

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНЫ  
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ им. А.В. БОГАТСКОГО

На правах рукописи

ТОЛКАЧЕВА Наталья Васильевна

УДК 547.918.

ТРИТЕРПЕНОВЫЕ ГЛИКОЗИДЫ ЛИСТЬЕВ ПЛОЩА КРЫМСКОГО  
*HEDERA TAURICA* CARR.

02.00.10. – Биоорганическая химия, химия природных  
и физиологически активных веществ

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук



00825687 (-)

В 26 418

Работа выполнена на кафедре органической химии Симферопольского госуниверситета им. М.В. Фрунзе в лаборатории органических природных соединений.

Научный руководитель - кандидат химических наук,  
доцент В.И. ГРИШКОВЕЦ

Научный консультант - доктор химических наук,  
вед. н. сотр. А.С. ШАШКОВ

Официальные оппоненты - доктор химических наук,  
профессор Т.И. ДАВИДЕНКО  
- кандидат химических наук,  
ст.н. сотр. И.В. ДОВГАНЬ

Ведущая организация - Киевский государственный университет им. Т.Г. Шевченко.

Защита состоится "18" сентября 1993 года в 10<sup>00</sup> ч.  
на заседании специализированного Совета Д.016.58.02 по химическим наукам в Физико-химическом институте им. А.В. Богатского АН Украины по адресу 270080, г. Одесса, Черноморская дорога, 86.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Физико-химического института им. А.В. Богатского АН Украины.

Автореферат разослан "23" сентября 1992 года.

Ученый секретарь специализированного

Совета, кандидат химических наук

*Л.А. ЛИТВИНОВА*  
Л.А. ЛИТВИНОВА  
АН УРС

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Тритерпеновые гликозиды уже в течение трех десятилетий являются объектом пристального внимания химиков, биологов и фармакологов. Эти вещества обладают широким спектром физиологического действия на организм. Однако возможности создания на их основе лекарственных препаратов реализуются не в полной мере из-за возникающих биохимических, интродукционных и ресурсных вопросов. Для их решения необходимо знание химической структуры тритерпеновых гликозидов растений.

Растения рода плющ (сем. Аралиевые), содержащие тритерпеновые гликозиды, издавна применяли в народной медицине. Но недостаток структурной информации, касающейся, в частности, индивидуальных гликозидов плюща крымского (*Hedera taurica* Carr.), тормозит использование этих соединений в качестве лекарственных препаратов.

Цель работы: Изучение комплекса тритерпеновых гликозидов листьев плюща крымского *Hedera taurica* Carr., сем. Araliaceae, разработка методов выделения и разделения индивидуальных веществ, доказательство их строения и выявление биологической активности выделенных соединений как перспективных физиологически активных лекарственных препаратов.

Научная новизна и практическая значимость. Показано, что плющ крымский является источником тритерпеновых гликозидов  $\beta$ -амиринового ряда и сульфатированных тритерпеноидов. Из листьев этого растения выделено 20 соединений, 6 из которых являются новыми; из них 2 гликозида эхиноцистовой кислоты, 2 сульфатированных тритерпеноида (олеаноловая и эхиноцистовая кислоты), а также их гликозиды.

Гликозиды эхиноцистовой кислоты впервые обнаружены в роде *Hedera* ..

Сульфатированные гликозиды являются новыми соединениями для семейства Аралиевых.

3-сульфаты олеаноловой и эхиноцистовой кислот впервые обнаружены в природном источнике.

Работа представляет интерес в плане применения современных физико-химических методов для доказательства строения гликозидов. Кроме того показано, что некоторые вещества проявляют иммуносупрессорное действие в экспериментах на мышах. Это определяет практическую значимость исследований.

Работа выполнена по плану НИР Симферопольского госуниверситета по теме 2.29.4.2. "Химическое изучение природного сырья для изыскания биологически активных веществ", номер государственной регистрации 01.86.0069186.

На защиту выносятся доказательство строения двух новых сульфатированных тритерпеноидов, четырех новых тритерпеновых гликозидов, двух стеринных гликозидов и двенадцати гликозидов - производных хедерагенина, эхиноцистовой и олеаноловой кислот из листьев плюща крымского.

Публикации и апробация работы. Основные результаты диссертации изложены в четырех статьях и доложены на XVI Украинской конференции по органической химии (г. Тернополь, 1.10.92г.) и итоговых конференциях профессорско-преподавательского состава Симферопольского госуниверситета (1991, 1992 г.г.).

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 139 страницах машинописного текста и состоит из обзора лите-

ратуры (глава I), обсуждения результатов (глава II), экспериментальной части (глава III), выводов и списка литературы, включающего 131 источник. Работа иллюстрирована 26 таблицами и 16 рисунками.

Автор выражает благодарность д.х.н., вед.н.с. Института биоорганической химии РАН Б.В. Розынову и доктору, профессору Саутгемптонского университета (Великобритания) Л. Джонсону, а также вед.н.с. Института органической химии РАН, д.х.н. А.С. Шашкову за съемку масс- и ЯМР-спектров.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### I. Выделение гликозидов из листьев плюща крымского.

