

## ФЛАВОЛИГНАНЫ РАСТОРОПШИ АРЦАХА

Գ. Ս. ԱՆԱՆԻԿՅԱՆ,<sup>ա,բ\*</sup> Վ. Ա. ՄՈՒՇԱԿԱՆՅԱՆ,<sup>ա</sup> Գ. Ա. ՓԱՆՕՅԱՆ<sup>բ</sup> և Ս. Ա. ՏԱՐԿԻՏՅԱՆ<sup>բ</sup>

Научно-технологический центр органической и фармацевтической химии  
НАН Республики Армения

<sup>а</sup>Институт тонкой органической химии им. А.Л.Мнджояна

<sup>б</sup>Центр исследования строения молекулы НАН Республики Армения

Армения, 0014, Ереван, пр. Азатутян, 26

Тел. (374-10)281754. E-mail hrach63@mail.ru

<sup>в</sup>Государственный инженерный университет Армении

Армения, 0009, Ереван, ул.Теряна, 105

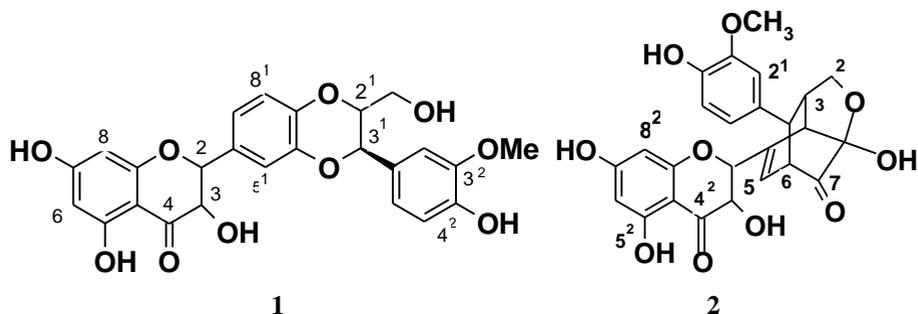
Поступило 18 IX 2014

Из плодов лиловоцветковой разновидности расторопши пятнистой [*Sylibum marianum* (L.) Gaertn.], собранных на территории Арцаха, выделена (с выходом 2.89%) смесь флаволигнанов, изучением которой методами тонкослойной и колоночной хроматографии, а также ЯМР-спектроскопии установлена принадлежность данной разновидности расторопши пятнистой к силидианиновой хеморасе.

Рис.1, библиографических ссылок 12

Более пятидесяти лет в качестве эффективных гепатопротекторных лечебных средств в медицинской практике разных стран используются препараты, созданные на основе силимарина — смеси флаволигнановых соединений, выделяемой из плодов расторопши пятнистой [*Sylibum marianum* (L.) Gaertn.] [1-3], принадлежащей к семейству астровых (Asteraceae). Это — дикорастущий во многих странах двулетник, покрытый мелкими, острыми колючками, легко поддающийся выращиванию на плантациях [4] и характеризующийся белоцветковой и лиловоцветковой разновидностями [5]. У лиловоцветковой расторопши обнаружены разные хеморасы [6,7]. На территории Республики Армения растение встречается редко (в основном в окрестностях Иджевана) [8], но в Арцахе, как это было показано ресурсной оценкой [9], распространена его лиловоцветковая разновидность. Отличие хеморас расторопши друг от друга проявляется в основном разным количественным соотно-

шением в силимарине двух из шести его главных компонентов — флаволигнанов силибин (**1**) и силидианин (**2**). Различают соответственно силибиновую расу (с содержанием по количеству в силимарине силибина и силидианина в соотношении порядка 17:1) и силидианиновую расу (с подобным соотношением в пределах 0.64:1), как это было показано анализом силимаринов, выделенных из семян разных образцов расторопши, выращенных в одиннадцати ботанических садах Европы [6,10]. При изучении силимарина методом препаративной ВЭЖХ [11] было также установлено, что силибин (**1**) является смесью четырех стереоизомеров (по C-2, C-3, C-2<sup>1</sup>, C-3<sup>1</sup>) — силибинов А, Б и изосилибинов А, Б. Этими обстоятельствами обусловлена актуальность изучения состава флаволигнановых фракций расторопши из химически мало исследованных ареалов произрастания с целью выяснения, в первую очередь, хеморасы, а также подбора в дальнейшем методов стандартизации препаратов, получаемых на ее основе.



