

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 11 (77). 2025. № 4. С. 273–279.

УДК 547.918:543.422:582.5/.9

DOI 10.29039/2413-1725-2025-11-4-273-279

ТРИТЕРПЕНОВЫЕ ГЛИКОЗИДЫ ARALIACEAE.

III. ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В УСТАНОВЛЕНИИ ЧАСТИЧНОЙ СТРУКТУРЫ ГЛИКОЗИДОВ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА АРАЛИЕВЫЕ

Гришковец В. И.

*Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение)
ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», Симферополь, Россия
E-mail: vladgri56@yandex.ru*

В статье рассмотрены химические методы (полный и частичный кислотный гидролиз, жесткий и мягкий щелочной гидролиз, метилирование диазометаном и боргидридное восстановление) в установлении частичной структуры тритерпеновых гликозидов растений семейства Аралиевых. Показаны преимущества данных методов (малое количество вещества и времени для анализа) и важность получаемой структурной информации для последующего установления полной структуры с использованием методов спектроскопии ЯМР.

Ключевые слова: Araliaceae, тритерпеновые гликозиды, химические методы анализа.

ВВЕДЕНИЕ

В предыдущих статьях [1, 2] были рассмотрены способы качественной первичной оценки растений семейства Аралиевые на содержание различных групп тритерпеновых гликозидов, способы подготовки растительного сырья к извлечению суммы тритерпеновых гликозидов, методы экстракции и различные варианты препаративного хроматографического разделения сумм гликозидов на индивидуальные компоненты. В настоящей статье обсуждаются химические методы в установлении частичной структуры тритерпеновых гликозидов Аралиевых.

Классические химические методы в установлении структуры углеводов (моно-олиго- и полисахаридов) такие как периодатное окисление и исчерпывающее метилирование несмотря на ценность получаемой информации практически не используются в настоящее время в изучении структур природных тритерпеновых гликозидов. Это связано с тем, что данные методы требуют значительного количества гликозида для анализа (сотни миллиграммов) и значительного времени анализа, что в настоящее время, особенно при выделении миорных компонентов растений, является неприемлемым. Поэтому в настоящей статье рассматриваются лишь те химические методы, которые требуют минимального (миллиграммового) количества вещества для анализа и являются экспресс-методами, а именно методы полного и частичного кислотного гидролиза, полного и частичного (мягкого)

щелочного гидролиза, метилирования диазометаном и боргидридного восстановления.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Полный кислотный гидролиз осуществляли путем добавления к 1 мг гликозида 0,1 мл диоксана и 0,1 мл 2 н. водного раствора трифторуксусной кислоты и нагревания 2 ч. при 100 °C. Агликон извлекали 0,5 мл бензола и полученный экстракт анализировали ТСХ в системе бензол-ацетон (4:1) или хлороформ-метанол-25 % водный аммиак (100:20:1) с заведомыми образцами агликонов. Сахара в гидролизате идентифицировали ТСХ в системах хлороформ-метанол-аммиак (100:40:10) с заведомыми образцами рамнозы, арабинозы, глюкозы, галактозы, ксилозы, глюкуроновой кислоты и других моносахаридов.

Частичный кислотный гидролиз осуществляли путем добавления к 1 мг гликозида 0,1 мл диоксана, 0,1 мл 2 н. водного раствора трифторуксусной кислоты и нагревания 15–20 мин. при 100 °C. Прогенины извлекали н-бутанолом, насыщенным водой, и бутанольный экстракт анализировали ТСХ с заведомыми образцами гликозидов в системе хлороформ-метанол-вода (100:40:7).

Щелочной гидролиз осуществляли путем добавления к 2 мг гликозида 0,2 мл 10 % раствора KOH в смеси вода-метанол (1:1) и нагревания при 100 °C в течение 2 ч. Полученный раствор нейтрализовали 1 н. водным раствором H₂SO₄ до слабокислой реакции среды и экстрагировали прогенины н-бутанолом. Бутанольный экстракт анализировали по ТСХ в системе хлороформ-метанол-вода (100:40:7).

