

A 2010
5266

05.10.10

УДК 547.972.+249.90+661.123

На правах рукописи



СУЛТАНОВА НУРГУЛ АДАЙБАЕВНА

**Солеустойчивые растения рода *Tamarix*, *Kalidium*, *Camphorosma*:
химический состав и их биологическая активность**

02.00.10 - биоорганическая химия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора химических наук

Республика Казахстан
Алматы, 2010

577.1

Работа выполнена на кафедре органической химии и химии природных соединений Казахского национального университета им. аль-Фараби.

Научный консультант:

доктор химических наук, профессор
Ж.А. Абилов

Официальные оппоненты:

академик НАН РК,
доктор химических наук,
профессор А.М. Газалиев

доктор химических наук, профессор
Л.Н. Прибыткова

доктор химических наук, профессор
В.В. Поляков

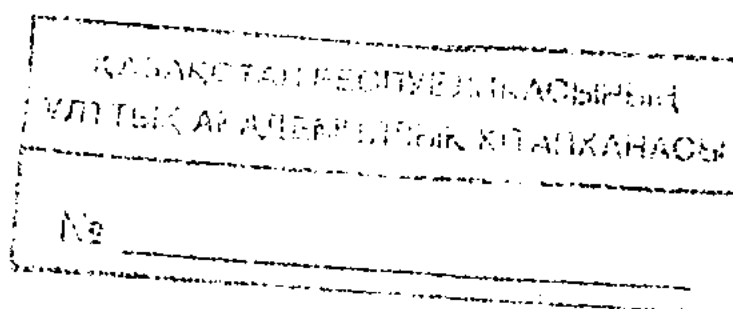
Ведущая организация:

АО «Институт химических наук
им. А.Б. Бектурова»

Защита диссертации состоится «30» октября 2010 года в «10⁰⁰» часов на заседании диссертационного совета ОД 53.47.10 при АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия» по адресу: 100009, г. Караганда, ул. М. Газалиева, 4

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия» по адресу: 100009, г. Караганда, ул. М. Газалиева, 4

Автореферат разослан «29» сентября 2010 года.



Ученый секретарь

диссертационного совета ОД 53.47.10,
доктор химических наук, доцент

Г.А. Атажанова

ВВЕДЕНИЕ

Общая характеристика работы. Диссертационная работа посвящена теоретическому и экспериментальному обоснованию разработки новых эффективных средств для медицины и сельского хозяйства на базе казахстанских видов солеустойчивых растений рода *Tamarix*, *Camphorosma* и *Kalidium*.

Актуальность исследования. Более четверти всех лекарственных средств на мировом рынке содержат различные лекарственные ингредиенты такие, как терпеноиды, фенольные соединения, алкалоиды, и их потребность возрастает, что требует поиска новых источников для получения на их основе фармакологических препаратов. Органические соединения растительного происхождения определяют значимость растений для человека не только в качестве источников различных лекарственных средств, но и их устойчивость к различным биотическим и абиотическим стрессам. Для растений такие вещества, как флавоноиды и терпеноиды, определяют их взаимоотношения с окружающей средой и они необходимы для их нормальной жизнедеятельности и устойчивости к различным болезням, патогенам и вредителям. Углубленное понимание роли этих соединений для самих растений в качестве гербицидов, фунгицидов, инсектицидов будет способствовать развитию биотехнологических подходов в сельском хозяйстве и позволит уменьшить применение химикатов, которые зачастую загрязняют окружающую среду. Примечательно, что значимость биологически активных веществ (БАВ) для растений, защищающих их от стрессовых воздействий, является не менее актуальным, поскольку они рассматриваются как один из основных элементов взаимодействия растений со средой обитания и могут служить биоиндикаторами.

Как источники новых биологически активных метаболитов представляют интерес растения, произрастающие на засоленных почвах, которые занимают огромные территории во всем мире. Опыт освоения солеустойчивых растений показывает, что они обладают широким диапазоном эколого-биологических характеристик хозяйственного использования, и лишь немногие из них используются в качестве лекарственных средств. На территории Республики Казахстан солеустойчивые растения имеют огромные промышленные запасы, что способствует углубленному исследованию их химического состава и биологической активности с целью создания на их основе новых высокоэффективных лекарственных средств, необходимых для нужд отечественной фармацевтической промышленности, становление и развитие которой является одним из основных приоритетов социально-экономической политики правительства Казахстана.

Несмотря на то, что на базе терпеноидов и полифенолов создан ряд эффективных средств, исследование и выделение новых биологически активных веществ растительного происхождения, поиски путей их применения представляет одну из **актуальных** проблем современной биоорганической химии.

В связи с этим, комплексное исследование растений рода *Tamarix* (гребенщик) семейства *Tamaricaceae* (гребенщиковые), *Camphorosma* (камфоросма), *Kalidium* (поташник) - *Chenopodiaceae* (маревые), занимающих достаточно обширные территории в Казахстане и играющих значительную роль в растительном покрове засоленных и солончаковых почв, представляет как теоретический, так и практический интерес.

Степень разработанности проблемы. Зарубежными учеными Sharma S.K., Parmar V.S., Nawwar M.A., Souleman A.M., Yoshida T., Okuda T., Liaang Y.O. из растений рода *Tamarix* выделены фенолокислоты, кумарины, окисленные формы флавоноидов в виде свободных агликонов и гликозидов, мономерные и димерные гидролизуемые дубильные вещества, циннамилльные производные, тритерпеноиды и стероиды. Михайловой В.П. показано высокое содержание дубильных веществ в растениях семейства *Tamaricaceae*, произрастающих на территории РК. В справочном издании «Растительные ресурсы СССР» представлена качественная оценка растений рода *Camphorosma* и *Kalidium* семейства *Chenopodiaceae*. В *Camphorosma annua* обнаружены глицин, бетаин, фитол (Murakogy E.P.), в *Camphorosma monspeliacum* — эфирные масла (Горяев М.И.). Имеются данные агрономического анализа для казахстанского вида *Kalidium caspicum* и его кормовая оценка с указанием содержания золы, клетчатки, сырого протеина, жира и безазотистых веществ. Изучение химического состава казахстанских видов растений рода *Tamarix* (*T. Ramosissima* и *T. Hokenakery*) впервые начаты на кафедре органической химии и химии природных соединений Казахского национального университета им. аль-Фараби Бикбулатовой Т.Н. и Омуркамзиновой В.Б. Химическое исследование некоторых галофитов рода *Halostachys*, *Halocnemum*, *Suaeda* и *Alhagi Adans* проведено Бурашевой Г.Ш.

