

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ КОРНЕЙ BRYONIA ALBA.
МАЛОПОЛЯРНЫЕ КИСЛОТЫ

А. Г. ПАНОСЯН, Г. М. АВЕТИСЯН, Э. Р. ДИЛАНЯН и В. А. МНАЦАКАНЯН

Институт тонкой органической химии им. А. Л. Мнджояна
АН Армянской ССР, Ереван

Поступило 1 IX 1976

Показано, что экстракт, полученный при обработке корня *B. alba* петролейным эфиром, содержит две фракции кислотного характера. Менее полярная из них представляет собой фракцию из 23 свободных жирных кислот, основными компонентами которой являются пальмитиновая и олеиновая кислоты. Остальные кислоты, составляющие менее 30% фракции, представляют собой смесь насыщенных и ненасыщенных $n-C_{12}-C_{24}$ кислот. Более полярная фракция, являющаяся пентациклической трипереновой оксикислотой, идентифицирована как бринолевая кислота.

Рис. 1, табл. 2, библиографические ссылки 13.

Корень *Bryonia alba* с древних времен использовался во многих странах для лечения различных заболеваний [1]. Однако в химическом плане он до сих пор еще мало изучен.

Ранние работы по изучению химического состава корней *B. alba* [2] содержат лишь молекулярные формулы и значения температур плавлений гликозидов, названных брионин, брионидин и бреин, как правило, не совпадающие у различных авторов. В более поздних работах [3—6] авторы ограничиваются сравнением значений $[\alpha]_D$, т. пл. и R_f некоторых компонентов с известными стандартами. В связи с этим нами начато систематическое исследование химического состава экстрактов корня.

Колоночной хроматографией петролейноэфирного экстракта на силикагеле нами были выделены две фракции кислотного характера, образующие при обработке diazometаном соответствующие метиловые эфиры. Менее полярная из них представляла собой фракцию свободных жирных кислот. Последние как в свободном состоянии, так и в виде метиловых эфиров, не отличались по хроматографической подвижности в различных системах растворителей от пальмитиновой кислоты и ее метилового эфира, соответственно. Анализ компонентов фракций был осуществлен с помощью ГЖХ на колонках с различными стационарными фазами, а также с помощью комбинированной ГЖХ-масс-спектрометрии их метиловых эфиров и продуктов каталитического гидрирования последних (табл. 1).

Как видно из табл. 1, фракция свободных жирных кислот на 70% состоит из пальмитиновой и олеиновой кислот. Подобный жирнокислотный состав типичен для липидов растений [7].

Таблица 1
Жирнокислотный состав корней *V. alba*

Кислота	а) t_n/t_{16}	б) $\lg t_n/t_{16} + 1$	Содержание, %
<i>n</i> -C ₁₂ :0	0,26	0,5238	3,7
<i>n</i> -C ₁₃ :0	0,43	0,6385	0,3
<i>n</i> -C ₁₄ :0	0,64	0,7521	0,6
<i>n</i> -C ₁₅ :1	0,77	0,9395	0,5
<i>n</i> -C ₁₅ :0	0,82	0,8808	0,5
<i>n</i> -C ₁₆ :1	0,95	1,0861	2,9
<i>n</i> -C ₁₆ :0	1,00	1,000	50,6
<i>n</i> -C ₁₇ :1	1,15	1,1917	0,6
<i>n</i> -C ₁₇ :0	1,19	1,1303	0,4
<i>n</i> -C ₁₈ :1	1,33	1,3222	18,6
<i>n</i> -C ₁₈ :2	1,33	1,4133	2,7
<i>n</i> -C ₁₈ :3	1,33	1,5276	2,9
<i>n</i> -C ₁₉ :0	1,37	1,2672	3,4
<i>n</i> -C ₁₉ :1	1,51	1,4728	0,1
<i>n</i> -C ₁₉ :0	1,58	1,3900	0,1
<i>n</i> -C ₂₀ :1	1,67	1,6096	1,2
<i>n</i> -C ₂₀ :0	1,74	1,5185	3,1
<i>n</i> -C ₂₁ :1	1,90	—	0,3
<i>n</i> -C ₂₁ :0	1,95	1,6590	0,5
<i>n</i> -C ₂₂ :1	2,08	1,8654	2,4
<i>n</i> -C ₂₂ :0	2,12	1,7782	0,7
<i>n</i> -C ₂₃ :1	2,23	—	0,2
<i>n</i> -C ₂₄ :0	2,48	—	0,5

а) 3% силикона E-301 на хроматоне N-AW, 140 – 270° (5 град/мин).