Мягкий щелочной гидролиз (аммонолиз) проводили действием на 2 мг гликозида 0,2 мл 10 % водно-спиртовым (1:1) раствором аммиака при 20 °C в течение 2–3 ч. Раствор нейтрализовали катионитом КУ-2-8 в H⁺-форме с последующей фильтрацией. Фильтрат анализировали ТСХ в системе хлороформ-метанол-вода (100:40:7).

Метилирование свободных карбоксильных групп гликозидов эфирным раствором диазометана проводили путем растворения гликозида в метаноле с последующим добавлением сухого эфирного раствора диазометана до сохранения желтой окраски (избыток диазометана) с последующей отгонкой эфира и анализом продуктов метилирования методом ТСХ. Эфирный раствор диазометана получали по методике [3] путем постепенного прибавления N-нитрозо-N-метилмочевины к водному 20 %-ному раствору гидроксида калия со слоем диэтилового эфира. Эфирный раствор диазометана отделяли декантацией, сушили твердым гидроксидом калия и далее добавляли к спиртовому раствору гликозида.

Восстановление альдегидной группы агликонной части гликозидов до спиртовой группы проводили боргидридом натрия [4] следующим образом: 2 мг гликозида растворяли в 1 мл смеси вода-метанол (1:1), добавляли 10–20 мг боргидрида натрия, выдерживали при комнатной температуре около часа (контроль ТСХ), затем избыток боргидрида натрия разлагали добавлением 2 мл 5 % водного раствора уксусной кислоты и экстрагировали продукт восстановления бутанолом.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на поразительные успехи современной одно- и двумерной спектроскопии ЯМР (на приборах от 300 до 900 МГц), исследование таких сложных природных соединений как тритерпеновые гликозиды, содержащие агликонную часть из тридцати углеродных атомов и одну или две углеводные цепи с общим числом углеводных фрагментов, доходящих до десятка, когда в итоге общее число С-атомов может достигать сотни, а атомов водорода двухсот, то непосредственный анализ даже полного комплекта одно- и двумерных спектров ЯМР без привлечения данных о частичной структуре, полученных химическими методами, представляется просто невозможным. Поэтому химические методы, дающие ценную информацию и требующие минимального количества исходных веществ еще долгие годы будут оставаться главными в определении частичной структуры гликозидов в предшествии установлению (доказательству или подтверждению) полной структуры с помощью спектроскопии ЯМР.

В настоящей работе рассмотрены химические, главным образом гидролитические, методы, используемые лишь для получения первичной информации о структурных единицах гликозидов и в большинстве случаев для установления предварительных структур гликозидов без определения типов и конфигураций гликозидных связей.

Полный кислотный гидролиз использовали для установления агликонного и моносахаридного состава гликозидов путем идентификации продуктов гидролиза с заведомыми образцами агликонов и моносахаридов (рис. 1).

