



УДК 615.322:582.736.3:547.587'814.05.06:543

СОДЕРЖАНИЕ И СОСТАВ ПОЛИФЕНОЛОВ, КУМАРИНОВ АСТРАГАЛА СЕРПОПЛОДНОГО, ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО В ПЯТИГОРСКОМ ФЛОРИСТИЧЕСКОМ РАЙОНЕ

Н.Н. ГУЖВА*Пятигорская
государственная
фармацевтическая
академия**e-mail: guzhvanikolai@rambler.ru*

В надземной части астрагала серпоплодного (*A.Falcatus*Lam) семейства бобовые Fabaceae (Leguminosae), произрастающего в Пятигорском флористическом районе, с использованием специфических реактивов были обнаружены оксикоричные кислоты, флавоноиды, кумарины. С использованием адсорбционной колоночной хроматографии на полиамиде и силикагеле были выделены кофейная, хлорогеновая, феруловая кислота, флавоноиды: 3,5,7,4'-тетраоксифлавоон (кемпферол), 3,5,7,3',4'-пентаоксифлавоон (кверцетин), кемпферол-3-глюкопиранозид (астрагалин), кемпферол-3-о-β-D-галактопиранозид (трифолин), кверцетин-3-рутинозид (рутин), робинин, кемпферол-3-о-β-рутинозил-7-о-α-L-рамнозид, из кумаринов: умбеллиферон, скополетин, скополин, скиммин.

Выделенные вещества были идентифицированы по данным физико-химического анализа (температура плавления, оптическое вращение, результаты кислотного, ферментативного гидролиз, УФ- и ИК-спектроскопии).

Ключевые слова: оксикоричные кислоты, флавоноиды, кумарины, УФ-, ИК-спектроскопия, кислотный и ферментативный гидролиз, температура плавления, экстракция, физико-химические свойства, количественное определение.

С целью выявления растений, наиболее перспективных по содержанию биологически активных веществ, мы продолжили изучение химического состава растений рода Астрагал, произрастающих в Предкавказье [1].

Изучение полифенольных соединений в растениях играет важную роль в выявлении их хемотаксономических признаков. Чаще всего в качестве биохимических признаков используется флавоноиды, оксикоричные, кумарины, с помощью которых успешно определяют видовую самостоятельность, а также систематику видового характера [2].

Растения рода Астрагал с давних времен привлекали к себе внимание исследователей. Так, грузинскими учеными было предложено для наработки полифенолов использовать только цветки астрагала серпоплодного, произрастающего в данной стране [3].

Целью настоящего исследования является изучение состава и количественного содержания оксикоричных кислот, флавоноидов, кумаринов в надземной части астрагала серпоплодного, произрастающего в Пятигорском флористическом районе, для разработки технологии получения сухого экстракта.

Материалы и методы. Сырье – надземная часть *A.серпоплодного*. Астрагал серпоплодный – *A. Falcatus*Lam – многолетнее растение высотой 55-85 см, с непарноперистыми листьями, листочки продолговатые, 10-20 мм в длину, цветки поникающие, беловатые, со слабым пурпурным оттенком, собраны в продолговатые кисти.

Бобы сидячие, серповидно-изогнутые, кожистые. Цветет в июне-июле, плоды созревают в июле-августе [4].

Сырье собрано в 2010 году на южном склоне горы Верблюдка во время цветения.

Данный астрагал произрастает на остепненных склонах гор-лакколитов Пятигорья, на Ставропольской горе, в предгорном районе Предкавказья. Встречается на опушках и в окнах редких дубовых лесов, расположенных на южных склонах гор-лакколитов, а также среди зарослей кустарников. Гербарные образцы находятся на кафедре ботаники.

Выделение и разделение суммы биологически активных веществ на индивидуальные вещества проводили следующим образом (см. рис.).

Для получения биологически активных веществ 1,0 надземной части астрагала серпоплодного (7-10 см), собранного в фазу цветения и измельченного до 3-5 мм, экстрагировали 80% этанолом, контакт-фаз – 3: 1-я – 1 час, 2-я – 40 минут, 3-я – 30 минут. Соотношение сырья и экстрагента 1:10 – 1:12, температура экстракции 60-65°C, извлечение объединяли, экстрагент отгоняли, сгущали

до 1/3 объема и оставляли на холоде при температуре не выше 8 градусов на 2-3 суток. Выпаренный осадок отфильтровывали, фильтр промывали горячей водой [1].

