

БОНАЧЕВА ВИКТОРИЯ МИХАЙЛОВНА

ФЛАВОНОИДЫ И ФТАЛАТЫ *EQUISETUM SILVATICUM L.*, *EQUISETUM ARVENSE L.* И *PSEUDOSOPHORA ALOPECUROIDES L.*

02.00.10 – биоорганическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание учёной степени  
кандидата химических наук

Работа выполнена на кафедре химии бюджетного учреждения высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутский государственный университет»

**Научный руководитель:** д.х.н., профессор **Ботиров Эркин Хожиякбарович**

**Официальные оппоненты:** **Базарнова Наталья Григорьевна**, д.х.н., профессор  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Алтайский государственный университет», декан химического факультета

**Рогачев Артем Дмитриевич**, к.х.н.  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н.Ворожцова СО РАН, научный сотрудник

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Уфимский институт химии РАН

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 201\_\_ в «\_\_» часов на заседании диссертационного совета Д 003.045.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН по адресу 630090, г. Новосибирск, проспект акад. Лаврентьева, 8.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН и на сайте [www.niboch.nsc.ru](http://www.niboch.nsc.ru)

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2016 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
к.х.н., доцент



Коваль В. В.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Исследование природных метаболитов растительного происхождения - одна из важнейших задач фитохимии. Растения являются неиссякаемым источником разнообразных и уникальных по структуре соединений, обладающих широким спектром фармакологической активности. Среди важнейших классов природных соединений, обуславливающих лечебный эффект лекарственных растений, значительное место занимают флавоноиды. Широкий спектр биологического действия и малая токсичность ставят их в ряд соединений, перспективных в плане создания новых лечебных средств. Многочисленные исследования показали, что препараты, созданные на основе флавоноидов являются высокоэффективными противоопухолевыми, противовоспалительными, антибактериальными средствами, обладают антиоксидантными свойствами, снижают риск заболеваний сердечно-сосудистой системы и, что ценно, имеют низкую токсичность.

Объектами нашего исследования являются растения *Equisetum arvense* L. (хвощ полевой) и *Equisetum sylvaticum* L. (хвощ лесной), а также *Pseudosophora alopecuroides* L. (ложнософора лисохвостная). Эти представители флоры богаты флавоноидами различных групп.

Хвощ полевой и хвощ лесной распространены почти на всей территории России, кроме пустынных районов и Крайнего Севера. Встречаются на песчаных лугах, в пойменных лесах, в зарослях кустарников, в посевах, а также в лесной зоне России, Украины, Беларуси. Широко применяются в народной, а хвощ полевой и в официальной медицине.

Ложнософора лисохвостная - трудноискоренимый карантинный сорняк, произрастающий по влажным местам - берегам рек и оросительных каналов, среди тугайных растений, реже в степях и пустынях. Распространена в Малой Азии, Афганистане, Тибете, в европейской части России, на Кавказе, в Западной Сибири, Казахстане, в Крыму, в Средней Азии.

На сегодняшний день на фармацевтическом рынке создан ряд лекарственных препаратов, обладающих широким спектром фармакологического действия на основе экстрактов хвоща полевого, а также ложнософоры лисохвостной.

В частности, препарат "Марелин", препарат "Хвощ полевой" компании "Биола", косметический гель "Миллениум", который питает, укрепляет коллагеновые волокна соединительной ткани, играет очень важную роль в придании эластичности кожи. БАД "Уролизин" изготовлен ООО "Биолит", г.Томск является источником флавоноидов. Суммарный флавоноидный препарат "Фланорин" из корней с корневищами ложнософоры лисохвостной на различных моделях экспериментального гепатита показал высокую лечебную активность, превосходящую соответствующий эффект известных лекарственных препаратов. Поэтому изучение флавоноидов указанных выше растений, произрастающих в различных регионах, выделение и изучение их химической структуры и биологической активности, разработка способов получения относится к актуальным задачам.

**Целью данной работы является** исследование химического состава флавоноидов и фталатов растений *Equisetum arvense* L., *Equisetum sylvaticum* L. и *Pseudosophora alopecuroides* L.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- систематическое исследование качественного и количественного состава флавоноидов и фталатов растений *Equisetum sylvaticum* L., *Equisetum arvense* L. и *Pseudosophora alopecuroides* L.;
- разработка методики фракционирования, разделения и выделения флавоноидов и фталатов из растительного сырья;
- идентификация и установление химического строения полученных веществ.

**Основные положения, выносимые на защиту**

- результаты разработки методики выделения, разделения и очистки флавоноидов трех изученных видов растений;
- результаты изучения химического состава флавоноидов и фталатов надземных частей хвоща полевого и хвоща лесного, произрастающих на территории ХМАО- Югры;
- результаты изучения химического состава флавоноидов надземной части и корней ложнософоры лисохвостной;
- результаты сравнительного исследования состава флавоноидов двух видов хвощей и выявление различий в их качественном и количественном содержании;
- результаты обнаружения новых источников флавоноидов (леспедин, вексипинол), обладающих высокой биологической активностью.

**Научная новизна.** В результате настоящей работы проведено систематическое исследование качественного и количественного химического состава флавоноидов и других компонентов хвоща лесного, хвоща полевого и ложнософоры лисохвостной.

Из изученных растений выделены 24 индивидуальных соединений, в том числе 22 флавоноида и 2 производных фталевой кислоты. Из хвоща лесного выделено новое природное вещество - кверцетин-3-O- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-4'-O- $\beta$ -D-глюкопиранозид, структурную формулу которого установили, используя различные химические превращения и современные физико-химические методы анализа.

Впервые в растениях рода *Equisetum* L. обнаружены флавоноиды кемпферол-3-O- $\beta$ -D-галактопиранозил-7-O- $\alpha$ -L-рамнопиранозид, кемпферол-3,7-ди-O- $\alpha$ -L-рамнопиранозид, лютеолин-4'-O- $\beta$ -D-глюкопиранозид. Кемпферол-3-O-рутинозил-7-O- $\alpha$ -L-рамнопиранозид из хвоща полевого выделен впервые.

Установлено наличие фталатов в представителях рода *Equisetum* L. Из надземной части *Equisetum arvense* L. выделены и идентифицированы диизооктифталат и бис(2-этилгексил) фталат.

