

β-СИТОСТЕРИН И УРСОЛОВАЯ КИСЛОТА ИЗ ПЛОДОВ БОЯРЫШНИКА**В.Б.Кулиев¹, А.Чакыр²**¹*Институт биоресурсов Нахчыванского отделения НАНА,*²*Ататюркский университет, Ерзурум, Турция*

*Методом адсорбционной колоночной хроматографии из экстрактов, полученных из плодов боярышника зангезурского (*Crataegus zangezura* Pojark., сем. *Rosaceae*), выделены β-ситостерин и урсоловая кислота, изучена химическая структура этих веществ спектрометрическими методами.*

Некоторые виды рода боярышника (*Crataegus* L.) издавна широко применяются в народной медицине. В последние годы с целью выявления областей применения препаратов боярышника в клинической практике, проводятся разносторонние исследования в разных странах мира. Результаты фармакологических и токсикологических исследований экстрактов боярышника показали их эффективное влияние на деятельность сердечно-сосудистой системы [1], на расширение периферийных артерий, снижение кровяного давления и содержание холестерина в крови [2]. В работе [3] выявлены антиоксидантные и противовирусные свойства экстрактов боярышника. Результаты проведенных исследований свидетельствует о том, что боярышник является перспективным лекарственным растением.

На территории Нахчыванской АР распространено 19 видов боярышника [4]. Ранее нами было определено наличие водорастворимых кислых полисахаридов, пектиновых веществ, витамина С, свободных сахаров и аминокислот в некоторых видах боярышника [5]. Однако химический состав боярышников, произрастающих на территории республики, до сих пор подробно не изучен.

В настоящей статье описывается получение β-ситостерина и урсоловой кислоты из плодов *Crataegus zangezura* Pojark. и изучение их химического состава спектрометрическими методами.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

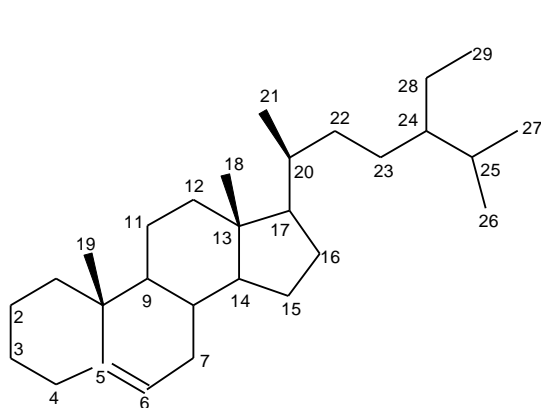
Плоды боярышника зангезурского (*Crataegus zangezura* Pojark., сем. Розоцветных–*Rosaceae*) собраны в окрестности с. Бузгов Бабекского р-на Нахчыванской АР. Мякоть плодов отделяли от косточек и сушили на открытом воздухе, в тени. Измельченное сырье в количестве 700г экстрагировали гексаном в аппарате Сокслета до обесцвечивания растворителя. Экстракт фильтровали через фильтровальную бумагу, и растворитель отгоняли под давлением в роторном испарителе. Сухой гексановый экстракт растворяли в малом количестве хлороформа и вводили в колонку (2.5x60 см), наполненной силикагелем (70-140 мк, Sigma) и элюировали хлороформом (1.2 л). Скорость элюирования 2 мл/мин. Элюент концентрировали и повторно наносили в хроматографическую колонку со слоем силикагеля. Колонку элюировали последовательно гексаном и смесью гексан:диэтиловый эфир. Из фракции гексан:диэтиловый эфир (85:15, объемн.) получили 115 мг вещества А.

