

УДК.543.90:542.12

Ж.Ж.Жумагалиева

Карагандинский государственный университет им. Е.А.Букетова

**Фитохимическое изучение *Thalictrum Foetidum* L.  
(Василистник вонючий)**

Проведено фитохимическое изучение надземной части Василистника вонючего (*Thalictrum foetidum* L), собранного в Каркаралинском районе Карагандинской области. Сумма алкалоидов из растительного сырья извлекается методом хлороформной экстракции. Для выделения индивидуальных соединений применен метод колоночной хроматграфии и обработка суммы экстрактивных веществ. На основе апорфинового алкалоида глауцина получены новые производные глауцина. Структуры новых производных алкалоидов идентифицированы с привлечением современных физико-химических методов УФ-, ИК- ЯМР 1H, ЯМР 13C-спектроскопии.

*Ключевые слова:* Василистник, алкалоиды, настойка, флавоноиды, гипертония, глауцин, ацетат ртути, реакции, соли, молекулы.

Виды рода *Thalictrum* L. (Василистник) семейства *Ranunculaceae* (Лютиковые) характеризуются высоким содержанием алкалоидов изохинолинового ряда, обладающих противокашлевым, противовоспалительным, гипотензивным, антиаркотическим, антиаритмическим, желчегонным и другими фармакологическими свойствами [1].

Василистник вонючий встречается в Каркаралинском районе, Тарбагатае, Джунгарском Алатау, Заилийском, Кунгей-Алатау, Кетмень, Терской-Алатау, Киргизском Алатау, Восточном мелкосопочнике [2].

Настойка надземной части Василистника вонючего (*Thalictrum foetidum* L.) применяется в научной медицине в качестве гипотензивного средства при гипертонической болезни I и II стадии [3].

В народной медицине находят применение и другие виды этого рода, в частности, Василистник желтый, Василистник малый и др. Лекарственное значение имеет надземная часть — трава растения. Она содержит 1 % флавоноидов, 0,7 — алкалоидов, до 6,5 — сапонинов и дубильных веществ — до 2 %. В народной медицине применяют также корни и корневища василистника.

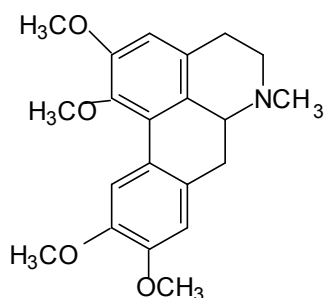
Из-за содержания алкалоида фетидина растение имеет гипотензивное действие. В медицинской практике настойку из василистника на 70 °-ном спирте применяют на начальных стадиях гипертонической болезни. Как правило, ее назначают 2–3 раза в день по 15–20 капель. Помимо этого, настойка положительно воздействует на больных стенокардией. Часто в народной медицине василистник употребляют как успокаивающее средство при неврозах и судорожных состояниях, а также при расстройстве органов пищеварения, заболеваниях желчного пузыря и печени, как кровоостанавливающее средство при наружных и внутренних кровотечениях (легочных, носовых, маточных и др.) [4, 5].

С учетом этого нами было проведено фитохимическое изучение надземной части Василистника вонючего, собранного в Каркаралинском районе Карагандинской области.

В результате проведенных исследований из надземной части Василистника вонючего нами было выделено кристаллическое вещество с т.пл., 115–117 °С. В ИК-спектре данного соединения имеются полосы поглощения в области 2800, 1600, 1583, 1440 и 1318 см<sup>-1</sup>, характерные для метильных групп, ароматических колец и метиленовых фрагментов.

В ПМР-спектре вещества проявляются сигналы протонов четырех метоксильных групп в виде синглета при 3.59 (3H) и 3.86 м.д. (9H, 3 x OCH<sub>3</sub>), а также синглет а при 2.89 м.д. (3H, N-CH<sub>3</sub>). В области ароматических протонов Н-3, Н-8, Н-11 наблюдаются синглеты при 6.56, 6.78 и 8.03 м.д.

На основании физико-химических констант, данных ИК-, ПМР-спектров и сравнения литературных данных [6] выделенное вещество идентифицировали как апорфиновый алкалоид глауцина (1).

