



УДК 547.918'914

ТРИТЕРПЕНОВЫЕ ГЛИКОЗИДЫ *CEPHALARIA GIGANTEA*II. СТРОЕНИЕ ГИГАНТЕАЗИДОВ *D* И *G*

*Звиададзе Л. Д., Деканосидзе Г. Е., Джижия О. Д.,
Кемертелидзе Э. П.*

Институт фармакохимии им. И. Г. Кутателадзе Академии наук ГрузССР, Тбилиси

Шаиков А. С.

*Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского
Академии наук СССР, Москва*

Изучена структура двух тритерпеновых гликозидов, выделенных из корней *Cephalaria gigantea*: гигантеазид *D* и гигантеазид *G*. Установлено, что гигантеазид *D* представляет собой *L*-Rha p 1 $^{\alpha}$, 2-*D*-Xyl p 1 $^{\beta}$, 3-олеаноловую кислоту, а гигантеазид *G* — *L*-Rha p 1 $^{\alpha}$, 2-*D*-Xyl p 1 $^{\beta}$, 3-олеаноловую кислоту — 28 $^{\beta}$ -*D*-Glc p .

Как указывалось ранее [1], из подземной части растения *Cephalaria gigantea* (Led.) E. Bobr — головчатки гигантской семейства Dipsacaceae [2] были выделены гликозиды — гигантеазиды *D*, *E*, *G*, *H*, *L*.

В настоящей статье приведены данные по структуре гигантеазидов *D* и *G*.

С помощью полного кислотного гидролиза установлено, что гигантеазиды *D* и *G* являются производными олеаноловой кислоты; в углеводной части гигантеазид *D* были идентифицированы рамноза, ксилроза, в *G* — рамноза, ксилроза, глюкоза. После восстановления и последующего ацетилирования полученных гидролизатов методом ГЖХ [3, 4] в случае гигантеазид *D* идентифицировали ацетаты ксилита и рамнита в соотношении 1:1, в случае гигантеазид *G* — ацетаты рамнита, ксилита и сорбита в соотношении 1:1:1.

Чтобы установить в исследуемых соединениях наличие ацилгликозидных связей, гигантеазиды *D* и *G* подвергали щелочному гидролизу. Гигантеазид *G* отщепил при этом глюкозу, а полученное модифицированное соединение совпало по данным ТСХ с гигантеазидом *D*. Таким образом, в обоих исследуемых гигантеазидсах остатки рамнозы и ксилозы присоединены к агликону гликозидными связями, в то время как остаток глюкозы в гигантеазиде *G* ацилирован олеаноловой кислотой. О наличии в гигантеазиде *G* сложноэфирной связи свидетельствует также полоса поглощения в области 1735–1760 см^{-1} его ИК-спектра, смещающаяся в случае наличия незамещенной карбоксильной группы в область 1700 см^{-1} (табл. 1).

Характер замещения моносахаридных остатков в гликозидах определяли при помощи метилирования сапонинов *D* и *G* по методу Хакомори [5] с последующим гидролизом, восстановлением, ацетилированием и

идентификацией полученных частично метилированных полиолов методом хромато-масс-спектрометрии [6]. В случае гигантезида *D* этим методом идентифицировали 2,3,4-три-*O*-метил-1,5-ди-*O*-ацетилрамнит и 3,4-ди-*O*-метил-1,2,5-три-*O*-ацетилксилит в соотношении 1:1. Для гигантезида *G* дополнительно к этим полиолам идентифицировали 1,5-ди-*O*-ацетил-2,3,4,6-тетра-*O*-метилсорбит в соотношении 1:1:1, что свидетельствует об ацилгликозидной связи остатка глюкозы с С28 олеаноловой кислоты.

Данные о структуре гигантезидов *D* и *G* подтверждены также с помощью спектроскопии ^{13}C -ЯМР. С помощью этого метода сделаны, кроме того, выводы о конфигурациях гликозидных связей и размерах циклов.