Остаток образца после экстракции гексаном сушили и экстрагировали 80%-ным этиловым спиртом в течение 12 часов (2x3 л). Этанольные экстракты фильтровали и концентрировали под вакуумом. Концентрированный экстракт растворяли в воде, и смесь последовательно экстрагировали этилацетатом и бутанолом. Этилацетатную фракцию подвергали хроматографированию в колонке, напол-

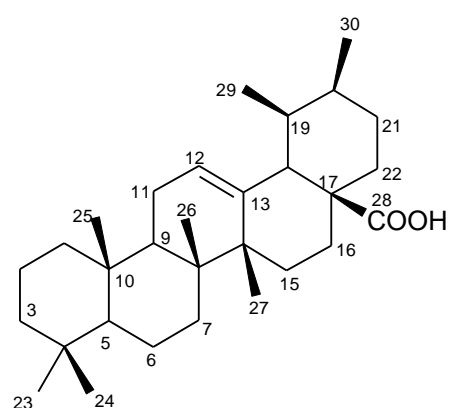
ненной силикагелем. Элюирование колонки проводили хлороформом (I фракция) и смесью метанол-хлороформ (м/хл) в различных объемных соотношениях: II – фракция, 5% м/хл (2.5 л), III – фракция, 10 % м/хл (3.1 л) и IV – фракция, 20 % м/хл (1.5 л). I фракцию рехроматографировали на колонке (1.8x30 см) с силикагелем. Элюирование проводили хлороформом (скорость элюирования 1.0 мл/мин) и из фракции 240-380 мл получили вещество Б в количестве 86 мг.

УФ-спектры веществ снимали на спектрофотометре JASCO V-530, спектры ^1H -ЯМР - на приборе Varian 200 MHz, спектры ^{13}C -ЯМР - на приборе Varian 50 MHz, а масс-спектры - на приборе марки Hewlett Packart MC 597117. Анализы по тонкослойной хроматографии проводили на пластинках (Silufol UV₂₅₄). Структурные формулы веществ, выделенных из плодов боярышника зангезурского, представлены на рисунке 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ



β -Ситостерин (А)



Урсоловая кислота (Б)

Рис.1. Структурные формулы веществ, выделенных из плодов боярышника зангезурского.

Вещество А перекристаллизовывали из ацетона в виде бесцветных кристаллов. Т.п. 138-140 °С. Вещество на хроматограмме проявляет характерную для стеролов реакцию.

ИК-спектр (KBr), ν см⁻¹: 3425 (-OH), 2937-2862 (алифатический C-H), 1647 (C=C), 1056 (C-O).

^1H -ЯМР (CDCl₃, 200 МГц): δ 0.68 (3H, с, H-18), 1.01 (3H, с, H-19), 0.88 (3H, д, H-21), 0.83 (3H, д, J=4,8 Гц, H-27), 0.84 (т, J=5.4 Гц, H-29), 3.45-3.75 (м, H-3), 5.35 (д, J=5,1 Гц, H-6), 2.0-2.1 (м, H-7), 0.88 (д, J=4,8 Гц, H-20).

^{13}C -ЯМР (CDCl₃, 50 МГц): δ 38.60 (C-1), 33.02 (C-2), 73.13 (C-3), 43.66 (C-4), 142.09 (C-5), 122.99 (C-6), 43.66 (C-7), 33.25 (C-8), 51.51 (C-9), 37.84 (C-10), 22.42 (C-

11), 41.13 (C-12), 33.25 (C-13), 58.12 (C-14), 25.52 (C-15), 29.54 (C-16), 57.43 (C-17), 13.17 (C-18), 20.69 (C-19), 37.46 (C-20), 20.09 (C-21), 35.31 (C-22), 27.51 (C-23), 47.22 (C-24), 30.55 (C-25), 21.10 (C-26), 20.37 (C-27), 24.43 (C-28), 13.29 (C-29).

В ИК-спектре вещества А при 3425 см⁻¹ имеется широкая и интенсивная полоса, характерная для гидроксильной группы, полосы при 2937-2862 см⁻¹ отнесены к валентным колебаниям C-H и показывают наличие алифатических групп в молекуле. Полосы поглощения при 1647 и 1056 см⁻¹ относили к C=C и C-O группам соответственно.

В спектре ^1H -ЯМР вещества А в области 0,60-2,30 м. д. присутствуют сигналы алифатических протонов (Рис.2).