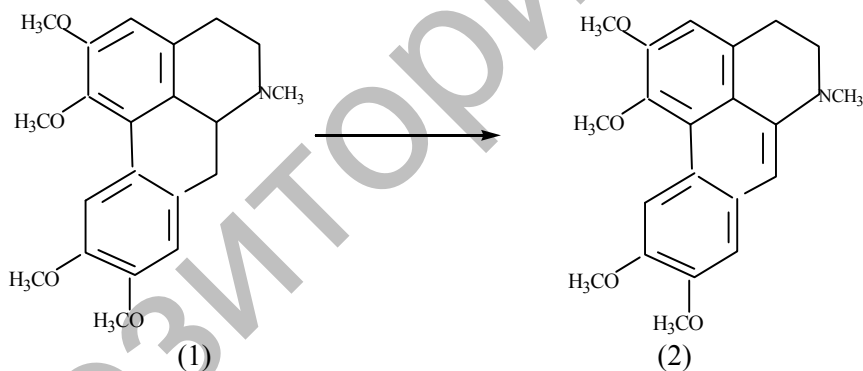


(1)

Глауцин, типичный представитель апорфиновых алкалоидов, встречающихся в ряде растений рода *Thalictrum* L. (Василистник) и *Glaucium* L. (Мачок), является действующим началом противокашлевых средств [7]. Глауцин — один из важных и доступных алкалоидов апорфинового ряда. Несмотря на это химическая модификация глауцина до последнего времени практически не исследовалась.

Нами рассмотрено взаимодействие глауцина с ацетатом ртути, бромистоводородной и йодистоводородной кислотами, галоидными алкилами, уксусным ангидридом и бромом в обычно применяемых условиях.

Установлено, что взаимодействие глауцина с ацетатом ртути в присутствии NaBH<sub>4</sub> протекает при комнатной температуре и приводит к удовлетворительному выходу соединения (2).



(1)

(2)

В ИК-спектре соединения (2) имеются полосы поглощения в области 2924, 1613, 1720 и 1462 см<sup>-1</sup>, характерные для метильных групп, ароматических колец и метиленовых фрагментов.

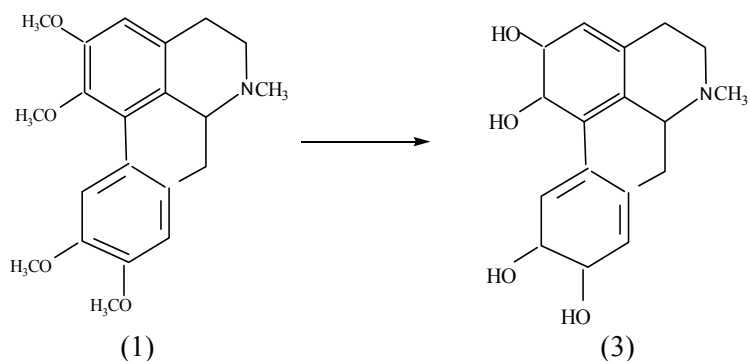
В ПМР-спектре (2) проявляются сигналы протонов четырех метоксильных групп при 3.85, 3.89, 3.90 и 3.94 м.д. (3H), а также N-CH<sub>3</sub> при 2.99 м.д. в виде синглета. Метиленовые группы в положениях 4 и 5 дают два триплета при 3.20 и 3.27 м.д. (по 2H, J=6Гц). В области ароматических протонов Н-3, Н-8, Н-11 наблюдаются однопротонные синглеты при 6.61- 7.0 и 9.00 м.д.

Для установления пространственного строения соединения (2) проведено его рентгеноструктурное исследование.

Длины связей и валентные углы близки к обычным, за исключением наличия двойной связи С6=С7, которая равна 1,355 Å. Цикл С1С2С3С5С14С13 плоский, с точностью ± 0,0028 Å. Пиперидиновый цикл С4С5N1С6С14С15 принимает конформацию почти идеальной софы (ΔС<sub>5</sub><sup>5</sup> = 1.46°) с выходом атома С<sub>5</sub> из средней плоскости остальных атомов цикла на 0.64 Å. В молекуле (2) метилолида 7-гидроксиглауцина. Цикл С16С8С9С10С11С12 плоский, с точностью ± 0,015 Å. Все метоксигруппы лежат в плоскости ароматических ядер, за исключением метоксигруппы при атоме С1, которая развернута перпендикулярно плоскости цикла (торсионный угол С2С10С17=81,67°).