Проведен сравнительный анализ флавоноидов двух изученных видов хвощей и выявлено различие в их химическом составе. В хвоще лесном обнаружены гликозиды флавонолов кемпферола и кверцетина, тогда как в хвоще полевым наряду с гликозидами вышеуказанных соединений найдены производные флавонов: апигенин, лютеолин и его гликозиды. Различие в химическом составе двух видов хвоща может быть использовано в хемосистематике видов и должно быть учтено при стандартизации травы хвоща полевого.

Изучены флавоноиды надземной части ложнософоры лисохвостной, из которой впервые выделены глаброл, изобавахин, инермин, генистеин, а из корней - софорафлаванон I.

**Практическая значимость** работы состоит в разработке методики выделения веществ, в том числе ранее не описанных, из надземных частей хвоща лесного, хвоща полевого и ложнософоры лисохвостной, а также выявлении соединений с ценными фармакологическими свойствами. Леспедин, выделенный из хвоща лесного, обладает значительным гипоазотемическим действием, вексипинол, полученный из корней ложнософоры лисохвостной, запатентован в Японии в качестве противоязвенного препарата.

С целью рационального использования надземной части ложнософоры лисохвостной - отхода производства препарата "Фланорин" - изучены фенольные соединения надземной части ложнософоры лисохвостной. Выделенные нами флавоноиды входят в состав действующих компонентов вышеуказанного препарата и могут служить дополнительным источником флавоноидов при производстве "Фланорина". Проведенное исследование вносит значительный вклад в изучение химического состава хвоща лесного, хвоща полевого и ложнософоры лисохвостной.

**Публикации и апробация работы.** По материалам диссертации опубликовано 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, тезисы 7 докладов на Всероссийских и Международных конференциях.

Материалы диссертации докладывались на II Международной научно-практической конференции «Science and Education» (Мюнхен, Германия, 2012); V Всероссийской конференции с международным участием «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья» (Барнаул, 2012); Всероссийской школы-конференции с международным участием «Химия биологически активных веществ» «ХимБиоАктив-2012» (Саратов, 2012); VIII Международной научно-практической конференции "Теория и практика современной науки" (Москва, 2012); Первой Российской конференции по медицинской химии» (Москва, 2013); IX Всероссийской конференции "Химия и медицина" с Молодежной школой (Уфа-Абзаково, 2013); VI Всероссийской конференции "Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья» (Барнаул, 2014).

**Структура и объём диссертации.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка литературы. Работа изложена на 141 странице машинописного текста, включает 5 таблиц, 20 рисунков, 9 схем и 192 литературных ссылок.

Во *введении* обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, отмечена новизна и практическая значимость полученных результатов, а также изложены положения, выносимые на защиту.

*Глава 1* содержит сведения о классификации, биосинтезе и методах установления строения природных флавоноидов, а также аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы по современному состоянию исследований флавоноидов и фенольных соединений растений. Обобщены и систематизированы сведения по изучению химического состава, фармакологической активности и применению в медицинской практике данных растений.

В *главе 2* представлена характеристика изученных растений, результаты химических исследований выделенных флавоноидов и фталатов.

В главе 3 экспериментальной части приведены методы исследований, способы выделения, очистки, физико-химические характеристики флавоноидов и фталатов изученных растений.

Результаты, полученные при проведении исследований, представлены в таблицах и на рисунках, которые приведены в тексте диссертации.

**Личный вклад автора.** Соискателем был выполнен анализ литературы по теме исследования, разработаны методические подходы к исследованию, проведена экспериментальная работа, анализ и интерпретации полученных результатов. Написаны статьи и подготовлены доклады на конференциях.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объектами наших исследований были надземные части растений *Equisetum arvense* L. (хвощ полевой), *Equisetum sylvaticum* L. (хвощ лесной) и *Pseudosophora alopecuroides* L. (ложнософора лисохвостная), а также корни последнего. Для выделения и разделения сложных смесей искомым природным соединений из высушенного и измельченного растительного сырья использовали разнообразные методы: экстракцию растительного материала различными растворителями, разделение экстракта на близкие по полярности фракции, колоночную хроматографию, перекристаллизацию. Выделенные соединения идентифицировали на основании результатов химических превращений, а также спектральных данных.

Из изученных нами растений выделены 24 индивидуальных соединений, в том числе 22 флавоноида и 2 производных фталевой кислоты (таблица 1).

**Таблица 1.** Соединения, выделенные из *Equisetum sylvaticum* L., *Equisetum arvense* L. и *Pseudosophora alopecuroides* L.

<i>Equisetum sylvaticum</i> L. (хвощ лесной)	<i>Equisetum arvense</i> L. (хвощ полевой)	<i>Pseudosophora alopecuroides</i> L. (ложнософора лисохвостная)
Кемпферол (0,030%) <sup>2</sup>	Апигенин (0,020%)	Софорафлаванон I <sup>**</sup> (0,020%)
Кемпферол-3-О-β-D-глюкопиранозид (0,043%)	Лютеолин (0,033%)	Генистеин <sup>***</sup> (0,017%)
Кверцетин-3-О-β-D-глюкопиранозид (0,030%)	Кверцетин (0,028%)	Глаброл <sup>***</sup> (0,006%)
Кемпферол-3-О-β-D-глюкопиранозил-7-О-α-L-рамнопиранозид (0,036%)	Лютеолин-7-О- β-D-глюкопиранозид (0,044%)	Изобавахин <sup>***</sup> (0,010%)
<u>Кверцетин-3-О-α-L-рамнопиранозил-4'-О-β-D-глюкопиранозид</u> <sup>1</sup> (0,057%)	Лютеолин-4'-О-β-D-глюкопиранозид* (0,050%)	Инермин <sup>***</sup> (0,010%)
Кемпферол-3-О-β-D-галактопиранозил-7-О-α-L-рамнопиранозид* (0,064%)	Кверцетин-3-О-рутинозид (0,067%)	Вексбинол (0,023%)

Кемпферол-3-О-β-D-глюкопиранозил-7-О-β-D-глюкопиранозид (0,057%)	Кемпферол-3-О-β-D-глюкопиранозил-7-О-β-D-глюкопиранозид (0,031%)	Трифолизин (0,010%)
Кемпферол-3-О-рутинозил-7-О-α-L-рамнопиранозид (0,114%)	Кемпферол-3-О-рутинозил-7-О-α-L-рамнопиранозид** (0,042%)	
Кемпферол-3,7-ди-О-α-L-рамнопиранозид (леспедин)* (0,023%)	Диизооктилфталат* (0,041%)	
	Бис(2-этилгексил) фталат* (0,069%)	

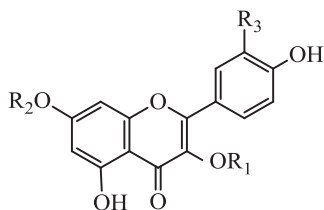
**Примечания:** <sup>1</sup>Подчеркнуты новые природные соединения; \* - вещества, впервые выделенные из данного рода растений; \*\* - вещества, впервые выделенные из данного вида растений; \*\*\* - впервые выделенные из надземной части растения; <sup>2</sup> в скобках указан выход вещества в процентах от массы воздушно-сухого сырья.