Анализ литературных данных показал, что химический состав и биологическая активность дикорастущих солеустойчивых растений рода *Tamarix*, *Kalidium* и *Camphorosma*, произрастающих на территории Казахстана, практически не изучены.

Целью диссертационной работы является разработка научных основ комплексного исследования химического состава различных типов отечественных солеустойчивых растений и их биологической активности. Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- Установление химического состава комплекса БАВ (качественный и количественный анализ) различных типов солеустойчивых растений рода *Tamarix*, *Camphorosma* (солевыделяющие) и *Kalidium* (соленакапливающие);
- разработка оптимальных способов выделения из исследуемых растений экстрактивных веществ и технологических блок-схем их разделения на индивидуальные компоненты;
- идентификация структур БАВ, в том числе выделенных индивидуальных вторичных природных метаболитов, с привлечением химических и современных физико-химических методов анализа;
- выявление хемотаксономических признаков различных типов исследуемых солеустойчивых видов;

- исследование биологической активности комплексов БАВ и ряда выделенных индивидуальных соединений, выявление наиболее перспективных из них для дальнейшего создания на их основе эффективных средств для медицины и сельского хозяйства.

Научная новизна и теоретическая значимость работы заключается в том, что впервые:

- разработаны научные основы комплексного исследования солеустойчивых растений рода *Tamarix*, *Camphorosma* (солевыделяющие) и *Kalidium* (соленакапливающие), произрастающих в Республике Казахстан, в качестве источников БАВ для создания эффективных средств для медицины и сельского хозяйства;

- разработаны рациональные технологические блок-схемы разделения биологически активных веществ, выделены и установлены структуры 77 соединений (21 тритерпеноида, 1 стерол, 28 флавоноидов, 17 фенолокислот, 3 спирта, 4 танина, 3 хромона), из которых 11 являются новыми, не описанными в литературе: метиловый эфир-3 β ,29-дигидрокси-12-ен-олеан-23,28-диовая кислота; метиловый эфир 28-О- β -Д-глюкопиранозид-3 β ,29-дигидрокси-12-ен-олеан-23,28-диовой кислоты; метиловый эфир 28-О- β -Д-глюкопиранозид-3 β -гидрокси-29-ацетокси-12-ен-олеан-23,28-диовой кислоты; метиловый эфир 28-О- β -Д-глюкопиранозид-3 β -гидрокси-29-метилмалонокси-12-ен-олеан-23,28-диовой кислоты; 28-метилат-3 β ,23,29-тригидрокси-12-ен-олеан-28-овой кислоты; 28-О- β -Д-глюкопиранозид-3 β ,23,29-тригидрокси-12-ен-олеан-28-овой кислоты; 3 β ,29-дигидрокси-23-ацетокси-12-ен-олеан-28-овая кислота; 28-О- β -Д-глюкопиранозид-3 β -ацетокси-29-метокси-12-ен-олеан-28-овой кислоты; метиловый эфир 3- β -аль-Д-фридоолеан-14-ен-28-карбоновая кислота; 7-метокси-2-феноксихромон; 5,7-диметокси-2-(4'-гидроксифенокси)-хромон. Новые природные продукты зарегистрированы в Республиканском банке биологически активных соединений, полученных синтетическим путем или выделенных из природных источников при АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», г. Караганда;

- методами бумажной, тонкослойной и газо-жидкостной хроматографии идентифицированы 43 соединения, из которых 18 аминокислот, 11 жирных кислот, 3 углевода, а для растений рода *Camphorosma* наряду с перечисленными также 11 других соединений, относящихся к альдегидам, кетонам, эфирам, алканам и азотсодержащим веществам.

- установлены хемотаксономические маркеры для исследуемых солеустойчивых видов растений, принадлежащие к пентациклическим тритерпеноидам амиринового ряда (олеановый, урсановый, Д-фридоолеановый), стероидам (β -ситостерол), окисленным формам флавоноидов (изорамнетин и 3-О- β -Д-глюкопиранозид изорамнетина) и фенолокислотам (*n*-оксибензойная, ванилиновая, *n*-кумаровая и феруловая кислоты).

- установлена биологическая активность для водно-спиртовых, этилацетатных, хлороформных экстрактов и 12 выделенных индивидуальных соединений терпеноидного и флавоноидного характера (калидиумин; ацетат

калидиумина; калидиумозид А; ацетат калидиумозид А; 3 β ,29-дигидрокси-12-ен-олеан-23,28-диовая кислота; 28-О- β -Д-глюкопиранозид-3 β ,23,29-тригидрокси-12-ен-олеан-28-овой кислоты; изотамариксен; рамназин; тамариксин; 7-метокси-2-феноксихромон; 5,7-диметокси-2-(4'-гидроксифенокси)-хромон; 3-О- β -Д-глюкопиранозид кверцетина. Показана их антибактериальная, противогрибковая, антиоксидантная, антиамнезийная, антидиабетическая, росторегулирующая, иммуномодулирующая, цитотоксическая, фитотоксическая и инсектицидная активность. Для хромонов впервые установлена иммуномодулирующая активность.

Новизна полученных результатов защищена 5 предпатентами РК (№ 18430, № 18431, № 18740, № 19981, № 19982), подтверждена актами испытания специализированных учреждений: H.E.J. Research Institute of Chemistry, and Dr. Panjwani Center for Molecular Medicine and Drug Research, а также Department of Zoology, University of Karachi, Pakistan; Институт биологии и биотехнологии МОН РК, г. Алматы. Результаты работы опубликованы в специализированных международных изданиях с высоким импакт-фактором (*Planta Medica*, *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, *Helvetica Chimica Acta*, *Chemistry of natural compounds*) и апробированы на международных научных конференциях.

