

УДК 615.322:581.19

3-МЕТИЛКВЕРЦЕТИН-4'-О-β-D-ГЛЮКУРОНОПИРАНОЗИД – НОВЫЙ ФЛАВОНОИД, ВЫДЕЛЕННЫЙ ИЗ *SERRATULA CORONATA* L.S.L.

© А.В. Мягчилов^{*}, Л.И. Соколова¹, П.Г. Горовой², В.Г. Савченко¹

¹ Дальневосточный федеральный университет, ул. Октябрьская, 27, Владивосток, 690950 (Россия), e-mail: DFDFDF47@yandex.ru

² Тихоокеанский институт биорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, пр. 100 лет Владивостоку, 159, Владивосток, 690922 (Россия)

Одной из важнейших задач в современной биологической, органической и аналитической химии является поиск, идентификация и установление структуры физиологически активных соединений, методов их выделения, анализа. Для получения флавоноидсодержащих препаратов, представляющих интерес в медицине и фармакологии, перспективным растением Дальнего Востока России является серпуха венценосная (*Serratula coronata* L.s.l.), в которой ранее были выделены и идентифицированы экидистероиды и флавоноиды: кверцетин, 3-метилкверцетин, апигенин, изокемпферид. Жидкостной экстракцией и препаративной колоночной хроматографией при элюировании смесью растворителей (хлороформ, метанол) из листьев серпухи венценосной, произрастающей в Приморском крае Российского Дальнего Востока, впервые выделен ранее не описанный в литературе флавоноид – 3-метилкверцетин-4'-О-β-D-глюкуронопиранозид, брутто-формула C₂₂H₂₀O₁₃. Структура флавоноида установлена методами УФ-, ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии при ионизации электрораспылением (ESI). Показано, что агликоном в флавоноиде является 3-метилкверцетин, а углеводный фрагмент присутствует в пиранозной форме. Для установления конфигурации углеводного фрагмента измерили константы спин-спинового взаимодействия (KCCB), используя данные ЯМР-¹H, ¹H,¹H-COSY, ¹H,¹³C-HSQC-спектров.

Ключевые слова: серпуха венценосная, *Serratula coronata*, флавоноид, гликозид, жидкостная экстракция, препаративная колоночная хроматография, УФ-спектроскопия, ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия с ионизацией электрораспылением (ESI) и регистрацией отрицательных ионов, 3-метилкверцетин-4'-О-β-D-глюкуронопиранозид.

Введение

Одним из распространенных, но недостаточно изученных растений Сибири и Дальнего Востока России является серпуха венценосная, потенциальный источник получения экидистероидов [1, 2]. Помимо этого, из серпухи венценосной выделены и идентифицированы биологически активные соединения класса флавоноидов [3, 4], что делает ее перспективным, постоянно возобновляемым источником для получения не только экидистероидов, но и флавоноидов, необходимых для фармацевтической промышленности.

Основными флавоноидами серпухи венценосной, произрастающей в Приморском крае, являются кверцетин, 3-метилкверцетин, апигенин, изокемпферид [5].

Цель настоящей работы – исследование состава флавоноидов (гликозидов) листьев серпухи венценосной.

Мягчилов Алексей Викторович – кандидат биологических наук, старший преподаватель, e-mail: DFDFDF47@yandex.ru

Соколова Лариса Ивановна – кандидат химических наук, профессор, e-mail: sokolova@bk.ru

Горовой Петр Григорьевич – доктор биологических наук, профессор, академик РАН, заведующий лабораторией хемотаксономии растений, e-mail: petrgorovoy@gmail.com

Савченко Вячеслав Георгиевич – инженер лаборатории молекулярного анализа, e-mail: savchenko.vg @ dvfu.ru

Экспериментальная часть

Для выделения флавоноидов использовали листья серпухи венценосной, собранной в Приморском крае (Хасанский район, окрестности с. Андреевка). Сушка проводилась при комнатной температуре. Высушенные листья измельчали до размеров частиц 1–2 мм.

Измельченные листья серпухи венценосной (30 г) экстрагировали 300 мл 70% этилового спирта

* Автор, с которым следует вести переписку.

на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 1,5 ч. Полученный экстракт концентрировали на ротаторном испарителе до водного остатка и последовательно обрабатывали четыреххлористым углеродом, этилацетатом, *n*-бутанолом для удаления липидов и пигментов.