### 1. Флавоноиды *Equisetum silvaticum* L.

Воздушно-сухую измельченную надземную часть хвоща лесного пятикратно экстрагировали 85%-ным этанолом при комнатной температуре с целью извлечения суммы природных соединений. Объединенный экстракт упаривали в вакууме, разбавляли водой, разделили на близкие по полярности фракции методом жидкость-жидкостной экстракции, обрабатывая последовательно петролейным эфиром, хлороформом, этилацетатом и н-бутанолом.

Индивидуальные соединения из полученных фракций выделили методом колоночной хроматографии на силикагеле.

Из *Equisetum silvaticum* L. мы получили 9 индивидуальных флавоноидов, один из них кверцетин-3-О-α-L-рамнопиранозил-4'-О-β-D-глюкопиранозид оказался новым, не описанным ранее в литературе соединением. Кемпферол-3,7-ди-О-α-L-рамнопиранозид (леспедин) и кемпферол-3-О-β-D-галактопиранозил-7-О-α-L-рамнопиранозид были впервые обнаружены в растениях рода *Equisetum* L. Химическое строение флавоноидов, выделенных нами из хвоща лесного, представлено на рисунке 1.



- |                                      |                            |
|--------------------------------------|----------------------------|
| (1) Кемпферол                        | $R_1=R_2=R_3=H$ ;          |
| (2) Кемпферол-3-О-β-D-глюкопиранозид | $R_1=Glc, R_2=R_3=H$ ;     |
| (3) Кверцетин-3-О-β-D-глюкопиранозид | $R_1=Glc, R_2=H, R_3=OH$ ; |

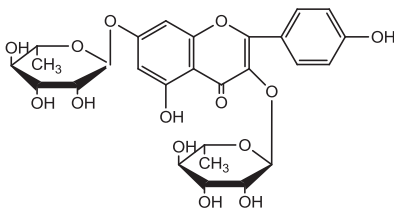
- (4) Кемпферол-3,7-ди-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозид (леспедин)  $R_1=R_2=Rha$ ,  $R_3=H$ ;  
 (5) Кемпферол-3-О- $\beta$ -D-глюкопиранозил-7-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозид  $R_1=Glc$ ,  $R_2=Rha$ ,  $R_3=OH$ ;  
 (7) Кемпферол-3-О- $\beta$ -D-галактопиранозил-7-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозид  $R_1=Gal$ ,  $R_2=Rha$ ,  $R_3=H$ ;  
 (8) Кемпферол-3,7-ди-О- $\beta$ -D-глюкопиранозид  $R_1=R_2=Glc$ ,  $R_3=H$ ;  
 (9) Кемпферол-3-О-рутинозил-7-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозид  $R_1=Glc(6\rightarrow1)-Rha$ ,  $R_2=Rha$ ,  $R_3=H$

**Рис.1. Флавоноиды хвоща лесного**

Соединение (4) состава  $C_{27}H_{30}O_{14}$ , т.пл. 185-186 °С,  $\lambda_{max}$  266, 320, 347 нм.

В ПМР-спектре гликозида **4** в  $Py-d_5$  проявляются сигналы протонов агликона: H-6 (6.61 м.д., д, 2.0 Гц), H-8 (6.80 м.д., д, 2.0 Гц), H-2',6' (7.94 м.д., д, 9.0 Гц), H-3',5' (7.15 м.д., д, 9.0 Гц), двух  $-CH_3$  групп рамнозы (1.30 м.д., д, 6.0 Гц и 1.51 м.д., д, 5.5 Гц), двух аномерных протонов (6.09 и 6.11 м.д., уш.с. каждый), а также других протонов углеводной части (3.92-4.62 м.д.). Следовательно, в молекуле гликозида **4** имеются два остатка рамнозы.

Кислотный гидролиз флавоноида **4** привел к получению кемпферола и L-рамнозы.



**Рис. 2. Кемпферол-3,7-ди-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозид (леспедин) (4)**

Изучением данных УФ-спектров флавоноида **4**, снятых с добавлением  $AlCl_3$  и  $CH_3ONa$ , установлено наличие свободных фенольных гидроксильных групп в положениях 5 и 4'.

На основании вышеизложенных данных и результатов сравнения с литературными сведениями гликозид **4** отождествляли с кемпферол-3,7-ди-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозидом (леспедином) (рис. 2). Леспедин обладает выраженной гипозаботемической активностью.

Элюирование колонки с этилацетат-этанол фракцией этанольного экстракта надземной части хвоща лесного системой этилацетат-этанол (88:12) позволило выделить соединение (**6**). Данное вещество представляет собой желтые кристаллы состава  $C_{27}H_{30}O_{16}$  с т.пл. 197-199°C, масс-спектр ( $m/z$ ): 302 ( $M^+$  агликона кверцетина).

УФ-спектр вещества **6** имеет максимумы поглощения при  $\lambda_{max}$  267, 354 нм и характерен для 3-О-замещенных флавонолов. Изучением спектров, снятых в присутствии диагностических добавок, установили наличие свободных гидроксильных групп в положениях 5,7 и отсутствие *ortho*-диоксигруппы в кольце В.



В ИК-спектре соединения **6** наблюдаются полосы колебаний гидроксильных групп (3549-3052 см<sup>-1</sup>), карбонила γ-пирона (1659 см<sup>-1</sup>), С-О связей гликозидов (1112-1054 см<sup>-1</sup>), а также колебаний ароматических ядер.