Для сахаров с фуранозными циклами характерен сигнал от атома С4 в области 79–84 м.д. [7]. Единственный сигнал в спектрах гигантезидов *D* и *G* вблизи этой области (87,7 м.д. для *D* и 87,6 м.д. для *G*) относится за счет резонанса С3 в остатке олеаноловой кислоты. Следовательно, все

Таблица 1
Физико-химические константы и состав гигантезидов *D* и *G*

| Соединение | Т. пл., °С | $[\alpha]_D^{20}$, град | ν , см $^{-1}$ | Агликон | Моносахариды и их соотношения |
|---------------------|----------------------|--------------------------|--------------------|---------------------|-------------------------------|
| Гигантезид <i>D</i> | 248–252 (с разл.) | 0 | 1705 (COOH) | Олеаноловая кислота | Xyl, Rha 1:1 |
| Гигантезид <i>G</i> | 210–215 (с разл.) | -10 (с 1,0; MeOH) | 1740 (COOR) | То же | Glc, Xyl, Rha, 1:1:1 |

Таблица 2

Химические сдвиги ^{13}C -ЯМР углеводных остатков в гигантезидах *D* и *G* и модельных соединениях (δ -шкала)

| Соединение | Углеводный остаток | Растворитель | Химические сдвиги, м.д. | | | | | |
|--|---|------------------------|-------------------------|---------|--------|--------|------|-------|
| | | | C1' | C2' | C3' | C4' | C5' | C6' |
| Метил- α - <i>L</i> -рамнопиранозид [9] | — | $^2\text{H}_2\text{O}$ | 102,3 | 71,4 | 71,7 | 73,4 | 69,6 | 18,0 |
| Метил- β - <i>L</i> -рамнопиранозид [9] | — | $^2\text{H}_2\text{O}$ | 102,4 | 71,8 | 74,1 | 73,4 | 73,4 | 17,9 |
| Гигантезид <i>D</i> | α - <i>L</i> -Рамнопиранозид | DMCO | 100,2 | 70,0 * | 70,5 * | 72,2 | 68,2 | 17,8 |
| Гигантезид <i>G</i> | » | » | 100,2 | 70,0 * | 70,4 * | 72,25 | 68,3 | 17,85 |
| Метил-2- <i>O</i> -(β - <i>D</i> -ксилопиранозил)- β -ксилопиранозид [10] | 2-Замещенный β - <i>D</i> -ксилопиранозид | $^2\text{H}_2\text{O}$ | 104,9 | 81,8 ** | 76,4 | 70,25 | 65,9 | |
| Гигантезид <i>D</i> | β - <i>D</i> -Ксилопиранозид | DMCO | 104,8 | 77,8 ** | 76,7 | 70,4 * | 65,7 | |
| Гигантезид <i>G</i> | » | » | 104,7 | 77,8 | 76,9 | 70,4 * | 65,6 | |
| Метил- β - <i>D</i> -глюкопиранозид [11] | — | $^2\text{H}_2\text{O}$ | 104,3 | 74,2 | 76,9 | 70,8 | 76,9 | 61,9 |
| Гигантезид <i>G</i> | β - <i>D</i> -Глюкопиранозид | DMCO | 103,15 | 73,65 | 76,9 | 70,2 * | 76,9 | 61,6 |

* Отнесение линий в спектрах гигантезидов *D* и *G* в области резонанса 70,0–70,5 м.д. к конкретным атомам углерода условное.

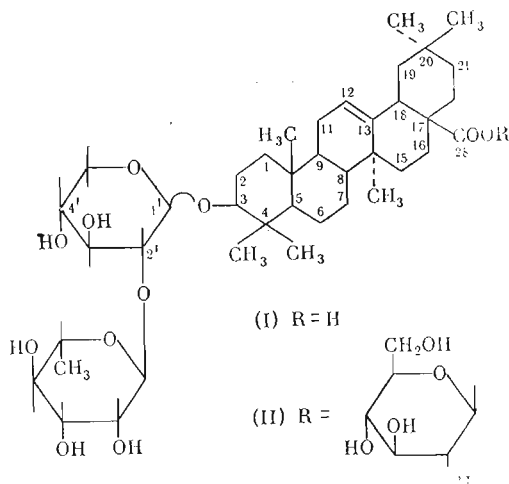
** Различие в химических сдвигах С2 обусловлено различием в природе заместителей (β -*D*-ксилопиранозил и α -*L*-рамнопиранозил).

углеводные остатки в обоих гликозидах находятся в пиранозной форме.

Для пиранозидов с *манно*(*рамно*)-конфигурацией не наблюдалось сигналов от атома С1 с химическим сдвигом ниже 104 м.д. Значит, в спектре гигантезида *D* сигнал с химическим сдвигом 104,8 м.д. следует отнести за счет резонанса атома С1 ксилопиранозного остатка. Величина химического сдвига атома С1 в этом остатке однозначно свидетельствует о β -конфигурации гликозидного центра [8]. По химическому сдвигу сигнала от атома С1 рамнозного остатка нельзя судить о конфигурации гликозидного центра, так как α - и β -аномерные рамнопиранозиды имеют близкие по величине химические сдвиги от атома С1 [8]. Поэтому критерием для определения конфигурации гликозидного центра в этом остатке является величина химических сдвигов С3 и С5 (табл. 2). Сопоставление спектра сапонина *D* со спектрами метил- α - и β -*L*-рамнопиранозидов позволяет приписать рамнопиранозидным остаткам в гигантезидах *D* α -конфигурацию. Небольшое различие в величинах химических сдвигов С2—С5 для сапонина *D* и для α -*L*-метилрамнопиранозидов — следствие съемки в разных растворителях (см. табл. 2).

