



УДК 547.918.022 : 543.422.25

© 1993 В. Д. Мшвилдадзе, Г. Е. Деканосидзе,
А. С. Шашков*, Э. П. Кемертелидзе

МИНОРНЫЕ ГЛИКОЗИДЫ *Hedera colchica*.
СТРОЕНИЕ ХЕДЕРАКОЛХИЗИДОВ А¹ И С

Институт фармакохимии им. И. Г. Кутателадзе АН Грузии;
* Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН, Москва

На основании анализа данных химических методов, а также ¹H- и ¹³C-ЯМР-спектроскопии установлена структура тритерпеновых гликозидов — хедераколхизидов А¹ и С, выделенных из листьев *Hedera colchica* С. Koch. (сем. Araliaceae).

Хедераколхизид А¹ представляет собой гликозид со структурой 3-О-[DGlcβ1-4(LRhaα1-2)LAGaα1-]-олеаноловая кислота.

Более полярный гликозид С идентифицирован как хедерасопонин В, выделенный ранее из *H. helix* L., плюща обыкновенного, и имеющий структуру 28-О-(LRhaα1-4DGlcβ1-6DGlcβ1-)-эфира 3-О-(LRhaα1-2LAGaα1-)-олеаноловой кислоты.

Из листьев *Hedera colchica* С. Koch., плюща колхидского (сем. Araliaceae), выделена сумма тритерпеновых гликозидов, состоящая из не менее семи компонентов, названных по мере увеличения их полярности хедераколхизидами А¹, А, В, С, D, Е, F [1]. Ранее были охарактеризованы доминирующие гликозиды хедераколхизиды D, Е, F [2, 3].

Настоящая работа посвящена изучению двух минорных соединений — хедераколхизидов А¹ и С. Они являются производными одного тритерпена — олеаноловой кислоты. Их углеводная часть представлена рамнозой, арабинозой и глюкозой в соотношении 1 : 1 : 1 в гликозиде А¹ и 2 : 1 : 2 в гликозиде С [4].

Чтобы установить места присоединения углеводных фрагментов к агликону в гликозиде А¹, провели щелочной гидролиз. Присутствие в гидролизате исходного гликозида свидетельствует о незамещенности карбоксильной группы при С-28-атоме терпеновой части молекулы. Такой вывод подтверждается и ИК-спектром гликозида (1700 см⁻¹ — COOH-группа).

В условиях частичного кислотного гидролиза от гликозида А¹ отщепляется рамноза и глюкоза. Чтобы установить терминальные моносахариды в углеводной цепи хедераколхизиды А¹, провели метилирование и метанолиз гликозида [5]. Методом ГЖК в виде метилгликозидов идентифицировали 2,3,4,6-тетра-О-метилглюкопиранозу и 2,3,4-три-О-метилрамнопиранозу. Исходя из моносахаридного состава можно сделать вывод, что углеводная цепь гликозида А¹ разветвлена по остатку арабинозы.

Вышеизложенное подтверждается и данными ¹H- и ¹³C-ЯМР. Спектр ¹³C-ЯМР гликозида А¹ в пиридине *d*, обнаружил присутствие С-3-замещенной олеаноловой кислоты [6, 7] (табл. 1) и трех моносахаридных остатков с химическими сдвигами аномерных атомов углерода 106,4; 105,0 и 101,9 м.д. (табл. 2 и 3). В спектре ¹H-ЯМР также присутствуют три сигнала от аномерных протонов (5,87; 4,98 и 4,76 м. д.— табл. 3), благодаря которым с помощью техники гомоядерного

Таблица 1

Химические сдвиги (δ , м.д.) сигналов ^{13}C -атомов агликоновых частей хедераколхизидов А¹ и С (пиридин-*d*₅, 20° С)