Бутанольную фракцию упаривали досуха при пониженном давлении. К сухому остатку добавляли 10 мл 96% этилового спирта и смешивали с 10 г силикагеля (фракция 70–230 меш). Смесь экстракта и силикагеля высушивали при комнатной температуре и наносили на колонку (4×20 см) с силикагелем (70–230 меш). В качестве элюента использовали смесь хлороформ : метанол (содержание метанола изменялось от 0 до 100%). Флавоноид выделили при элюировании смесью растворителей хлороформ : метанол в соотношении 30 : 70 (об./об.). Очистку выделенного соединения проводили перекристаллизацией из 90% этилового спирта.

Поглощение в УФ-области спектра измеряли на спектрофотометре Shimadzu UV 1240 mini (Япония). Масс-спектрометрический анализ проводили на приборе Agilent 6210 TOF LC/MS (США) при ионизации электрораспылением (ESI) с регистрацией отрицательных ионов. Спектры ЯМР получены на спектрометре Bruker (США) с рабочей частотой 400 МГц в d^6 -ДМСО.

Обсуждение результатов

Исследование характера УФ-спектра выделенного соединения позволяет отнести его к классу флавоноидов благодаря наличию характерных для флавонолов и флавонов максимумов поглощения в областях 250–270 нм и 330–360 нм.

Выделенное соединение представляет собой кристаллическое вещество желтого цвета, хорошо растворимое в воде. В масс-спектре, полученном при ионизации электрораспылением (ESI), сигнал $[M-H]^-$ с m/z 491,0874 отвечает брутто-формуле $C_{22}H_{20}O_{13}$. В ЯМР ^{13}C -спектре (рис. 1) флавоноида присутствуют 22 сигнала. Наиболее слабый сигнал 179,6 м.д. принадлежит атому С-4 карбонильной группы. Сравнение химических сдвигов остальных сигналов слабейшей части спектра с литературными данными позволяет утверждать, что в качестве агликаона в флавоноиде выступает кверцетин [6].

Наличие в ЯМР 1H -спектре (рис. 2) флавоноида сигнала метоксигруппы при 3,7 м.д. (с), который по данным эксперимента $^1H, ^{13}C$ -НМВС (рис. 3) расположен при С-3, указывает на агликон 3-метилкверцетин.

В ЯМР ^{13}C -спектре в области 73–78 м.д. присутствуют характерные сигналы для пиранозной формы углеводного фрагмента. Сигнал аномерного атома углерода (С-1 \equiv) имеет химический сдвиг 103,7 м.д., что свидетельствует о наличии полуацетальной связи фрагмента флавоноида. В слабейшей части спектра присутствует сигнал при 174,8 м.д., отвечающий СООН-группе при С-5'' в молекуле углевода.