Таблица 2

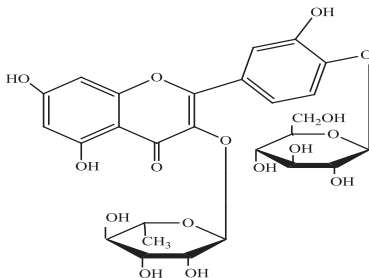
**ЯМР спектры кверцетина и кверцетин-3-О-α-L-рамнопиранозил-4'-β-D-глюкопиранозид**

Атом С	Кверцетин		Кверцетин-3-О-α-L-рамнозил-4'-О-β-D-глюкозида	
	δ <sub>С</sub> , м.д.	δ <sub>Н</sub> , м.д. (J,Hz)	δ <sub>С</sub> , м.д.	δ <sub>Н</sub> , м.д. (J,Hz)
Агликон				
2	147.69		156.32	
3	135.42		133.25	
4	175.82		177.38	
5	160.70		161.20	
6	98.34	6.58 д (2.5)	99.36	6.20 д (2.0)
7	163.89		164.46	
8	93.34		93.34	6.40 д (2.0)
9	156.11		160.15	
10	102.98		103.82	
1'	121.28		121.56 (+0.28)	
2'	115.09	8.46 д (2.5)	115.15	8.09 д (2.0)
3'	144.30		144.82 (+0.52)	
4'	149.50		148.50 (-1.00)	
5'	115.98	7.19 д (8.5)	116.17 (+0.19)	6.87 д (8.9)
6'	124.14	7.99 дд (2.5; 8.5)	121.12	7.58 дд (2.0; 8.9)
Глюкоза				
1"			100.73	5.47 д (7.0)
2"			74.06	3.05 - 3.85
3"			76.46	3.05 - 3.85
4"			69.79	3.05 - 3.85
5"			77.53	3.05 - 3.85
6"			60.82	3.05 - 3.85
Рамноза				
1"			100.86	5.56 с
2"			74.18	
3"			70.22	
4"			71.58	
5"			70.04	
-CH <sub>3</sub>			17.89	1.10 д (6.0)
5-ОН		13.75 с		12.64 с

В результате полного кислотного гидролиза исследуемого соединения получили кверцетин состава  $C_{15}H_{10}O_7$  ( $\lambda_{\max}$  259 и 371 нм, т.пл. 310-312°C) и моносахариды - L-рамнозу и D-глюкозу (ТСХ, ИК-спектры).

Из данных  $^1H$ -ЯМР- и  $^{13}C$ -ЯМР-спектров следует, что вещество **6** относится к дигликозидам (табл. 2). Так, в спектре ПМР (ДМСО- $d_6$ ), помимо сигналов ароматических протонов агликона, проявляются сигналы протонов метильной группы L-рамнозы (1.10 м.д., д, 6,0 Гц), углеводной части в области 3.05-3.85 м.д., а также сигналы аномерных протонов L-рамнозы и D-глюкозы при 5.56 м.д. (уш. с) и 5.47 м.д. (д, 7,0 Гц) соответственно. Значения химсдвигов сигналов аномерных протонов L-рамнозы и D-глюкозы характерны для дигликозидов, величина КССВ сигнала аномерного протона D-глюкозы свидетельствует о  $\beta$ -конфигурации гликозидной связи данного моносахарида с агликоном.

Для установления места присоединения углеводных остатков к агликону использовали метод частичного кислотного гидролиза гликозида **6** 0,16%-ным водным раствором хлороводородной кислоты при температуре 60°C. В составе продуктов гидролиза обнаружили L-рамнозу и кверцетин-4'-O-глюкозид (спиреозид). Следовательно, в молекуле рассматриваемого гликозида гидроксильная группа при С-3 гликозилирована остатком L-рамнозы.



**Рис. 3. Кверцетин-3-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-4'- $\beta$ -D-глюкопиранозид (6)**

В  $^{13}C$ -ЯМР дигликозида наблюдается диамагнитный сдвиг сигнала атома С-4' по сравнению с таковым агликона кверцетина на 1.00 м.д., в то время как сигналы атомов С-1', С-3' и С-5' претерпевают парамагнитный сдвиг. Причем сигнал С-3' смещается в слабое поле сильнее (0.52 м.д.), чем С-5' (0.19 м.д.), что характерно для атома углерода, связанного с ОН-группой, находящегося в *орто*-положении относительно гликозилированного гидроксила. Таким образом, остаток глюкозы в молекуле гликозида **6** присоединен к гидроксильной группе агликона в положении 4'.

На основании изучения спектральных данных и результатов химических превращений установлено, что вещество имеет строение кверцетин-3-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-4'- $\beta$ -D-глюкопиранозид (рис.3). Это соединение в литературе не описано и является новым соединением.

Вещество (**7**) состава  $C_{27}H_{30}O_{15}$  представляет собой желтые кристаллы с т.пл. 188-190°C. В ИК-спектре исследуемого вещества наблюдаются полосы колебаний гидроксильных групп, карбонила  $\gamma$ -пирона, гликозидных С-О связей и ароматических С=C-связей.

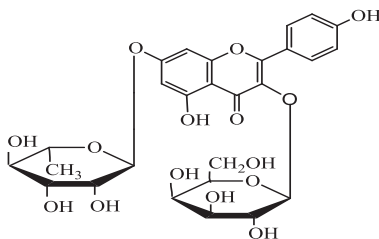
На основании изучения УФ-спектров следует, что рассматриваемое соединение относится к 3,7-ди-О-замещенным флавонолам.

Из данных  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектра следует, что данное вещество относится к гликозидам.

В результате кислотного гидролиза гликозида **7** получили агликон (т.пл. 274-275°C), который идентифицировали с подлинным образцом кемпферола (ИК-спектр, методом ТСХ), а также D-галактозу и L-рамнозу.

Сигнал аномерного протона D-галактозы в спектре  $^1\text{H}$ -ЯМР (DMSO- $d_6$ ) проявляется в виде дублета с КССВ 7.3 Гц, что свидетельствует о  $\beta$ -конфигурации гликозидной связи остатка D-галактозы.

Для установления взаимного расположения моносахаридных остатков был проведен щелочной гидролиз вещества **7** 0,5% водным раствором гидроксида калия. В результате получили кемпферол-3-О- $\beta$ -D-галактопиранозид и L-рамнозу (ТСХ). Таким образом, можно сделать вывод, что гидроксильная группа в положении 7 кемпферола замещена остатком L-рамнозы, а 3-ОН - остатком D-галактозы.



**Рис. 4. Кемпферол-3-О- $\beta$ -D-галактопиранозил-7-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозид (7)**

Полученные результаты показывают, что флавоноиды хвоща лесного представлены гликозидами кемпферола и кверцетина.