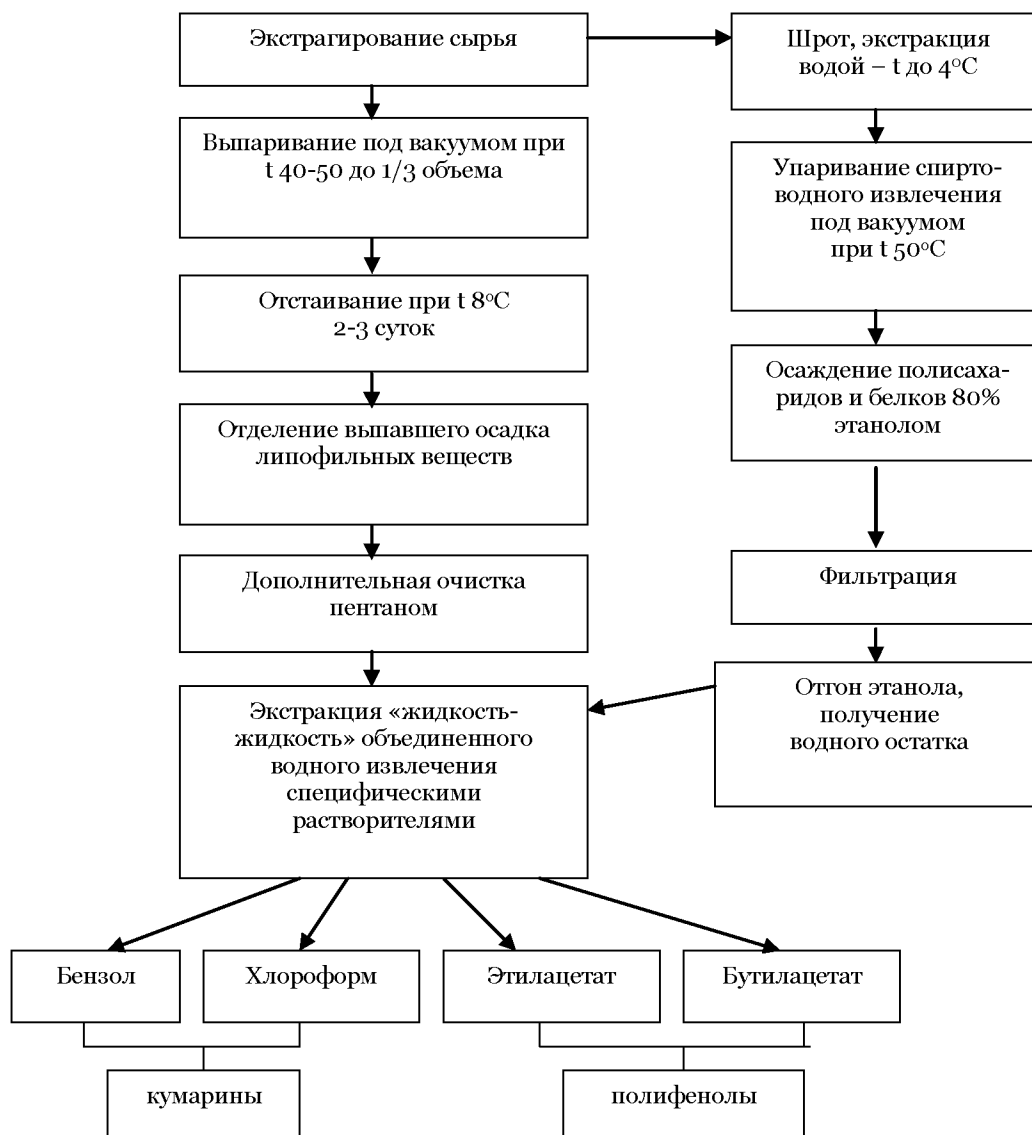


Рис. Схема выделения кумаринов, оксикоричных кислот, флавоноидов

Сырье в экстракторе заливали горячей водой (1:10, затем 1:5 и вновь 1:5) и нагревали при 90-92°C – 3 раза время контакта по 1 часа. Извлечения объединяли, отфильтровывали, упаривали под вакуумом при температуре 45-50°C (разряжение $2,6 \cdot 10^4$ кг/мс²). Полисахариды и белковые вещества осаждали 3-кратным объемом 80% этанолом, осадок отфильтровывали. Из профильтрованной жидкости отгоняли этанол, сгущали под вакуумом до 1/3 объема и объединяли с водной вытяжкой, полученной после отгона 80% этанола. Очистку от липофильных веществ проводили отстаиванием и экстракцией пентаном, гептаном.

Для разделения БАВ из сгущенного извлечения нами была использована избирательная экстракция «жидкость-жидкость» различными специфическими растворителями: бензол, хлороформ, этилацетат, бутилацетат, бутанол [1].

Полученные извлечения изучали методом одно- и двумерной хроматографии на бумаге (Ленинградская марки «С», FN-11) и на «Silufol» и «Сорбфил» в следующих системах растворителей: 1) 15% уксусная кислота; 2) бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:2); 3) хлороформ-формамид (3:1); 4) толуол-н-бутанол-вода (3:1:2); 5) н-гексан-бензол-метанол (5:4:1). Хроматограммы экстрактов просматривали в видимом и УФ-свете до и после проявления их различными реагентами. Индивидуальные оксикоричные кислоты и флавоноиды получали на колонке с полиамидным сорбентом и методом препаративной хроматографии на бумаге, кумарины – методом колоночной хроматогра-



фии на силикагеле и препаративной хроматографии с использованием ТСХ. Конфигурацию гликозидных связей и величины окисных циклов в углеводной части флавоноидов определяли по результатам ферментативных и кислотных гидролизом и по данным УФ- и ИК-спектров. УФ-спектры снимали на спектрофотометре «Srecord», ИК-спектры – на UR-20.

