

Рекомендована д.ф.н., професором А.Г. Сербіним

УДК 547.673.6:582.782:581.48

ВИВЧЕННЯ ПОХІДНИХ АНТРАЦЕНУ НАСІННЯ FRANGULA ALNUS Mill.

Т.М.Крючкова, М.С.Журавльов

Національний фармацевтичний університет

В екстрактах з насіння *Frangula alnus* Mill. методами ТШХ і паперової хроматографії виявлено не менше 7 сполук гідроксіантрахінонової структури. Методами послідовної екстракції сировини в апараті Сокслета різними органічними розчинниками з подальшою рідинно-рідинною екстракцією гідроксіантрахінонів розчинами натрію карбонату з органічних розчинників і колонковою хроматографією на силікагелі були виділені дві індивідуальні сполуки антрахінонової природи. Спектральними, фізичними і хімічними методами була встановлена їх структура. Це хризофанол і емодин.

Природні похідні антрацену проявляють дуже широкий спектр біологічної активності, а тому використовуються як лікарські засоби для лікування різних хвороб, а також як аналітичні реагенти, барвники тощо [3].

Інтерес до цієї групи речовин постійно зростає, про що свідчать численні публікації, які з'являються щорічно в науковій та патентній літературі. Особливо великий інтерес до природних і синтетичних антраценпохідних проявляють учени Японії [16, 18], Німеччини [4, 5], США [6], Франції [7-9] та інших країн [1, 2, 10, 15, 17].

Дикорослих лікарських рослин, які накопичують антраценпохідні, в Україні дуже мало, а культивовані представлені тільки ревенем тангутським та мареною красильною. Тому вивчення кожного нового дикорослого об'єкта, який містить антраценпохідні, є актуальним питанням. Таким об'єктом, на нашу думку, є насіння крушини ламкої, антраценпохідні якої зовсім не вивчені.

Крушина ламка — *Frangula alnus* Mill. род. жостерові — *Rhamnaceae* — чагарник або невелике дерево заввишки до 7 м. Листя почегове з 6-8 парами жилок другого порядку. Квіти зібрани пучками по 2-6 в пазухах на довгих квітконосах, дрібні, вузькодзвінкові, з поверхні жовтуваті, в середині жовті. Плід — кулеподібна кістянка 7-8 (10) мм у діаметрі, спочатку зелена, потім червона, а при повному визріванні фіолетово-чорна з 2-3 широкозворотнояйцеподібними сплюснутими

кісточками довжиною до 5 мм з дзьобовидним носиком.

Цвіте у травні-червні, плоди визрівають у липні-жовтні. В Україні зустрічається на всій території і має достатню сировинну базу. Крушина ламка непримхлива рослина і росте в різних місцях: у вигляді підліску в дрібнолистяних, хвойних та змішаних лісах, по берегах річок, озер, боліт, на вологих луках у великій кількості в Поліссі та в північній частині Лісостепу, рідше — на півдні Лісостепу та в Степових районах. Щорічно в Україні можна заготовляти більше 700 тонн сировини [11].

Крушина легко розмножується насінням. Плоношення її, як правило, рясне, повторюваність високих урожаїв — близько 70% [12].

Офіциальною лікарською рослинною сировиною крушини є кора (ДФ XI, ст. 2).

Найвищий вміст антраценпохідних у корі крушини накопичується під час цвітіння рослини (кінець травня — початок червня).

Внесення добрив, особливо азотних на 6-9 році веде до збільшення вмісту антраценпохідних у корі до 12,9% [13].

Експериментальна частина

Проведені попередні дослідження показали, що в насінні крушини накопичуються похідні антрацену.

Методом ТШХ і паперової хроматографії у сировині, що вивчалась, було виявлено не менше семи сполук антрахінонової природи (I-VII).