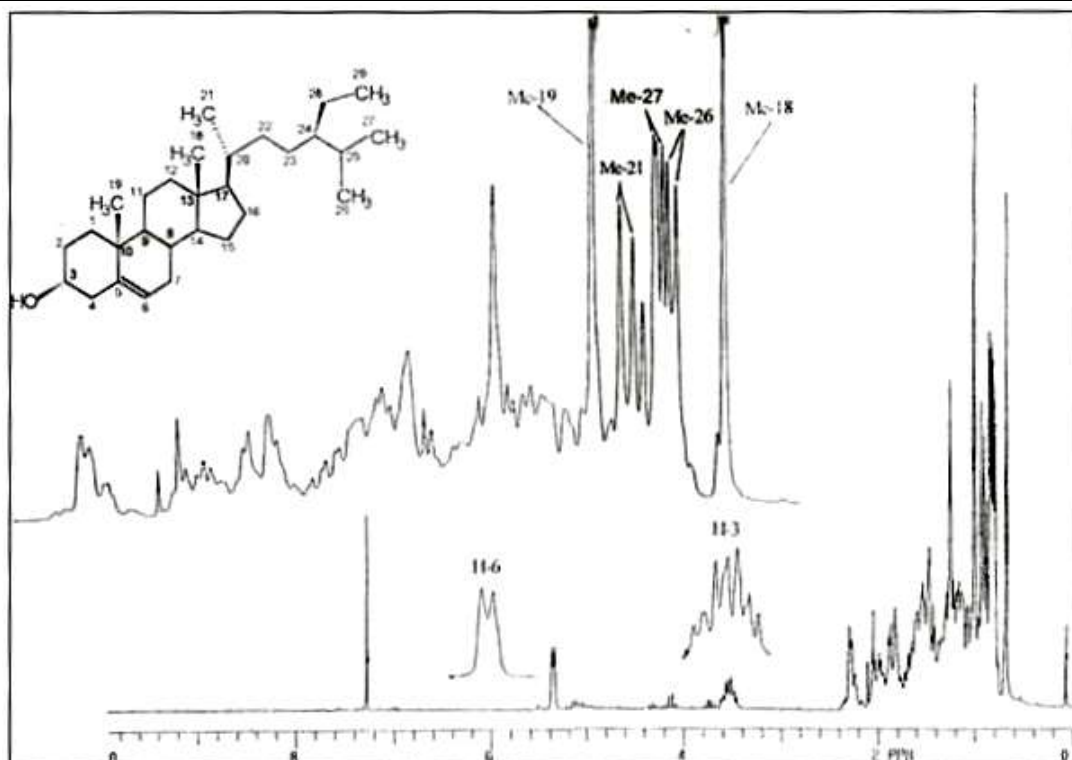


Рис.2. ^1H -ЯМР спектр β -ситостерина полученного из плодов боярышника

Синглетные сигналы 0,68 и 1,01 м.д. отнесены к протонам 18- CH_3 и 19- CH_3 , соответственно. В спектре протоны 21- CH_3 резонирует при 0,88 м. д., а протоны 27- CH_3 при 0,81 м. д. в виде дублета ($J = 4,3$ Гц).

Наличие только двух синглетных сигналов в спектре указывает на стероидную структуру вещества. Мультиплетный сигнал при 3,45-3,75 м. д. отнесен к протону Н-3. Однопротонный дублетный сигнал при 5,35 м. д. ($J = 5,1$ Гц) характерен для олефинового протона Н-6. Указанные результаты показывают, что вещество имеет алифатический характер и в его структуре имеется одна ненасыщенная связь и одна гидроксильная группа.

В ^{13}C -ЯМР спектра вещества А имеется всего 27 пиков. Из них сигналы при 142,09 м.д. и 122,98 м.д. указывают на наличие ненасыщенной связи в молекуле. Низкая интенсивность сигнала при 142,09 м.д. по сравнению с другим сигналом указывает, что этот сигнал относится к С-5, сигнал при 122,98 м.д. относится к олефиному углероду С-6 [6-8], а С-3 в результате индуктивного действия кислородного атома резонирует при 73,13

м.д. В спектре сигналы 33,25 м.д. и 43,66 м.д. по сравнению с сигналами других углеродных атомов характеризуются повышенной интенсивностью. Это связано с перекрыванием сигналов С-8 и С-13, а также С-4 и С-7. Это показывает, что в структуре вещества имеется 29 углеродных атомов.