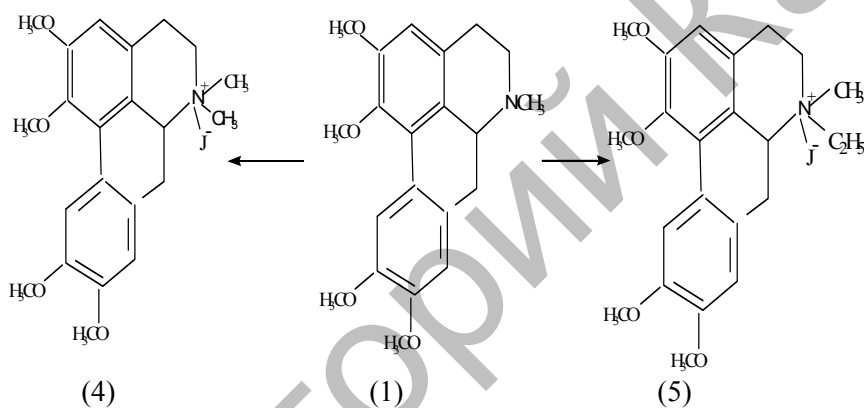
Таким образом, методом РСА однозначно установлена кристаллическая и молекулярная структура нового производного глауцина, которая имеет строение 6,7-дегидроглауцина (2).

При нагревании глауцина с НВг и НІ до 60–70 °С в хлороформе происходит селективное расщепление эфирных связей и образование производного глауцина (3).



ИК-спектр (3) имеет широкую полосу поглощения в области 3300–3600  $\text{см}^{-1}$ , характерную для ОН-групп с внутримолекулярными водородными связями, и полосы в области 2899, 2829, 1598 и 1464  $\text{см}^{-1}$ , свойственные метильным группам, ароматическим кольцам и метиленовым фрагментам.

Реакции глауцина с  $\text{CH}_3\text{I}$  и  $\text{C}_2\text{H}_5\text{I}$  в присутствии  $\text{K}_2\text{CO}_3$  приводят к четвертичным аммониевым солям (4,5).



ИК-спектры солей имеют полосы поглощения в области 2930, 1600 и 1462  $\text{см}^{-1}$ , характерные соответственно для метильных групп, ароматических колец и метиленовых фрагментов.

В ПМР-спектре (4) проявляются сигналы протонов четырех метоксильных групп при 3.72, 3.87, 3.93 и 3.94 м.д. (3Н), а также N-метильных групп при 3.13 и 3.50 м.д. в виде синглета. В области ароматических протонов Н-3, Н-8, Н-11 наблюдаются однопротонные синглеты при 6.93–7.06 и 8.00 м.д.

Строение молекулы катиона соединения (4) изучено методом рентгеноструктурного анализа.

В связи с разупорядоченностью двух атомов гексадиеновый цикл имеет форму двух зеркально-симметричных полукресел для разупорядоченных частей 1 и 2. В части 1 атомы С (7а) и С (6а 1) выходят в разные стороны из плоскости, в которой лежат остальные атомы гексадиенового кольца (среднеквадратичное отклонение от плоскости 0.013 Å), на 0.35 и 0.26 Å соответственно; в части 2 атомы С (7а) и С (6а2) отклоняются на –0.35 и 0.67 Å соответственно.

Пиперидиновый цикл в разупорядоченной части 2 имеет форму софы с выходом на 0.77 Å атома N (62) (среднеквадратичное отклонение остальных атомов цикла от плоскости 0.012 Å). В части 1 конформация пиперидинового цикла имеет форму полукресла с сильным искажением в сторону софы — атомы N (61) и С (51) выходят в разные стороны от плоскости остальных четырех атомов (среднеквадратичное отклонение от плоскости 0.016 Å) на 0.20 и –0.49 Å. Бензольные кольца плоские и лежат практически в одной плоскости: двугранный угол между ними 5.5 (8)°. Метоксигруппы в 2,9,10-положениях лежат практически в плоскости бензольных колец (т.е. имеют заслоненную конформацию), в 1-положении имеет гош-конформацию: торсионный угол С (2)-С (1)-О (1)-С (12) равен 84.4 (2)°. Физико-химические константы глауцина и его производных приведены в таблице 1.