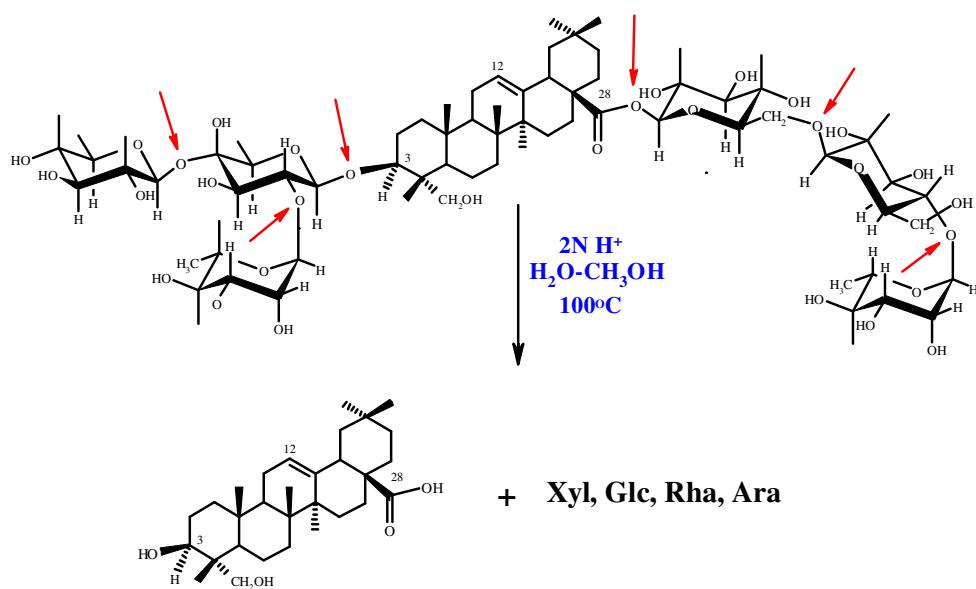


Рис. 1. Схема полного кислотного гидролиза гексаозида хедерагенина.

Частичный кислотный гидролиз использовался для установления последовательности соединения моносахаридных остатков в гликозидах путем идентификации или выделения продуктов частичного гидролиза (рис. 2).

Обычно метод частичного кислотного гидролиза применяется лишь к монодесмозидным гликозидам с углеводной цепью по С-3 атому агликона, поскольку в случае гликозидов с двумя углеводными цепями состав продуктов частичного гидролиза оказывается слишком сложным.

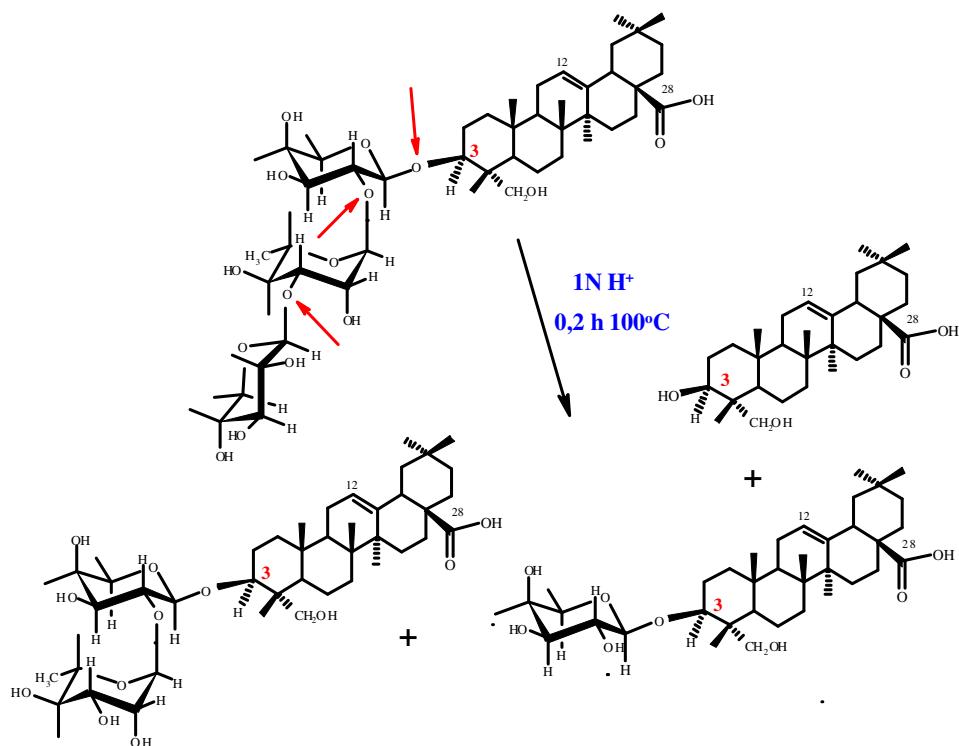


Рис. 2. Схема частичного кислотного гидролиза триозида хедерагенина.