Метрологическое обеспечение и научно-технический уровень научно-исследовательской работы: определение температур плавления веществ проводилось на приборе Buchi 535 в стеклянных капиллярах и в блоке Кофлера; количественное определение БАВ-на фотоколориметре ЛМФ-72, спектрофотометре СФ-26 «ЛОМО», удельные угловые вращения поляриметре JASCO DIP-360, УФ-спектры – СФ-46, Specord UV и Shimadzu UV-240, ИК-спектры – Shimadzu IR-460, спектры ЯМР ^1H записаны на приборах Bruker AM 200, 300 FT NMR, AM 500 FT NMR; ЯМР ^{13}C – спектры: Bruker AM 300 FT NMR, AM 500 FT 75,100 и 125 МГц; а также 2М ЯМР COSY-45 $^\circ$, HMBC, HMQC, NOE, NOESY и J-resolved, масс - спектры ЭУ, ПД, БУА на MAT 3 12 Jeol-JMS HX-110, ГХ-спектры – на хроматографе CARLO ERBA-420), ГЖХ-спектры – на газовом хроматографе Perkin-Elmer Autosystem XL- Turbo-mass с масс-спектрометром.

Практическая ценность работы заключается в том, что выявлены новые дикорастущие растительные источники БАВ из солеустойчивых видов растений рода *Tamarix*, *Camphorosma* и *Kalidium* семейств *Tamaricaceae* и *Chenopodiaceae*. Разработаны способы получения различных средств, обладающих антибактериальным, антиоксидантным, росторегулирующим и фунгицидным действием. Полученные экстракты и биологически активные соединения, обладающие антиамнезийной, антидиабетической, иммуномодулирующей, цитотоксической, инсектицидной и фитотоксической активностью, могут найти применение в медицине, а также некоторые из них в сельском хозяйстве (подтверждены актами испытаний и защищены предпатентами РК).

Результаты исследования по выделению и интерпретации новых природных БАВ современными спектральными методами используются в

учебном процессе Казахского национального университета им. аль-Фараби при изучении общего «Химия природных соединений» и специального «Идентификация природных БАВ» курсов, а также в научных исследованиях.

Связь диссертационной работы с государственными программами

Научные исследования, изложенные в данной диссертационной работе, проводились в рамках следующих тем:

- «Исследование химического состава растений рода *Sedum* и галофитов Казахстана, разработка препаратов на их основе» (№ госрегистрации 0103 РК 00359);
- Разработка научных основ создания биоматериалов с использованием наноструктурированных сорбентов (№ госрегистрации 0109РК00860);
- INTAS “The use of halophyte species diversity for the rehabilitation of salt-affected soil and the production of biologically active compounds in the Aral sea” (№ регистрации 00-1013);
- Studies on the biologically active metabolites from medicinal plants of Pakistan and Kazakhstan» (Пакистано – Казахстанское соглашение, заключенное между Министерством образования и науки РК и Министерством науки и новых технологий Пакистана).

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

- Научные основы комплексного исследования отечественных солеустойчивых растений, позволяющие использовать их в качестве новых источников эффективных фитопрепаратов.
- Результаты доброкачественности и сравнительные качественные и количественные характеристики БАВ различных типов солеустойчивых видов *Tamarix* (*T. laxa*, *T. elongata*), *Camphorosma* (*Camphorosma monsheliacum*), *Kalidium* (*K. caspicum*, *K. Schrenkianum*, *K. foliatum*).
- Разработанные оптимальные способы выделения экстрактивных веществ из исследуемых растений, способствующие их максимальному извлечению.
- Рациональные схемы разделения БАВ, открывающие возможность выделять терпеноиды и фенольные соединения, в том числе новые природные метаболиты.
- Идентификация индивидуальных веществ комплексом химических и физико-химических методов анализа.
- Результаты биологических испытаний экстрактов и индивидуальных соединений, проявивших широкий спектр биоактивности, в качестве высокоэффективных регуляторов роста, антиоксидантных, антимикробных, фунгицидных, иммуномодулирующих, антиамнезийных, антидиабетических и инсектицидных средств.

Личный вклад автора заключается в выборе направления и постановке исследований, теоретическом обосновании задач, осуществлении экспериментальной работы, обработке материалов, интерпретации и обсуждении полученных результатов.

Апробация работы. Основные положения диссертации представлены на международных научно-практических конференциях: «Актуальные проблемы экологии» (Караганда, 2003); “9-th International Symposium of Natural Product

Chemistry" (Karachi, 2004); International Conference on Natural Products and Physiologically Active Substances, ICNPAS-2004 (Novosibirsk, 2004); "10-th International Symposium of Natural Product Chemistry" (Karachi, 2006); 5-й Беремжановский съезд по химии и химической технологии (Алматы, 2007); II International conference on natural products: chemistry, technology and medicinal perspectives (Almaty, 2007); 1-st International Symposium on Edible Plant Resources and the Bioactive Ingredients (Urumqi, 2008); II Международная научная конференция «Инновационное развитие и востребованность науки в современном Казахстане» (Алматы, 2008); «Актуальные проблемы химии природных соединений» (Ташкент, 2009); «Фармация Казахстана: интеграция науки, образования и производства» (Шымкент, 2009); IV Всероссийская конференция «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья» (Барнаул, 2009); VI Международном симпозиуме по фенольным соединениям (Москва, 2009); «Актуальные проблемы ботанического ресурсоведения» (Алматы, 2010); 2-nd Annual Russian-Korean Conference "Current issues of natural products chemistry and biotechnology" (Novosibirsk, 2010); «Коллоиды и поверхности» (Алматы, 2010).

Публикации. По результатам диссертационной работы опубликовано 40 научных трудов, в том числе 26 статей, 8 тезисов докладов на международных и республиканских симпозиумах и конференциях, 1 учебное пособие; получено 5 предпатентов РК.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 220 печатных страницах, состоит из введения, основной части (три раздела), заключения, списка использованных источников из 350 наименований, включает 35 рисунков, 37 таблиц и приложения.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Обобщены и систематизированы данные о солеустойчивых растениях, современном состоянии изученности химического состава растений рода *Tamarix*, *Kalidium* и *Camphorosma*, структурных особенностях тритерпеноидов, сульфатных форм флавоноидов, хромонов и методах их идентификации (литературный обзор).

2 ОБСУЖДЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Объектами углубленного исследования являются надземные части различных типов солеустойчивых растений, произрастающие в Алматинском и Аральском (побережье осушенного дна Аральского моря) регионах: из семейства *Tamaricaceae* – *Tamarix laxa*, *Tamarix elongata*; *Chenopodiaceae* – *Camphorosma monsheliacum*, *Kalidium caspicum*, *K. Schrenkianum*, *K. Foliatum*.