Спектр гигантезида *G* отличается от спектра гигантезида *D* прежде всего наличием шести новых линий в области резонанса атомов углерода глюкопиранозидов. С учетом данных о моносакхаридном составе гликозидной цепи в сапонине *D* естественно отнести появление указанных линий за счет резонанса атомов углерода в глюкопиранозидном остатке. Величина химического сдвига от атома С1 этого моносакhariда позволяет однозначно приписать ему β -конфигурацию гликозидного центра. Химические сдвиги остальных атомов углерода глюкопиранозидного остатка (С2, С3 и С5) также отвечают именно β -*D*-глюкопиранозиду.

Таким образом, гигантезидам *D* и *G* можно приписать структуры (I) и (II) соответственно.



Экспериментальная часть

Для хроматографии исследуемых соединений и их производных использовали бумагу марки «М» отечественного производства и бумагу марки FN-13, пластинки с закрепленным слоем силикагеля марки КСК, для колонки — силикагель марки L40/100 и 100/160 мкм (ЧССР) и следующие системы растворителей: хлороформ — метанол — вода, 26:14:3 (А); бутанол — этанол — вода, 10:2:5 (Б); этилацетат — метанол — вода, 10:2:5 (В); пиридин — этилацетат — вода, 2:8:1 (Г); хлороформ — метанол, 20:1 (Д). Для обнаружения веществ на хроматограммах были применены следующие реактивы: для тритерпеновых гликозидов и их агликонов — 25% раствор фосфорновольфрамовой кислоты в этаноле [12]; для моно-

сахаридов — *о*-толуидинсалицилат [13]; ГЖХ-анализ проводили на приборе ЛХМ-8МД на колонке 3% ECNSS на хромосорбе W (температура ввода 120°С, 4°С/мин). Масс-спектры снимали на приборе «Varian MAT-III» на колонке 3% ECNSS (температура ввода 120°С, 4°С/мин). Спектры ¹³С-ЯМР измеряли на приборе «Bruker WP-60» (в ДМСО), ИК-спектры — на спектрофотометре UR-20 (в вазелиновом масле).

Кислотный гидролиз. По 20 мг гигантеазидов *D* и *G* гидролизovali 8 ч 2 н. H₂SO₄ в 50% метаноле при 100°С. Выпавший агликон отфильтровывали, промывали и хроматографировали в системе Д. Его идентифицировали сравнением с образцом олеаноловой кислоты. Гидролизат нейтрализовали анионитом ЭДЭ-10П (НСО⁻-форма), концентрировали и хроматографировали на бумаге (система Г).

Получение ацетатов полиолов. По 10 мг гигантеазидов *D* и *G* гидролизovali 3 ч 1 н.НСl при 100°С и упаривали досуха. Остаток растворяли в 2 мл 50% водного метанола и восстанавливали NaBH₄ в течение 12 ч при 20°С, обрабатывали катионитом (КУ-2, Н⁺-форма), отфильтровывали и упаривали несколько раз с метанолом. Высушенное вещество ацетилировали в смеси пиридина (2 мл) и Ac₂O (2 мл) 12 ч при 20°С, после чего упаривали с метанолом и толуолом (для удаления пиридина). Продукт экстрагировали хлороформом и упаривали. Полученные ацетаты полиолов идентифицировали с помощью ГЖХ сравнением с известными образцами.

Щелочной гидролиз. По 10 мг гликозидов *D* и *G* растворяли в 5 мл 1% КОН, нагревали 2 ч при 100°С, после чего реакционную смесь нейтрализовали катионитом (КУ-2, Н⁺-форма) и упаривали в вакууме. ТСХ-анализ в системах А—В в обоих случаях показал присутствие гигантеазидов *D*. БХ-анализ в системе Г гидролизата гигантеазидов *G* показал присутствие глюкозы.