Наиболее успешно частичный кислотный гидролиз осуществляется, когда концевыми сахарами являются 6-дезоксисахар (рамноза) или пентозы (арabinоза или ксилоза), а внутренние сахара представлены гексозами (глюкоза, галактоза) или глюкуроновой кислотой. Это объясняется хорошо известной относительной устойчивостью гликозидных связей и тем, что обычно анализируются прогенины (фрагменты гликозидов с агликонной частью).

Щелочной гидролиз использовался для расщепления ацилгликозидной связи в исследуемых бисдесмозидных гликозидах и превращения их таким образом в монодесмозидные прогенины, которые или идентифицировались с заведомыми образцами или подвергались дальнейшему установлению строения (рис. 3).

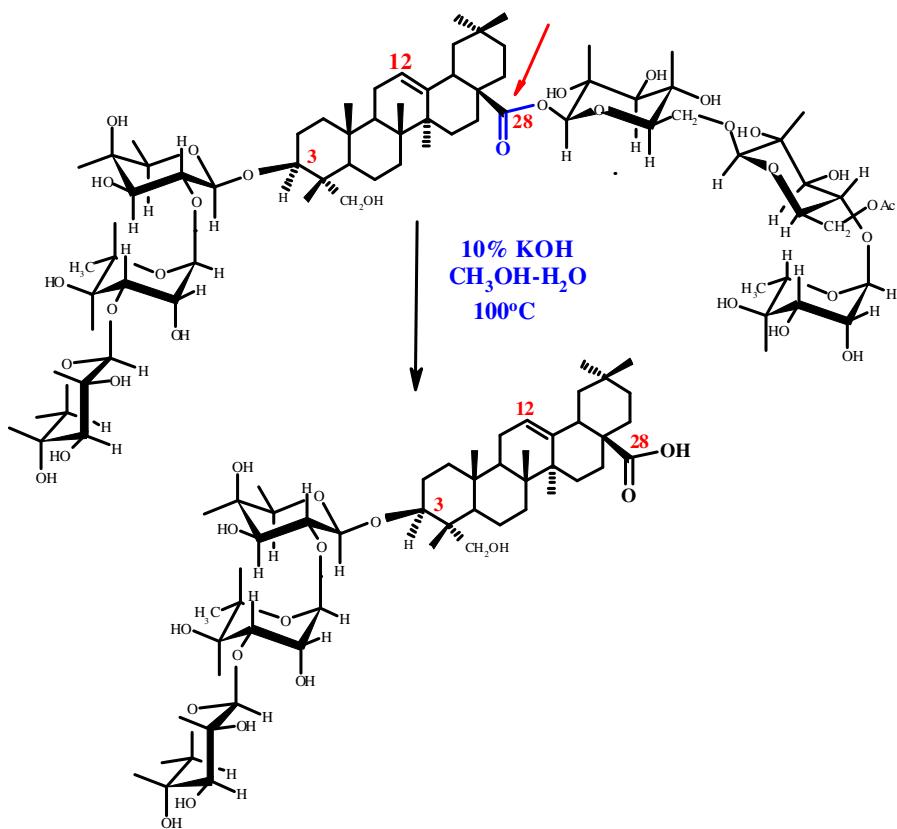


Рис. 3. Схема щелочного гидролиза гексаозида хедерагенина.

Отщеплявшийся при щелочном гидролизе углеводный фрагмент не анализируется, поскольку он с трудом выделяется и подвергается в сильнощелочных условиях различным превращениям. Мягкий щелочной гидролиз водно-спиртовым раствором бикарбоната натрия или аммиака используют для избирательного удаления нативных сложноэфирных (обычно ацетильных) групп при сохранении ацилгликозидной связи.