Физико-химические константы глауцина и его производных

Наименование образцов	Брутто-формулы	R <sub>f</sub>	Температура плавления, °С	Выход, %
Глауцин	C <sub>21</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>4</sub>	0,3	115–117	1,3
Метилйодид глауцина	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> NO <sub>4</sub> J	0,5	223–226	90
Этилийодид глауцина	C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> NO <sub>4</sub> J	0,4	198–200	45
Дегидроглауцин	C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> NO <sub>4</sub>	0,6	120–123	45

*Биологическая активность производных алкалоидов глауцина*

Была изучена антимикробная активность производных глауцина, для определения которой были использованы штаммы грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* и грамотрицательные штаммы *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, а также дрожжевой грибок *Candida albicans* (методом диффузии в агар (лунок)).

*Экспериментальная часть*

Для колоночной хроматографии использовали прокаленный Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (II ст. активности), для ТСХ — пластинки Silufol UV-254 и Silicagel on Aluminum, 20X, проявитель — пары йода. Температуру плавления определяли на приборе Voethius. ИК-спектры снимали на Фурье-спектрофотометре Vektor-22 в КВг. Спектры ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C получены на спектрометрах Bruker AC 200 [рабочие частоты 200.13 (<sup>1</sup>H) и 50.32 МГц (<sup>13</sup>C)] и Bruker DRX 500 [рабочие частоты 500.13 (<sup>1</sup>H) и 125.76 МГц (<sup>13</sup>C)] для 5 %-ных растворов CDCl<sub>3</sub> или CD<sub>3</sub>OD.

*Хлороформная экстракция:* 800 г надземной части воздушно-сухого сырья смачивали 5 %-ным раствором соды и исчерпывающе экстрагировали хлороформом. Хлороформный экстракт взбалтывали с 5 %-ным раствором серной кислоты. Кислый раствор промывали хлороформом, затем при охлаждении подщелачивали содой, и алкалоиды экстрагировали хлороформом. Получили 12 г (1,3 %) суммы экстрактивных веществ (от веса воздушно-сухого сырья). При колоночной хроматографии на оксиде алюминия в соотношении сумма:носитель 1:70 с применением в качестве элюента смеси гексан-этилацетат выделили 0,03 г алкалоида глауцина. Т.пл. 115–117 °С.

ИК-спектр (КВг ν, см<sup>-1</sup>): 846, 950, 975, 1005, 1121, 1161, 1200, 1228, 1318, 1392, 1440, 1535, 1595, 1600, 2850, 2930, 2958.

*Взаимодействие глауцина с ацетатом ртути*

0,1 г глауцина растворяли в 10 мл абсолютного хлороформа. К полученному раствору добавляли 0,012 мл ацетата ртути и 0,009 г боргидрида натрия. Реакцию проводили при комнатной температуре в течение трех часов. Раствор отфильтровали, фильтрат промыли водой, экстрагировали три раза хлороформом и сушили безводным сульфатом натрия. Растворитель упарили, остаток хроматографировали на колонке с окисью алюминия, элюент — гексан. Получили кристаллическое вещество с т.пл. 120–123 °С, выход 45 %.

ИК-спектр (КВг ν, см<sup>-1</sup>): 614, 806, 846, 950, 1001, 1030, 1085, 1110 (-CH<sub>2</sub>), 1121, 1161, 1200, 1228, 1259, 1298, 1332, 1392, 1510 (C-Ar), 1590 (C-N), 1637 (C=C), 1758, 2824 (N-CH<sub>3</sub>), 2958 (OCH<sub>3</sub>), 3000.

ПМР-спектр (200 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ, м.д. J/Гц): 3.0 (3H, с., N-CH<sub>3</sub>), 3.35 (2H, тр., J =6, H-5), 3.87, 3.96, 3.99, 4.0 (3H, с, OCH<sub>3</sub>), 6.79, 6.98, 7.1, 7.23 (1H, с, H-3, H-8, H-11).