Метилирование по Хакомори [5] осуществляли, используя по 100 мг гликозидов *D* и *G*. Полноту метилирования контролировали с помощью ИК-спектрометрии. Выход метилированного продукта составлял 80 мг. Выделенные метилированные продукты подвергали формолизу (НСООН, 1 ч, 100°С), упаривали, а затем гидролизovali 1 н.НСl. Смесь продуктов восстанавливали NaBH₄ и ацетилировали как описано выше. Ацетаты частично метилированных полиолов идентифицировали методом хромато-масс-спектрометрии сравнением с известными образцами и в соответствии с литературными данными [8].

ЛИТЕРАТУРА

1. Звиададзе Л. Д., Деканосидзе Г. Е., Кемергелидзе Э. П. Тримерные гликозиды *Cephalaria gigantea*.— Химия природы. соедин., 1980, № 3, с. 423.
2. Бобров Е. Г. Флора СССР. Сем. *Dipsacaceae*. М.—Л.: Изд. АН СССР, 1957, т. 24, с. 29—31.
3. Björndal H., Lindberg B., Svensson S. Gas-liquid chromatography of partially methylated alditols as their acetates.— Acta chem. scand., 1967, v. 21, № 7, p. 1801—1804.
4. Lönngren J., Pilotti A. Gas-liquid chromatography of partially methylated alditols as their acetates.— Acta chem. scand., 1971, v. 25, № 3, p. 1144—1145.
5. Hakomori S. A rapid permethylation of glycolipid and polysaccharide catalysed by methylsulfinyl carbanion in dimethyl sulfoxide.— J. Biochem. (Tokyo), 1964, v. 55, p. 205—208.
6. Björndal H., Lindberg B., Svensson S. Mass-spectrometry of partially methylated alditol acetates.— Carbohydr. Res., 1967, v. 5, № 4, p. 433—440.
7. Gorin P. A. I., Mazurek M. Carbon-13 and proton nuclear magnetic resonance studies of methyl aldofuranosides and their O-alkyl derivatives.— Carbohydr. Res., 1976, v. 48, № 2, p. 171—186.
8. Шашков А. С., Чижов О. С. Спектроскопия ¹³С-ЯМР в химии углеводов и родственных соединений.— Биоорг. химия, 1976, т. 2, № 4, с. 437—497.
9. Бакинковский Л. В., Балаи Н. Р., Шашков А. С., Кочетков Н. К. Синтез β-L-рамнопиранозидов.— Биоорг. химия, 1980, т. 6, № 3, с. 464—467.
10. Kovac B., Hirsch J., Shashkov A. S., Usov A. I., Jarotsky S. V. ¹³C-NMR spectra of xylo-oligosaccharides and their application to the elucidation of xylan structures.— Carbohydr. Res., 1980, v. 85, p. 177—185.

11. Gorin P. A. I., Mazurek M. Further studies on the assignment of signals in ^{13}C magnetic resonance spectra of aldoses and derived methyl glycosides.— *Can. J. Chem.*, 1975, v. 53, № 8, p. 1212–1223.
12. Pasich B. Związki trojterpenowe w matheriale Roslinnym. Dissert. pharm. PAN, 1959, v. XI, p. 23–29.
13. Пирцхалава Г. В., Горовиц М. Б., Горовиц Т. Т., Абубакиров Н. К. Стероидные сапонины и сапогенины *Allium*.— *Химия природн. соедин.*, 1979, № 4, с. 514–520.

Поступила в редакцию
30.VII.1980

После доработки
10.X.1980

TRITERPENE GLYCOSIDES OF *Cephalaria gigantea*. II. THE STRUCTURE OF GIGANTEASIDS *D* AND *G*

ZVIADADZE L. D., DEKANOSIDZE G. E., GIKIA O. D.,
KEMERTELIDZE E. P., SHASHKOV A. S.

I. G. Kutateladze Institute of Pharmacochemistry, Academy of Sciences of the Georgian SSR, Tbilisi; N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences of the USSR, Moscow

Two triterpene glycosides, giganteasids *D* and *G*, were isolated from the roots of *Cephalaria gigantea*. Using chemical and physico-chemical methods such as ^{13}C NMR spectroscopy, giganteasids *D* and *G* were shown to have the structure: $L\text{-Rhap}1\text{-}^{\alpha}\text{-}2\text{-}D\text{-Xylp}1\text{-}^{\beta}\text{-}3\text{-oleanolic acid}$ and $L\text{-Rhap}1\text{-}^{\alpha}\text{-}2\text{-}D\text{-Xylp}1\text{-}^{\beta}\text{-}3\text{-oleanolic acid} - 28\text{-}^{\beta}\text{-}D\text{-Glc}p$, respectively.