С-Атом	А ¹	С	С-Атом	А ¹	С
1	39,0	39,0	16	24,0	23,8
2	26,3	26,7	17	46,6	46,5
3	88,9	89,3	18	42,1	41,9
4	39,0	39,5	19	46,6	47,2
5	56,2	56,1	20	31,1	30,8
6	18,7	18,7	21	34,4	34,2
7	33,3	33,4	22	33,3	32,8
8	41,0	40,1	23	28,2	28,4
9	48,2	48,2	24	17,2	16,9
10	37,2	37,1	25	15,7	15,7
11	24,0	23,6	26	17,5	17,7
12	122,7	123,0	27	26,7	26,1
13	145,0	144,3	28	180,4	176,7
14	42,3	42,3	29	33,3	33,2
15	28,2	28,4	30	24,0	23,8

Таблица 2

Химические сдвиги (δ , м.д.) сигналов ^{13}C углеводных фрагментов хедераколхизидов А¹ и С (пиридин-*d*₅, 20° С)

С-Атом	Углеводная цепь по С-3-атому агликона		С-Атом	Углеводная цепь по
	А ¹	С		С-28-атому агликона
				С
	-2,4Ara α 1-	-2Ara α 1-		-6Glc β 1-
1	105,0	104,9	1	95,8
2	76,5	76,6	2	74,1
3	73,7	74,1	3	78,8
4	79,5	68,7	4	70,9
5	64,5	64,6	5	78,1
6			6	69,3
	Rha α 1-	Rha α 1-		-4Glc β 1-
1	101,7	101,8	1	104,9
2	72,4	72,5	2	75,4
3	72,6	72,7	3	76,6
4	74,1	74,1	4	78,5
5	70,0	70,0	5	77,2
6	18,7	18,7	6	61,4
	Glc β 1-	—		Rha α 1-
1	106,4		1	102,8
2	75,5		2	72,7
3	78,7		3	72,7
4	71,4		4	74,1
5	78,5		5	70,4
6	62,68		6	18,6

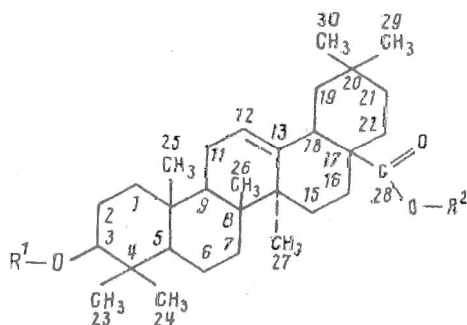
двойного резонанса (разностный вариант) [8] удалось установить природу и характер замещения каждого из остатков.

По величинам констант спин-спинового взаимодействия (КССВ) остатки идентифицированы как β -глюко-, α -рамно- и α -арабинопиранозы. Последовательность расположения остатков определялась в экспериментах с ядерными эффектами Оверхаузера (ЯЭО) во вращающейся системе координат (Camelspin) [9]. Преднасыщение аномерного протона Н-1 арабинопиранозы привело к появлению в разностном спектре ЯЭО сигнала Н-3 агликона (3,18 м.д., дд, $J_{3,2} = 12$ Гц, $J_{3,2'} = 4,0$ Гц).

При предоблучении Н-1 рамнопиранозы в разностном спектре были видны сигналы Н-2 рамнопиранозы, Н-2 и Н-3 арабинопиранозы, а также в качестве минорных — сигналы Н-3 — Н-5 рамнопиранозы. Появление последних, а также двух (а не одного) сигнала арабинозы, видимо, следствие диффузии спиновой плотности в течение спин-локкинга (0,2 с). Таким образом, эксперимент однозначно показал замещение остатком рамнозы остатка арабинозы, но не определил тип замещения в последнем (по С-2 или С-3). Аналогично был проведен эксперимент с предоблучением Н-1 глюкопиранозы. Были видны сигналы (Н-2,3,4,5) глюкопиранозы, а также сигналы арабинозы (Н-3,4 и Н-2 — минорный сигнал).

Поскольку в разностном спектре отсутствуют сигналы рамнозы, ясно, что глюкопираноза присоединена по С-3 или С-4 арабинозы.