2.1 Установление доброкачественности сырья, качественная, количественная оценка основных биологически активных веществ солеустойчивых растений рода *Tamarix*, *Kalidium* и *Camphorosma*

Исследуемые виды сырья по показателям доброкачественности соответствуют требованиям, предъявляемым к фармакопейным образцам.

На основании методов хроматографии (БХ, ТСХ, ГЖХ) установлено, что изучаемые виды растений содержат высшие предельные и непредельные кислоты, терпеноиды, фенолокислоты, флавоноиды, углеводы и аминокислоты (таблица 1). Отличительной особенностью химического состава растений рода *Tamarix* является наличие в них гидролизуемых дубильных веществ (до ~12 %, причем преимущественно в видах Алматинского региона) и сульфатных форм полифенолов, для *Kalidium* – кумаринов и алкалоидов (от 1,60 до 1,92 % и от 0,19 до 0,40 % соответственно), а для *Camphorosma* – хромонов (0,22 %).

Содержание тритерпеноидов превалирует в растениях рода *Kalidium* от 4,03 % до 5,18 % (Алматинский регион) и 4,00-4,80 % (Аральский регион). Флавоноиды и фенолокислоты преобладают в исследуемых образцах Алматинского региона ~ от 1 до 3 % и от 2 до 5% соответственно.

Таким образом, для дальнейшего использования и выделения вторичных метаболитов были использованы растения Алматинского региона в силу доминирующего содержания в них действующих веществ, что обусловлено меньшим засолением исследуемых растений, а также другими абиотическими факторами, способствующими подавлению синтеза этих биологически активных соединений в растениях Аральского региона.

2.2 Определение первичных метаболитов солеустойчивых растений рода *Tamarix*, *Kalidium* и *Camphorosma*

Во всех исследуемых видах, используя метод БХ с аутентичными образцами, идентифицировали моносахариды: глюкозу, галактозу и рамнозу, а в растениях рода *Tamarix* дополнительно арабинозу. Аминокислотный состав исследуемых видов растений идентичен и представлен 18 аминокислотами, причем среди них преобладают аланин, глутамин, аспарагиновая кислота, пролин (коррелируется с литературными данными о его первостепенной роли в солеустойчивости растений) и в меньшем количестве содержится цистеин.

Из макроэлементов в наибольшем количестве содержатся Na, K и Ca, из микроэлементов преобладают Cu, Mn, Zn, Mg (*Tamarix*, *Camphorosma*) и Fe (*Kalidium*).

Полученные данные свидетельствуют о том, что солевывделяющие виды (*Tamarix*, *Camphorosma*) характеризуются меньшим содержанием первичных метаболитов, таких как углеводы и аминокислоты, которые преобладают в соленакапливающих видах (*Kalidium*), причем в образцах из Аральского региона.

Таблица 1 – Показатели доброкачественности и количественная характеристика содержания биологически активных веществ (БАВ) в растениях рода *Tamarix*, *Sarcocolla* и *Kalidium*

Растение	Содержание, %																	
	Алматинский регион							Аральский регион										
	ВЛ	ОЗ	СЗ	ТР	ФЛ	ТН	ФН	УГ	АК	ВЛ	ОЗ	СЗ	ТР	ФЛ	ТН	ФН	УГ	АК
<i>T. laxa</i>	7,43	5,89	8,00	0,38	2,78	7,63	3,34	0,23	0,42	7,67	11,71	13,44	0,44	1,51	7,30	3,03	0,14	1,98
<i>T. elongata</i>	8,47	7,91	8,98	0,35	2,00	12,08	3,01	0,21	0,33	7,32	11,46	14,00	0,38	1,34	11,07	1,42	0,15	0,54
<i>C. monspeliacum</i>	9,58	6,99	8,06	0,35	1,25	-	2,96	0,18	0,49	9,02	12,05	10,77	0,33	1,02	-	2,80	0,10	0,56
<i>K. caspicum</i>	3,87	15,90	17,44	4,03	2,81	-	5,36	3,01	3,21	3,91	18,78	19,01	4,00	1,57	-	4,02	3,15	3,40
<i>K. Schrenkianum</i>	3,46	13,20	14,80	5,08	2,09	-	4,81	2,33	2,95	3,67	15,60	19,25	4,80	1,32	-	3,46	2,77	3,05
<i>K. foliatum</i>	3,28	12,32	13,87	5,18	2,01	-	5,26	2,63	3,09	3,50	15,25	19,74	4,69	1,25	-	3,95	2,88	3,17

Примечание: «-» не определяли, ВЛ – влажность, ОЗ – общая зола, СЗ – сульфатная зола, ТР – тригтерпеноиды, ФЛ – флавоноиды, ТН- танины, ФН – фенолоксиолы, УГ – углеводы, АК – аминокислоты

2.3 Отработка технологических схем извлечения комплекса БАВ из некоторых солеустойчивых растений семейств *Tamaricaceae* и *Chenopodiaceae*

Установлено, что оптимальными условиями извлечения БАВ из исследуемых солеустойчивых растений являются их экстракция 70 %-ным водным этиловым спиртом при соотношении экстрагента и сырья 1:5 и температуре 20-22 °С. Экстракцию проводят дважды, полученные экстракты объединяют и концентрируют досуха в мягких условиях. Идентификацию экстрактивных веществ осуществляют установлением в них качественного и количественного содержания основных групп БАВ с последующим их разделением методами избирательного экстрагирования и хроматографирования (БХ, ТСХ, ГЖХ, ВЖХ).

2.4 Разработка методов выделения и разделения БАВ из солеустойчивых растений рода *Tamarix*, *Kalidium* и *Camphorosma*

Полученные водно-спиртовые экстракты концентрировали, последовательно экстрагировали хлороформом, этилацетатом, а для растений рода *Kalidium* дополнительно бутанолом. Хлороформные экстракты всех исследуемых растений содержали липофильные компоненты: хлорофиллы, высшие предельные и непредельные кислоты, терпеноиды, стероиды, а в *C. monspeliacum* также хромона. В этилацетатных экстрактах обнаружены фенолокислоты, производные флавоноидов, водные маточники содержали углеводы и аминокислоты, а в растениях рода *Tamarix* также гликозидированные формы фенольных соединений. В бутанольных экстрактах *Kalidium* присутствовали фенолокислоты, гликозидированные формы флавоноидов и терпеноидов.