Речовини I-VII при хроматографуванні в системі розчинників толуол-ацетон-50% оцтова кислота (4:1:0,5) на пластинах Silufol мали значення Rf:

I — 0,88; II — 0,67; III — 0,60; IV — 0,54; V — 0,28; VI — 0,15; VII — 0,05.

З метою виділення антраценпохідних 0,12 кг сухої подрібненої до 2 мм сировини на першому етапі послідовно екстрагували в апараті Сокслета гексаном, хлороформом, а потім ацетоном до повноти екстракції антраценпохідних кожним розчинником (реакція з розчином KOH). У гексановому екстракті були знайдені сполуки I-V; у хлороформному екстракті — сполуки I-V (в більшій

кількості, ніж у гексані), в ацетоновому — сполуки I–VII з перевагою VI і VII.

Виходячи з площ плям на хроматограмах, в гексановому екстракті речовини I, IV були основними, а речовини II, III, V складали незначну частину суми, а у хлороформному екстракті речовин I–III було значно менше, ніж IV і V. Тому об'єднувати вказані екстракти було недоречно.

Гексановий екстракт багаторазово обробляли у дійливій лійці розчином натрію карбонату 3%-ним до знебарвлення останнього. В результаті в гексановому розчині залишилась майже чиста речовина I, а в лужній розчині перейшли речовини II–V. Спроба отримати речовину I у кристалічному вигляді з різних розчинників успіху не мала, а тому її очищували на колонці силікагелю марки "Ferak". Колонку елюювали гексаном, внаслідок чого в окремих елюатах було знайдено індивідуальну речовину I. При додатковому очищенні I кристалізацією з етанолу були отримані пластинчасті кристали жовтого кольору. Т. пл. — 194–195°C.

Суму речовин хлороформного екстракту також багаторазово обробляли розчином натрію карбонату 3%-ного, як описано вище для гексанового розчину, внаслідок чого речовину I відділили від II–V. Фракції з речовинами II–V гексанового розчину об'єднували з фракціями II–V хлороформного розчину та розділяли на колонці силікагелю, використовуючи як елюенти гексан та суміш гексану з хлороформом.

У деяких фракціях з колонки було знайдено окрему сполуку V. При упарюванні гексану і розчинені сухого екстракту в хлороформі речовина V була отримана в кристалічному стані (жовто-оранжеві голкоподібні кристали). Т. пл. — 254–255°C.

Сполуки I та V — розчинні в органічних розчинниках і нерозчинні у воді. Речовина I утворює інтенсивно забарвлений (червоні) розчини з лугами (NaOH, KOH), а речовина V, крім того, і з розчинами натрію карбонату.

УФ-спектри абсорбції речовин I і V в етанолі 96% були зняті на спектрофотометрі СФ-46 у діапазоні довжин хвиль 220–550 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовували етанол 96%.

Іонізуючим реагентом служив спиртовий розчин натрію оцтовокислого, а комплексоутворювальним — 1% спиртовий розчин алюмінію хлориду.

Приготування розчинів. З $1 \cdot 10^{-4}$ молярного етанольного розчину сполуки, яку вивчали, відмірювали по 1 мл в пікрометри ємкістю 10 мл. В один з них додавали до позначки етанол 96%, в інший — також етанол та плавлений натрій оцтовокислий до насыщення та етанол 96% до позначки, у третій — 3 мл розчину алюмінію хлориду 1%-ного та етанол 96% до позначки.

У присутності натрію оцтовокислого в етанолі у сполуки V спостерігали зсув довгохвильового максимуму на 75 нм, а у сполуки I такого зсуву не було. Батохромний зсув довгохвильового максимуму на 40 нм у сполуки I і на 75 нм у сполуки V спостерігали в присутності алюмінію хлориду в етанолі 96%.