Для выяснения типа замещения в остатке арабинозы был снят и расшифрован с помощью серии экспериментов с гомоядерным двойным резонансом спектр ^1H -ЯМР полного ацетата хедераколхизида А¹ (табл. 3). Слабопольное положение сигналов Н-2, Н-3, Н-4 рамнопиранозы и Н-2 — Н-4, Н-6 глюкопиранозы подтверждает, что гидроксилы при соответствующих атомах углерода ацетилированы и, следовательно, в исходном гликозиде не замещены. В остатке арабинозы слабопольным является только сигнал Н-3. Следовательно, гликозид А¹ имеет структуру 3-О-[DGlc β 1-4(LRha α 1-2)LAra α 1-]-олеаноловая кислота



R¹
 А¹ DGlc β 1-4(LRha α 1-2)LAra α 1-
 С LRha α 1-2LAra α 1-

R²
 Н
 LRha α 1-4DGlc β 1-6DGlc β 1-

Спектр ^{13}C -ЯМР углеводной части хедераколхизида А¹, расшифрованный сопоставлением со спектрами родственных гликозидов [10, 11], подтверждает указанную структуру.

Вышеописанными методами была установлена структура и хедераколхизида С. Данные ИК-спектроскопии (1740 см⁻¹) показали присутствие сложноэфирной связи по С-28-атому генина. Для подтверждения такого вывода провели щелочной гидролиз гликозида С. При последующем кислотном гидролизе прогенина (остаток гликозида после щелочного гидролиза с углеводным фрагментом по С-3-атому терпена) в гидролизате методами ВХ и ГЖХ в виде ацетатов полиолов обнаружили остатки рамнозы и арабинозы в соотношении 1 : 1, что свидетельствует о наличии

Параметры спектров ^1H -ЯМР углеводной части хедераколхизидов A^1 (пиридин- d_5 , 70°C) и ацетата хедераколхизидов A^1 (CDCl_3 , 40°C)

Остаток	Протон	Хедераколхизид A^1		Ацетат хедераколхизидов A^1	
		δ , м.д.	КССВ, Гц	δ , м.д.	КССВ, Гц
Rha α 1-	H-1	5,87	$J_{1,2}$ 1,4	4,94	$J_{1,2}$ 1,2
	H-2	4,56	$J_{2,3}$ 3,2	5,23	$J_{2,3}$ 3,2
	H-3	4,43	$J_{3,4}$ 9,5	5,24	$J_{3,4}$ 9,5
	H-4	4,12	$J_{4,5}$ 9,5	5,04	$J_{4,5}$ 9,5
	H-5	4,43	$J_{5,6}$ 6,1	3,98	$J_{5,6}$ 6,5
	H-6	1,55		1,16	
Glc β 1-	H-1	4,98	$J_{1,2}$ 8,0	4,56	$J_{1,2}$ 8,1
	H-2	3,88	$J_{2,3}$ 9,7	4,97	$J_{2,3}$ 9,7
	H-3	4,05	$J_{4,5}$ 9	5,18	$J_{3,4}$ 9,7
	H-4	4,05	$J_{4,5}$ 9	5,04	$J_{4,5}$ 9,7
	H-5	3,79	$J_{5,6}$ 2,6	3,72	$J_{5,6a}$ 4,6
	H-6a	4,38	$J_{6a,6b}$ 11,6	4,29	$J_{6a,6b}$ 12,5
	H-6b	4,21	$J_{5,6b}$ 4,8	4,14	$J_{5,6b}$ 2,5 *
-2,4Ara α 1-	H-1	4,76	$J_{1,2}$ 5,7	4,55	$J_{1,2}$ 3,5
	H-2	4,34	$J_{2,3}$ 7,5	3,83	$J_{2,3}$ 5,6
	H-3	4,21	$J_{3,4}$ 2,7	4,93	$J_{3,4}$ 2,5
	H-4	4,25	$J_{4,5a}$ 1,8	4,04	
	H-5e	4,37	$J_{4,5e}$ 2,0	4,04	
	H-5a	3,77	$J_{5a,5e}$ 10,5	3,58	

* КССВ не отвечает конформации кресла $^4\text{C}_1$, возможно, из-за равновесия $^4\text{C}_1 \leftrightarrow ^1\text{C}_4$.