На основании проведенных химических превращений, а также сравнивая спектральные данные с литературными сведениями соединение **7** идентифицировали с кемпферол-3-О- $\beta$ -D-галактопиранозил-7-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозидом. Данный гликозид впервые выделен из растений рода *Equisetum* L.

## 2. Флавоноиды и диэфиры фталевой кислоты из надземной части

### *Equisetum arvense* L.

#### 2.1. Диэфиры фталевой кислоты

Методом хромато-масс-спектрометрии установлено наличие в составе петролейно-эфирной и хлороформной фракций надземной части хвоща полевого диэфиров фталевой кислоты.

Для их выделения вышеуказанные фракции хроматографировали на колонке с силикагелем. После рехроматографирования полученных фракций выделили индивидуальные соединения **10** (620 мг) и **11** (370 мг).

**Диэзооктилфталат (10)** - сиропобразная желтоватая масса состава  $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_4$ .

УФ-спектр (EtOH,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм): 231, 281. ИК-спектр ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1725 (C=O сложноэфирной связи), 1595 (ароматические связи).

В спектре  $^1\text{H}$ -ЯМР вещества **10**, снятого в DMSO- $d_6$  ( $\delta$  м.д.), проявляются сигналы, характерные для ароматических протонов фталевой кислоты и двух изооктильных групп при 0.84-0.88 (12H, т, 7,2 Гц, 4CH $_3$ -), 1.22-1.37 (16H, м, 8CH $_2$ -), 1.61-1.66 (2H, м, 2 -CH), 4.10-4.17 (4H, т, 6,8 Гц, 2CH $_2$ O-), 7.66 (2H, дд, 3.6 и 5.6 Гц, H-4, 5), 7.73 (2H, дд, 3.6 и 5.6 Гц, H-3, 6).

В спектре  $^{13}\text{C}$ -ЯМР выделенного соединения (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  м.д.) присутствуют сигналы 6 ароматических атомов углерода, двух карбонильных групп и двух изооктильных радикалов: 167.02 (C-1,8), 131.74 (C-2,7), 131.63 (C-4,5), 128.69 (C-3,6), 67.42 (C-1', 1''), 38.10 (C-2', 2''), 29.82 (C-3', 3''), 28.39 (C-4', 4''), 23.27 (C-5', 5''), 22.43 (C-6', 6''), 13.93 (C-7', 7''), 10.83 (C-8', 8'').

Следовательно, вещество **10** представляет собой диизооктиловый эфир фталевой кислоты. Действительно, при щелочном гидролизе рассматриваемого вещества получили фталевую кислоту, идентифицированную с подлинным образцом на основании сравнения ИК-спектра и хроматографической подвижности на ТСХ.

Масс-спектр соединения **10** (рис. 5) подтверждает предложенную нами структуру и имеет интенсивные пики ионов  $m/z$  279, 167 и 149.

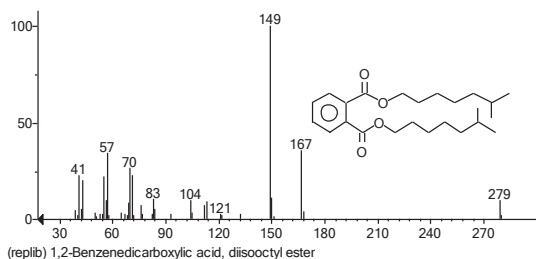


Рис. 5. Масс-спектр диизооктилфталата (**10**)

На основании изучения физико-химических свойств, а также сравнивая спектральные данные с литературными сведениями, вещество **10** идентифицировали с диизооктиловым эфиром фталевой кислоты (рис. 6). Ранее диизооктилфталат был обнаружен в *Adenophora lilifolia*, *Didemnum psammathoides*, *Cardiospermum canescens*, *Coriandrum sativum* и других растениях.

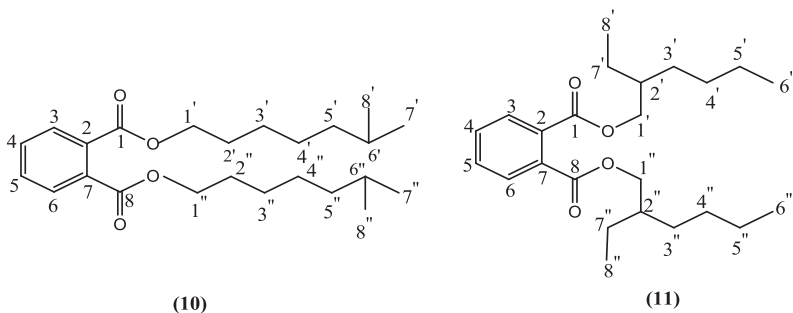
**Бис(2-этилгексил) фталат (11)** - желтое маслообразное вещество состава C $_{24}$ H $_{38}$ O $_4$ . В его УФ-спектре присутствуют две полосы поглощения при 229, 280 нм. Масс-спектр соединения **11** содержит интенсивные пики ионов с  $m/z$ : 390, 279, 167, 149 и другие. Сравнение масс-спектра вещества **11** с данными баз масс-спектров «NIST-2005» показывает, что, вероятно, выделенное соединение является бис(2-этилгексил) фталатом. Данные  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектров, приведенные ниже, вполне согласуются с этим предположением.

$^1\text{H}$ -ЯМР (CDCl $_3$ ,  $\delta$ , м.д., J/Hz): 7.68 (2H, дд, J = 5.6, 3.5, H-3, 6), 7.51 (2H, дд, J = 5.6, 3.5, H-4, 5), 4.21 (2H, дд, J = 10.5, 5.6, H-1', 1''), 4.18 (2H, дд, J = 11.2, 6.3, H-1', 1''), 1.66

(2H, м, Н-2', 2''), 1.39 (4H, м, Н-7', 7''), 1.33 (4H, м, Н-3', 3''), 1.29 (8H, м, Н-4', 5', 4'', 5''), 0.90 (6H, т, J = 7.7, Н-8', 8''), 0.87 (6H, т, J = 7.7, Н-6', 6'').

<sup>13</sup>С-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>, δ, м.д.): 168.0 (С-1, 8), 132.7 (С-2, 7), 131.1 (С-4, 5), 129.0 (С-3, 6), 68.4 (С-1', 1''), 38.9 (С-2', 2''), 30.6 (С-3', 3''), 29.1 (С-4', 4''), 23.9 (С-7', 7''), 23.3 (С-5', 5''), 14.3 (С-6', 6''), 11.2 (С-8', 8'').