На основании анализа ИК-, ^1H -ЯМР- и ^{13}C -ЯМР спектров и сравнения полученных результатов с литературными данными, а также результатов хроматографического анализа, вещество А идентифицировано как β -ситостерин (5-стигмастен-3 β -ол).

Вещество Б – светло-желтый порошок с температурой плавления 272-274 °С. Величина R_f на хроматограмме (Silufol UV₂₅₄) в системе бензол-ацетон (2:8) 0,30. Вещество на хроматограмме проявляет положительную реакцию Либермана-Бурхарда, указывающую на его тритерпеноидный характер.

УФ-спектр, λ_{max} (MeOH), нм: 470, 439, 423.

ИК-спектр (KBr), ν cm^{-1} : 3750, 3432, 1692, 1549, 1272, 1092, 996.

^1H -ЯМР, (500 MHz, CD_3OH): δ 5,21 (1H, м, Н-12), 3,14 (1H, м, Н-13), 2,20 (1H,

д, $J_{18,19}=11,3$ Гц, Н-18), 2,02 – 1,15 (м, 22Н), 1,10 (3Н, с, С-23 Ме), 0,96 (3Н, с, С-27 Ме), 0,95 (3Н, с, С-26 Ме), 0,93 (3Н, с, С-24 Ме), 0,87 (3Н, д, С-29), 0,83 (3Н, д, С-30), 0,76 (3Н, с, С-25).

^{13}C -ЯМР, (125МНз, СД₃ОН): δ , 38,8 (С-1), 27,6 (С-2), 77,6 (С -3), 38,4 (С -4), 56,7 (С -5), 17,8 (С -6), 32,6 (С -7), 40,7 (С -8), 47,6 (С -9), 38,1 (С -10), 24,3 (С -11), 126,8 (С -12), 139,6 (С -13), 42,8 (С -14), 29,2 (С -15), 25,3 (С -16), 47,6 С -17), 54,3 (С -18), 40,4 (С -19), 40,4 (С -20), 31,7 (С -21), 38,1 (С -22), 28,7 (С -23), 16,0 (С -24), 16,3 (С -25), 17,6 (С-26), 24,0 (С-27), 179,6 (С-28), 17,8 (С-29), 21,1 (С-30).

Масс спектр: m/z (%): 456 (M^+ , %7, $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$), 441 (%1, M^+ - CH_3), 438 (% 2, M^+ - H_2O), 423 (1%, M^+ - H_2O - CH_3), 411 (M^+ - COOH), 248 (%100, $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_2^+$), 219 (7), 207 (27), 203 (% 42,6, 248- COOH), 189 (10,1), 133 (32,2), 110, (11,3), 69 (13,3).

Молекулярный ионный пик m/z 456 соответствует веществу с молекулярной формулой $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$. Пики m/z 438 и m/z 411 связаны с отделением от молекулярного иона группы H_2O и - COOH , соответственно. Фрагмент m/z 248,17 обычно характерен для α - и β -тритерпенов. Этот ионный пик относится к тритерпенам Δ^{12} урсанового типа [9]. Один из основных пиков в спектре m/z 203,17 является результатом отделения - COOH группы из ионного пика 248,17. Основные ионные пики, присутствующие в масс-спектре, подтверждают, что вещество Б является кислотой тритерпенового характера.

В ^1H -ЯМР спектре вещества Б при 5.25 м.д. и 3.15 м.д. присутствуют два однопротонных триплетных и при 2,2 м.д. один однопротонный дублетный сигнал с константой спин-спинового взаимодействия ($J=14$ Гц), отнесенные соответственно к протонам Н-12, Н-3 и Н-18. Также сигналы при 0,75, (3Н, с, С-25), 0,84,

0,96, 1,11 (с); 0,89 и 0,95 (д, 6,0 Гц) были отнесены к протонам семи метильных групп. Эти сигналы характерны для пентациклических тритерпеновых кислот.

Дублетный сигнал при 2,20 м.д. ($J=11,3$) указывает, что протоны находящиеся в положениях С-18 и С-19, имеет транс расположения. Этот дублет характерен для ^1H -ЯМР спектров тритерпенов α -типа, где Н и CH_3 группы присоединены к положению С-19. Этот дублет возникает в результате взаимодействия единственного протона при С-18 с протоном при С-19. С другой стороны, если соединение является тритерпеном β -типа (где два протона соединены к С-19), то в результате взаимодействия протонов Н-18 и Н-19 в спектрах этих соединений появляется квинтет, а также сигналы этих протонов находятся более сильном поле. Указанные данные показывают, что анализируемое вещество является пентациклической тритерпеновой кислотой α -типа.