в молекуле гликозида С дисахаридного фрагмента по С-3-атому олеаноловой кислоты.

ГЖХ-анализом кислотного гидролизата олигосахаридного фрагмента, отщепленного щелочью от С-28-атома агликона, в виде ацетатов полиолов идентифицировали рамнозу и глюкозу в соотношении 1 : 2. В условиях частичного кислотного гидролиза из хедераколхизидов С отщепляется рамноза.

Метилирование и метанолиз гликозида С. ГЖХ-анализом продуктов метанолиза метилированного гликозида С идентифицировали 2,3,4-три-О-метилрамнозу. С учетом моносакхаридного состава можно сделать вывод, что в гликозиде С рамноза является терминальной для обеих углеводных цепей тритерпена.

Вышеизложенное подтверждается и данными ^1H - и ^{13}C -ЯМР. Спектр ^{13}C -ЯМР хедераколхизидов С в пиридине- d_5 позволяет говорить о присутствии С-3- и С-28-дизамещенной олеаноловой кислоты [6] (табл. 1), а также о нахождении в низкочастотной области пяти сигналов аномерных С-атомов гликозида. Отнесение сигналов углеводных остатков, связанных с С-3-атомом агликона в гликозиде С, выполненное путем сопоставления с литературными данными, позволяет говорить о дисахаридном фрагменте LRha α 1-2LAra α 1-. Оставшиеся сигналы (в частности, 69,3; 78,5; 102,8 м. д.) углеводной части по С-28-атому агликона

совпадают с данными для наиболее распространенного в гликозидах семейства *Agaliaceae* трисахаридного фрагмента $LRha\alpha 1-4DGlc\beta 1-6DGlc\beta 1-$ [6] (табл. 1, 2).

Вышеизложенное дает основание утверждать, что хедераколхизид С является 28-О-[$LRha\alpha 1-4-DGlc\beta 1-6-DGlc\beta 1-$]-эфиром 3-О-[$LRha\alpha 1-2LAg\alpha 1-$]-олеаноловой кислоты. Этот гликозид, выделенный ранее Чеше с сотр. из *H. helix* L., плюща обыкновенного, назван хедерасапонином В [12].

Экспериментальная часть

ТСХ исследуемых соединений и их производных проводили на пластинках с закрепленным слоем силикагеля марки КСК и LS 5/40 мкм (ЧСФР), колоночную хроматографию — на силикагеле марки L 40/100 и 100/160 мкм (ЧСФР). Для БХ применяли бумагу марки FN1 и FN5. Использовали следующие системы растворителей: хлороформ — метанол — вода, 26 : 14 : 3 (А); бутанол — этанол — вода, 10 : 2 : 5 (Б); этилацетат — метанол — вода, 10 : 2 : 5 (В) для гликозидов, хлороформ — метанол, 9 : 1 — для их ацетатов; бутанол — пиридин — вода, 10 : 2 : 5 (Г) — для моносахаридов; хлороформ — метанол, 20 : 1 (Д) — для генинов. Вещества на хроматограммах обнаруживали следующими реактивами: тритерпеновые гликозиды и их агликоны — 25% раствором фосфорно-вольфрамовой кислоты в 96% этиловом спирте, моносахариды — анилинфталатом.

ГЖХ-анализ проводили на приборе «Хром-5» (стеклянная колонка с 5% ХЕ-60 на хроматоне N-AW HMDS; детектор пламенно-ионизационный, газ-носитель — гелий; расход 40 мл/мин; температура колонки 190° С, испарителя — 230° С, детектора — 250° С).