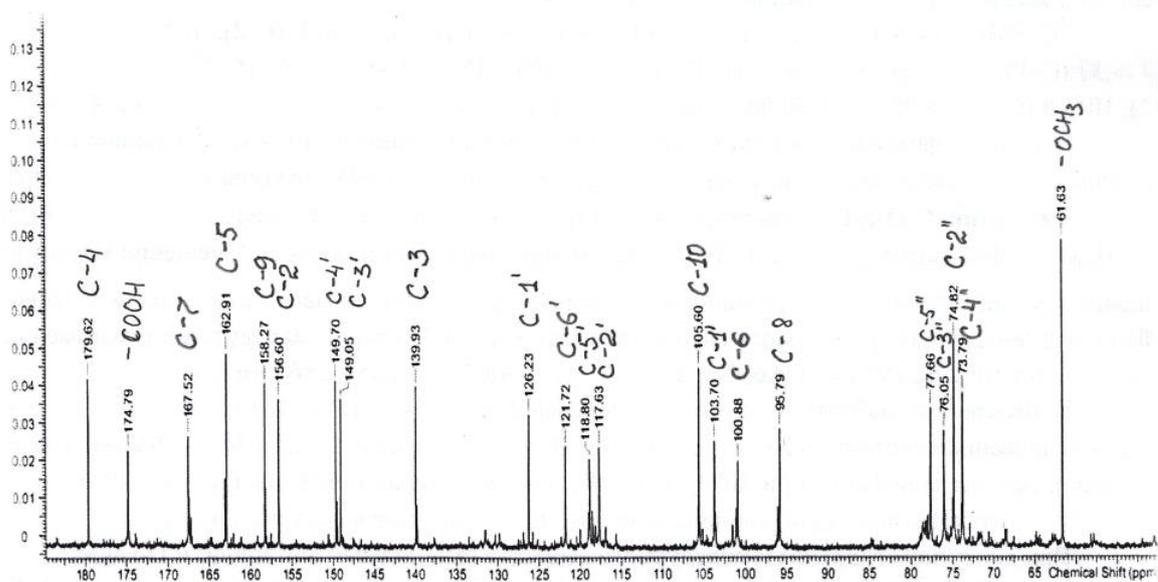
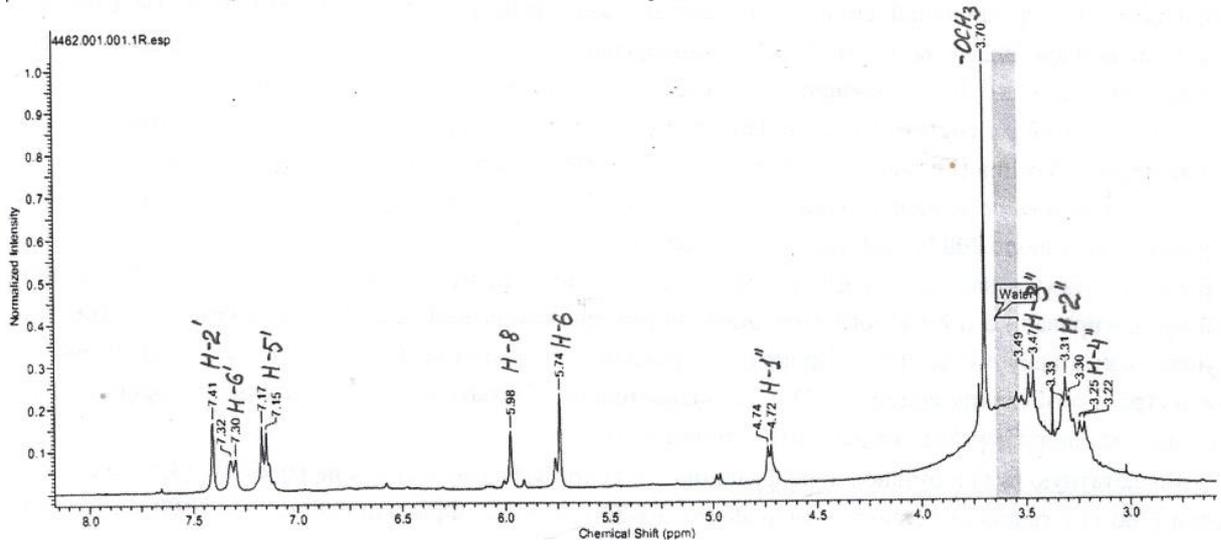
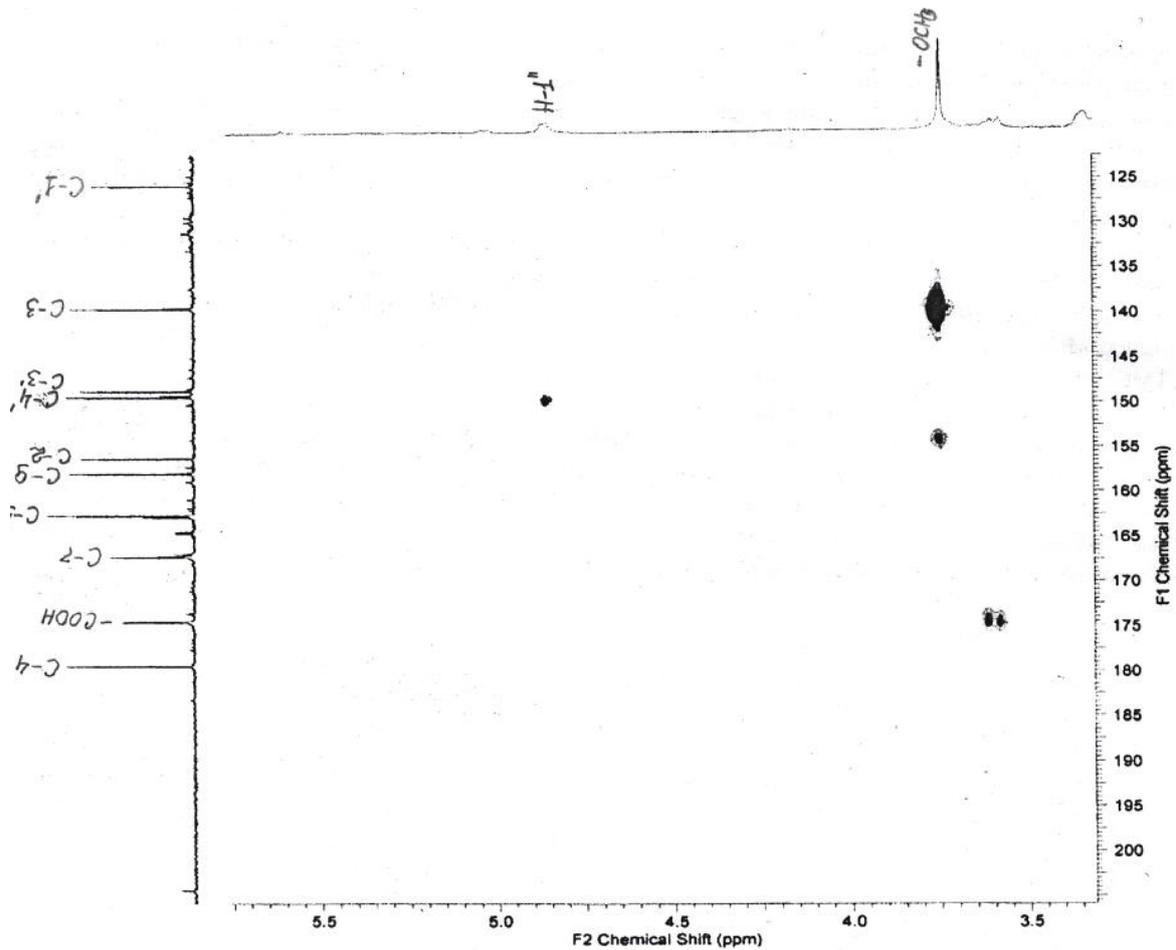