Из экстракта измельченных листьев плюща смесью хлороформ-этанол (6:1) выделена сумма малополярных гликозидов - компонентов А, В, С, D, E и F. Экстракт смесью хлороформ-этанол (3:2) представлен суммой гликозидов средней полярности - компонентами G, H, I и J.

Разделение гликозидов проведено методами препаративной колоночной хроматографии на силикагеле с различными элюентами и в ряде случаев - на силикагеле с привитыми гептильными группами методом обращенно-фазовой хроматографии. Дополнительная очистка гликозидов осуществлена переводом их в метиловые эфиры или полные ацетаты с последующей хроматографической очисткой.

Названия, брутто-формулы, величины удельных вращений и количественное содержание гликозидов в растении приведены в таблице.

Таблица

Гликозиды листьев плюща крымского (*Hedera taurica* Carr.)

№	Таурозид	Брутто-формула	$[\alpha]_D$ (град.)	Р-ритель	% Выход
1	A <sub>1</sub>	C <sub>35</sub> H <sub>58</sub> O <sub>6</sub>	-	-	0,014
2	A <sub>2</sub>	C <sub>35</sub> H <sub>60</sub> O <sub>6</sub>	-	-	0,005
3	B <sub>1</sub>	C <sub>35</sub> H <sub>56</sub> O <sub>8</sub>	+43,4	метанол	0,001
4	B <sub>2</sub> м.э.	C <sub>36</sub> H <sub>58</sub> O <sub>8</sub>	+42,0	пиридин	0,020
5	C м.э.	C <sub>42</sub> H <sub>68</sub> O <sub>11</sub>	0,0	пиридин	0,008
6	D	C <sub>41</sub> H <sub>66</sub> O <sub>12</sub>	-29,9	пиридин	0,008
7	E	C <sub>41</sub> H <sub>66</sub> O <sub>12</sub>	+ 7,8	этанол	0,168
8	F <sub>0</sub> м.э.	C <sub>31</sub> H <sub>49</sub> O <sub>6</sub> S NH <sub>4</sub>	+42,0	метанол	0,003
9	F <sub>1</sub>	C <sub>41</sub> H <sub>66</sub> O <sub>12</sub>	+42,0	пиридин	0,002
10	F <sub>2</sub>	C <sub>42</sub> H <sub>68</sub> O <sub>13</sub>	+ 3,0	пиридин	0,001
11	F <sub>3</sub>	C <sub>42</sub> H <sub>68</sub> O <sub>14</sub>	+24,0	пиридин	0,005
12	F <sub>4</sub> м.э.	C <sub>31</sub> H <sub>49</sub> O <sub>7</sub> S NH <sub>4</sub>	+20,9	метанол	0,005
13	G <sub>1</sub>	C <sub>53</sub> H <sub>86</sub> O <sub>22</sub>	+ 3,6	пиридин	0,014
14	G <sub>2</sub>	C <sub>59</sub> H <sub>96</sub> O <sub>25</sub>	-28,8	метанол	0,022
15	G <sub>3</sub>	C <sub>53</sub> H <sub>86</sub> O <sub>22</sub>	- 8,2	пиридин	0,011
16	H <sub>1</sub>	C <sub>59</sub> H <sub>96</sub> O <sub>26</sub>	-34,9	пиридин	0,041
17	H <sub>2</sub>	C <sub>59</sub> H <sub>96</sub> O <sub>26</sub>	-14,9	пиридин	0,184
18	I <sub>0</sub>	C <sub>49</sub> H <sub>79</sub> O <sub>20</sub> S NH <sub>4</sub>	- 6,3	метанол	0,006
19	I	C <sub>54</sub> H <sub>88</sub> O <sub>24</sub>	+18,2	пиридин	0,001
20	J	C <sub>49</sub> H <sub>79</sub> O <sub>21</sub> S NH <sub>4</sub>	-15,0	метанол	0,001

Процентное содержание гликозидов в свежесобранных листьях составляет 0,52 %.

В пересчете на воздушно-сухую массу сырья - 2,6 %.

Строение таурозидов  $A_1$  и  $A_2$ . По данным  $^{13}C$ -ЯМР и масс-спектров гликозид А представляет собой смесь стериновых гликозидов -  $\beta$ -D-глюкопиранозидов стигмастерина (таурозид  $A_1$ ) и -  $\beta$ -ситостерина (таурозид  $A_2$ ). Гликозиды аналогичного строения в семействе Аралиевых ранее были обнаружены в площе непальском *Nedera nepalensis*.

