фрагмента [7].



При анализе агликонной части спектра ЯМР ^{13}C гликозида St-E было найдено, что количество сигналов существенно больше, чем должно наблюдаться для одного агликона. Отнесения, выполненные по [2, 3] показали, что агликонами являются хедерагенин и его изомер 23-гидроксиурсоловая кислота в мольном отношении 1:2, что следовало из отношения интенсивностей сигналов одних и тех же атомов углерода. Исходя из вышеизложенного, гликозид St-E является не индивидуальным веществом, а смесью двух изомерных хроматографически неразделимых гликозидов, обозначенных St-E₁ и St-E₂ и представляющих собой 28-O- α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 4)-O- β -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-глюкопиранозиды хедерагенина и 23-гидроксиурсоловой кислоты, соответственно. Это известные вещества - St-E₁ ранее выделялся из стеблей *Cussonia barbery* [8], а St-E₂ идентичен Fl-F₁, а также гликозиду G₂ из листьев *Cussonia paniculata* [2]. Данные спектров ЯМР ^{13}C гликозидов St-E₁ и St-E₂ приведены в таблицах 3 и 4.

Таблица 1.

Структуры тритерпеновых гликозидов из бутонов *Cussonia paniculata*

Гликозид	Тип агликона	R ₁	R ₂	R ₃
Fl-A ₁	1	Ara→	H	H
Fl-A ₂	2	Ara→	H	H
Fl-B	1	Ara→	OH	H
Fl-C	1	Glc→ ² Ara→	H	H
Fl-D _{1a}	3	H	OH	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ² ←OAc
Fl-D _{1b}	3	H	OH	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ³ ←OAc
Fl-D _{2a}	1	H	OH	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ² ←OAc
Fl-D _{2b}	1	H	OH	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ³ ←OAc
Fl-E _{1a}	1	Ara→	H	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ² ←OAc
Fl-E _{1b}	1	Ara→	H	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ³ ←OAc
Fl-E _{2a}	2	Ara→	H	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ² ←OAc
Fl-E _{2b}	2	Ara→	H	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ³ ←OAc
Fl-F ₁	2	H	OH	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
Fl-F _{2a}	1	Ara→	OH	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ² ←OAc
Fl-F _{2b}	1	Ara→	OH	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ³ ←OAc
Fl-G ₁	1	Ara→	H	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
Fl-G ₂	2	Ara→	H	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
Fl-H	1	Ara→	OH	←Glc ⁶ ← ¹ Glc ⁴ ←Rha
Fl-I ₁	1	Glc→ ² Ara→	H	←Glc ⁶ ← ¹ Glc ⁴ ←Rha ² ←OAc
Fl-I ₂	1	Glc→ ² Ara→	H	←Glc ⁶ ← ¹ Glc ⁴ ←Rha ³ ←OAc
Fl-J	1	Glc→ ² Ara→	H	←Glc ⁶ ← ¹ Glc ⁴ ←Rha

Таблица 2.

Структуры тритерпеновых гликозидов из стеблей *Cussonia paniculata*

Гликозид	Тип агликона	R ₁	R ₂	R ₃
St-A	1	Ara→	OH	H
St-B*	2	H	OH	←Glc
St-C*	2	H	OH	←Glc ⁶ ←Glc
St-D	1	Ara→	OH	←Glc ⁶ ←Glc
St-E ₁	1	H	OH	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
St-E ₂	2	H	OH	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
St-F	1	GlcUA→	H	H
St-G	1	GlcUA→	OH	H
St-H	1	Ara→	OH	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
St-I ₁	1	Glc→ ² Ara→	OH	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
St-I ₂	1	Glc→ ² GlcUA→	H	←Glc

Примечание: условные обозначения Glc - β-D-глюкопиранозил, Ara - α-L-арабинопиранозил, GlcUA - β-D-глюкуронопиранозил, Rha - α-L-рамнопиранозил. * - обозначены новые гликозиды.

Таблица 3.

Химические сдвиги (δ , м.д., 0 - ТМС; C_5D_5N) атомов ^{13}C агликонных частей гликозидов St-B, St-C из стеблей *Cussonia paniculata*

C-атом	St-B, St-C, St-E ₂	St-E ₁	C-атом	St-B, St-C, St-E ₂	St-E ₁
1	39,1	38,9	16	24,7	23,5
2	27,6	27,7	17	48,7	47,1
3	73,7	73,6	18	53,4	41,6
4	42,7	42,6	19	39,5	46,2
5	48,6	48,6	20	39,2	30,7
6	18,7	18,7	21	31,0	34,1
7	33,3	32,9	22	36,9	32,4
8	40,3	39,8	23	68,0	67,8
9	48,2	48,2	24	13,2	13,1
10	37,2	37,4	25	16,4	16,2
11	23,9	23,9	26	17,9	17,5
12	126,2	122,8	27	23,9	26,1
13	138,6	144,3	28	176,6	176,2
14	42,9	42,1	29	17,5	33,2
15	28,9	28,2	30	21,4	23,6

Таблица 4.