Были обнаружены: кумарины, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды, сапонины.

Идентификация кумаринов.

Индивидуальные вещества кумариновой природы выделяли из бензольной и хлороформной фракций, которые после отгона растворителей объединяли и выпаривали, получили 10,8 сухого объединенного экстракта, который наносили на колонку с силикагелем в соотношении 1:10 и элюировали последовательно гексаном, смесью гексан-хлороформ, с увеличением концентрации хлороформа. Было выделено три вещества. На основании качественных реакций, хроматографии на бумаге и в тонком слое сорбента выделенные вещества отнесли к производным кумарина (γ-пирона). Вещество К1 имеет синюю окраску до обработки 10% раствором гидроксида калия и аммиака в УФ-свете, а после обработки ярко-синюю.

Вещества К2 и К3 в УФ-свете имеют голубую окраску до обработки хромогенными реактивами и ярко-голубую после обработки [5].

При растворении данных веществ в растворах едких щелочей и последующем подкислении растворов выпадают осадки исходных соединений – и это характеризует их как лактоны кумариновой природы.

Таблица 1

Физико-химические свойства выделенных кумаринов

Кумарин	Общая формула	Тпл, °С	Флюоресценция в УФ-свете		Величина Rf в системах растворителей	
			до обработки 10% р-ром КОН	после обработки 10% р-ром КОН	Система	Rf
К1	C ₉ H ₆ O ₃	231-233	синяя	ярко-синяя	1	0,63
					3	0,38
К2	C ₁₀ H ₈ O ₄	204-206	голубая	ярко-голубая	1	0,51
					3	0,58
К3	C ₁₆ H ₈ O ₈	215-219	ярко-голубая	усиление окраски	5	0,40
К4	C ₁₄ H ₁₈ O ₉	212-215	ярко-голубая	усиление окраски	4	0,25

Вещество К1 – C₉H₆O₃ – белые игольчатые кристаллы, т. пл. 231-233°C (из СН₃ОН). Rf 0.63 (система 1), 0.38 (система 3). УФ-спектр (C₂H₅ОН, λmax, нм) 258, 326. При добавлении натрия ацетата наблюдается батохромный сдвиг длинноволновой полосы (240, 378 нм). ИК-спектр (KBr, ν, см⁻¹) 1616-1575, (–C=C–), 3300 (–ОН), 1718, (>C=O). На основании данных хроматографического анализа, температуры плавления, УФ- и ИК- спектральных характеристик, отсутствия депрессии, температуры плавления смешанной пробы со стандартным образцом вещество К1 было охарактеризовано как 7-гидроксикумарин – умбеллиферон.

Вещество К2– C₁₀H₈O₄ – белый кристаллический порошок с красноватым оттенком, т. пл. 204-206°C (из СН₃ОН). Rf 0.51 (система 1), 0.58 (система 3). В УФ-спектре вещества имеются максимумы поглощения 256, 300, 315, 340 нм, если добавить натрия ацетат, то наблюдается батохромный сдвиг длинноволновой полосы (240, 378 нм). В ИК-спектре наблюдаются полосы поглощения при 1708 (>C=O), 3300-3350 см⁻¹ (–ОН), 2930, 2845(–ОСН₃).

При сравнении данных хроматографического анализа, температуры плавления, УФ- и ИК-спектральных характеристик, по отсутствию депрессии температуры плавления смешанной пробы со стандартным образцом вещество К2 было охарактеризовано как 7-гидрокси-6-метоксикумарин – скополетин.

Вещество К3 – C₁₆H₈O₈ – белые игольчатые кристаллы с т. пл. 215-219°C (из СН₃ОН), растворяется в воде, метаноле, этаноле. [α]_{20D} – 84,50. В УФ-свете флуоресцирует ярко-голубым цветом, усиливающимся после обработки щелочью. УФ-спектр: (C₂H₅ОН, λmax, нм) 250, 315 нм. ИК-спектр: 3100(ОН), 1725 (карбонил γ-пирона), 1610 (Ar), 1580, 1520, 1460. При кислотном гидролизе образуется агликон с t пл. 230–231°C, имеющий на бумажной хроматограмме такую же подвижность, как и достоверный образец умбеллиферона. Хорошо растворим в этаноле, ацетоне, в этиловом эфире, нерастворим в воде. УФ-спектр: (C₂H₅ОН, λmax, нм) 255, 324 нм. ИК-спектр агликона полностью идентичен таковому умбеллиферона. В углеводной части кислотного гидролизата бумажной хроматографией в системе «н-бутанол-вода-пиридин» (6:4:3) обнаружили глюкозу; проявитель – кислотный фталат анилина (t 100-105°C). Сопоставляя полученные нами данные с литературными, приходим к выводу, что вещество К3 представляет собой 7β-глюкозид-умбеллиферона, или скимин.