Строение таурозида  $B_1$ . В составе таурозида  $B_1$  по данным кислотного гидролиза идентифицированы арабиноза и эхиноцистовая кислота, причем остаток арабинозы связан с гидроксильной группой у С-3 атома агликона, поскольку гликозид метилируется эфирным раствором диазометана по свободной карбоксильной группе эхиноцистовой кислоты. Предварительная структура этого гликозида как 3-O- $\alpha$ -L-арабинопиранозида эхиноцистовой кислоты дополнительно подтверждена данными спектра ПМР, в котором идентифицированы сигналы, положение и характер расщепления которых (величины констант спин-спинового взаимодействия КССВ) соответствуют одному остатку  $\alpha$ -арабинозы, а также сигналы агликонной части (7 синглетов четвертичных  $-CH_3$  групп, псевдотриплетные сигналы Н-12 и Н-16 и характерный дублет-дублетный сигнал Н-3). Структура таурозида  $B_1$  дополнительно подтверждена данными  $^{13}C$ -ЯМР спектра.

Гликозид, идентичный таурозиду  $B_1$ , выделен из фатсии японской *Fatsia japonica*.

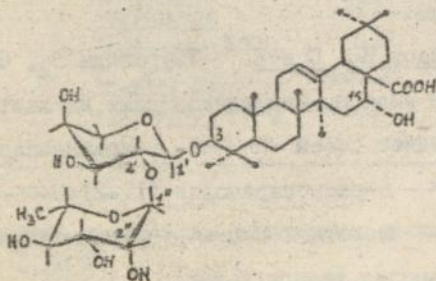
Строение таурозидов  $B_2$ , С и Е. Таурозиды  $B_2$ , С и Е идентифицированы с ранее выделенными гликозидами из листьев площи крымского и представляют собой 3-O- $\alpha$ -L-арабинопиранозид хедерагенина, 3-O- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-O- $\alpha$ -L-арабинопиранозид олеаноловой кислоты и 3-O- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-O- $\alpha$ -L-арабинопиранозид хедерагенина.

Строение таурозида D. Данные кислотного гидролиза и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектра соответствуют составу гликозида рамноза:арабиноза:эхиноцистовая кислота 1:1:1.

В ЯМР-спектре полного ацетата таурозида D методом двойного гомоядерного резонанса удалось отнести сигналы всех скелетных протонов сахарных остатков. При этом сигнал H-2' остатка арабинозы находится в существенно более сильном поле (3,98 м.д.), чем H-2'' остатка рамнозы, что свидетельствует о наличии 1-2 гликозидной связи между ними, а из величины КССВ  $J_{1,2}$  остатка арабинозы (6,8 Гц) следует  $\alpha$ -конфигурация ее гликозидного центра.

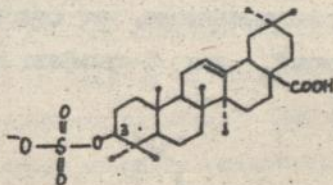
Сигналы углеводных C-атомов в  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектре таурозида D полностью совпадают с литературными данными для дисахаридного фрагмента  $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1-2)-O- $\alpha$ -L-арабинопиранозил-, а остальные сигналы, соответствующие агликонной части гликозида, идентичны таковым для 3-гликозилированной эхиноцистовой кислоты.

Таким образом, таурозид D представляет собой 3-O- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1-2)-O- $\alpha$ -L-арабинопиранозид эхиноцистовой кислоты и является новым гликозидом:



Строение таурозида F<sub>0</sub>. В кислотном гидролизате F<sub>0</sub> идентифицирована олеаноловая кислота и не обнаружены сахара.

Сопоставление хим. сдвигов сигналов С-атомов в <sup>13</sup>С-ЯМР спектре F<sub>0</sub> с литературными данными для олеаноловой кислоты показывает их близость, но хим. сдвиг с δ 84,7 м.д. не совпадает ни с хим. сдвигом С-3 атома в гликозилированной олеаноловой кислоте (88,9 м.д.), ни в свободной олеаноловой кислоте (78,2 м.д.). Сигналы других углеродных атомов в спектре таурозида F<sub>0</sub> отсутствуют. Очевидно, С<sub>3</sub>-ОН группа этерифицирована неорганической кислотой. Качественный анализ гидролизата F<sub>0</sub> позволил обнаружить сульфат-анион. Данные ИК-спектроскопии дополнительно подтверждают наличие O=S=O группы (ν<sub>ас</sub> 1400 см<sup>-1</sup>, ν<sub>с</sub> 1230 см<sup>-1</sup>). Следовательно, таурозид F<sub>0</sub> представляет собой 3-сульфат олеаноловой кислоты. <sup>13</sup>С-ЯМР спектры F<sub>0</sub> и синтетического 3-сульфата олеаноловой кислоты идентичны, что окончательно подтверждает структуру таурозида F<sub>0</sub> :



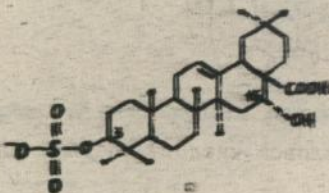
3-Сульфат олеаноловой кислоты впервые обнаружен в природном источнике.