Сравнительное изучение данных УФ-, масс-, <sup>1</sup>Н- и <sup>13</sup>С-ЯМР-спектров вещества **11** с таковыми диизооктифталата показывает, что рассматриваемое соединение является бис-(2-этилгексил) фталатом (рис. 6). Это подтверждено получением фталевой кислоты в результате щелочного гидролиза вещества **11**.



**Рис. 6. Структурные формулы диизооктифталата (10) и бис(2-этилгексил) фталата (11).**

Бис(2-этилгексил) фталат был выделен из хвои *Cedrus deodara*, из корней *Codonopsis pilosula*, а также обнаружен в плодах *Coriandrum sativum*, в красной водоросли *Acanthophora spicifera* и других растениях. Фталаты **10** и **11** из растений рода хвощевых выделены впервые.

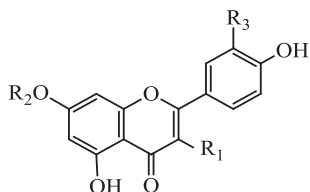
## 2.2. Флавоноиды *Equisetum arvense* L.

Из хвоща полевого, собранного на территории Сургутского района ХМАО-Югры, нами было выделено 8 природных соединений, представленные флавонами, флавонолами и их гликозидами.

Флавоноиды **12**, **13**, **14** и **17** на основании изучения спектральных данных и непосредственным сравнением с подлинными образцами идентифицированы с ранее выделенными из данного растения апигенином, лютеолином, кверцетином и рутином (кверцетин-3-О-рутинозидом) соответственно. Их структурные формулы представлены на рисунке 7.

Лютеолин-7-О-β-D-глюкопиранозид (**15**) и лютеолин-4'-О-β-D-глюкопиранозид (**16**), выделенные нами из этилацетатной фракции хвоща полевого, представляют собой светло-желтые кристаллы с температурой плавления 239-241°C и 189-191°C соответственно.

УФ-спектры данных соединений имеют максимумы поглощения характерные для флавонов. В ИК-спектрах исследуемых соединений наблюдаются полосы колебаний гидроксильных групп, карбонила  $\gamma$ -пирона, ароматических C=C связей, C-O-гликозидов.



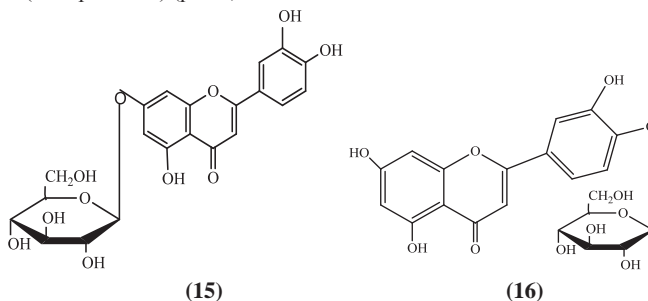
- |                              |  |
|------------------------------|--|
| (12) Апигенин                | $R_1=R_2=R_3=H$                              |
| (13) Лютеолин                | $R_1=R_2=H, R_3=OH$                          |
| (14) Кверцетин               | $R_1=R_3=OH, R_2=H$                          |
| (17) Кверцетин-3-О-рутинозид | $R_1=O-Glc(6\rightarrow1)Rha, R_2=H, R_3=OH$ |

**Рис. 7. Флавоноиды хвоща полевого.**

В результате полного кислотного гидролиза гликозидов **15** и **16** мы получили лютеолин и моносахарид D-глюкозу.

В  $^1H$ -ЯМР-спектре вещества **15**, снятом в  $DMCO-d_6$ , проявляются сигналы 7,5,3',4'-тетразамещенного флавона и углеводной части. Сигнал аномерного протона D-глюкозы резонирует в виде дублета при 4.99 м.д. с КССВ 7.3 Гц, что свидетельствует о  $\beta$ -конфигурации гликозидной связи. Сигнал протона в положении 3 кольца С проявляются в виде синглета при 6.83 м.д. Также в ПМР спектре проявляются сигналы протонов 5-OH, 4'-OH, 3'-OH в виде уширенных синглетов при 12.90 м.д., 10.80 м.д., 9.11 м.д. соответственно.

Изучением физико-химических свойств и спектральных данных, а также сравнением с подлинным образцом, вещество **15** идентифицировали с лютеолин-7-О- $\beta$ -D-глюкопиранозидом (цинарозидом) (рис.8).



**Рис. 8. Лютеолин-7-О- $\beta$ -D-глюкопиранозид (15) и лютеолин-4'-О- $\beta$ -D-глюкопиранозид (16)**

Из данных спектров  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР следует, что вещество **16** является моногликозидом (табл. 3).

Место присоединения углеводного остатка к агликону установили сравнением спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР гликозида **16** и лютеолина (**13**). При переходе от лютеолина к гликозиду **16**

Таблица 3

ЯМР спектры лютеолина и его гликозида

Атом С	Лютеолин		Лютеолин-4'-О-β-D-гликопиранозид	
	δ <sub>с</sub> , ppm	δ <sub>н</sub> (J/Hz)	δ <sub>с</sub> , ppm	δ <sub>н</sub> (J/Hz)
Агликон				
2	163.59		163.28	
3	101.92	6.57 с	103.72	6.55 с
4	181.04		181.83	
5	157.34		157.42	
6	99.29	6.09 д (1,7)	98.81	6.70 д (2,1)
7	166.58		164.52	
8	94.10	6.35 д (1,5)	94.49	6.78 д (2,2)
9	161.26		161.57	
10	102.53		103.90	
1'	120.06		124.71 (+4.65)	
2'	112.45	7.46 д (2,1)	113.87	7.10 д (2,2)
3'	146.16		146.99 (+0.83)	
4'	151.40		148.11 (-3.29)	
5'	115.81	6.82 д (8,2)	116.00 (+0.19)	6.90 д (8,1)
6'	118.86	7.38 дд (2,1; 8,0)	118.43	7.38 т (2,1; 7,8)
Глюкоза				
1''			101.18	4.72 д (7,4)
2''			73.52	3.00 - 3.90
3''			75.80	3.00 - 3.90
4''			69.81	3.00 - 3.90
5''			77.27	3.00 - 3.90
6''			60.69	3.00 - 3.90

наблюдается диамагнитный сдвиг сигнала атома С-4' на 3.29 м.д., в то время как сигналы атомов С-1', С-3' и С-5' претерпевают парамагнитный сдвиг. Причем сигнал углерода С-3' смещается в слабое поле сильнее (0.83 м.д.), чем С-5' (0.19 м.д.), что всегда наблюдается для атома углерода, связанного с гидроксильной группой, находящегося в *орто*-положении относительно места гликозидирования.