*Взаимодействие глауцина с бромистоводородной кислотой*

0,1 г (0,23 ммоль) глауцина растворили в абсолютном хлороформе, добавили 0,03 мл (0,22 ммоль) этиленгликолевого эфира борной кислоты. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 часов. Осадок отфильтровали, фильтрат упаривали. Получили кристаллическое вещество с т.пл. 236–238 °С, выход 65 %.

ИК-спектр (КВг ν, см<sup>-1</sup>): 842, 955, 1001, 1030, 1080, 1120 (CH<sub>2</sub>), 1210(O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>O), 1260, 1300, 1330, 1377 (CH<sub>3</sub>), 1515 (C-Ar), 1635 (C=O), 1756, 2820 (N-CH<sub>3</sub>), 2960 (OCH<sub>3</sub>).

ПМР-спектр (200 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ, м.д. J/Гц): 3,09 (3H, с, N-CH<sub>3</sub>); 3,20; 3,62; 4,77; 4,80, 4,85 (по 2H, м., (O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>2</sub>); 3,76; 3,86; 3,88; 3,96 (3H, с, OCH<sub>3</sub>); 6,66; 6,72; 8,03 (1H, с, H<sub>3</sub>, H<sub>8</sub>).

#### Взаимодействие глауцина с галоидными алкилами

100 мг глауцина гидрбромид растворяли в 10 мл этилового спирта. К полученному раствору добавляли 0,045 мл свежеперегнанного йодистого алкила (метил, этил) и 0,05 мг поташа. Реакционную смесь нагревали в течение 10 часов, по охлаждению осадок отфильтровали, промыли этанолом, объединенные маточные растворы упарили. Остаток растирали с эфиром, выделили алкилиодиды (4,5). Соединение (4) — выход 90 %, т.пл. 223–226 °С. Соединение (5) — выход 45 %, т.пл. 198–200 °С.

Соединение (4) — ИК-спектр (KBr ν, см<sup>-1</sup>): 790, 892, 921, 952, 1014, 1038, 1103, 1147, 1171, 1230, 1245, 1269, 1341, 1371, 1397, 1465, 1514, 1579, 1796, 2850, 2940, 2958, 3005, 3500.

ЯМР <sup>1</sup>H (200 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ, м.д. J/Гц): 3,38 (3H, с., N-CH<sub>3</sub>), 1,26 (3H, с., N-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1,59 (2H, м, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3,10 (2H, тр., J=10.5, H-5), 3,70, 3,88, 3,92, 3,95 (3H, с. OCH<sub>3</sub>), 6,67, 7,21, 8,02 (1 H, с, H-3, H-8, H-9).

Соединение (5) — ИК-спектр (KBr ν, см<sup>-1</sup>): 767, 881, 901, 952, 1004, 1030, 1103, 1147, 1171, 1220, 1245, 1269, 1341, 1371, 1397, 1465, 1514, 1579, 1796, 2850, 2930, 2958, 3005, 3426.

ЯМР <sup>1</sup>H (200 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ, м.д. J/Гц): 3,13; 3,50 (3H, с., N-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 2,99 (2H, тр., J=13.5, H-5); 3,80 (1 H, д., J=5.0, H-6); 3,72; 3,87, 3,93, 3,94 (3H, с. OCH<sub>3</sub>), 6,93, 7,06, 8,00 (1H, с, H-3, H-8, H-9).

#### Результаты исследований антимикробной активности

Культуры выращивали на жидкой среде (МПБ) pH 7,3 ± 0,2 при температуре от 30 до 35 °С в течение 18–20 часов. Культуры разводили 1:1000 в стерильном 0,9 %-ном растворе натрия хлорида изотоническом, вносили по 1 мл в чашки с соответствующими элективными питательными средами для изучаемых тест-штаммов и засеивали по методу «сплошного газона». После подсушивания на поверхности агара формировали лунки размером 6,0 мм, в которые вносили растворы исследуемых образцов и препараты сравнения по 10 мкл. В контроле использовали 96 %-ный этиловый спирт в эквивалентных количествах. Посевы инкубировали при 37 °С, учет растущих культур проводили через 24 часа.