Строение таурозидов F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> и F<sub>3</sub>. По хроматографической подвижности, результатам кислотного гидролиза и на основе <sup>13</sup>С-ЯМР спектров таурозиды F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> и F<sub>3</sub> идентичны ранее изученным хедерозидам D<sub>2</sub>, E<sub>2</sub> и F из ягод плода крымского и

представляет собой 3-0- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-0- $\alpha$ -L-арабинопиранозид хедерагенина, 3-0- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-0- $\beta$ -D-глюкопиранозид олеаноловой кислоты и 3-0- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-0- $\beta$ -D-глюкопиранозид хедерагенина соответственно.

Строение таурозида F<sub>4</sub>. В спектре ИМР таурозида F<sub>4</sub> наблюдается значительный низмольный сдвиг (1,3 м.д.) сигнала H-3 по сравнению с положением сигнала H-3 в гликозилированной эхиноцистовой кислоте (3,24 м.д.). (Остальные сигналы соответствуют протонам остатка эхиноцистовой кислоты. С учетом данных кислотного гидролиза (обнаружены эхиноцистовая кислота и сульфат-анион) можно предположить, что C<sub>3</sub>-OH группа этерифицирована серной кислотой аналогично таурозиду F<sub>0</sub>. Это подтверждается и данными ИИ-спектроскопии.

Сравнение хем. сдвигов сигналов в <sup>13</sup>C-ИМР спектре F<sub>4</sub> с литературными данными для синтетического 3-сульфата эхиноцистовой кислоты показывает их совпадение, что окончательно подтверждает структуру таурозида F<sub>4</sub> как 3-сульфата эхиноцистовой кислоты:



**3-Сульфат эхиноцистовой кислоты впервые выделен из природного источника.**

Строение таурозиды G<sub>1</sub>. По хроматографической подвижности таурозид G<sub>1</sub> совпадает с хедерозидом G из ягод плюща крымского. Их идентичность дополнительно подтверждена данными кислотного гидролиза, сравнением прогенинов, полученных после щелочного гидролиза и полным совпадением <sup>13</sup>C-ЯМР спектров. Следовательно, таурозид G<sub>1</sub> является 3-O-α-L-арабинопиранозил-2β-O-α-L-рамнопиранозил-(1→4)-O-β-D-глюкопиранозил-(1→6)-O-β-D-глюкопиранозидовым эфиром хедерагенина.

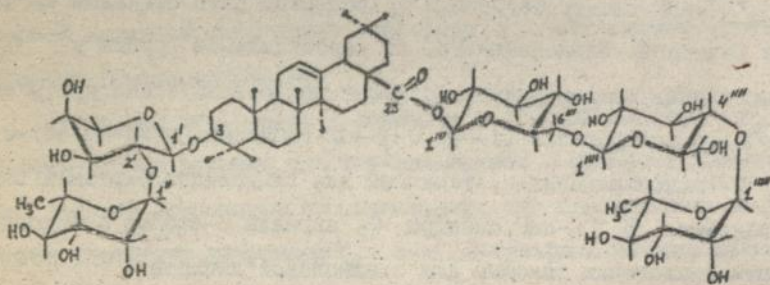
Строение таурозиды G<sub>2</sub>. По данным кислотного гидролиза таурозид G<sub>2</sub> содержит рамнозу, арабинозу, глюкозу и олеаноловую кислоту. Прогенин из G<sub>2</sub> идентичен таурозиду C из листьев плюща и представляет собой 3-O-α-L-рамнопиранозил-(1→2)-O-α-L-арабинопиранозид олеаноловой кислоты.

<sup>13</sup>C-ЯМР спектр таурозиды G<sub>2</sub> содержит пять сигналов аномерных C-атомов. Следовательно, по карбоксильной группе у G<sub>2</sub> присоединен трисахаридный фрагмент предположительного строения α-L-рамнопиранозил-(1→4)-O-β-D-глюкопиранозил-(1→6)-O-β-D-глюкопиранозид-, типичный для гликозидов растений сем. Аралиевых. В <sup>13</sup>C-ЯМР спектре G<sub>2</sub> сигналы C-атомов агликонной части аналогичны таковым для олеаноловой кислоты.

Полные отнесения сигналов в ПМР-спектре таурозиды G<sub>2</sub> выполнены с помощью методики селективного гомоядерного двойного резонанса, а отнесения сигналов в спектре <sup>13</sup>C-ЯМР - с помощью двумерной гетероядерной корреляционной спектроскопии (HETCOSY). Анализ положения углеводных C-атомов (м.д.) показал, что остаток арабинозы замечен по C-2', остаток одной глюкозы - по C-6'', а другой - по C-4''' (положительные α-эффекты 4-10 м.д. и отрицательные β-эффекты 0-2 м.д.); остатки рамноз являются незаме-

ценными (концевыми). Типы связей в обеих углеводных цепях дополнительно подтверждены и анализом спектров ПМР полного ацетата  $G_2$ , в котором сигналы Н-2' арабинозы, Н-4 и Н-6'' глюкоз смещены от обычного положения в сильное поле на 0,6 - 1,0 м.д. Из величин КССВ сигналов аномерных протонов следует  $\beta$ -конфигурация обоих остатков глюкоз и  $\alpha$ -конфигурация остатка арабинозы. Остальные КССВ полностью согласуются с рамно-, арабино- и глюко-конфигурациями моносахаридных составков.