ИК-спектры снимали на приборе UR-20 (в вазелиновом масле), спектры 1H -ЯМР — на приборе ПМ-250 (Bruker), модифицированном для съемки спектров во вращающейся системе координат (пиридин- d_5 , 70° С, внутренний стандарт — Me_4Si). Спектры ^{13}C -ЯМР получены на приборе АМ-300 (Bruker) с рабочей частотой 75 МГц по углероду (пиридин- d_5 , 20° С, внутренний стандарт — Me_4Si).

Выделение гликозидов. 1 кг воздушно-сухих измельченных листьев плюща колхидского исчерпывающе экстрагировали 80% этанолом, из объединенных экстрактов спирт упаривали, водный раствор с целью очищения от липофильных веществ обрабатывали хлороформом и водную фракцию сгущали. Остаток растворяли в метаноле, пересаждали из ацетона и осадок высушивали. Получали светло-желтый порошок в количестве 10—12% от исходного сырья, состоящий, по данным ТСХ, из семи тритерпеновых гликозидов — хедераколхизидов А¹, А, В, С, D, E, F.

Разделение суммы на отдельные компоненты проводили с помощью распределительной хроматографии на колонке с силикагелем в системах растворителей А, Б, В. Изолированные минорные гликозиды, А¹ (R_f , 0,54; т. пл. 222—226° С, разл.) и С (R_f , 0,4; т. пл. 198—204° С, разл.), в ИК-спектрах содержат полосы поглощения в области 1700, 3400, 3600 и 1740, 3400, 3600 cm^{-1} соответственно.

Кислотный гидролиз. По 10 мг гликозидов А¹ и С гидролизovali 5 ч 2 н. HCl (5 мл) при 100° С. Выпавший осадок отделяли, промывали водой и высушивали. Полученный агликон методом ТСХ в системе Д при сравнении с заведомым образцом идентифицировали как олеаноловую кислоту. Водный раствор нейтрализовали карбонатом свинца, фильтровали и фильтрат упаривали. Методом БХ в системе Г в остатке обнаружены глюкоза, арабиноза, рамноза. Моносахариды восстанавливали боргидридом натрия до полиолов и ацетилировали 12 ч уксусным ангидридом в пиридине. Методом ГЖХ в сравнении с заведомыми образцами идентифицировали ацетаты рамнита, арабита, сорбита в соотношении 1 : 1 : 1 для хедераколхизидов А¹ и 2 : 1 : 2 для хедераколхизидов С.

Частичный кислотный гидролиз. По 10 мг гликозидов А¹ и С гидролизovali 1 ч 0,5 н. HCl при 100° С. Продукты гидролиза обрабатывали как описано выше. Методом БХ в гидролизатах установили наличие рамнозы и глюкозы в случае гликозида А¹ и рамнозы — для гликозида С.

Щелочной гидролиз. По 50 мг гликозидов А¹ и С в течение 1,5 ч подвергали щелочному гидролизу в 5% растворе КОН при 100° С. Гидролизаты нейтрализовали катионитом КУ-2(Н⁺), отфильтровывали и экстрагировали бутанолом. Бутанольную (прогениновую) и водную (олигосахаридную) фракции упаривали. Полученные в результате отщепления углеводного фрагмента от С-28 терпеновой части менее полярные гликозиды-прогенины подвергали кислотному гидролизу известным способом. Методом ГЖХ идентифицировали в первом случае ацетаты рамнита, арабита, сорбита (1 : 1 : 1), а во втором. — ацетаты рамнита и арабита (1 : 1). Методом ГЖХ в кислотном гидролизате олигосахаридной фракции гликозида С обнаружили ацетаты рамнита и сорбита (1 : 2).