Химические сдвиги (δ , м.д., 0 - ТМС; C_5D_5N) атомов ^{13}C углеводных частей гликозидов St-B, St-C из стеблей *Cussonia paniculata*

C-атом	Гликозид		
	St-B	St-C	St-E ₁ , St-E ₂
	-GLC	-GLC-	-GLC-
1	95,9	95,8	95,9
2	74,1	73,7	73,9
3	78,8	78,8	78,7
4	71,0	71,3	70,8
5	79,1	78,1	78,1
6	62,1	69,9	69,5
		-GLC	-GLC-
1		105,1	104,8
2		75,2	75,2
3		78,2	76,6
4		71,7	78,5
5		78,3	77,2
6		62,9	61,3
			-GLC
1			102,9
2			72,6
3			72,5
4			73,8
5			70,5
6			18,5

Проведенное исследование показало, что содержание тритерпеновых гликозидов в стеблях и цветочных бутонах меньше, чем в листьях. При этом в стеблях *Cussonia paniculata* не обнаружены ацилированные гликозиды. В бутонах, как и в листьях, преобладают ацетилированные гликозиды, но не выделены кислые гликозиды, наличие следовых количеств которых было определено по ТСХ. В бутонах преобладающими являются гликозиды олеаноловой кислоты. В стеблях - гликозиды хедерагенина, а олеаноловая кислота входит в состав лишь двух кислых гликозидов. В стеблях не обнаружены гликозиды урсоловой и 23-гидроксипетулиновой кислоты, найденные в листьях и бутонах. Основным гликозидом во всех изученных органах является 28-O- α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 4)-O- β -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-глюкопиранозид 23-гидроксиурсоловой кислоты.

ВЫВОДЫ

1. В результате проведенного исследования впервые изучен состав тритерпеновых гликозидов цветочных бутонов и стеблей *Cussonia paniculata*.
2. Установлено строение 21 гликозида из бутонов и 11 гликозидов из стеблей *Cussonia paniculata*, 2 из которых являются новыми.
3. Показано качественное различие в гликозидном составе бутонов и стеблей, также указано на близость гликозидного состава листьев и цветочных бутонов этого растения.

Список литературы

1. Довгий И. И., Гришковец В. И. Тритерпеновые гликозиды листьев *Cussonia paniculata*// Учёные записки ТНУ. - 2005. - Т. 18 (58), №2. - С. 38-42.
2. Довгий И. И., Гришковец В. И., Качала В. В., Шашков А. С. Тритерпеновые гликозиды *Cussonia paniculata*. I. Выделение и установление строения гликозидов А, В₁, В₂, С, D, G₂, Н₁ и Н₂// Химия природ. соедин. - 2005. - № 2. - С. 160-163.
3. Гришковец В. И., Довгий И. И., Качала В. В., Шашков А. С. Тритерпеновые гликозиды *Cussonia paniculata*. II. Ацетилированные гликозиды из листьев *Cussonia paniculata*// Химия природ. соедин. - 2005. - № 4. - С. 351-356.
4. Довгий И. И., Гришковец В. И., Качала В. В., Шашков А. С. Тритерпеновые гликозиды *Cussonia paniculata*. III. Выделение и установление строения гликозидов I₁, I₂, J_{1a}, J_{1b}, J₂, K, L₁ и L₂ из листьев *Cussonia paniculata*// Химия природ. соедин. - 2006. - № 2. - С. 149-152.
5. Довгий И. И., Гришковец В. И., Качала В. В., Шашков А. С. Использование методов ЯМР-спектроскопии для установления строения тритерпеновых гликозидов *Cussonia paniculata*// Учёные записки ТНУ. - 2006. - Т. 19 (58), № 1. - С. 141-146.
6. Гришковец В. И. Двумерная тонкослойная хроматография в анализе тритерпеновых гликозидов // Химия природ. соедин. - 2001. - № 1. - С. 53-55.
7. Harinantenaina L., Kasai R., Yamasaki K. Ent-Kauran Diterpenoid Glycosides from the leaves of *Cussonia racemosa*, a Malagasy Endemic Plant// Chem. Pharm. Bull. - 2002. - V. 50, №2. - P. 268-271.
8. Duboiss M. A., Ilyas M., Wagner H. Cussonosides A and B, two Triterpene-saponins from *Cussonia barteryi*// Planta Medica. - 1986. - V. 2. - P. 80-83.

Поступила в редакцию 14.11.2006 г.