Таким образом, таурозид  $G_2$  представляет собой 3-0- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1-2)-0- $\alpha$ -L-арабинопиранозил-2 $\beta$ -0- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1-4)-0- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1-6)-0- $\beta$ -D-глюкопиранозильный эфир олеаноловой кислоты:



Гликозиды, аналогичные таурозиду  $G_2$ , ранее были обнаружены в следующих растениях семейства Аралиевых: *Acanthopanax senticosus*, *Eleutherococcus senticosus* и *Nedera helix*.

Строение таурозида  $G_3$ . По данным кислотного гидролиза в составе таурозида  $G_3$  обнаружены рамноза, арабиноза и глюкоза, а в качестве агликона - хедерагенин. щелочным гидролизом  $G_3$  получили прогенин, идентичный таурозиду Е из листьев плюща

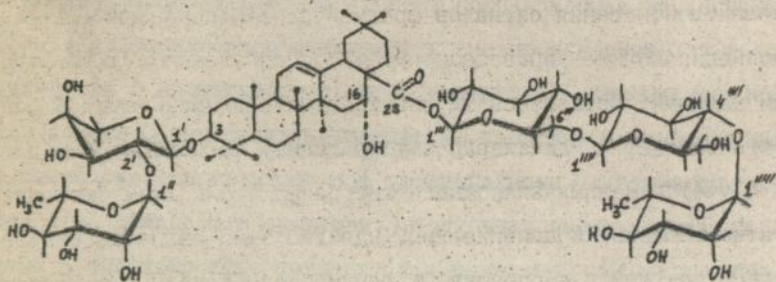
крымского и представляющий собой 3-0- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-0- $\alpha$ -L-арабинопиранозид хедерагенина.

Анализ  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектра таурозиды  $G_3$  позволил обнаружить в области 90-110 м.д. сигналы четырех аномерных C-атомов. Следовательно, по карбоксильной группе присоединен дисахаридный фрагмент. Отнесения сигналов фрагмента рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-арабинопиранозил- проведены путем сопоставления с литературными данными. Оставшиеся 12 сигналов углеводных C-атомов должны принадлежать дисахаридному фрагменту по карбоксильной группе. С учетом данных кислотного гидролиза это должны быть два остатка глюкозы. Сравнение хим. сдвигов этих сигналов с литературными данными для остатка  $\beta$ -гениобиозы показывает их полное совпадение, а сигналы агликонной части  $G_3$  совпадают с литературными данными для 3,28-гликозилированного хедерагенина.

Таким образом, таурозид  $G_3$  является 3-0- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-0- $\alpha$ -L-арабинопиранозил-28-0- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-0- $\beta$ -D-глюкопиранозидовым эфиром хедерагенина. Гликозид, идентичный  $G_3$ , ранее был выделен из *Dipsacus asureus*.

Строение таурозиды  $H_1$ . В составе таурозиды  $H_1$  с помощью кислотного гидролиза идентифицированы рамноза, арабиноза, глюкоза и эхиноцистовая кислота. Прогенин из  $H_1$  идентичен таурозиду D из листьев плюща и представляет собой 3-0- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-0- $\alpha$ -L-арабинопиранозид эхиноцистовой кислоты. По карбоксильной группе таурозиды  $H_1$  присоединен трисахаридный фрагмент рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-0-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-0-глюкопиранозил-, поскольку подспектры углеводных частей  $H_1$  и  $G_2$  полностью идентичны; сигналы агликонной части соответствуют таковым для эхиноцистовой кислоты.

Следовательно, таурозид  $H_1$  представляет собой 3-0- $\alpha$ -L-рамнопиранс 1л-(1 $\rightarrow$ 2)-0- $\alpha$ -L-арабинопиранозил-2 $\beta$ -0- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-0- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-0- $\beta$ -D-глюкопиранозил-овый эфир эхиноцистовой кислоты и является новым соединением:



Строение таурозида  $H_2$ . Анализ хроматографической подвижности, кислотного и щелочного гидролизатов, а также  $^{13}C$ -ЯМР спектров таурозида  $H_2$  показал, что он идентичен хедерозиду  $H_1$  из ягод плюща крымского и является 3-0- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-0- $\alpha$ -L-арабинопиранозил-2 $\beta$ -0- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-0- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-0- $\beta$ -D-глюкопиранозил-овым эфиром хедерагенина.

Строение таурозида  $I_0$ . При кислотном гидролизе  $I_0$  обнаружены олеаноловая кислота, а также рамноза, глюкоза и сульфат-анион. В продукте щелочного гидролиза идентифицировали 3-сульфат олеаноловой кислоты. Очевидно, таурозид  $I_0$  представляет собой гликозилированный по карбоксильной группе тритерпеноидный сульфат  $F_0$  из листьев плюща.