б) 8% ПДЭГС на хромосорбе W, 190°.

t_n — время удерживания метилового эфира кислоты с n числом углеродных атомов в цепи; t_{16} — время удерживания метилпальмитата.

Следует заметить, что петролейноэфирный экстракт семян *V. alba* уже являлся объектом изучения канадских биохимиков [8], которые, отождествляя «масло», образующееся при упаривании экстракта, с жирными кислотами, обнаружили для него два максимума поглощения в ультрафиолетовой области при 233 и 277 м μ . Последние были приписаны $\pi \rightarrow \pi^*$ переходам диенового и триенового хромофоров, и в пересчете на C₁₈ кислоту авторы пришли к выводу о наличии 2,9% диеновой и 0,3% триеновой сопряженных кислот в семенах *V. alba*. Мож-

но было ожидать их присутствие и в корнях. Однако нами показано их отсутствие в экстракте корня, который, кроме вышеупомянутых двух фракций кислот, содержит, по крайней мере, еще 7 фракций, причем одна из них—фракция фитостеринов, содержащая примесь α, β -сопряженного γ -лактона, также обнаруживает в УФ спектре два максимума поглощения при 233 и 217 м μ с такими же значениями интенсивностей.

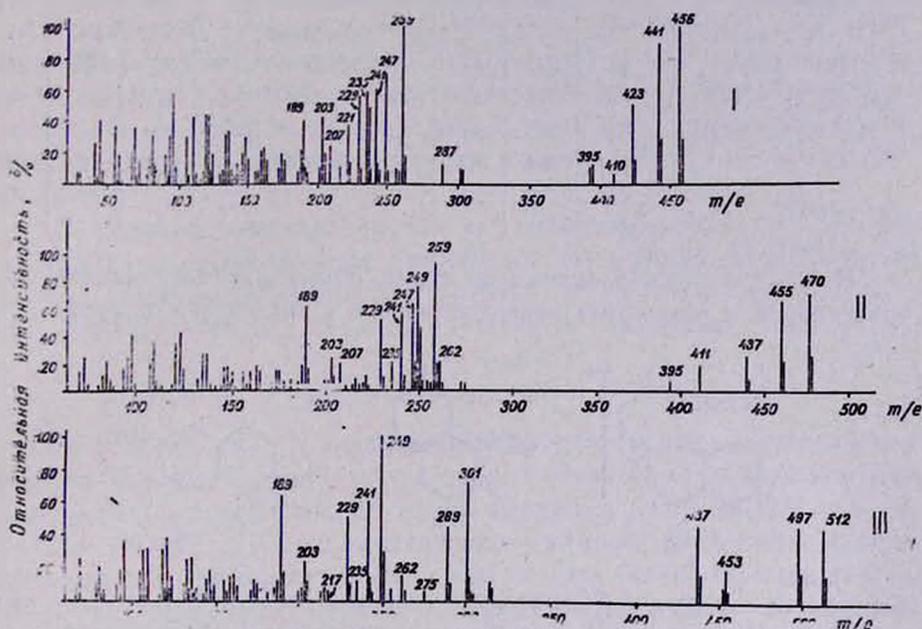
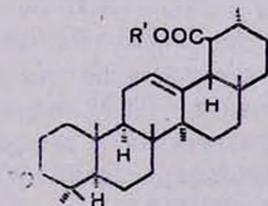


Рис. Масс-спектры бринолевой кислоты I, метилового эфира бринолевой кислоты II, ацетата метилового эфира бринолевой кислоты III.