Целью настоящей работы являлось определение хеморасы дикорастущей в Арцахе лиловоцветковой расторопши пятнистой. Для разрешения этой задачи из семян расторопши пятнистой, собранных на территории Арцаха, была получена по известной методике [12] флаволигнановая вытяжка — силимарин, с выходом 2.89%, соответствующим ожидаемому. Методом сравнительной тонкослойной хроматографии (ТСХ) была выявлена схожесть хроматограмм полученной флаволигнановой вытяжки и образца препарата легалон [1], содержащего силимарин. Колоночной хроматографией (КХ) флаволигнановой вытяжки на силикагеле выделили силибин- (2.9 г) и силидианинсодержащие (3.3 г) фракции, из которых обработкой растворителями выделили в чистом виде силибин (0.431 г) и силидианин (0.98 г). Об идентичности выделенных флаволигнанов с силибином и силидианином свидетельствуют характеристики их ЯМР спектров, совпадающие с описанными [5,11]. Сравнение количеств выделенных флаволигнанов показало, что в семенах лиловоцветковой расторопши из Арцаха главным по количеству компонентом флаволигнановой смеси является силидианин (соотношение силибиновой фракции к силидианиновой составило 0.88:1), а соотношение выделенных флаволигнанов — 0.44:1.0. Полученные данные

указывают на принадлежность изученной нами расторопши пятнистой к силидианиновой хеморасе.

## Экспериментальная часть

**Материалы и методы.** В качестве исходного материала использовали семена, полученные вылуциванием созревших цветочных корзинок лиловоцветковой расторопши, собранных в сентябре 2013 г. в окрестностях села Ннги Арцаха. ТСХ осуществляли на пластинках "Silufol UV254" в системе: хлороформ – ацетон – муравьиная кислота (9:2:1), пятна веществ выявляли УФ облучением и опрыскиванием 1% спиртовым раствором  $\text{FeCl}_3$ . Для КХ использовали силикагель КСК (0.05-0.1 мм). Для сравнительной ТСХ использовали легалон (капсулы 140 мг) – Madaus GmbH (Германия).

Температуру плавления определяли на микронагревательном столике "Boetius PHMK" (Dresden). Оптическую активность определяли на приборе "Polamat A" (KarlZeis Jena). Спектры  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$  регистрировали на приборе "Varian Mercury 300 VX" ( $^1\text{H}$  300.077 МГц и  $^{13}\text{C}$  75.463 МГц) в  $\text{DMSO-d}_6$ , внутренний эталон – ТМС.



Рис. Сравнительный ТСХ анализ: 1 – силимарин, 2 – силидианин, 3 – легалон, 4 – силибин.

**Выделение силимарина.** Измельченные семена расторопши (480 г) обезжирили экстракцией гексаном (три раза по 0.7 л) и после отделения экстракта выдержали 0.3-0.5 см слоем в вытяжном шкафу 20 ч, затем 5-кратно экстрагировали 80% этанолом (по 2 ч по 0.5 л) при перемешивании и нагревании с обратным холодильником (до 50-60°C). Соединенные этанольные вытяжки фильтровали, сгустили вакуум-ротаторным испари-

телем до 0.5 л и при перемешивании разбавили 2 л 0.05% раствора HCl. Выпавший хлопьевидный осадок отфильтровали, промыли на фильтре водой (до нейтральной реакции фильтрата) и высушили вакуум-сушкой при 50-60°. Получили 13.87 г (2.89%) желтовато-белого порошка силимарина. Сравнительная ТСХ выделенного силимарина и легалона приведена на рисунке.