Вещество К4 – $C_{14}H_{18}O_9$ – белые тонкие кристаллы-призмы с т. пл. 212-215°C (из CH_3OH), растворяющиеся в воде, метаноле и этаноле. В УФ-свете флуоресцирует ярко-голубым цветом. УФ-спектр: (C_2H_5OH , λ_{max} , нм) 285, 310 нм. После кислотного гидролиза выделили агликон в виде белых игольчатых кристаллов. Агликон на бумажной хроматограмме проявляется на уровне достоверного образца скополетина; с т. пл. 201-203°C, депрессии температуры плавления не показывает. УФ-спектр: (C_2H_5OH , λ_{max} , нм) 300, 345 нм. В ИК-спектре отмечены полосы поглощения, характерные для скополетина. В сахарной части гидролизата с использованием БХ установили наличие глюкозы – проявитель – свежеприготовленный кислотный анилинфталат ($t_{100-105}^{\circ}C$). Сопоставляя полученные нами данные с литературными, приходим к выводу, что вещество К4 – 7 β -глюкозид-скополетина, или скополин.

Таблица 2

Кумарины, выделенные из астрагалов, и их физико-химические параметры

Индекс	Вещество	Брутто формула	Топл. С	УФ-спектр λ_{max} , нм	Кислотный гидролиз		Растворимость
					агликон	сахарная часть	
К1	Умбеллиферон	$C_9H_6O_3$	231-233	255, 324	-	-	В этаноле, ацетоне, этиловом эфире
К2	Скополетин	$C_{10}H_8O_4$	202-204	300, 315	-	-	В этаноле, ацетоне, этиловом эфире
К3	Скимин	$C_{16}H_{18}O_8$	215-217	250, 315	умбеллиферон	глюкоза	В воде, этаноле, метаноле
К4	Скополин	$C_{14}H_{18}O_9$	218-219	285, 310	скополетин	глюкоза	В воде, метаноле, этаноле

Выделение и идентификация оксикоричных кислот и флавоноидов.

Этилацетатное и бутилацетатное извлечения сушили безводным сульфатом натрия, фильтровали и затем отгоняли растворители. После отгона растворителей их объединяли. Сумму полифенольных соединений осаждали 3-5 кратным объемом «сухого» хлороформа, при этом выпадал осадок желтого цвета, который отфильтровывали на стеклянном фильтре №3 и высушивали при температуре 45-50°C в вакуум-сушильном шкафу. Сумма полифенольных соединений представляет собой порошок желтого цвета, легко растворимый в метаноле, этаноле, ацетоне, нерастворим в хлороформе.

Для подтверждения наличия флавоноидов и оксикоричных кислот полученный порошок (0,1 г) растворили в 70% этаноле и исследовали методом одно- и двумерной хроматографии на наличие флавоноидов и коричных кислот с использованием бумажной (БХ) и тонкослойной хроматографии (ТСХ)[1,6]

Для проведения БХ использовали бумагу FN-11, Ленинградская марки С, FN-6. Система растворителей для флавоноидов: н-бутанол - уксусная кислота - вода (4:1:2) (БУВ), 15% уксусная кислота. Для оксикоричных кислот – 2% уксусная кислота, БУВ. Хроматограммы высушивали и просматривали в видимом и УФ-свете. После высушивания обнаружили 10 пятен, их отмечали, а затем обрабатывали парами аммиака; 5% раствором алюминия хлорида в этаноле и 10% раствором гидроксида калия в метаноле. Окраска пятен до обработки парами концентрированного раствора аммиака перешла от желтой до темно-коричневой. После обработки интенсивность увеличилась. А при обработке 5% раствором алюминия хлорида – от желтой до желто-зеленой. При обработке 10% раствором гидроксида калия – от желтой до оранжевой. По результатам проведенных качественных реакций 7 соединений были отнесены к флавоноидам, которые можно отнести как к агликонам, так и к гликозидам. Так как при проведении цианидиновой реакции до гидролиза суммы флавоноидов образуется красное окрашивание, которое частично переходит в октанол, что говорит о наличии как агликонов, так и гликозидов. При обработке пятен специфическими для коричных кислот реактивами Гепфнера, Паули, Шмитда на хроматограммах были обнаружены 3 оксикоричные кислоты [6].

Для выделения и идентификации отдельных фенольных соединений применяли разделение их суммы на колонке с полиамидным сорбентом или препаративное разделение хроматографическое на бумаге в нескольких системах растворителей с последующей дробной кристаллизацией выделенных соединений. Полученную сумму полифенольных соединений (35,0 г) наносили на колонку с полиамидным сорбентом, активированным 1% раствором хлороводородной кислоты. Экстрагировали последовательно водой и этанолом с повышением концентрации последнего. Колонку про-



сматривали в УФ-свете, наблюдали четкие зоны разделения соединений на сорбенте, собирали отдельные фракции. Процесс элюирования контролировали хроматографией на бумаге в системах 2 и 1. Одинаковые фракции объединяли, растворитель полностью отгоняли, вещества перекристаллизовывали из метанола, этанола.