Рис. 1. ЯМР- ^{13}C -спектр флавоноида

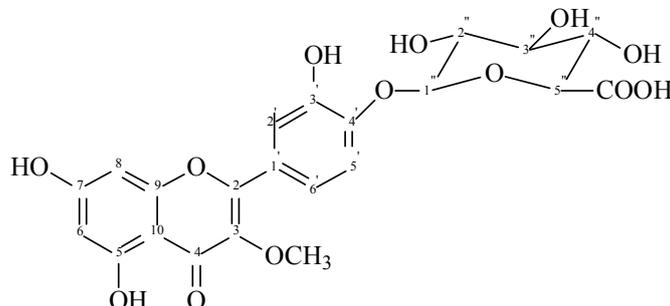
Рис. 2. ЯМР- ^1H -спектр флавоноидаРис. 3. Спектр- ^1H , ^{13}C -HMBC флавоноида

Для установления конфигурации углеводного фрагмента измерили константы спин-спинового взаимодействия (КССВ), используя данные ЯМР- ^1H , ^1H , ^1H -COSY, ^1H , ^{13}C -HSQC-спектров. Измеренные КССВ для протонов при 3,47 м.д. (H-3'') и 3,22 м.д. (H-4''), составили 9,6 Hz. Для аномерного протона при 4,72 м.д. КССВ – 6,7 Hz. Данные КССВ свидетельствует о наличии β -D-глюконопиранозидного фрагмента в моле-

куле флавоноида. Наличие корреляции между аномерным протоном H-1 \equiv и C-4' в спектре ^1H , ^{13}C -НМВС, свидетельствует о том, что углеводный фрагмент в молекуле флавоноида присоединен при C-4'.

На основании данных УФ-, ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии установлено, что выделенный флавоноид является 3-метилкверцетин-4'-O- β -D-глюкуронопиранозидом.

Этот флавоноид ранее не описан в литературе и впервые выделен из серпухи венценосной.



Выводы

Методами жидкостной экстракции и препаративной колоночной хроматографии из листьев серпухи венценосной впервые выделен ранее не описанный флавоноид – 3-метилкверцетин-4'-O- β -D-глюкуронопиранозид, структура которого установлена методами УФ-, ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии при ионизации электрораспылением (ESI).