**Фракционирование силимарина.** 13.85 г выделенного силимарина растворили при нагревании в 100 мл 96% этанола, смешали с 30 г силикагеля, смесь упарили роторным испарителем до однородной сыпучей массы и поместили в верхнюю часть хроматографической стеклянной колонки (33×3.3 см), заполненной 111 г силикагеля в хлороформе. Колонку промывали хлороформом (фракции 1-7), затем смесью хлороформ-этанол (98:2, фракции 8-49), (9:1, до фракции 67). Объемы фракций (100-250 мл) определяли по интенсивности окраски растворов и проведением синхронной ТСХ. Фракции с идентичной картиной ТСХ соединяли, упаривали досуха, взвешивали. Таким образом были отделены две фракции: с преимущественным содержанием силибина (1) (фр.16-19 с массой 2.9 г) и силидианина (2) (фр.20-22 с массой 3.3 г). Соотношение силибиновой и силидианиновой фракций составило 0.88:1.0.

**Выделение силибина (1).** 2.9 г фракции 16-19 обработали растиранием с последующим фильтрованием поочередно 20 мл хлороформа, 10 мл метанола, 10 мл ацетона и оставшийся на фильтре белый порошок растворили при нагревании в 50 мл этанола. Раствор охладили, прибавили к нему 33 мл воды и после 3-дневного стояния при комнатной температуре отфильтровали выпавший белый осадок (0.431 г после сушки в вакуум-эксикаторе) — очищенный силибин (1): **3,5,7-тригидрокси-2-[2<sup>1</sup>-гидроксиметил-3<sup>1</sup>-(4<sup>2</sup>-гидрокси-3<sup>2</sup>-метоксифенил)-2<sup>1</sup>,3<sup>1</sup>-дигидробензо[1<sup>1</sup>,4<sup>1</sup>]диоксин-6<sup>1</sup>]хроман-4-он.**  $[\alpha]_D^{28} = +25^\circ$  (ацетон), т.пл. 224-227°C; R<sub>f</sub> 0.33. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.д., Гц: 11.75 (1H, уш.с, C-5-OH); 10.4 (1H, уш.с, C-7-OH); 8.6 (1H, уш.с, C-4<sup>2</sup>-OH); 7.07- 7.04 (1H, м, C-2<sup>2</sup>-H); 6.97-6.82 (4H, м, арил.); 6.78 (1H, д, J=8, арил.); 5.87-5.84 (2H, м, арил.); 4.98(1H, д, J=11.2 C-2-H); 4.93 (1H, д, J=8.1, C-3<sup>1</sup> -H); 4.66 (1H, уш.т, J<sub>1</sub> =5.7, C—3H изомера); 4.37 (1H, д,т, J<sub>1</sub> =11.2, J<sub>2</sub> =5.7, C-3-H); 4.05-3.98 (1H, м, C-2<sup>1</sup>-H); 3.85 (3H, с, OCH<sub>3</sub>); 3.67-3.58 и 3.42-3.33 (по 1H, м, C-2<sup>1</sup> - CH<sub>2</sub> OH).

Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м.д.: 196.751 (C-4); 166.797 (C-7); 163.416 (C-5); 162.146 (C-9); 147.270 (C-3<sup>2</sup>); 147.238 (C-4<sup>2</sup>); 146.890 (C-4<sup>2</sup> изомера); 143.736 (C-10<sup>1</sup>); 143.695 (C-9<sup>1</sup>); 142.773 (C-9<sup>1</sup> изомера); 129.952 (C-6<sup>1</sup>); 129.911 (C-6<sup>1</sup> изомера); 127.153 (C-1<sup>2</sup>); 120.237 (C-6<sup>2</sup>); 120.067 (C-6<sup>1</sup>); 119.994 (C-6<sup>1</sup> изомера); 116.055 (C-5<sup>1</sup>); 116.022 (C-2<sup>1</sup>); 115.942 (C-2<sup>1</sup> изомера); 115.019 (C-5<sup>2</sup>); 111.242 (C-2<sup>2</sup>); 100.144 (C-10); 96.051 (C-8); 95.541 (C-6); 82.469 (C-2); 82.404 (C-2 изомера); 78.109 (C-8<sup>1</sup>); 75.537 (C-7<sup>1</sup>); 71.775 (C-3); 71.703 (C-3 изомера); 60.038 (C-2<sup>1</sup>a); 55.419 (OCH<sub>3</sub>).