Вещества анализировали после высушивания в вакуум-эксикаторе ($1,3 \cdot 10^4 \text{ Н/м}^2$) при температуре 1150°C над P_2O_5 в течение 12-14 часов. УФ-спектры выделенных индивидуальных веществ сняты на спектрометре СФ-56 в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве растворителя использовали метанол и 95% этанол. Температуру плавления веществ определяли на блоке Кофлера [1].

ИК-спектры соединений сняты в таблетках бромида калия на спектрофотометрах UR-20 «Specord» (с призмами NaCl и NaF в области $800\text{--}3600 \text{ см}^{-1}$, концентрация вещества 0,5%).

Удельное вращение гликозидов флавоноидов определяли на колориметре круговом «модель СМ» в кюветах с рабочей длиной 0,5 дм.

С целью установления качественного состава агликонов, которыми представлены флавоноидные гликозиды, проводили кислотный гидролиз 1-10% H_2SO_4 , 50% HCl . Для доказательства (определения количества свободных гидроксильных групп) вещества подвергали ацетилированию свежеперегнанным уксусным ангидридом в присутствии натрия ацетата и метилированию диметилсульфатом в присутствии безводного калия карбоната, а затем молекулярный вес полученных веществ определяли по методу О.Расте и определяли температуру плавления. Для доказательства гликозидной связи проводили ферментативный гидролиз с использованием ферментного препарата из гриба *Aspergillus oryzae* и β -глюкозидазой и эмульсином [2].

При сравнении хроматографической подвижности достоверных образцов свидетелей и пятен из флавоноидов были обнаружены: 3,5,7,4'-тетраоксифлавоны (кемпферол), 3,5,7,3',4'-пентаоксифлавоны (кверцетин), кемпферол-3-глюкопиранозид (астрагалин), кемпферол-3-о- β -D-галактопиранозид (трифолин), кверцетин-3-рутинозид (рутин), робинин, кемпферол-3-о- β -рутинозил-7-о- α -L-рамнозид.

Вещество А1 – вещество желтого цвета, т. пл. $194\text{--}196^\circ\text{C}$ (из CH_3OH), УФ-спектр ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, λ_{max} , нм) 217, 234, 299пл, 235 нм, (CH_3COONa , λ_{max} , нм) 310, 280; ($\text{CH}_3\text{COONa} + \text{H}_3\text{BO}_3$, λ_{max} , нм) 320, 295, (AlCl_3 , λ_{max} , нм) 350, 290. ($\text{C}_2\text{H}_5\text{ONa}$, λ_{max} , нм) 360, 240, 315пл. Элементный анализ: найдено % С – 60,04, Н – 5,45; вычислено % С – 59,67, Н – 5,02; R_f – 0,83 (система I), 0,28 (система III). ИК-спектр (KBr , ν , см^{-1}): 3400, 3235, 2975 (ОН), 1647, 1630 ($>\text{C}=\text{O}$), 1607, 1540 (Ar), 880, 860 (замещенный бензол). Ацетилпроизводное имеет температуру $183\text{--}187^\circ\text{C}$. Щелочное плавление дает протокатеховую кислоту с температурой плавления $201\text{--}203^\circ\text{C}$. Температура плавления полученного вещества соответствует температуре плавления кофейной кислоты. Также не наблюдается депрессии температуры плавления. Сравнивая полученные данные с литературными, вещество А1 идентифицировано как кофейная кислота.

Вещество А2 – $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$, т. пл. $203\text{--}206^\circ\text{C}$ (из CH_3OH), УФ-спектр ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, λ_{max} , нм) 325, 300, 246. (CH_3COONa , λ_{max} , нм) 330, 248; ($\text{CH}_3\text{COONa} + \text{H}_3\text{BO}_3$, λ_{max} , нм) 350, 330, 255. (AlCl_3 , λ_{max} , нм) 360, 315, 240. ($\text{C}_2\text{H}_5\text{ONa}$, λ_{max} , нм) 380, 260. Элементный анализ: найдено % С – 53,87, Н – 5,01; вычислено % С – 54,52, Н – 5,08. R_f – 0,63 (система I), 0,66 (система III). ИК-спектр (KBr , ν , см^{-1}) 2970, 2900, 2780(ОН), 1740-1710 (сложноэфирная группировка), 1660, 1625($>\text{C}=\text{O}$), 1605-1550(Ar), 840 (замещенный бензол). Щелочной гидролиз приводит к образованию кофейной кислоты (т. пл. $194\text{--}196^\circ\text{C}$) и D-хинной кислоты (т. пл. $182\text{--}184^\circ\text{C}$). На хроматограмме смешанная проба вещества А2 и хлорогеновой кислоты дает одно пятно, также не наблюдается депрессии температуры плавления вещества А2 и хлорогеновой кислоты. Данное вещество идентифицировано как хлорогеновая кислота.