Более полярная фракция оказалась бринолевой кислотой (I), выделенной ранее из корней *Bryonia dioica* [9]. Об этом свидетельствовали данные ИК, ПМР и масс-спектров (рис.) I, II и III, а также совпадение значений их температур плавления и углов вращения со значениями, имеющимися в литературе [5, 9].



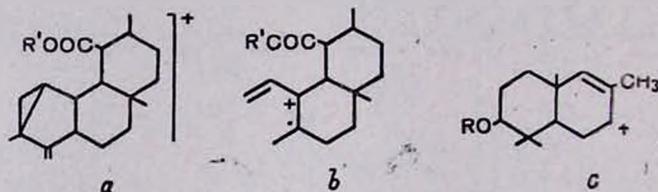
- I. $R = R' = H$
- II. $R = H, R' = CH_3$
- III. $R = Ac, R' = CH_3$

В табл. 2 приведены данные масс-спектрометрического анализа I—III.

Основные ионы, образующиеся при фрагментации под электронным ударом молекулярных ионов I—III

Тип иона	I	II	III	Тип иона	I	II	III
M^+	456	470	512	$[b-CO_2]^+$	203	217	217
$[M-Me]^+$	441	455	497	$[b-Me. + 2H]^+$	235	249	249
$[M-Me.-ROH]^+$	423	437	437	$[b-Me.]^+$	233	247	247
$[M-COOR']^+$	411	411	453	c	207	207	249
$[M-COOR'-ROH]^+$	393	393	393	$[c-ROH]^+$	189	189	189
$[M-COOR'-Me.]^+$	395	395	395	$[a-HCOOR']^+$	241	241	241
a	257	301	301	$[b-R'COO]^+$	203	203	203
b	247	262	262				

Ионы a , b и c образуются по схеме, общей для пентациклических тритерпинов, в результате перерупировок в циклах В и С [10].



Специфичным для бринолевой кислоты следует считать пик иона $[a-HCOOR']^+$ с m/e 241. Еще более характерными являются пики ионов с m/e 259 и 229, происхождение которых, вероятно, связано с расположением карбоксигруппы именно у 19 углеродного атома.

Экспериментальная часть

Материалы и общие методы. Для хроматографии на колонке и ТСХ использовали силикагель марки КСК 80—100 и 250—300 меш. соответственно. Силикагель для колоночной хроматографии перед употреблением кипятили 10—12 час. с 10% HNO_3 , после чего промывали водой, 1,5—2,0% раствором аммиака (5 л/кг), снова водой (~20 л/кг) до нейтральной реакции, сушили на воздухе и активировали 24 часа при 105—110°. Пластинки для ТСХ готовили по описанной методике [11]. Проявление осуществляли в следующих системах растворителей: 1) петролейный эфир—эфир— $AcOH$ (80:20:1), 2) гептан—изопропиловый эфир— $AcOH$ (60:40:1), 3) бензол— $CHCl_3$ — $EtOAc$ (3:2:1), 4) бензол— $MeOH$ (11:2), 5) n -бутанол— $EtOH$ —конц. водный аммиак (7:2:5), 6) бензол—эфир— $AcOH$ —вода (80:20:2:0.2). Для обнаружения веществ на хроматограммах пластинки опрыскивали: а) 50% H_2SO_4 с последующим нагреванием при 180—200°.

б) конц. H_2SO_4 -AcOH (1:1) с последующим нагреванием при 90°
в) 0,01% раствором морина с последующим обнаружением в УФ свете.

Метилловые эфиры жирных кислот анализировали на хроматографе «Хром-4», снабженном пламенно-ионизационным детектором. Для разделения смесей использовали колонки: А) 2000×4 мм с 8% полидиэтиленгликольсукцината на хромосорбе W (100—120 меш) при 190° , Б) 1000×3 мм с 3% силикона E-301 на силанизированном хроматоне N-AW (80—100 меш) в температурном интервале $140^\circ \rightarrow 270^\circ$ (5 град/мин). Комбинированную ГЖХ-масс-спектрометрию проводили на приборе LKB-9000 с энергией ионизирующих электронов 70 эв на колонке. В) 1500×4 мм с 3% силикона SE-30 на хромосорбе W. Во всех описанных случаях газ-носителем служил гелий. Расход газа 30—50 мл/мин.