Т а б л и ц а 2

#### Антимикробная активность образцов

Наименование образцов	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus aurtus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>E. coli</i> <i>M-17</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Pseudomon aeruginosa</i>
Глауцин	29,0 ± 0,1	15 + 0,2	16 + 0,2	14 + 0,2	
Метилйодид глауцина	17,0 ± 0,2	28,0 ± 0,1	14 + 0,2	-	-
Линкомицина гидрохлорид	21,0 ± 0,1	22,0 ± 0,1	19,0 ± 0,1	-	-
Нистатин				22,0 ± 0,1	

Антимикробная активность образцов оценивалась по диаметру зон задержки роста тест-штаммов (мм). Диаметры зон меньше 10 мм и сплошной рост в чашке оценивали как отсутствие антимикробной активности, 10–15 мм — слабая активность, 15–20 мм — умеренно выраженная активность, свыше 20 мм — выраженная. Каждый образец испытывался в трех параллельных опытах. Статистическую обработку проводили методами параметрической статистики с вычислением средней арифметической и ее стандартной ошибки. Результаты исследования антимикробной активности образцов приведены в таблице 2.

В результате испытаний установлено, что глауцин обладает выраженной антибактериальной активностью к штаммам грамположительных бактерий *Staphylococcus aurtus* и умеренной — к *Bacillus subtilis* и к грамотрицательным штаммам *Escherihia coli*, а также к дрожжевому грибу *Candida albicans*.

Метилйодид глауцина обладает высокой антимикробной активностью в отношении *Bacillus subtilis*. В отношении *S. aureus* и *E. coli* данное вещество проявило умеренно выраженную активность.

## Список литературы

- 1 Арипова Х.Н. Итоги исследования алкалоидоносных растений. — Ташкент: ФАН, 1993. — 220 с.
- 2 Садритдинов Ф.С., Курмуков А.Г. Фармакология растительных алкалоидов и их применение в медицине. — Ташкент: Медицина, 1980.
- 3 Wu Yang-Ckang, Lu Sneng-Tek. Цитотоксичные апорфиноидные алкалоиды из *Thalictrum sessile* // Phytochemistry. — 1988. — № 27. — P. 1563–1564.
- 4 Hansel R., Sticher O., Steinegger E. Pharmakognosie-Phytopharmazie, Springer. — Berlin: Verlag, 1999. — P. 540.
- 5 Полинг Л., Полинг П. Химия. — М.: Мир, 1978. — 164 с.
- 6 Юнусов С., Прогрессов Н.Н. Об алкалоидах *Thalictrum minus* L. // Журнал органической химии. — 1957. — Т. 22. — № 4. — С. 1047–1055.
- 7 Машковский М.Д. Лекарственные средства. — М.: Новая волна, 1996. — 235 с.

Ж.Ж.Жумагалиева

***Thalictrum Foetidum* L. (Сасық маралотын) фитохимиялық зерттеу**

Қарағанды облысы Қарқаралы аймағында гүлдеу фазасында жиналып алынған Сасық маралоты (*Thalictrum foetidum* L.) өсімдігінің жер үсті бөлігі зерттелініп, алынған қосылыстардың құрылысы анықталды. Өсімдік шикізатынан экстрактивті заттар қосындысын алу мақсатында хлороформды шаймалау әдісі қолданылды. Экстрактивті заттар қосындысынан жеке заттарды бөлу силикагельде колонкалы хроматография әдісімен жүзеге асырылды. Апорфинді алкалоид глауцин негізінде жаңа туындылар синтезделді. Алынған жаңа қосылыстардың құрылысы ИҚ-, <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C ЯМР <sup>1</sup>H-спектроскопия әдістерімен анықталды.

Zh.Zh.Zhumagaliyeva

**The phytochemical study of *Thalictrum Foetidum* L.**

We have conducted the phytochemical study of the elevated part of *Thalictrum foetidum* L. collected in the Karkaraly District of the Karaganda Province, and also the structure of the released substances was established. The sum of the alkaloids from vegetable raw stocks was withdrew by the chloroform extraction way. The column chromatography method and the extractive substances sum processing were applied for individual connections release. On the basis of aporphine alkaloid glaucine her new derivatives were synthesized. The structures of obtained compounds were determined on basis of IR, -NMR <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C spectral data.