По разработанным рациональным схемам (рисунки 1-3) осуществлено разделение БАВ с использованием колоночного хроматографирования с применением различных сорбентов, таких как сеффадексы, силикагель, полиамид и наноструктурированный сорбент. Последний разработан и получен из отходов рисовой шелухи в Институте проблем горения КазНУ им. аль-Фараби.

Из растений рода *Tamarix* выделено 7 терпеноидов, 23 флавоноида, 12 фенолокислот, 3 спирта, 4 дубильных веществ; *Camphorosma* – 3 терпеноида, 3 хромона, 3 флавоноида, 1 фенолокислота; а из *Kalidium* 13 терпеноидов, 4 флавоноида, 4 фенолокислоты, 1 предельный спирт.

Идентификацию веществ осуществляли с использованием комплекса химических (щелочной, кислотный гидролиз, щелочная деструкция, ацилирование) и современных спектральных (ИК, УФ, ЯМР ¹³С, ЯМР ¹Н, COSY - 45°, HMBC, HMQC, NOE, NOESY, J-resolved, масс-спектрометрией) методов анализа.

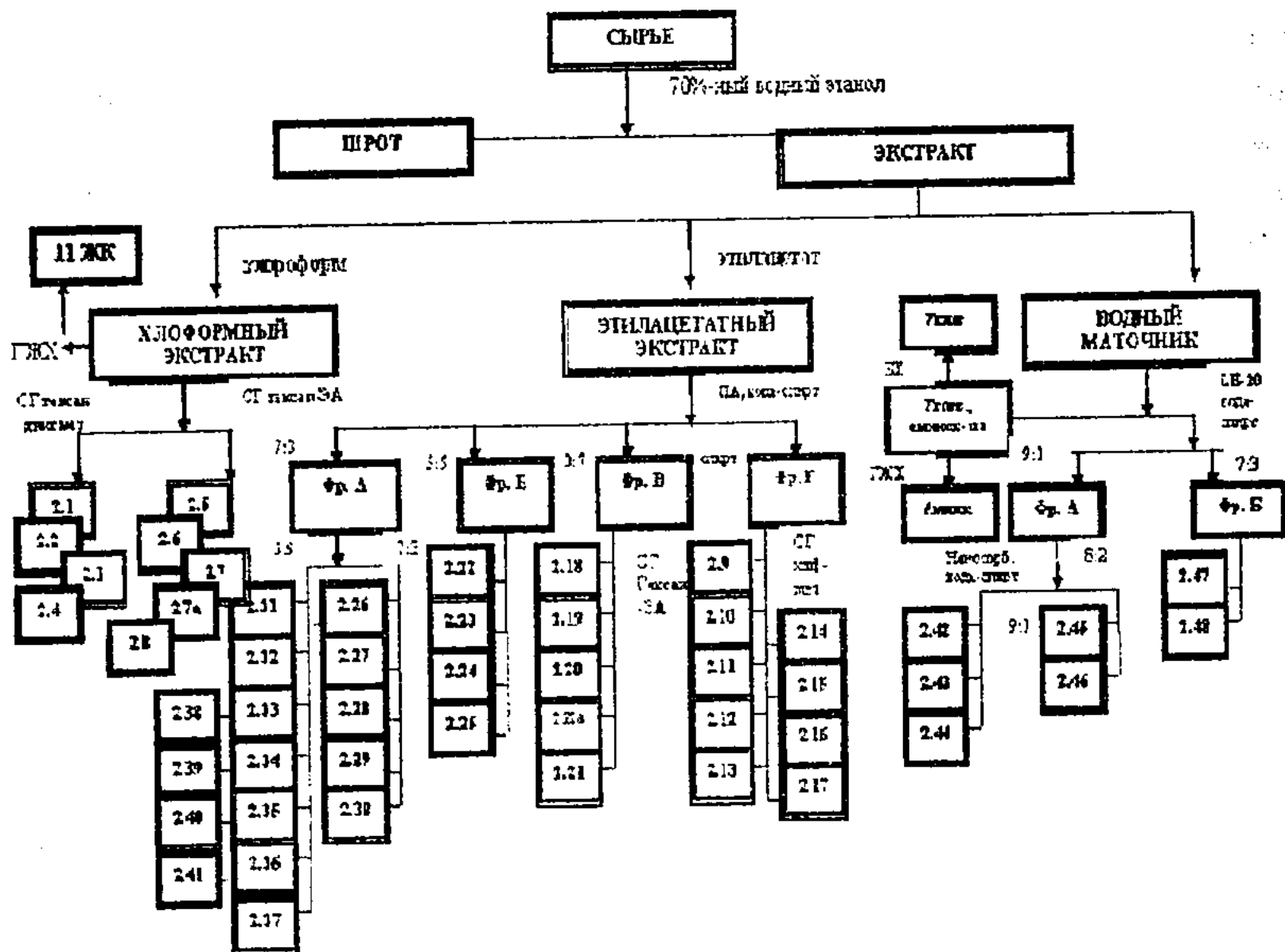


Рисунок 1 – Блок-схема выделения и разделения БАВ из растений рода *Tamarix*

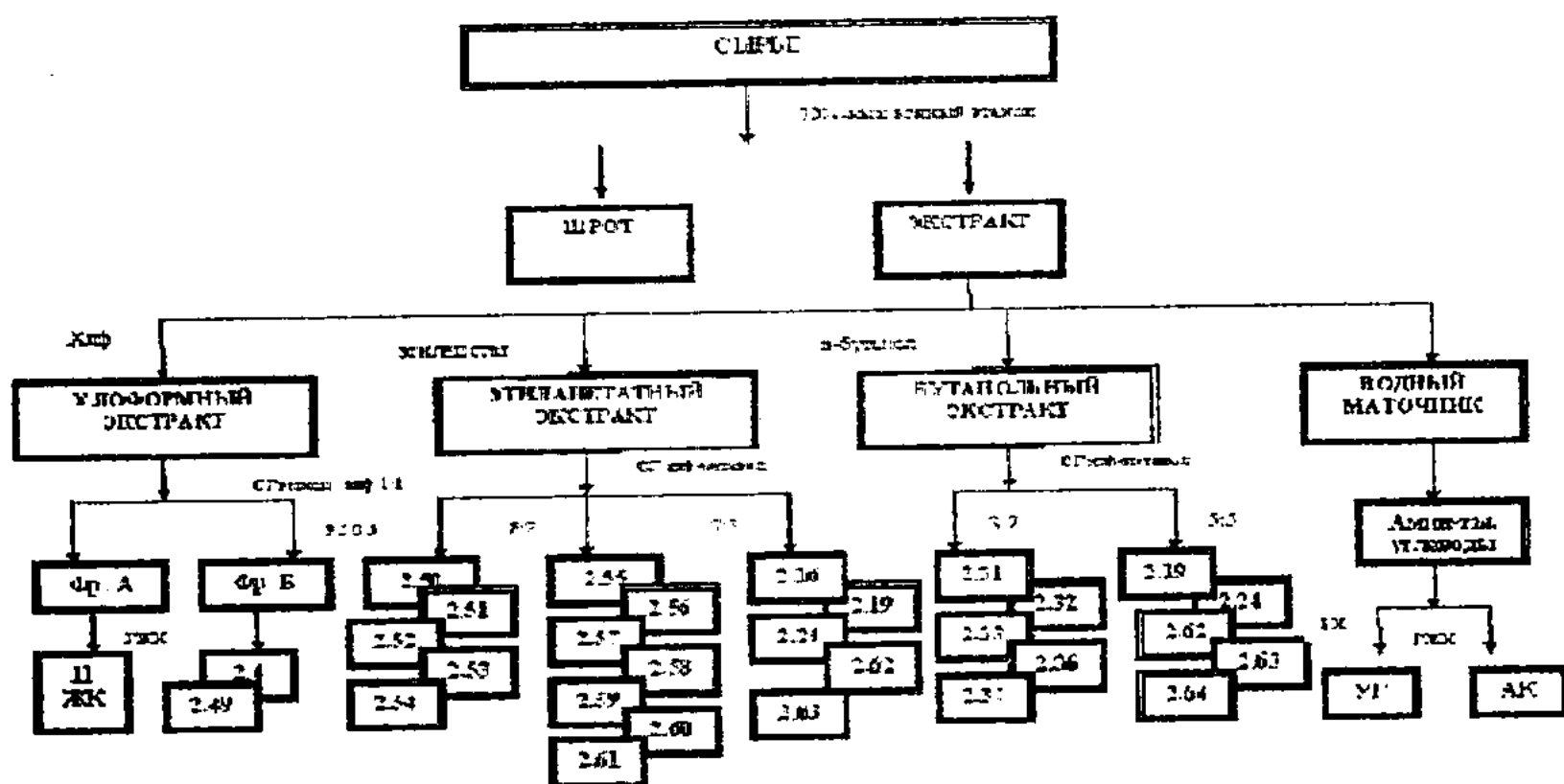


Рисунок 2 – Блок-схема выделения и разделения БАВ из растений рода *Kalidium*

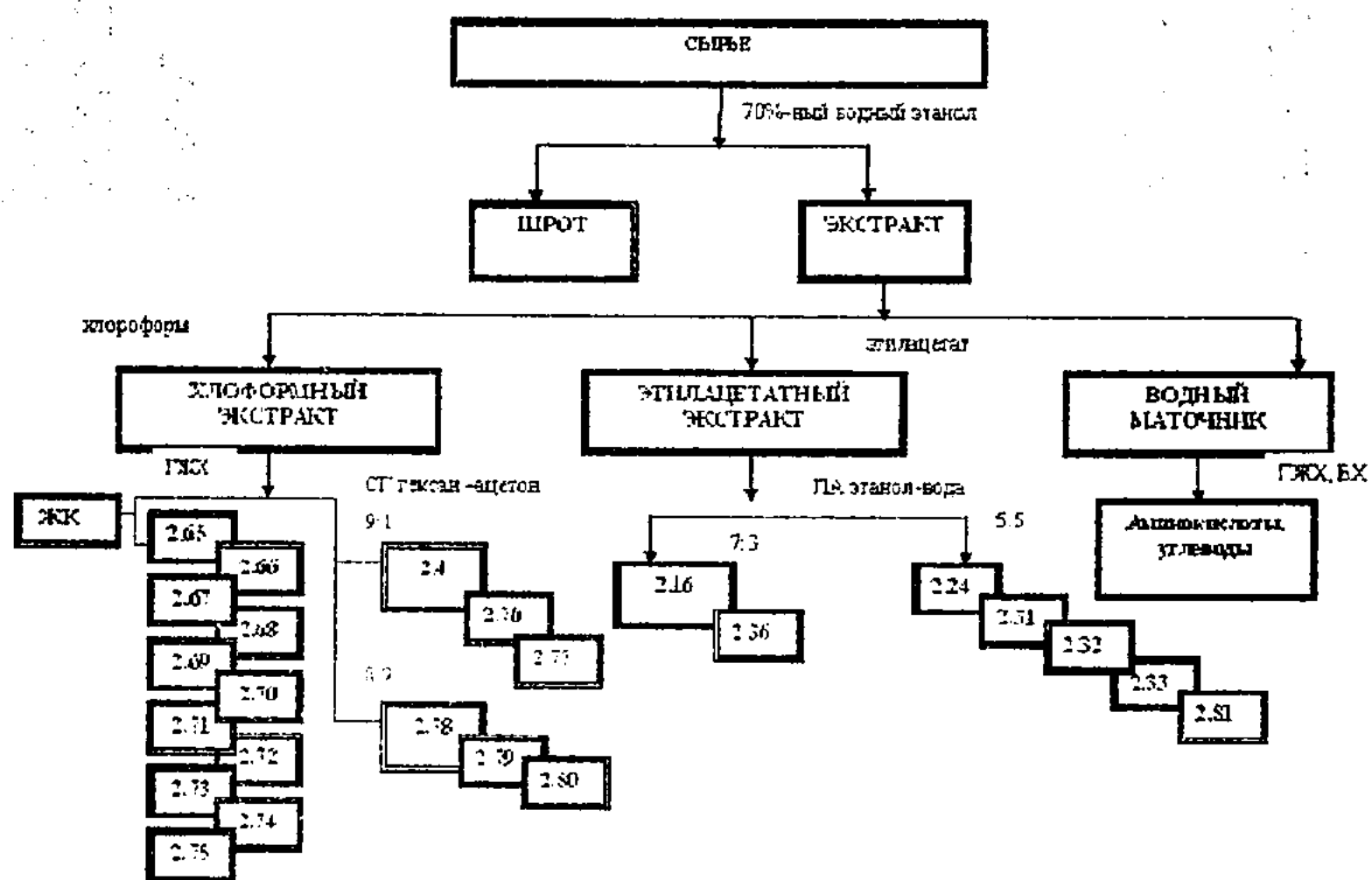


Рисунок 3 – Блок-схема выделения и разделения БАВ из растения рода *Camphorosma*

2.5 Установление строения тритерпеноидов растений рода *Tamarix* (*Tamaricaceae*)