Вещество А3 – $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$, т. пл. $167\text{--}168^\circ\text{C}$ (из MeOH), УФ-спектр (EtOH , λ_{max} , нм): 319, 234, 325, 300, 246, (CH_3COONa , λ_{max} , нм) 310, 280; ($\text{CH}_3\text{COONa} + \text{H}_3\text{BO}_3$, λ_{max} , нм) 345, 230. (AlCl_3 , λ_{max} , нм) 345, 230. ($\text{C}_2\text{H}_5\text{ONa}$, λ_{max} , нм) 342, 245. Элементный анализ: найдено % С – 61,12, Н – 4,98; вычислено С – 61,86, Н – 5,15. R_f – 0,34 (система I), 0,87 (система II). ИК-спектр (KBr , ν_{max} , см^{-1}): 3100-2995 ($-\text{OH}$), 1690-1660($\text{C}=\text{O}$), 1600, 1575, 1540 ($-\text{C}=\text{C}$ - Ar-кольца), 1225, 1190, 1130 ($-\text{CH}_3$). При щелочном сплавлении образуется 3-метокси-4-оксибензойная кислота. Не наблюдается депрессии температуры плавления вещества А3 и феруловой кислоты. Данное вещество идентифицировано как феруловая кислота.

Вещество F1 – $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$, т. пл. $273\text{--}275^\circ\text{C}$ (из CH_3OH), УФ-спектр ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, λ_{max} , нм) 368, 267 нм; (CH_3COONa , λ_{max} , нм) 380, 273; ($\text{CH}_3\text{COONa} + \text{H}_3\text{BO}_3$, λ_{max} , нм) 365, 267. (AlCl_3 , λ_{max} , нм) 425, 274; ($\text{AlCl}_3 \cdot \text{HCl}$, λ_{max} , нм) 425, 273; ($\text{C}_2\text{H}_5\text{ONa}$, λ_{max} , нм) 408, 276. Элементный анализ: найдено % С – 62,48, Н – 3,25; вычислено % С – 62,58, Н – 3,48. R_f – 0,82(система I), 0,08 (система II). ИК-спектр (KBr , ν , см^{-1}) 3340(ОН), 1660($>\text{C}=\text{O}$), 1615, 1570, 1515(Ar), 810, 840 (п-замещение в кольце "В"). При щелочном плавлении образуется флороглюцин и п-оксибензойная кислота (т. пл. $210\text{--}212^\circ\text{C}$). На основании полученных данных и данных литературы вещество F1 идентифицировали как 3,5,7,4'-тетраоксифлавоны (кемпферол).



Таблица 3

**Качественные исследования оксикоричных кислот
на бумажных хроматограммах со специфическими реактивами**

В-во	Окраска пятен при действии						
	УФ-свет	УФ-свет и NH ₄ OH	KOH 0,5н в CH ₃ OH	Реактив Гепфнера	Реактив Паули	3% FeCl ₃ в C ₂ H ₅ OH	Реактив Милона
A1	светло-голубая	усиление окраски	красно-коричневая окраска	красно-коричневая	коричневая	серо-зеленая	желтая
A2	голубая	зеленая	красная	желто-коричневая	желто-коричневая	зеленая	-
A3	голубовато-фиолетовая	ярко-голубовато-фиолетовая	желто-коричневая	желто-коричневая	фиолетовая	коричневая	желтая

Вещество F2 – C₁₅H₁₀O₇, т. пл. 310-312°C (из CH₃OH), УФ-спектр (C₂H₅OH, λ_{max}, нм) 372, 264, 256 нм; (CH₃COONa, λ_{max}, нм) 384, 374; (CH₃COONa+H₃BO₃, λ_{max}, нм) 390, 259. (AlCl₃, λ_{max}, нм) 458, 252; (AlCl₃·HCl, λ_{max}, нм) 430, 271 (C₂H₅ONa, λ_{max}, нм) 333, 270. Элементный анализ: найдено % С – 59,36, Н – 2,83; вычислено % С – 59,61, Н – 3,33. R_f – 0,64(система I), 0,04 (система II). ИК-спектр (KBr, ν, см⁻¹) 3380, 3300(OH), 1665(>C=O), 1615, 1565, 1515 (Ar), 815, 840 (п-замещение в кольце "B"). При щелочном плавлении образуется флороглюцин, протокатеховая кислота (т. пл. 201-203°C). Ацетилирование дает вещество с т. пл. 196-197°C. Метилирование дает вещество с т. пл. 152-153°C. Не наблюдалось депрессии температуры плавления вещества F2 и достоверного образца кверцетина. Вещество идентифицировали как 3,5,7,3'4'-пентаоксифлавоин (кверцетин).