Таким образом, гликозид **16** идентифицирован с лютеолин-4'-О-β-D-гликопиранозидом (рис. 8). Лютеолин-4'-О-β-D-гликопиранозид впервые обнаружен в растениях рода *Equisetum L.*

Хроматографированием части буганольной фракции экстракта хвоща полевого на колонке с силикагелем в системе растворителей этилацетат-этанол выделили два вещества в индивидуальном виде. Первое соединение состава  $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$  (320 мг) представляет собой

кристаллы светло-желтого цвета с т. пл. 162-163°C. Данное соединение идентично с кемпферол-3-О-β-D-глюкопиранозил-7-О-β-D-глюкопиранозидом (эквизетрином) (8), выделенным нами из хвоща лесного.

Второе соединение представляет собой светло-желтые кристаллы состава C<sub>33</sub>H<sub>40</sub>O<sub>19</sub>, т.пл. 148-149°C. УФ-спектр: λ<sub>max</sub><sup>этанол</sup> 271,360 нм. Результаты изучения физико-химических свойств и спектральных параметров показали идентичность рассматриваемого вещества с кемпферол-3-О-рутинозил-7-О-рамнозидом (9), выделенным нами из *Equisetum silvaticum* L. Данное соединение в хвоще полевым обнаружено впервые.

Результаты проведенных исследований показывают, из хвоща полевого наряду с гликозидами флавоноидов кемпферола и кверцетина выделены производные флавона - апигенин, лютеолин и его гликозиды. Такое различие в химическом составе двух видов хвоща может быть использовано в хемосистематике видов и должно быть учтено при стандартизации травы хвоща полевого.

### 3. Флавоноиды *Pseudosophora alopecuroides* L.

Изучение флавоноидов ложнософоры лисохвостной проведено совместно с учеными института химии растительных веществ АН РУз (г. Ташкент, Узбекистан).

Для получения индивидуальных соединений применялась экстракция хлороформом, этанолом с последующим фракционированием и хроматографированием полученных экстрактов на колонках с силикагелем. Из хлороформного экстракта надземной части данного растения выделили 4 соединения: изобавахин (18), глаброл (19), инермин (20), генистеин (21). Софорафлаванон I (22) впервые выделен из корней ложнософоры лисохвостной.

Изобавахин (18) и глаброл (19) на основании данных УФ-спектров отнесены к производным флаванона.

Из данных ПМР-спектра следует, что соединения 18 и 19 относятся к 7,4'-диокси-замещенным флаванонам, причем изобавахин содержит одну, а глаброл - две пренильные группы, соединенные с ароматическим ядром С-С-связью.

На основании спектральных данных и непосредственным сравнением с подлинными образцами вещества 18 и 19 идентифицировали с изобавахином и глабролом соответственно (рис.9).

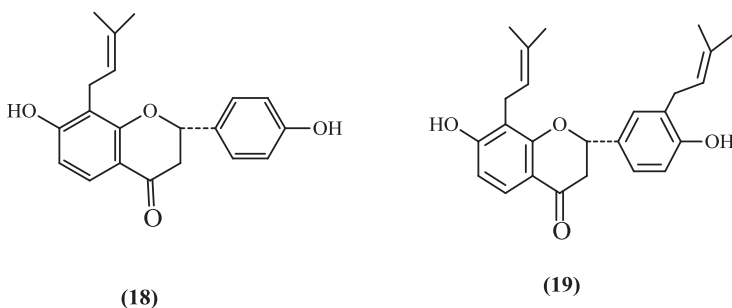


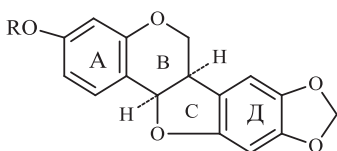
Рис. 9. Структурные формулы изобавахины (18) и глабрала (19)



Инермин (**20**) (рис.10) относится к птерокарпанам, о чем свидетельствуют спектральные данные.

В ПМР-спектре инермина в области 3.42-4.18 м.д. проявляются сигналы протонов, образующих систему, характерную для протонов птерокарпанов при углеродных атомах 6, 6а, а при 5.50 м.д. резонирует сигнал протона Н-11а в виде дублета с КССВ 6,0 Гц. Двух-протонный дублет с центром при 5.85 м.д. с КССВ-1,5 Гц обусловлен наличием метилendioксигруппы. В области слабого поля присутствуют сигналы пяти ароматических протонов, три из которых относятся к системе 1,3,4-тризамещения в бензольном кольце, а остальные два образуют синглеты при 6.60 и 6.80 м.д. и могут принадлежать только протонам в *para*-положениях.

Присутствие в масс-спектре вещества **20** пиков ионов с  $m/z$  147 и 175 указывают на расположение гидроксильной группы в кольце А и метилendioксигруппы – в кольце Д. Соединение **20** при метилировании диазометаном образует монометилловый эфир **20а**.



(20). R=H, (20а). R=CH<sub>3</sub>

(21)

Рис. 10. Структурные формулы инермина (**20**) и генистеина (**21**)

УФ-спектр вещества **21** имеет два максимума поглощения при длине волны 263 и 329 нм, что характерно для изофлавонов. На основании анализа спектральных данных <sup>1</sup>H-ЯМР и масс-спектров изофлавонов **21** идентифицировали с генистеином (рис.10).

**Софорафлаванон I (22)** представляет собой желтое аморфное вещество состава C<sub>38</sub>H<sub>38</sub>O<sub>9</sub> с температурой разложения 137-140 °С. УФ-спектр соединения **22** содержит полосы поглощения при λ<sub>max</sub> 292, 341 нм.