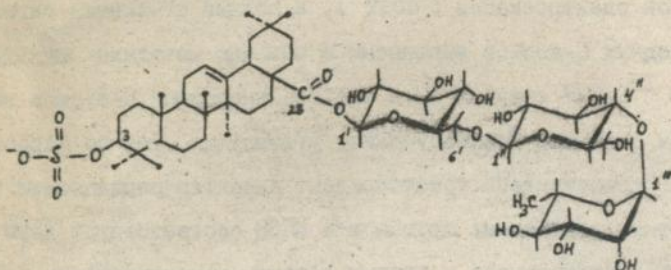
Вследствие низкой растворимости  $I_0$  в стандартном растворителе - дейтеропиридине, его ЯМР- и  $^{13}C$ -ЯМР спектры получены в

дейтерометаноле. Отнесения сигналов углеводных остатков в спектре ЛМР выполнены с помощью двумерной гомоядерной корреляционной спектроскопии (COSY), а полные отнесения сигналов углеводных С-атомов выполнены с помощью методики HETCOSY.

В  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектре  $I_0$  в области аномерных С-атомов находятся три сигнала. Следовательно, углеводная цепь по карбоксильной группе представлена трисахаридом. Характер расщепления сигналов скелетных углеводных протонов и КССВ соответствуют двум остаткам  $\beta$ -глюкопиранозы и одному остатку рамнопиранозы. Анализ положения сигналов аномерных протонов показывает, что один из них находится в существенно более слабом поле (5,30 м.д.), а соответствующий ему С-атом - в более сильном поле (96,2 м.д.), чем другие. Следовательно, этот остаток глюкозы образует ацилгликозидную связь с агликоном. Остаток этой же глюкозы замещен по ОН-группе у С-6' атома ( $\alpha$ -эффект +7,7 м.д.), в то время как остаток другой глюкозы - по С<sub>4</sub><sup>#</sup>-ОН группе ( $\alpha$ -эффект +8,5 м.д.); на соседних атомах проявляются отрицательные  $\beta$ -эффекты около 1 м.д. Остаток рамнопиранозы по положению сигналов С-атомов является незамещенным. Следовательно, трисахарид представляет собой рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-глюкопиранозил-.  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектр насыщенного раствора таурозиды  $I_0$  в дейтеропиридине показывает полное совпадение сигналов углеводной части с сигналами для ранее описанного нами аналогичного трисахариды, а агликонной части - с таковыми для сульфатированного прогенина из *Vupleurium rotundifolium* и для синтетического 3-сульфата олеаноловой кислоты.

Таким образом, таурозид  $I_0$  представляет собой 3-сульфат-2 $\beta$ -О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-О- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-

-O-β-D-глюкопиранозилового эфира олеаноловой кислоты и является новым гликозидом:

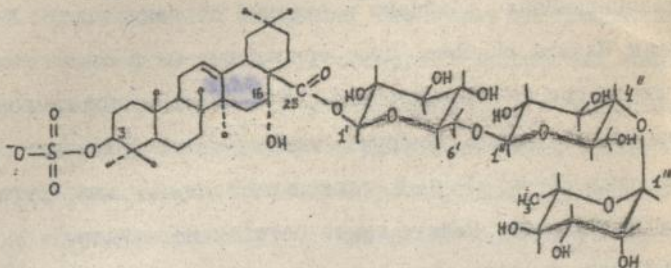


Строение таурозида I. С помощью тонкослойной хроматографии, кислотного и щелочного гидролизом показано, что таурозид I идентичен хедерозиду I из ягод плюща крымского и представляет собой 3-O-β-D-глюкопиранозил-(1→2)-O-β-D-глюкопиранозил-28-O-β-D-глюкопиранозил-(1→6)-O-β-D-глюкопиранозильный эфир хедерагенина.

Строение таурозида J. В-кислотном гидролизате таурозида J обнаружены эхиноцистовая кислота, рамноза, глюкоза и сульфат-анион. В продукте щелочного гидролиза в качестве прогенина идентифицирован 3-сульфат эхиноцистовой кислоты, идентичный таурозиду F<sub>4</sub> из листьев плюща.

<sup>13</sup>C-ЯМР подспектры углеводных частей таурозидов J и I<sub>0</sub> идентичны, а хим. сдвиги сигналов агликонной части таурозида J совпадают с таковыми для соединения F<sub>4</sub>. Следовательно, углеводная часть J представлена трисахаридом рамнопиранозил-(1→4)-глюкопиранозил-(1→6)-глюкопиранозил-; ее строение дополнительно подтверждено методом COSY .

Таким образом, таурозид J представляет собой 3-сульфат-2β-0-α-L-рамнопиранозил-(1→4)-0-β-D-глюкопиранозил-(1→6)-0-β-D-глюкопиранозилового эфира эхиноцистовой кислоты и является новым соединением:



Структуры новых соединений D, F<sub>0</sub>, F<sub>4</sub>, H<sub>1</sub>, I<sub>0</sub> и J дополнительно подтверждены FAB-масс-спектрами, в которых идентифицированы пики кластерных, протонированных молекулярных и осколочных ионов, соответствующих последовательной потере моносахаридных остатков.