**Выделение силидианина (2).** 3.3 г фракции 20-22 промыли последовательно 25 мл хлороформа, 10 мл метанола, 3 мл ацетона, отфильтровали,

высушили. Получили 0.98 г очищенного силидианина (2). Силидианин (2): **2,3,3а,6,7,7а-гексагидро-7а-гидрокси-6а-(4<sup>1</sup>-гидрокси-3<sup>1</sup>-метоксифенил)-4-[3<sup>2</sup>,5<sup>2</sup>,7<sup>2</sup>-тригидрокси-3<sup>2</sup>,4<sup>2</sup>-дигидро-4<sup>2</sup>-оксо-(2H)-1<sup>2</sup>-бензопиран-2<sup>2</sup>-ил]-3,6-метанобензофуран-7-он**.  $[\alpha]_D^{20} = +230.4^0$  (пиридин), т.пл. 188-190<sup>0</sup>C; R<sub>f</sub> 0.24. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.д., Гц: 11.72 (1H, с, С-5<sup>2</sup>-ОН); 10.49 (1H, с, С-7<sup>2</sup>-ОН); 8.24 (1H, с, С-4<sup>1</sup>-ОН); 6.93 (1H, с, С-3<sup>2</sup>-ОН); 6.69 (1H, д, J=1.8, С-2<sup>1</sup>-H); 6.63 (1H, д, J=8.1, С-6<sup>1</sup>-H); 5.56 (1H, дд, J= 8.1 и 1.8, С-5<sup>1</sup>-H); 6.06 (1H, уш.д, J=6.8, С-5-H), 5.86 (1H, уш.с, С-6<sup>2</sup>-H); 5.58 (1H, д, J=5.7, С-3<sup>2</sup>-ОН); 4.78 (1H, уш.д, J=11.1, С-2<sup>2</sup>-H); 4.78 (1H, уш.д, J=11.1, С-2<sup>2</sup>-H); 4.38 (1H, дд, J=11.1 и 5.7, С-3<sup>2</sup>-H); 3.81 (1H, дд, J= 10.1 и 4.1, С-2<sup>1</sup>-H); 3.79(3H, с, OCH<sub>3</sub>); 3.77 (1H, д, J= 10.1, С-3<sup>1</sup>-H); 3.28 (1H, м, С-6а-H); 3.17 (1H, дд, J=6.8 и 2.9, С-6-H); 2.82 (1H, м, С-3а).

Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м.д.: 81.56 (C-2<sup>2</sup>); 71.096 (C-3<sup>2</sup>); 196.01 (C-4<sup>2</sup>); 163.45 (C-5<sup>2</sup>); 96.25 (C-6<sup>2</sup>); 165.83 (C-7<sup>2</sup>); 94.88 (C-8<sup>2</sup>); 161.79 (C-9<sup>2</sup>); 100.02 (C-10<sup>2</sup>); 132.41 (C-7а); 48.49 (C-3а); 96.42 (C-4); 201.05 (C-7); 43.86 (C-6); 123.81 (C-5); 56.42 (C-6а); 46.45 (C-3); 72.73 (C-2); 139.5 (C-1<sup>1</sup>); 111.97(C-2<sup>1</sup>); 146.92 (C-3<sup>1</sup>); 145.15 (C-4<sup>1</sup>); 114.81 (C-5<sup>1</sup>); 120.24 (C-6<sup>1</sup>); 55.33 (OCH<sub>3</sub>).