Метилирование и метанолиз. Гликозиды А¹ и С (по 100 мг) растворяли в 20 мл диметилсульфоксида при постоянном перемешивании, небольшими порциями добавляли 100 мл гидрида натрия, перемешивали 1 ч на магнитной мешалке. К реакционной смеси приливали 1,5 мл иодистого метила по каплям и продолжали перемешивание 3,5 ч. Метилирование проходило в потоке гелия. Раствор нейтрализовали 50% уксусной кислотой до значения рН 7 и экстрагировали хлороформом несколько раз. Хлороформ упаривали и остаток высушивали. Метанолиз полученных продуктов проводили в 5% НСl в MeOH. Продукты идентифицировали на ГЖХ сравнением с заведомыми образцами метилгликозидов. В случае гликозида А¹ обнаружили β-2,3,4,6-тетра-О-метилглюкопиранозид и α-2,3,4-три-О-метилрамнопиранозид, а в глюкозиде С — α-2,3,4-три-О-метилрамнопиранозид.

Ацетилирование гликозидов. По 30 мг гликозидов А¹ и С ацетилировали 12 ч в смеси уксусного ангидрида и пиридина (по 3 мл) при 20° С. Смесь упаривали досуха. Полноту ацетилирования контролировали методом ИК-спектроскопии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Деканосидзе Г. Е., Пхейдзе Т. А., Горювиц Т. Т., Кемертелидзе Э. П. // Химия природ. соединений. 1970. № 4. С. 484—485.
2. Деканосидзе Г. Е., Кемертелидзе Э. П. // Химия природ. соединений. 1980. № 2. С. 259.
3. Деканосидзе Г. Е., Джикия О. Д., Вугалтер М. М., Кемертелидзе Э. П. // Химия природ. соединений. 1984. № 6. С. 747—750.
4. Мшвилдадзе В. Д., Деканосидзе Г. Е., Кемертелидзе Э. П. // Химия природ. соединений. 1992. № 5.
5. Nakomori S. // J. Biochem. 1964. V. 55. № 2. P. 205.
6. Kizu H., Tomimori T. // Chem. Pharm. Bull. 1982. V. 30. № 3. P. 859—865.
7. Kizu H., Kitayama S., Nakatani F., Tomimori T., Namba T. // Chem. Pharm. Bull. 1985. V. 33. № 8. P. 3324.
8. Беньдзе М. М., Джикия О. Д., Пхейдзе Т. А., Кемертелидзе Э. П., Шашков А. С. // Химия природ. соединений. 1987. № 4. С. 537—542.
9. Bothner-Bu A. A., Stepien R. L., Ju-mee Lee, Warren C. D., Jeanloz R. W. // J. Amer. Chem. Soc. 1984. V. 106. № 3. P. 811—813.
10. Лолойко А. А., Гришковаец В. И., Шашков А. С., Чирва В. Я. // Химия природ. соединений. 1988. № 3. С. 379—382.
11. Лолойко А. А., Гришковаец В. И., Шашков А. С., Чирва В. Я. // Химия природ. соединений. 1988. № 5. С. 721—726.
12. Tschesche R., Schmidt W., Wulff G. // Z. Naturforsch. 1965. V. 206. № 7. S. 708—709.

Поступила в редакцию
11.IX.1992

После доработки
28.V.1993

V. D. Mshvildadze, G. E. Dekanosidze, A. S. Shashkov*,
E. P. Kemertelidze

MINOR GLYCOSIDES FROM *Hedera colchica*.
STRUCTURE HEDERACOLCHISIDES A¹ AND C

I. G. Kutateladze Institute of Pharmacochemistry, Academy of Sciences of
Georgia, Tbilisi;

* N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
Moscow

Two minor triterpene glycosides, named hederacolchisides A¹ and C, were isolated from leaves of *Hedera colchica* C. Koch (Araliaceae). On the basis of chemical methods, ¹H and ¹³C NMR analyses they were characterized as follows: A¹ — (3-O-[DGlcβ1-4(LRhaα1-2)LAraα1-]-oleanolic acid; C — 28-O-[LRhaα1-4DGlcβ1-6DGlcβ1-]-ether of 3-O-[LRhaα1-2LAraα1-]-oleanolic acid.