Из прочих химических методов используется метилирование диазометаном для доказательства наличия свободных карбоксильных групп в составе гликозида в агликонной части или в виде остатка глюкуроновой кислоты, а также боргидридное восстановление альдегидной группы агликонной части для превращения гликозидов гипсогенина в соответствующие хорошо известные гликозиды хедерагенина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Рассмотрены химические методы (полный и частичный кислотный гидролиз, жесткий и мягкий щелочной гидролиз, метилирование диазометаном и

- боргидридное восстановление) в установлении частичной структуры тритерпеновых гликозидов.
2. Показаны преимущества данных методов (малое количество вещества и времени для анализа) и важность получаемой структурной информации.

Список литературы

1. Гришковец В. И. Тriterpenовые гликозиды Araliaceae. I. Методы предварительного анализа тритерпеновых гликозидов растений семейства Аралиевые / В. И. Гришковец // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия. – 2025. – Т. 11 (77), № 3. – С. 273–282.
2. Гришковец В. И. Тriterpenовые гликозиды Araliaceae. II. Подготовка растительного сырья, выделение сумм гликозидов, их очистка и разделение на индивидуальные компоненты / В. И. Гришковец // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия. – 2025. – Т. 11 (77), № 3. – С. 283–289.
3. Общий практикум по органической химии / Под ред. А. Н. Коста. – М.: Мир, 1965. – 532 с.
4. Малыцева Н. Н. Борогидрид натрия: Свойства и применение / Н. Н. Малыцева, В. С. Хайн. – М.: Наука, 1985. – 207 с.

TRITERPENE GLUCOSIDES OF ARALIACEAE. III. CHEMICAL METHODS IN DETERMINING THE PARTIAL STRUCTURE OF GLUCOSIDES FROM PLANTS OF THE ARALIACEAE FAMILY

Grishkovets V. I.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation
E-mail: vladgri56@yandex.ru*

The article discusses chemical methods (complete and partial acid hydrolysis, hard and soft alkaline hydrolysis, diazomethane methylation, and borohydride reduction) for establishing the partial structure of triterpene glycosides from Araliaceae plants. The advantages of these methods (low amount of material and time for analysis) and the importance of the structural information obtained for subsequent determination of the complete structure using NMR spectroscopy methods are shown.

Despite the amazing successes of modern one- and two-dimensional NMR spectroscopy (on instruments from 300 to 900 MHz), the study of such complex natural compounds as triterpene glycosides containing an aglycone part of thirty carbon atoms and one or two carbohydrate chains with a total number of carbohydrate fragments reaching up to a dozen, when as a result, the total number of C-atoms are hundreds of atoms and two hundred hydrogen atoms, then direct analysis of even a complete set of one- and two-dimensional NMR spectra without using data on the partial structure obtained by chemical methods is simply impossible.

Therefore, chemical methods that provide valuable information and require a minimal amount of starting materials will remain the main methods for determining the partial

structure of glycosides in the years to come, prior to the establishment (proof or confirmation) of the complete structure using NMR spectroscopy.

This work discusses chemical methods, mainly hydrolytic methods, which are used only to obtain initial information about the structural units of glycosides and, in most cases, to establish the preliminary structures of glycosides without determining the types and configurations of glycosidic bonds.

Keywords: Araliaceae, triterpene glycosides, chemical methods of analysis.

References

1. Grishkovets V. I. Triterpene glycosides of Araliaceae. I. Preliminary analysis methods of Araliaceae plants triterpene glycosides, *Scientific notes of the Crimean Federal University named after V. I. Vernadsky. Biology. Chemistry*, **11** (3), 273 (2025). (in Russ.).
2. Grishkovets V. I. Triterpene glycosides of Araliaceae. II. Preparation of plant materials, isolation of glycoside sums, their purification and separation into individual components, *Scientific notes of the Crimean Federal University named after V. I. Vernadsky. Biology. Chemistry*, **11** (3), 283 (2025). (in Russ.).
3. *General Organic Chemistry Workshop*, 680 p. (Mir, Moscow, 1965). (in Russ.).
4. Maltseva N. N., Khain V. S. *Sodium borohydride: Properties and application*, 207 p. (Nauka, Moscow, 1985) (in Russ.).