ИК спектры регистрировали на спектрофотометре UR-20, УФ спектры на спектрофотометре Specord UV-Vis в EtOH ($C=0,01$ мг/мл $l=1$ см), спектры ПМР—на спектрометре «Vaian-60A» при 60 Мгц в CCl_4 и $CDCl_3$ с Me_4Si в качестве внутреннего стандарта.

Выделение и очистка малополярных кислот B. alba.

966 г высушенных и измельченных корней *B. alba* (собранных в феврале 75 г. у с. Алагяз) экстрагировали при комнатной температуре трижды по 1,5 л петролейного эфира (фракция, перегоняющаяся в интервале $30-60^\circ$). Продолжительность каждой экстракции 2 часа. Объединенный экстракт упарили в вакууме при $t < 40^\circ$. Остаток (2,56 г, 0,28% от веса сухих корней) хроматографировали на колонке ($100 \times 3,5$ см) с 150 г силикагеля. Вещества с колонки элюировали смесями петролейный эфир—эфир. Фракции, вымываемые смесью 92:8, представляли собой в основном жирные кислоты, а смесью 1:1—брионолеую кислоту. Первую из них подвергли дополнительной очистке в виде метилового эфира на колонке (30×1 см) с 10 г силикагеля, которую элюировали смесью петролейный эфир—эфир (95:5), а вторую—на такой же колонке смесями бензол—ацетон, 15:1, 14:1, 13:1. В итоге получено 47 мг метиловых эфиров жирных кислот и 52 мг брионолевой кислоты I.

Фракция свободных жирных кислот. а) *Метилирование.* К 45,2 мг кислот (R_f 0,39, система растворителей 1, обнаружение реагентами а, б*: 0,50 (2; а, в), (свидетель—пальмитиновая кислота) добавили 2 мл эфирного раствора CH_2N_2 и каплю MeOH. Через 15 мин. растворитель упарили. Получено 47,0 мг метиловых эфиров жирных кислот. R_f 0,77 (1; а, в); 0,75 (2; а, в). Свидетель—метилпальмитат. ИК спектр: $\nu_{\text{макс}}^{племка}$ 1740 см^{-1} — валентные колебания сложноэфирного карбонила. ПМР спектр: δ 3,60 м. д. (3H, синглет, $\underline{CH}_3\text{OCO}$), 5,30 м. д. (триплет,

* Отсюда и далее слова «система растворителей» и «обнаружение реагентами» опускаются.

$J=5$ гц, $-\text{C}=\text{C}-\text{H}$. Масс-спектры (ср. с [12]): m/e M^+ , $[M-29]^+$, $[M-31]^+$, 87,74.

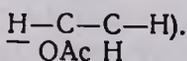
б) Гидрирование. 38,2 мг метиловых эфиров жирных кислот гидрировали в 3 мл петролейного эфира над катализатором Адамса при комнатной температуре 6 час. Супернатант декантировали, осадок промыли эфиром, растворитель упарили в вакууме. Получено 38,0 мг гидрированных метиловых эфиров жирных кислот. В спектре ПМР триплет при 5,30 м. д. отсутствует. При ГЖХ метиловых эфиров жирных кислот (гидрированных и нативных) в качестве внутренних стандартов для построения калибровочной прямой и определения фактора разделения F служили метилпальмитат и метилмиристант.

Бринолевая кислота I. Т. пл. 306—307° (бензол), $[\alpha]_D^{20} + 13,6$ [с 1,08 CHCl_3 —MeOH (1:1)], R_f 0,27 (3; а, б); 0,507 (4; а, б); 0,67 (5; а, б), 0,78 (6; а, б). ИК спектр: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1680 (вал. к. кислотного карбонила, связанного внутримолекулярной водородной связью), 3486 cm^{-1} .