Вещество F3 – C₂₁H₂₀O₁₁, т. пл. 178-180°C (из CH₃OH), УФ-спектр (C₂H₅OH, λ_{max}, нм) 357, 255, 326 нм; (CH₃COONa, λ_{max}, нм) 380, 275; (CH₃COONa+H₃BO₃, λ_{max}, нм) 349, 267. (AlCl₃, λ_{max}, нм) 397, 275; (AlCl₃·HCl, λ_{max}, нм) 387, 275; (C₂H₅ONa, λ_{max}, нм) 401, 275. Элементный анализ: найдено % С – 56,43, Н – 4,12; вычислено % С – 56,25, Н – 4,46. [α]₂₀D = -560 (с 0,1; ДМФА), R_f – 0,72(система I), 0,43 (система II). ИК-спектр (KBr, ν, см⁻¹) 3425, 3180(OH), 1665 (>C=O), 1610, 1575, 1510, 1455(Ar), 1095, 1055, 1030, 902, 885 (сахарный компонент), 815, 835 (п-замещение в кольце "B"). При кислотном (1% H₂SO₄) и ферментативном (*Aspergillus oryzae*) гидролизе образуется кемпферол и D-глюкоза, что было доказано БХ с использованием достоверных образцов свидетелей. На основании полученных данных вещество F3 идентифицировали как кемпферол-3-глюкопиранозид (астрагалин).

Вещество F4 – C₂₁H₂₀O₁₁, т. пл. 229-231°C (из MeOH), УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 359, 257, [α]₂₁D -45,1 (с 1,00 MeOH). В результате кислотного гидролиза получили агликон кемпферол и D-галактозу. Данное вещество идентифицировали как кемпферол-3-о-β-D-галактопиранозид (трифоллин).

Вещество F5 – C₂₁H₃₀O₁₆, т. пл. 190-192°C (из CH₃OH), УФ-спектр (C₂H₅OH, λ_{max}, нм) 256, 264пл, 355 нм; (CH₃COONa, λ_{max}, нм) 391, 273; (CH₃COONa+H₃BO₃, λ_{max}, нм) 270, 362. (AlCl₃, λ_{max}, нм) 416, 276; (AlCl₃·HCl, λ_{max}, нм) 394, 272 (C₂H₅ONa, λ_{max}, нм) 411, 274. Элементный анализ: найдено % С – 53,10, Н – 5,20; вычислено % С – 53,11, Н – 4,92. R_f – 0,45 (система I), 0,51 (система II). ИК-спектр (KBr, ν, см⁻¹) 3595, 3400(OH), 1660(>C=O), 1605, 1575, 1510 (Ar), 1085, 1062, 1025, 980, 900 (сахарный компонент), 815, 840 (п-замещение в кольце "B"). При жестком кислотном гидролизе 10% H₂SO₄ образуется кверцетин и рутиноза (т. пл. 187-188°C). При кислотном гидролизе 1% H₂SO₄ (ступенчатый гидролиз) образуется кверцетин (т.пл. 312-313°C), D-глюкоза, L-рамноза, что было подтверждено БХ с достоверными образцами свидетелей. Ферментативный гидролиз дал кверцетин, D-глюкозу и L-рамнозу. Идентифицировано как рутин (кверцетин-3-рутинозид).

Вещество F6 – C₃₃H₄₀O₁₉, т. пл. 188-190°C (из MeOH), УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 350, 265. [α]₂₁D -120,40 (Pur, EtOH). При кислотном гидролизе получили агликон кемпферол, рамнозу и робинозу, идентифицированные методом хроматографии на бумаге. На основании полученных данных вещество F6 идентифицировали как робинин.

Вещество F7 – C₃₃H₄₀O₁₉, т. пл. 190-194°C, [α]₂₂D -61,70 (с 0,1; этанол), УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 350, 260; (Zr(NO₃)₄) 360, 270; (Zr(NO₃)₄+лимонная кислота) 345, 260; (C₂H₅ONa) 395, 270. ИК-спектр (в вазелиновом масле) 3600-3200 (OH), 1610-1600 (γ-пирон), 1380 (-CH-), 920, 980 см⁻¹(-CH-CH-). При кислотном гидролизе образуется агликон кемпферол, а в сахарной части обнаруживается D-глюкоза и L-рамноза. Ферментами расщепляется до монозида – кемпферол-7-рамнозида и биоэозы, идентичной рутинозе.



По полученным результатам вещество F7 идентифицировали как кемпферол-3-о-β-рутинозил-7-о-α-L-рамнозид.