ІЧ-спектри сполук, які вивчались, знімали на спектрофотометрі "Specord-M82" в області 4000–400 cm^{-1} в таблетках калію броміду. У сполуки V присутня інтенсивна смуга при 3400 cm^{-1} , а у сполуки I така смуга відсутня. Крім того, виявлені смуги при 1683 cm^{-1} , 1630 cm^{-1} і 1565 cm^{-1} у сполуки I і смуги при 1670 cm^{-1} , 1625 cm^{-1} і 1595 cm^{-1} у сполуки V.

При вибірковому метилуванні сполуки V з використанням йодистого метилу і срібла оксиду в сухому ацетоні була отримана відома сполука фісціон.

Результати та їх обговорення

Для виявлення вільних OH-груп та їх розміщення в молекулі проводили вивчення УФ-спектрів сполук I та V з іонізуючими та комплексоутворювальними реагентами.

Натрій оцтовокислий в етанолі 96%-ному здатний утворювати солі тільки з фенольними гідроксилами, розміщеними в β -положенні гідроксіантрахіонів [14]. У сполуки V спостерігається зсув довгохвильового максимуму на 75 нм, а у сполуки I вищевказаного зсуву не було, що може вказувати на наявність фенольного гідроксилу в β -положенні у сполуки V та відсутності такого гідроксилу у сполуки I.

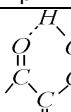
Батохромний зсув довгохвильового максимуму у сполуки I на 40 нм, а у сполуки V на 75 нм у присутності алюмінію хлориду в етанолі 96%-ному дозволяє припустити утворення їх комплексів з алюмінію хлоридом за рахунок вільної α -гідроксигрупи та карбонільної групи антрахінового кільця [14].

В ІЧ-спектрі речовини V присутня інтенсивна смуга при 3400 cm^{-1} , яка характеризує OH-групу, не зв'язану внутрішньомолекулярним гідрогенним зв'язком (ВМГЗ) з $-\text{C=O}$ групою, тобто β -гідроксилу, а у сполуки I така смуга відсутня. Інтенсивні смуги при 1683 cm^{-1} та 1670 cm^{-1} у сполуки I і V відповідно виявляють вільні хіноїдні групи, а смуги при 1630 cm^{-1} (I) та 1625 cm^{-1} (V) відповідають зв'язаним ВМГЗ гідроксилам в α -положенні антрахінового ядра з карбонільною групою. Крім того, в ІЧ-спектрах сполук I і V присутні інтенсивні смуги при 1565 cm^{-1} та 1595 cm^{-1} відповідно, характерні для антрахінонового ядра (див. табл.).

Аналізуючи дані УФ- та ІЧ-спектрів речовин I і V, ми прийшли до висновку, що у сполуки I відсутня вільна OH-група в β -положенні (немає батохромного зсуву довгохвильового максимуму в УФ-спектрі в присутності натрію оцтовокислого,

Таблиця

Спектральна характеристика гідроксіантрахіонів насіння *Frangula alnus* Mill.

Речовина	ІЧ-спектри				УФ-спектри				
	β -ОН	>C=0		>C=C<	96% спирто- вий розчин	спиртовий розчин з домішками			
						CH ₃ COONa	AlCl ₃		
	см ⁻¹	см ⁻¹	см ⁻¹	см ⁻¹	λ тах, нм	λ тах, нм	$\Delta\lambda$, нм	λ тах, нм	$\Delta\lambda$, нм
Хризоф- анол (I)		1683	1630	1565	225 288 431	225 291 431	—	225 290 470	+40
Емодин (V)	3400	1670	1625	1595	222 290 440	224 315 515	+75	224 305 515	+75

немає інтенсивної смуги в ІЧ-спектрі в області більше 3000 см⁻¹, характерної для вільної гідроксильної групи в β -положенні) і присутня вільна α -ОН група (батохромний зсув довгохвильового максимуму в УФ-спектрі в присутності алюмінію хлориду на 40 нм, інтенсивна смуга хіноїдної карбонільної групи, зв'язаної ВМГЗ з гідроксилом у α -положенні при 1630 см⁻¹ в ІЧ-спектрі).