Метилирование. 46,4 мг I метилировали 3 мл раствора CH_2N_2 с каплей MeOH. Получено 47 мг метилового эфира II. Т. пл. 144° (Et OH), $[\alpha]_D^{20} + 21,8^\circ$ ($\text{C}=1,27$ CHCl_3), R_f 0,438 (3; а, б); 0,595 (4; а, б); 0,632 (5; а, б); 0,70 (6; а, б). ИК спектр: $\nu_{\text{max}}^{\text{CCl}_4}$ 1729, 3590 cm^{-1} . Спектр ПМР: δ 3,60 м. д. (3H, синглет, $\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}-$), 3,20 м. д. (1H, квар-

тет, $J_{\text{Ax}} = 10$ гц, $J_{\text{Bx}} = 5$ гц, $\text{H}-\text{C}-\text{C}-\text{H}$, 1.00, 0.80, 1.00, 1.05, 1.08, 0.85, 1.38 — семь C-метилов — 23, 24, 25, 26, 27, 28 и 30-ый, соответственно*.

Ацетилирование II. 30,2 мг II в 3 мл смеси пиридин- Ac_2O (2:1) выдерживали 6 час. при 70°. Растворитель упарили в вакууме, остаток растворили в 1 мл CHCl_3 и пропустили через колонку (30×1 см) с 5 г силикагеля, элюируя 50 мл CHCl_3 . После упаривания растворителя получено 31,6 мг ацетата III. Т. пл. 164—165° (ацетон). R_f 0,77 (3; а, б); 0,96 (4; а, б); 0,67 (5; а, б); 0,883 (6; а, б). Спектр ПМР: δ 2,00 м. д. (3H, синглет $\text{CH}_2-\text{C}-\text{O}-$), 3,50 (1H, квартет, $J_{\text{Ax}} = 10$ гц, $J_{\text{Bx}} = 5$ гц,



* В данном случае наблюдается неплохая корреляция значений частот резонирующих протонов семи метильных групп со значениями, вычисленными по правилу аддитивности, имеющимися в литературе, для ряда олеанена [13]. Если эти значения влияния заместителей на хим. сдвиг можно распространить и на ряд урсена, то при замене 29 метила карбметоксигруппой сигнал 30 метила должен сместиться с 53 и 73 гц (1,38 м.д.), что и наблюдается в данном случае.

ԼՈՇՏԱԿԻ (BRYONIA ALBA) ԱՐՄԱՏԻ ՔԻՄԻԱԿԱՆ
ԲԱՂԱԴՐՈՒԹՅՈՒՆԸ. ԼՈՇՏԱԿԻ ԹՈՒՅԼ ՊՈԼՅԱՐ ԹԹՈՒՆԵՐԸ

Ա. Գ. ՓԱՆՈՍՅԱՆ, Գ. Մ. ԱՂԵՏԻՍՅԱՆ, Է. Ռ. ԴԻԱՆՅԱՆ և Վ. Ն. ՄՆԱՏԱԿԱՆՅԱՆ

Ցույց է տրված, որ լոշտակի պետրոլեինային եթերի էքստրակտը պարունակում է երկու թթվային ֆրակցիաներ: Նրանցից նվազ պոլյար ֆրակցիան իրենից ներկայացնում է ճարպային թթուների խառնուրդ, որի հիմնական բաղադրիչներն են պալմիտինաթթուն և օլեինաթթուն: Ֆրակցիայի 30%-ից պակասը հագեցած և մոնոենային-ն- C_{12} - C_{24} թթուներ են: Երկրորդ ավելի պոլյար ֆրակցիան, որը պենտացիկլիկ տրիտերպենային օքսիթթու է, իդենտիֆիկացված է որպես բրիոնոլաթթու:

CHEMICAL CONSTITUTION OF THE BRYONIA ALBA ROOT

ACIDS OF LOW POLARITY

A. G. PANOSSIAN, G. M. AVETISSIAN, E. R. DILANIAN
and V. H. MNATSAKIAN

It has been shown that the petroleum-ether extract of *Bryonia alba* contains two acidic fractions. The first less polar fraction is a mixture of free fatty acids, the main components of which are palmitic and oleic acids. The remaining nineteen acids, forming less than 30% of the fraction are saturated and monoene n - C_{12} - C_{24} acids. The second more polar fraction, which is a pentacyclic triterpenic oxyacid, has been identified as bryonolic acid.