Таблица 4

Качественные исследования флавоноидов на бумажных хроматограммах со специфическими реактивами

В-во	Окраска пятен						
	До обработки		После обработки в УФ-свете				
	В видимом свете	В УФ-свете	Конц. р-р NH ₃	5% р-р AlCl ₃ в C ₂ H ₅ OH	KOH 10% в CH ₃ OH	Р-в Херхаммера	
До гидролиза						После гидролиза	
F1	бледно-желтая	желто-зеленая	желтая	желто-зеленая	ярко-желтая	+	+
F2	бледно-желтая	желтая	желто-зеленая	ярко-желтая	желтая	+	+
F3	бледно-желтая	коричневая	желтая	желто-зеленая	оранжевая	-	+
F4	бледно-желтая	коричневая	желтая	желто-зеленая	оранжевая	-	+
F5	бледно-желтая	коричневая	желто-зеленая	желто-зеленая	оранжевая	-	+
F6	бледно-желтая	коричневая	желтая	желто-зеленая	оранжевая	-	+
F7	бледно-желтая	коричневая	желтая	желто-зеленая	оранжевая	-	+

Количественное содержание кумаринов определяли в пересчете на умбеллиферон. Оно составило 0,47%. Содержание оксикоричных кислот в пересчете на кофейную кислоту – 3,2%, содержание флавоноидов в пересчете на робинин составило 2,57%.

Выводы:

1. Проведено фитохимическое исследование надземной части астрагала серпоплодного, произрастающего в Пятигорском флористическом районе. С использованием колоночной и препаративной хроматографии были выделены и идентифицированы: кофейная, хлорогеновая, феруловая кислота, флавоноиды: 3,5,7,4'-тетраоксифлавоны (кемпферол), 3,5,7,3',4'-пентаоксифлавоны (кверцетин), кемпферол-3-глюкопиранозид (астрагалин), кемпферол-3-о-β-D-галактопиранозид (трифоллин), кверцетин-3-рутинозид (рутин), робинин, кемпферол-3-о-β-рутинозил-7-о-α-L-рамнозид, из кумаринов: умбеллиферон, скополетин, скополин, скимин.

2. Количественное содержание кумаринов в пересчете на умбеллиферон составило 0,47%. Содержание оксикоричных кислот в пересчете на кофейную кислоту – 3,2%, содержание флавоноидов в пересчете на робинин составило 2,57%.

3. На основании полученных данных надземная часть астрагала серпоплодного, произрастающего в Пятигорском флористическом районе, может быть использована для наработки сухого экстракта.

4. Данные соединения из надземной части астрагала серпоплодного, произрастающего в Пятигорском флористическом районе, были выделены впервые.

Литература

1. Гужва, Н.Н. Биологически активные вещества астрагала эспарцетного, произрастающего в Предкавказье / Н.Н. Гужва // Химия растительного сырья – 2009. – № 3. – С. 123-132.
2. Клышев, Л. К. Флавоноиды растений / Л.К. Клышев, В.А. Бандюкова, Л.С. Алюкина // Алма-Ата : Наука, 1978. – 219 с.
3. Алания, М.Д. Флавоноиды и циклоартаны астрагалов, произрастающих в Грузии : автореф. дис. ... д-ра фарм. наук / М.Д. Алания. – Харьков, 1990. – 41 с.
4. Гроссгейм, А.А. Растительные богатства Кавказа / А.А. Гроссгейм. – М. : Медицина, 1952. – 486 с.
5. Гужва, Н.Н. Кумарины Astragalus asper / Н.Н. Гужва // Химия природных соединений. – 2008. – № 6.
6. Бандюкова, В.А. Фенолокислоты растения, их эфиры и гликозиды / В.А. Бандюкова // Химия природных соединений. – 1983. – № 3. – С. 263-273.



CONTENT AND COMPOSITION OF POLYPHENOLS, COUMARINES OF ASTRAGALUS FALCATUS, GROWING IN THE PYATIGORSK FLORISTIC DISTRICT

N.N. GUZHVA

*Pyatigorsk State Pharmaceutical
Academy*

e-mail: guzhvanikolai@rambler.ru

Oxycinnamonic acids, flavonoids, coumarins were found by means of the specific reagents in the underground part of astragal falcum (*A. Falcatus* Lam) of Fabaceae family (Leguminaceae), growing in the Pyatigorsk floristic district. With the application of adsorbent column chromatography on the polyamide and silicagel we separated caffeoyl, chlorogenic, ferulic acids, flavonoids: 3,5,7,4'-tetraoxyflavon (caffeoyl), 3,5,7,3',4'-pentaoxyflavon (quercetin), caffeoyl-3-glucopyranoside (astragaloside), caffeoyl-3-O-β-D-galactopyranoside (trifolin), quercetin-3-rutinoside (rutin), robinin, caffeoyl-3-O-β-rutinosyl-7-O-α-L-rhamnoside, from the coumarins: umbelliferone, scopoletin, scopolin, scimin.

Separated substances were identified by the data of physico-chemical analysis (temperature of melting, optical spin, results of acidic, enzymatic hydrolysis, UV-, and IR-spectroscopy).

Key words: oxycinnamonic acids, flavonoids, coumarins, UV-, IR-spectroscopy, acidic and enzymatic hydrolysis, temperature of melting, extraction, physico-chemical properties, quantitative determination.