Анализ структур выделенных гликозидов показывает, что они представляют собой производные хедерагенина, олеаноловой и эхиноцистовой кислот. Выделенные гликозиды являются как моно-, так и бисдесмозидами. Структуры углеводных цепей по гидроксильной группе у третьего углеродного атома агликона представляют собой типичные для гликозидов растений семейства Аралиевых моно- и дисахаридные фрагменты: α-L-арабинопиранозил-, α-L-рамнопиранозил-(1→2)-0-α-L-арабинопиранозил-, β-D-глюкопиранозил-(1→2)-0-α-L-арабинопиранозил- и β-D-глюкопиранозил-(1→2)-0-β-D-глюкопиранозил-. дисахаридов с другими типами связей не обнаружено, хотя из близкого вида *Hedera helix* выделен гликозид со структурой 3-0-[β-D-глюкопиранозил-(1→4)-0-α-L-арабинопиранозил]хедерагенин, а для гликозидов *Hedera colchica* характерно наличие разветвленной углеводной трисахаридной цепи у C-3 атома агликона.

Структура углеводной цепи по карбоксильной группе агликона в выделенных гликозидах представлена главным образом типичным для всех растений семейства Аралиевых трисахаридным фрагментом  $\alpha$ -L-рамнозид-(1 $\rightarrow$ 4)-O- $\beta$ -D-глюкопиранозид-(1 $\rightarrow$ 6)-O- $\beta$ -D-глюкопиранозид-; однако в отличие от гликозидов *Hedera nepalensis* и *Hedera rhombea* этот трисахарид ни в одном из выделенных гликозидов не ацетилирован. В <sup>25/IX</sup> ~~тех~~ минорных гликозидах по карбоксильной группе обнаружен дисахаридный фрагмент  $\beta$ -D-глюкопиранозид-(1 $\rightarrow$ 6)-O- $\beta$ -D-глюкопиранозид-. Для других изученных видов рода *Hedera* такой остаток не найден.

В изученных к настоящему времени видах рода *Hedera* обнаружены исключительно гликозиды хедерагенина и олеаноловой кислоты. В *Hedera taurica* наряду с этим найдены и гликозиды эхиноцистовой кислоты. В семействе Аралиевых два гликозида эхиноцистовой кислоты найдены лишь в роде *Fatsia*. Кроме того, в *Hedera taurica* обнаружены сульфатированные тритерпеноиды (олеаноловая и эхиноцистовая кислоты) и их гликозиды. Сульфатированные тритерпеноиды лупанового ряда ранее были найдены в роде *Schefflera* сем. *Araliaceae*, а сульфатированные гликозиды в этом семействе нами обнаружены впервые.

## II. Биологическая активность тритерпеновых гликозидов листьев плюща крымского.

Иммунная активность. Влияние тритерпеновых гликозидов на гуморальный иммунный ответ изучали на кафедре фармакогнозии Курского медицинского института канд. фарм. наук доцентом Г.А. Дроздом. Опыты выполнены на мышах-самцах линии СВА, иммунизированных взвесью эритроцитов ~~сазана~~ *сазана*. Суммарный экстракт из

листьев плюща крымского испытывали в концентрациях 5 и 500 мг/кг веса животного. Отмечено, что сумма экстрактивных веществ статистически достоверно супрессирует гуморальный иммунный ответ у мышей более чем в 30 раз по сравнению с контролем.

Поскольку сумма экстрактивных веществ представлена в основном тритерпеновыми и фенольными гликозидами (последние имеют низкую иммунную активность), проведено иммунологическое исследование чистого таурозида  $G_1$ . Показано, что он угнетает гуморальный иммунный ответ более, чем в 2 раза, проявляя при этом активность в очень низких дозах (0,06 - 0,25 мг/кг).

Антгельминтная активность. Антгельминтная активность тритерпеновых гликозидов листьев плюща крымского изучалась в Вильнюсском отделе Института гельминтологии им. К.И. Скрябина доктором вет. наук А. Вишняускасом. Опыты выполнены на белых крысах, инвазированных *Nippostrongylus brasiliensis*. Установлено, что сумма тритерпеновых гликозидов проявляет антгельминтную активность около 80% от стандарта.

Острая потребность практического здравоохранения в препаратах, подавляющих аутоиммунные реакции организма человека, позволяет считать тритерпеновые гликозиды листьев плюща крымского веществами, перспективными для создания иммуносупрессоров.