Л И Т Е Р Т У Р А

1. Амирдовлат, Ненужное для неучей, абзац 3659 XV век, Рукопись Матенадарана, Ереван; Рукописи Матенадарана № 413, 1465, 6275, Ереван; — А. Х. Роллов, Дикорастущие растения Кавказа, их распространение, свойства и применение, Тифлис, Кавк. филосер комит., 1908; Д. Иорданов, Л. Ноколов, А. Бойчинов. Фитотерия, София, Изд. Медицина и физкультура, 1970, стр. 118; Л. О. Сепетчян. Лекарственные растения Армении и их лечебные препараты, Ереван, Изд. АН Арм. ССР, 1949, т. I, стр. 106; С. Я. Золотницкая, Лекарственные ресурсы флоры Армении, Ереван, Изд. АН Арм. ССР, 1965, т. 2, стр. 283; Э. И. Борзилевский, Дикорастущие лекарственные растения флоры УССР, Киев, Изд. АН УССР, 1935, стр. 167; С. Wehmer, Die Pflanzenstoffe, 11, 1200 (1931), Jena.
2. G. F. Walz, Chem. Z.-B., 1, 55 (1859); Neues Jahrb. d. Pharm., 9, 65 (1857); P. Silber, Über die Bestandteile der *Bryonia* Auzel. In aug.-Dessert., Erlaugen., 1894; J. Masson, Chem. Z.-B., 6, 845 (1893); J. Pharm. Chm., 27, 300 (1893); F. B. Power, Ch. W. Moore, J. Chem. Soc. (Trans.), 99, 937 (1911); D. Johnson, Chem. Z.-B., 1, 211 (1915); G. Kleln, Handbuch der Pflanzenanalyse, b. III, t. II, 1224, 1179 (1932).
3. J. Konopa, E. Jereczec-Morawska, A. Matuszkiewicz, T. Nazaraewicz, Neoplasma, 13, 335 (1966); J. Konopa, E. Jeraczec, A. Matuszkiewicz, T. Nazaraewicz, Arch. Immunol. Ther. Exp., 15, 129 (1967).
4. P. Kloss, H. Schindler, Pharm. Ztg., 111, 772 (1966).

5. И. А. Салтыкова, Л. Г. Матюхина, А. Г. Шава, ХПС, 4, 324 (1968).
6. Л. С. Казарновский, М. Л. Цацко, Тр. Харьк. гос. фарм. ин-та, II, 35 (1962).
7. M. Kates, *Advan. Lipid Res.*, 8, 225 (1970).
8. M. J. Chisholm, C. Y. Hopkins. *Can. J. Biochem.*, 45, 1091 (1967).
9. G. Biglino, G. M. Nano, *Il Farmaco Ed. Sci.*, 22, 140—51 (1967); G. Biglino, *Atti Acc. Sci. Torino*, 94, 411 (1959—60), 95, 106 (1960—61).
10. J. Karlner, C. Djerassi, *J. Org. Chem.*, 31, 1945 (1966).
11. Л. Д. Бергельсон, Э. В. Дятловицкая, В. В. Воронкова, ДАН СССР, 141, 84 (1961).
12. R. Ryhage, E. Stenhagen, *Arkiv Kemi*, 13, 523 (1959); *J. Lipid. Res.*, 1, 361 (1960); *Mass Spectrometry of Organic Ions*, Acad. Press, N-Y, 1963, chapt 9.
13. B. Tursch, R. Sovoir, R. Offinger, G. Ghurdoglu, *Tetrah. Lett.* 539 (1967).