Из хлороформных экстрактов растений рода *Tamarix* в индивидуальном состоянии выделили семь веществ терпеноидного характера. Вещества 2.5-2.8 относятся к пентациклическим тритерпеноидам по положительным реакциям с реактивом Либермана-Бурхарда и сульфатом церия. Вещества 2.5, 2.7, 2.7а и 2.8 выделены и охарактеризованы ранее в растениях семейства *Tamaricaceae*.

Вещество 2.6. В спектре ИК вещества прописываются интенсивные полосы поглощения, соответствующие CH_3 , CH_2 и CH группам в области от 2864 до 2933 cm^{-1} и $\text{C}=\text{O}$ группе при 1689 cm^{-1} .

В масс-спектре вещества пик иона с m/e 482 соответствует молекулярной формуле $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{O}_3$, а последующие осколочные ионы с m/e 248, 189, 133 являются характеристичными для пентациклических тритерпеноидов.

В спектре ЯМР ^1H (таблица 2) наблюдаются сигналы семи CH_3 (0,82 - 0,98 м.д), двадцати CH_2 (1,08-1,98 м.д.) и COOCH_3 (3,80 м.д.) групп. Олефиновый протон при двойной связи (H-15) обнаружен в области 5,54 м.д. (дд, $J_1=11,0$ и $J_2=3,4$ Гц), что характерно для тритерпеноидов Д – фридоолеанового типа. Однако, сигнал протона при C-3 резонирует в области 3,30 м.д. (1H, дд, $J_1=9,0$; $J_2 = 4,7$ Гц), что свидетельствует о β -форме соединения, т.е. метиновый протон находится в аксиальном, а заместитель в экваториальном положениях.

Спектр ЯМР ^{13}C полностью подтверждает структуру данного соединения. Следует отметить наличие дополнительных сигналов при 238,0 м.д. и 56,0 м.д.

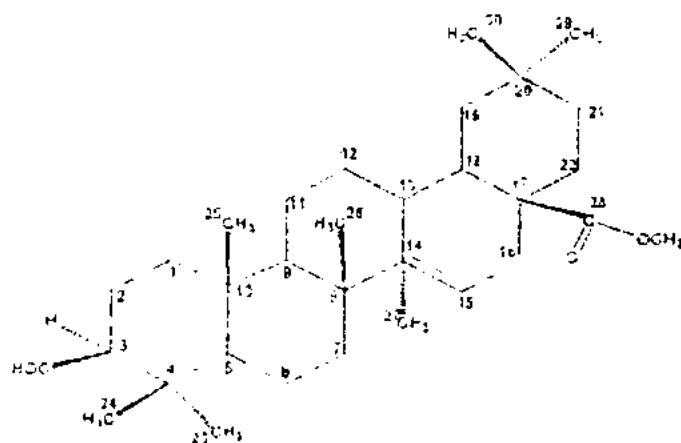
Таблица 2 – Физико - химические характеристики тритерпеноидов 2.6, 2.52, 2.51, 2.54, 2.55, 2.59-2.61 и 2.64

В-во	Т.пл, °С	[α] _D ²⁶ (MeOH)	Масс- спектр, m/e (%)	ЯМР ¹ H (δ, м.д., J/Гц) / ЯМР ¹³ C (δ, м.д.)								R
				Н/C-3	Н/C-12	Н/C-15	Н/C-23	Н/C-29	C-28			
2.6	292- 294	-	482	3,30 дд, J=9,0; 4,7 (76,0)	1,65; 1,70 м (33,8)	5,54 дд, J=11,0; 3,4 (117)	0,98 с (27,0)	0,93 с (31,6)	179,0	COOCH ₃ 3,80 с (56,0); CHO (238,0)		
2.51	280- 282	+97.7 ⁰ (с=1,0)	516	3,91 т, J=7,1 (75,5)	5,26 уш.т, J=3,4 (122,6)	1,07; 2,20 м (28,1)	- (178,2)	3,18 с (74,2)	183,2	OCH ₃ 3,67 с (52,1)		
2.52	298- 300	+6.0 ⁰ (с=1,0)	677	3,91 т, J=7,1 (75,5)	5,26 уш.т, J=3,4 (122,6)	1,07; 2,20 м (28,1)	- (178,2)	3,18 с (74,2)	179,9	Glu: 5,37 д, J=8,0 (95,7)		
2.54	260- 262	+8 ⁰ (с=0,4)	530	3,58 дд, J=11,3; 4,4 (75,2)	5,22 уш.т, J=3,2 (123,1)	1,12; 2,30 м (28,7)	3,69; 3,94 д, J=10,3 (68,2)	3,16 с (74,2)	178,6	OCOCH ₃ 1,88 с (20,1); OCOCH ₃ (175,8)		
2.55	298- 300	+2 ⁰ (с=0,5)	720	4,67 т, J=7,0 (75,2)	5,45 уш.т, J=3,2 (123,1)	1,12; 2,30 м (28,7)	- (178,6)	3,83; 3,94 д, J=10,6 (74,8)	178,6	COOCH ₃ 3,67 с (23,4); COCH ₃ 2,47 с (170,8); Glu 6,34 д, J=8,1 (95,8)		
2.59	260- 262	+10 ⁰ (с=0,5)	502	3,56 дд, J=10,8; 4,3 (74,1)	5,24 уш.т, J=2,9 (123,6)	1,09; 2,10 м (27,4)	3,53; 3,68 д, J=10,5 (67,6)	3,17 с (74,5)	178	COOCH ₃ 3,63 с (52,06)		
2.60	225- 227	+6 ⁰ (с=0,5)	649	3,56 дд, J=10,8; 4,3 (74,1)	5,24 уш.т, J=2,9 (123,6)	1,09; 2,10 м (27,4)	3,33; 3,53 д, J=10,5 (67,6)	3,17 с (74,8)	178	Glu 5,36 д, J=8 (95,1)		
2.61	232- 234	+4 ⁰ (с=0,3)	-	3,82 дд, J=11,3; 4,4 (76,6)	5,18 уш.т, J=2,9 (123,6)	1,09; 2,10 м (27,4)	0,62 с (68,2)	3,10 с (73,5)	179	OCOCH ₃ 1,88 с (20,3); CH ₂ OCH ₃ 3,58 с (52,4); Glu 5,28 д J=6,4 (95,7); OCOCH ₃ (175)		
2.64	288- 290	+10 ⁰ (с=0,5)	777	4,01 дд, J=10,3; 4,6 (75,2)	5,41 уш.т, J=3,2 (123,1)	1,12; 2,30 м (28,7)	- (178,6)	3,90; 3,93 д, J=10,6 (75,3)	176,1	COOCH ₃ 3,67 (51,8) и 3,61 с (52,2); COCH ₃ (167 и 167,5); OCOCH ₃ 3,70 с (41,8); Glu: 6,34 д, J=8,1 (95,7)		