## ԱՐՅԱՆԻ ԿԱԹ-ՆԱՓՈՒՇ ՊՈՒՏԱՎՈՐԻ ՖԼԱՎՈԼԻԳՆԱՆՆԵՐԸ

Ն. Ս. ԱՆԱՆԻԿՅԱՆ, Վ. Ն. ՄՆԱՏԱԿԱՆՅԱՆ, Ն. Ա. ՓԱՆՈՍՅԱՆ և Ս. Ն. ՍԱՐԳՍՅԱՆ

*Արցախի Ննգի գյուղի ջրջակայքից հավաքված կարմրամանուշակագույն ծաղիկներով կաթնափուշ պուտավորի պտուղներից ստացվել է սիլիմարինը՝ ֆլավոլիգնանների խառնուրդը (եւքը 2.89%): Խառնուրդը ուսումնասիրվել է նրբաչերտ և աշտարակային քրոմատոգրաֆիայի եղանակով, ինչպես նաև ՄՄՊ՝ սպեկտրոսկոպիկ մեթոդով: Անջատվել և ուսումնասիրվել են սիլիմարինի՝ հիմնական 6 գործող նյութերից երկուսը՝ սիլիբին և սիլիբիանին՝ ֆլավոլիգնանները: Պարզվել է, որ Արցախում աճող այս տարատեսակը կարելի է որակավորել որպես կաթնափուշ պուտավորի սիլիբիանինային քեմոտասային պատկանող տարատեսակ:*

## FLAVOLIGNANES OF MILK THISTLE FROM ARTSAKH

H. S. ANANIKYAN,<sup>a,c</sup> V. A. MNATSAKANYAN,<sup>a</sup>  
H. A. PANOSYAN,<sup>b</sup> and S. A. SARGSYAN<sup>c</sup>

The Scientific Technological Centre of Organic  
and Pharmaceutical Chemistry NAS RA

<sup>a</sup> A.L. Mndjoyan Institute of Fine Organic Chemistry

<sup>b</sup> Molecule Structure Research Centre

26, Azatutyan Str., Yerevan, 0014, Armenia

Tel. +37410281754, E-mail: hrach63@mail.ru

<sup>c</sup> State Engineering University of Armenia

105, Teryan Str., Yerevan, 0009, Armenia

From fruits of milk thistle (*Silybum Marianum* L. Gaertn.) with violet coloured flowers, that was gathered from Artsakh, was separated Silymarin: a mixture of flavolignanes (yield 2.89%). Mixture was investigated using methods of thin layer

chromatography, column chromatography and NMR spectral analysis. Two of six general components of Silymarin-Silybin and Silydianin were isolated and investigated. As a result it was discovered that this variation of the plant could be ranged as a silydianin hemo race of milk thistle.

#### ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Машковский М.Д.* Лекарственные средства. М., Новая волна, 2007, 1206 с.
- [2] World Health Organization. "Who monographs on selected medical plants". Geneva, 2002, v. 2, p. 300.
- [3] *Куркин В.А.* // Хим.-фарм.ж., 2003, т. 37, №4, с. 27.
- [4] *Самородин А.В.* Автореф. дисс. "Продуктивность расторопши пятнистой в зависимости от норм высева, способов посева и доз внесения минеральных удобрений на черноземных почвах Саратовского правобережья" канд. с/х наук. Саратов, Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, 2006, 164 с.
- [5] *Szilagi I., Tetenyi P., Antus S., Seligmann O., Chan V.M., Seitz M., Wagner H.* // *Planta med.*, 1981, v. 43, p. 1217
- [6] *Курченко В.П., Щекотихина А.С., Стасевич О.В., Спиридович Е.В.* // Труды Белорусского государственного университета, 2010, т. 5, ч. 2, с. 139.
- [7] *Середа А.В., Середа Л.А., Билык В.В.* / Материалы докладов Международного симпозиума "Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты", М., РАН, 2012, с. 154.
- [8] Флора Армении, т.9, Comranulaceae, Asteraceae / под ред. А.Л. Тахтаджяна. Koeltz Scientific Books, 1995, 515 с.
- [9] *Шакарян А.К., Ревазова Л.В., Мнацаканян В.А.* // Глобус науки, 2006, т. 6, с. 58.
- [10] *Чубарова А.С., Капустин М.А., Спиридович Е.В., Курченко В.П.* // Вестник фармации, 2012, №4, с. 28.
- [11] *Lee David Y.-W., Liu Yanze.* // *J.Nat.Prod.*, 2003, v. 66, №9, p. 1171.
- [12] *Сокольская Т.А.* // Хим.-фарм.ж., 2000, т. 34, №9, с.27.