Различие между α - и β -типами тритерпенов более отчетливо видно из их ^{13}C -ЯМР спектров [10]. Основное различие в этих спектрах определяется различием между резонансами С-29 и С-30, находящимися в кольце Е. Известно, что в тритерпенах α -типа (например, урсоловая кислота) обе метильные группы (С-29 и С-30) в кольце Е является вторичными, а в тритерпенах β -типа они третичны. Спектр веществ Б соответствует тритерпену α -типа. Данные, полученные методами ИК, ^1H - и ^{13}C -ЯМР спектроскопии, совпадают с литературными [11-12] и свидетельствуют о том, что вещество Б является урсоловой кислотой.

Из плодов *Crataegus zangezura* Pojark. β -ситостерин и урсоловая кислота идентифицированы впервые.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ammon H.P.T., Handel M. // Plant Med. 1981. Vol. 43. № 2. P. 105.
2. Von Eiff M. // Acta Ther. 1994. Vol. 20. № 1. P. 47.
3. Shahat A.A., Cos P., Brune T. et al. // Planta Med. 2002. Vol. 68. № 6. P. 539.

4. Галыбов Т., Ибрагимов Я. Нахчыван Мухтар Республикасы флорасынын таксономик спектри. Нахчыван. «Әсәми» 2008. 364 с.
5. Кулиев В.Б., Полетаева Л.В., Касумова Т.А. // Известия АН Азербайджана, Сер. биол. наук. 1984. № 4. С. 15.
6. Rubenstein I., Goad L.J., Clague A.D.H. et al. // *Phytochemistry*. 1976, 15, p.195.
7. Gupta S., Ali M., Alam M.S. et al. // *Phytochemistry*. 1992. Vol. 31. №7. P.2558.
8. Kojima H. and Ogura H. // *Phytochemistry*. 1989. Vol. 28. № 6. P. 1703.
9. Budzikiewicz H., Wilson J.M, Djerassi C. // *Journal of the American Chemical Society* 1963 . Vol. 85. P.3688.
10. Dodrell, D., Khong, P.W., Lewis K.G. // *Tetrahedron Letters*. 1974. Vol. 27. 2381.
11. Romeo, G., Giannetto, P. and Aversa M.C. // *Organic Magnetic resonance*. 1977. Vol. 9. № 1. P.29.
12. Seo S., Tomita Y., Tori. K. // *J.C.S Chem Comm*. 1975. P. 954.

ЙЕМИШАН МЕЙВЯЛЯРИНДЯН ALINAN β -СИТОСТЕРИН ВЯ УРСОЛ ТУРШУСУ
В.Б.Гулийев, А.Чакыр

Зянәзур йемишаны (*Crataegus zangezura* Pojark.) Эңличчяклиляр (*Rosaceae*) фясилясиня аиддир. Нахчыван Мухтар республикасынын яразисиндя *Crataegus L.* синсинин 19 нювү йайылмышдыр. Бунларын кимйяви тяркибляри деяк олар ки тядгиг олунмамышдыр. Мягальдя *Crataegus caucasica L.* мейвяляриндя алынмыш щексан экстрактындан β -ситостерин вя этанол экстрактындан урсол туршусу адсорбцион хроматографик методи илә илк дяфя айрылмыс вя бу маддялярин кимйяви гурилушлары мцасир методларла (ИГ-, $^1\text{H-NMR}$ -, $^{13}\text{C-NMR}$ вя кцтля спектроскопийасы) мцыййян едилмишидир.

β -SITOSTERIN AND URSOLIC ACID FROM FRUITS OF HAWTHORN

V.B.Guliyev, A.Chakir

The article examines results of isolation of β -sitosterin from hexane extract and ursolic acids from ethanol extract by means of adsorptive column chromatography and determination of chemical structure of these substances by modern spectroscopic methods (IR-, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ and mass-spectrometry).