Список литературы

1. Воробьева А.Н., Зарембо Е.В., Рыбин В.Г. Дальневосточные виды родов *Stemmacantha* cass. и *Serratula* L. – перспективные источники фитостероидов // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2006. Вып. 22. С. 90–93.
2. Зарембо Е.В., Горовой П.Г., Соколова Л.И. Содержание 20-гидроксозидина в видах *Rhaponticum Ludw.* и *Serratula* L. флоры Дальнего Востока России // Растительные ресурсы. 2001. №3. С. 59–64.
3. Ангаскиева А.С. Фармакологическое исследование серпухи венценосной, культивируемой в Сибири: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Томск, 2006. 19 с.
4. Ling Tie-jun, Wan Xiao-chun, Ling Wei-wei, Wei Zhi-wen. Advances in chemical constituents in *Serratula* spp. // Journal of Anhui Agricultural University. 2009. Vol. 36. N1. Pp. 26–32.
5. Мягчилов А.В., Гончаренко О.Э., Соколова Л.И., Горовой П.Г., Дмитренко П.С. Выделение и идентификация флавоноидов из соцветий серпухи венценосной – *Serratula coronata* L. (Asteraceae) // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2011. №1. С. 53–56.
6. Wawer I., Zielinska A. ^{13}C CP/MAS NMR studies of flavonoids // Magnetic resonance chemistry. 2011. N39. Pp. 374–380.

Поступило в редакцию 12 июня 2016 г.

После переработки 9 сентября 2016 г.

Myagchilov A.V.^{1*}, Sokolova L.I.¹, Gorovoy P.G.², Savchenko V.G.¹ 3-METHYLQUERCETIN-4'-O-β-D-GLYCURONOPYRANOSIDE – NEW FLAVONOID ISOLATED FROM *SERRATULA CORONATA* L.S.L.

¹ Far Eastern Federal University, ul. Oktyabrskaya, 27, Vladivostok, 690950 (Russia), e-mail: DFDFDF47@yandex.ru

² G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences, pr. 100 let Vladivostoku, 159, Vladivostok, 690922 (Russia)

For flavonoids containing drugs of interest in medicine and pharmacology promising plant in Russian Far East is saw-wort (*Serratula coronata* L.s.l.), in which ecdysteroids and flavonoids: quercetin, 3-methylquercetin, apigenin, isokempferide, were previously isolated and identified. 3-methylquercetin-4'-O-β-D-glycuronopyranoside was first isolated from the leaves of saw-wort growing in Primorsky Region of the Russian Far East by liquid extraction and preparative column chromatography with solvent mixture (chloroform, methanol) gross formula is C₂₂H₂₀O₁₃. The flavonoids structure was elucidated by UV, NMR-spectroscopy and mass-spectrometry with electrospray ionization (ESI). It is showed that flavonoid aglycone is quercetin and carbohydrate fragment is in pyranose form. To determinate the carbohydrate fragment configuration spin-spin coupling (SSCC) was measured using the data of NMR-¹H, ¹H,¹H-COSY, ¹H,¹³C-HSQC-spectrum.

Keywords: saw-wort, *Serratula coronata*, flavonoid, glycoside, liquid extraction, preparative column chromatography, UV-spectroscopy, NMR-spectroscopy, mass- spectrometry with electrospray ionization (ESI) and recording negative ions, 3-methylquercetin-4'-O-β-D-glycuronopyranoside.

References

1. Vorob'eva A.N., Zarembo E.V., Rybin V.G. *Biulleten' fiziologii i patologii dykhanii*, 2006, no. 22, pp. 90–93. (in Russ.).
2. Zarembo E.V., Gorovoi P.G., Sokolova L.I. *Rastitel'nye resursy*, 2001, no. 3, pp. 59–64. (in Russ.).
3. Angaskieva A.S. *Farmakologicheskie issledovanie serpuhki ventsenosnoi, kul'tiviruemoi v Sibiri: avtoref. dis. ... kand. farm. nauk.* [Pharmacological research Serpukhov crowned cultivated in Siberia: Abstract. Dis. ... Cand. Pharm. sciences]. Tomsk, 2006, 19 p. (in Russ.).
4. Ling Tie-jun, Wan Xiao-chun, Ling Wei-wei, Wei Zhi-wen. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2009, vol. 36, no. 1, pp. 26–32.
5. Miagchilov A.V., Goncharenko O.E., Sokolova L.I., Gorovoi P.G., Dmitrenok P.S. *Izvestiia vuzov. Prikladnaia khimiia i biotekhnologiya*, 2011, no. 1, pp. 53–56. (in Russ.).
6. Wawer I., Zielinska A. *Magnetic resonance chemistry*, 2011, no. 39, pp. 374–380.

Received June 12, 2016

Revised September 9, 2016

* Corresponding author.