ВЫВОДЫ

1. Показано, что плющ крымский *Hedera taurica* Carr. (сем. Araliaceae) является источником стеринных и тритерпеновых гликозидов, а также тритерпеноидных сульфатов. Из листьев этого растения выделено 2 гликозида стеринных, 2 тритерпеноидных сульфата, 2 гликозилированных тритерпеноидных сульфата и 14 тритерпеновых гликозидов.
2. Установлено строение двух стеринных гликозидов - таурозидов  $A_1$  и  $A_2$  -  $\beta$ -D-глюкопиранозидов стигмастерина и  $\beta$ -ситостерина.
3. Доказано строение двух тритерпеноидных сульфатов - таурозидов  $F_0$  и  $F_4$  как 3-сульфатов олеаноловой и эхиноцистовой кислот, впервые обнаруженных в природном источнике.
4. Показано, что таурозиды  $I_0$  и  $J$  представляют собой 28-O- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-O- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-O- $\beta$ -D-глюкопиранозидовые эфиры 3-сульфатов олеаноловой и эхиноцистовой кислот и являются новыми гликозидами.
5. Доказано строение таурозидов  $B_1$ ,  $D$  и  $H_1$  как 3-O- $\alpha$ -L-арабинопиранозида, 3-O- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-O- $\alpha$ -L-арабинопиранозида и 3-O- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-O- $\alpha$ -L-арабинопиранозил-26-O- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-O- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-O- $\beta$ -D-глюкопиранозидового эфира эхиноцистовой кислоты. Таурозиды  $D$  и  $H_1$  являются новыми соединениями. Гликозиды эхиноцистовой кислоты впервые обнаружены в роде *Hedera*.
6. Установлено строение таурозидов  $C$ ,  $F_2$  и  $G_2$  как 3-O- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-O- $\alpha$ -L-арабинопиранозида, 3-O- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-O- $\beta$ -D-глюкопиранозида и 3-O- $\alpha$ -L-

рамнопиранозил-(1→2)-0-α-L-арабинопиранозил-28-0-α-L-рамнопиранозил-(1→4)-0-β-D-глюкопиранозил-(1→6)-0-β-D-глюкопиранозилового эфира олеаноловой кислоты.

7. Показано, что таурозиды В<sub>2</sub>, В, Р<sub>1</sub>, Р<sub>3</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>3</sub>, H<sub>2</sub> и I представляют собой 3-0-α-L-арабинопиранозид, 3-0-α-L-рамнопиранозил-(1→2)-0-α-L-арабинопиранозид, 3-0-β-D-глюкопиранозил-(1→2)-0-α-L-арабинопиранозид, 3-0-β-D-глюкопиранозил-(1→2)-0-β-D-глюкопиранозид, 3-0-α-L-арабинопиранозил-28-0-α-L-рамнопиранозил-(1→4)-0-β-D-глюкопиранозил-(1→6)-0-β-D-глюкопиранозилового эфира, 3-0-α-L-рамнопиранозил-(1→2)-0-α-L-арабинопиранозил-28-0-β-D-глюкопиранозил-(1→6)-0-β-D-глюкопиранозилового эфира, 3-0-α-L-рамнопиранозил-(1→2)-0-α-L-арабинопиранозил-28-0-α-L-рамнопиранозил-(1→4)-0-β-D-глюкопиранозил-(1→6)-0-β-D-глюкопиранозилового эфира и 3-0-β-D-глюкопиранозил-(1→2)-0-β-D-глюкопиранозил-28-0-β-D-глюкопиранозил-(1→6)-0-β-D-глюкопиранозилового эфира хедерагенина.

Таурозид G<sub>3</sub> впервые обнаружен в семействе Аралиевых.

8. Выявлена антгельминтная активность суммы тритерпеновых гликозидов плода крымского.
9. Изучено влияние тритерпеновых гликозидов на гуморальный иммунный ответ. Показано, что сумма гликозидов листьев плода и индивидуальный гликозид - таурозид G<sub>1</sub> обладает иммуносупрессорным действием.

Основное содержание диссертации изложено  
в следующих публикациях:

1. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica*. VII. Строение тауро-ов А и D из листьев плюща крымского. / В.И. Гришковец, Н.В. Толкачева, А.С. Шашков, В.Я. Чирва // Химия природ. соединений. - 1991. - № 5. - С. 666-669.
2. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica*. VIII. Тауросиды F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> и тритерпеноидный сульфат. / В.И. Гришковец, Н.В. Толкачева, А.С. Шашков, В.Я. Чирва // Химия природ. соединений. - 1991. - № 6. - С. 860-861.
3. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica*. IX. Строение тауросидов G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub>, H<sub>1</sub> и H<sub>2</sub> из листьев плюща крымского. / В.И. Гришковец, Н.В. Толкачева, А.С. Шашков, В.Я. Чирва // Химия природ. соединений. - 1992. - № 5. - С. 522-528.
4. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica*. X. Строение соединений F<sub>4</sub>, I и J из листьев плюща крымского. / В.И. Гришковец, Н.В. Толкачева, А.С. Шашков, В.Я. Чирва // Химия природ. соединений. - 1992. - № 6. - С. 751-755.
5. Тритерпеновые гликозиды листьев плюща крымского. Толкачева Н.В., Гришковец В.И., Чирва В.Я. Тезисы докладов XVI Украинской конференции по органической химии. Часть II. С. 470. Тернополь, 1992 г.

Отпечатано на ротапинтере Симферопольского госуниверситета  
333036, г. Симферополь, ул. Ялтинская, 4.

Зак. № 53. Тираж 100 экз.

160733

БЕСПЛАТНО

42  
AV 26.418