Сполучка V має вільну OH-групу в β -положенні (батохромний зсув довгохвильового максимуму в УФ-спектрі на 75 нм в присутності натрію оцтовокислого і присутня інтенсивна смуга при 3400 см⁻¹ в ІЧ-спектрі) та вільну OH-групу в α -положенні (батохромний зсув довгохвильового максимуму в УФ-спектрі у присутності алюмінію хлориду на 75 нм, інтенсивна смуга хіноїдної групи, зв'язаної ВМГЗ з гідроксилом в α -положенні при 1625 см⁻¹ в ІЧ-спектрі).

Підтвердженням спектральних даних служать хімічні дослідження сполучок I і V. Вибіркове мети-

левання сполучки V приводить до отримання відомої природної сполучки фіоціону, а при вичерпному ацетилюванні було отримано діацетильне похідне зі сполучки I і триацетильне похідне зі сполучки V.

ВИСНОВКИ

1. У насінні крушини вільхоподібної методами ТШХ і паперової хроматографії виявлено не менше 7 гідроксіантрахіонів.

2. Методами фракційної екстракції різними розчинниками в апараті Сокслета з подальшим розділенням сумішей на колонках силікагелю були отримані дві індивідуальні кристалічні речовини (I, V).

3. За фізичними і хімічними властивостями вихідних речовин і продуктів їх перетворень, УФ-та ІЧ-спектрами сполучка I ідентифікована як 1,8-дигідрокси-3-метилантрахіон (хризофанол), а сполучка V — 1,6,8-тригідрокси-3-метилантрахіоном (емодин).

ЛІТЕРАТУРА

- Арзамасцев А.П., Зембатова С.Е. // Вопр. бiol., мед. и фармац. химии. — 2001. — №4. — С. 19-22.
- Луценко С.В., Фельдман Н.Б., Гуманов С.Г. и др. // Вопр. бiol., мед. и фармац. химии. — 2001. — №2. — С. 3-9.
- Музичкина Р.А. Природные антрахиноны, биологические свойства и физико-химические характеристики. — М.: Фазис, 1998. — 864 с.
- Пат. 1963557 Германия, МПК⁶ C 07 C 237/10, A 61 K 31/16. Neue Hydroxyanthraquinon-Derivate / Baykut Fikter, Baykut Gokhan, Baykut Doan. — №19635557. — Заявл.: 02.09.96. Опубл.: 05.03.98.
- Пат. 4120989 ФРГ, МКИ⁵ C 07 C 69/16, A 61 K 31/22 Verfahren zur Herstellung von Diacetylrein / Carcasone Alfens, Grimminger Wolf, Zaeske Helga et al. (ФРГ). — №4120989.3. — Заявл.: 25.06.91. Опубл.: 07.01.93.
- Пат. 5652265 США, МПК⁵ A 61 K 31/38. Production of rhein and rhein derivatives / Vittori Natale, Collins Michael, Wisconsin Alumni Research Foundation. — №412545. — Заявл.: 29.03.95. Опубл.: 29.07.97 — НПК 514/548.
- Пат. 2757393 Франция, МПК⁶ A 61 K 31/22, A 61 K 31/19. Composition pharmaceutique a base de rheine ou de diacerheina a biodisponibilite amelioree / Estonove Cyril Prudhomme Alain; Mazal Pharmaceutique Sarl. — №96115867. — Заявл.: 23.12.96. Опубл.: 26.06.98.
- Пат. 2740772 Франция, МПК² C 07 C 50/34, C 07 B 37/12. Procede de preparazion d'anthraquinones substitutes et application a la preparation de rheinas / Estonove Cyril, Pruvost Francois; Gire SA. — №9512950. — Заявл.: 02.11.95. Опубл.: 09.05.97.