При ацетилировании исследуемого соединения уксусным ангидридом в пиридине образуется гексаацетильное производное с т.пл. 92-93°С. В спектре <sup>1</sup>H-ЯМР гексаацетата в CDCl<sub>3</sub>, помимо сигналов протонов шести Ar-OCOCH<sub>3</sub> (2.09 м.д., 3H; 2.17 м.д., 15 H) и лавандулильной (1.54; 1.62; 1.68 м.д., уш. с, каждый, 3 =C-CH<sub>3</sub>; 4.54 и 4.61 м.д., уш. с, каждый, >C=CH<sub>2</sub>; 5.05 м.д., уш. т, 6.5 Гц, -CH<sub>2</sub>-CH=) групп проявляются сигналы протонов гетероциклического кольца С флавонов (2.40-2.80 м.д., м, 2H-3; 5.44 м.д., дд,

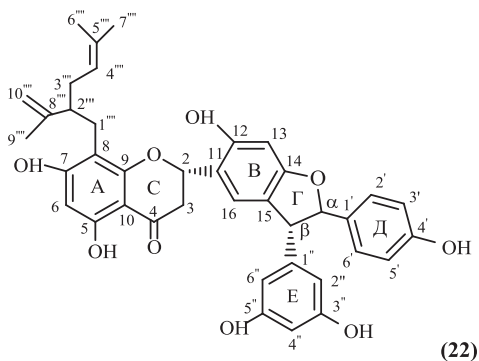


Рис. 11. Структурная формула софорафлаванона I (22).

12.8 и 3.0 Гц, H-2), а также H- $\alpha$  (5.61 м.д., д, 5.5 Гц) и H- $\beta$  (4.32 м.д., д, 5,5 Гц) дизамещенного дигидробензофуранового ядра. В области 6.72-7.32 м.д. резонируют сигналы десяти ароматических протонов, четыре из них в виде двух двухпротонных дублетов с КССВ 8,0 Гц при 7.01 и 7.24 м.д.

Принадлежность вещества **22** к флаванолигнанам подтверждается наличием сигналов углерода C-2 (73.8 м.д.), C-3 (42.6 м.д.), C- $\alpha$  (92.8 м.д.) и C- $\beta$  (54.2 м.д.) в спектре  $^{13}\text{C}$ -ЯМР гексаацетата.

Сравнительное изучение спектров и физико-химических свойств вещества **22** с литературными данными позволило идентифицировать данное соединение с софорафлаваноном I (рис.11), ранее выделенным из двух видов растений рода *Sophora L.* В ложнософоре лисохвостной данное соединение обнаружено впервые.

Из корней ложнософоры лисохвостной выделены также птерокарпановый гликозид трифолиризин (**23**) и вексибинол (**24**) – флаванон, содержащий монотерпеновую лавандулильную группу.

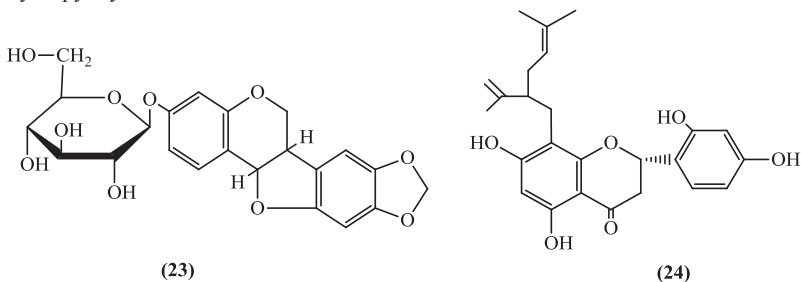


Рис. 12. Структурные формулы трифолиризина (23) и вексибинола (24)

## ВЫВОДЫ

1. Исследован химический состав флавоноидов надземных частей растений *Equisetum sylvaticum* L. (хвощ лесной), *Equisetum arvense* L. (хвощ полевой) и *Pseudosopora alopecuroides* L. (ложнософора лисохвостная), а также фталатов из *Equisetum arvense* L. Выделено 24 индивидуальных соединений, в том числе 22 флавоноида и 2 фталата.
2. Из надземной части *Equisetum sylvaticum* L. (хвощ лесной) выделен новый флавоноловый гликозид кверцетин-3-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-4'-О- $\beta$ -D-глюкопиранозид, структурная формула которого установлена на основании химических превращений и спектральных данных.
3. Флавоноиды кемпферол-3-О- $\beta$ -D-галактопиранозил-7-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозид, кемпферол-3,7-ди-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозид, лютеолин-4'-О- $\beta$ -D-глюкопиранозид впервые обнаружены в растениях рода *Equisetum* L. Кемпферол-3-О-рутинозил-7-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозид впервые обнаружен в хвоще полевом.
4. Впервые в представителях рода *Equisetum* L. установлено наличие фталатов. Из надземной части *Equisetum arvense* L. выделены и идентифицированы диизооктифталат и бис(2-этилгексил) фталат.
5. Впервые из надземной части ложнософоры лисохвостной выделены и идентифицированы флаваноны - глаброл, изобавахин; птерокарпан – инермин и изофлаван - генистеин. Флаваноолигнан софорафлаванон I впервые выделен из ложнософоры лисохвостной.
6. Выявлено различие в химическом составе хвощей лесного и полевого. Наличие флавонолов характерно для обоих растений, но в отличие от хвоща лесного в хвоще полевым продуцируются производные флавана и их гликозиды. Такое различие в химическом составе двух видов хвоща может быть использовано в хемосистематике видов и должно быть учтено при стандартизации травы хвоща полевого.

### Основное содержание диссертации опубликовано в следующих работах

1. Ботиров Э. Х., Тожибоев М. М., Боначева В. М., Дренин А. А. Флавоноиды надземной части и корней *Pseudosopora alopecuroides* (L.) Sweet // Химия растительного сырья. – 2011. – № 3. – С. 137-142.
2. Боначева В. М., Ботиров Э. Х. Гликозиды флавоноидов *Equisetum sylvaticum* L. Ханты-Мансийского автономного округа // Химия растительного сырья. – 2013. – №1. – С. 171-174.
3. Bonacheva V. M., Botirov E. Kh. Kaempferol and its Glycosides from *Equisetum sylvaticum* L. from the Khanty-Mansi Autonomous Area // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. – 2014. – V. 40. – P. 769-772.
4. Боначева В. М., Ботиров Э. Х., Дренин А. А. Флавоноиды *Equisetum arvense* L. и *Lathyrus pratensis* L. // Химия растительного сырья. – 2014. – № 3. – С. 195-199.

Автор выражает глубокую благодарность своему научному руководителю д.х.н. профессору Ботирову Эркину Хожиакбаровичу за постоянное внимание, полезные консультации и поддержку в ходе выполнения данной работы.