9. Пат. 2759079 Франція, МПК⁶ C 07 C 50/18, A 61 K 31/12. *Procede de preparation d'anthaquinones substitutes et application a la preparation de rheinas / Estanove Curil, Pruvost Francois; Gire SA.* — №9701161. — Заявл.: 03.02.97. Опубл.: 07.08.98.
10. Пат. 689279 Швейцарія, МПК⁶ C 07 C 067/60, A 61 K 031/235. *Procede de purification de la diacetyl rheine / Steba Beheer B.V.* — №00342/95. — Заявл.: 07.02.95. Опубл.: 29.01.99.
11. Справочник по заготовке лекарственных растений / Д.С.Ивашин, З.Ф.Катина, И.З.Рыбачук и др. — К.: Урожай, 1978. — 320 с.
12. Сотник В.Ф. // Растит. ресурсы. — 1984. — Вып.3. — С. 347-354.
13. Шляпятис Ю.Ю. Биологические особенности крушины ольховидной, произрастающей и выращиваемой в Литовской ССР // Тр. АН Лит. ССР. — 1983. — Т.3. — С. 37-42.
14. Amer M.M., Tarzas M.F., Abdel Fattah S. et al. // Egypt. J. Pharm. Sci. — 1989. — Vol.30, №1-4. — P. 271-291.
15. Cameron Donald W., Gan Chee-Yong, Eriffiths Peter J. et al. // Austral. J. Chem. — 1998. — Vol. 5, №5. — P. 421-432.
16. Kanno Morihiro, Shibano Takeshi, Takido Michipetal // Chem. and Pharm. Bull. — 1999. — Vol. 47, №7. — P. 915-918.
17. Manajlovic N.T., Soljajić S., Sudolan S. et al. // J. Serb. Chem. Soc. — 1998. — Vol. 63, №1. — P. 7-11.
18. Yagi N., Yamauchi K. // J. Pharm. Pharmacol. — 1999. — Vol. 51, №1. — P. 93-95.

УДК 547.673.6:582.782:581.48

ІЗУЧЕНІЕ ПРОІЗВОДНИХ АНТРАЦЕНА СЕМЯН
FRANGULA ALNUS Mill.

Т.Н.Крючкова, Н.С.Журавлев

В екстрактах из семян *Frangula alnus* Mill. методами ТСХ и бумажной хроматографии обнаружено не менее 7 веществ гидроксиантрахиноновой структуры. Методами последовательной экстракции сырья в аппарате Сокслета разными органическими растворителями с последующей жидкость-жидкостной экстракцией гидроксиантрахинонов растворами натрия карбоната из органических растворителей и колоночной хроматографией на силикагеле было выделено два индивидуальных вещества гидроксиантрахиноновой природы. Спектральными (УФ- и ИК-), физическими и химическими методами была установлена их структура. Вещество I идентифицировано как 1,8-дигидрокси-3-метилантрахинон (хризофанол), а вещество V — 1,6,8-тригидрокси-3-метилантрахинон (эмодин).

UDC 547.673.6:582.782:581.48

THE STUDY OF ANTHRACENE DERIVATIVES OF FRANGULA ALNUS MILL SEEDS.

T.N.Kryuchkova, N.S.Zhuravlev

Not less than 7 compounds of hydroxyanthraquinon's structure have been obtained in extracts from the seed of *Frangula alnus* Mill. By the methods of TLC and paper chromatography. Two individual compounds of anthraquinon's nature have been isolated by the methods of the successive extraction of the raw material in the Sockslet apparatus by different organic solvents with subsequent liquid-liquid extraction of hydroxyanthraquinones by solutions of sodium carbonate from organic solvents and column chromatography on silica gel. By spectral, physical and chemical methods their structure has been determined. The substance I has been identified as 1,8-dihydroxy-3-methylanthraquinone (chrysophanol) and the substance V — 1,6,8-trihydroxy-3-methylanthraquinone (emodin).