принадлежащие углеродам альдегидной группы и метильной группе сложноэфирной связи соответственно. Их присутствие обнаружено также масс-спектром наличием фрагмента с m/e 438.

Для подтверждения положения двойной связи и функциональных групп использованы двумерные корреляционные методы анализа COSY-45° и HMBSC спектроскопия. В COSY-45° спектре наблюдается корреляция вицинальных протонов при C-15 и C-16, что свидетельствует о локализации двойной связи в положении C-14. В спектре HMBSC сигналы протонов H-18, H-16, H-22 коррелируют с углеродными атомами в положениях C-28 и C-17, а атом углерода альдегидной группы – с метильным протоном у C-23, что указывает на локализацию COOCH₃ группы в C-17, а CHO – в C-3 положениях.

Таким образом, на основании физико-химических методов анализа вещество **2.6** идентифицировано как метиловый эфир 3-β-аль-Д-фридоолеан-14-ен-28-карбоновой кислоты. Вещество является **новым, не описанным ранее в литературе.**



2.6

2.6 Установление строения тритерпеноидов растений рода *Kalidium* и *Camphorosma* семейства *Chenopodiaceae*

2.6.1 Тритерпеноиды растений рода *Kalidium*

Тритерпеноиды из растений рода *Kalidium* выделены из этилацетатного и бутанольного экстрактов. Вещества **2.51**, **2.56**, **2.58** и **2.59** отнесены к агликонам тритерпеноидов, вещества **2.52**, **2.55**, **2.57**, **2.60**, **2.61** и **2.64** – к их гликозидам, а **2.53** и **2.54** – к ацилированным формам.

В масс-спектре (HR-EIMS) вещества **2.51** наличие интенсивного пика с m/e 516 соответствует молекулярной формуле C₃₁H₄₈O₆, дальнейшая фрагментация молекулы тритерпеноида протекает в соответствии со схемой реакции ретро-диенового распада по Дильсу-Альдера (рисунок 4).

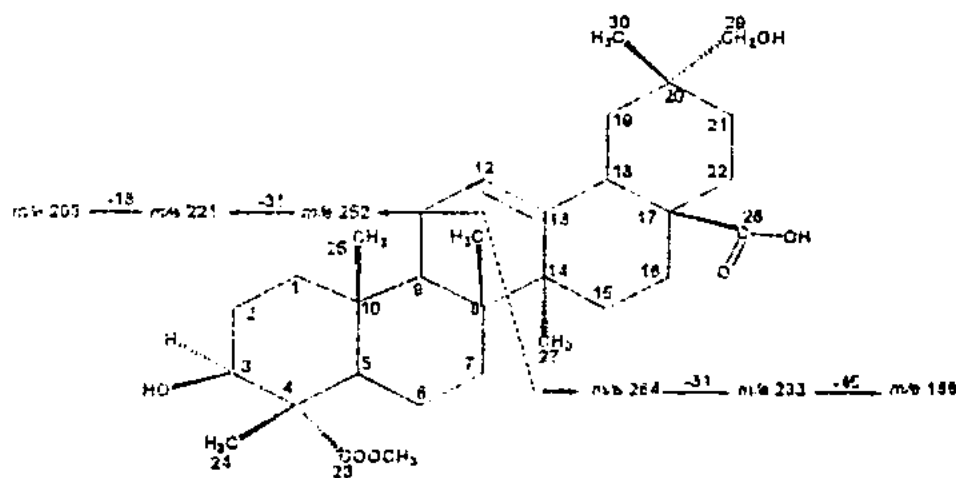


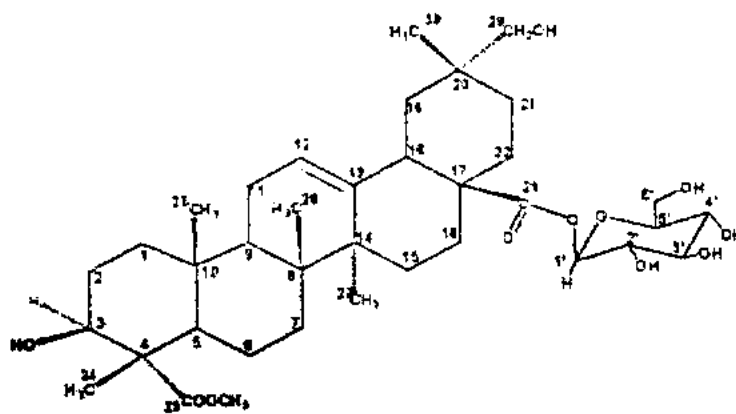
Рисунок 4 - Масс фрагментация вещества 2.51

В спектре ЯМР ^1H (таблица 2) вещества **2.51** наряду с протонами, принадлежащими CH_3 и CH_2 группам, наблюдаются сигналы OCH_3 (3H, c) в области 3,67 м.д., CH_2OH (2H, c) при 3,18 м.д. Сигнал олефинового протона резонирует в области 5,26 м.д (1H, уш.т., $J=3,4$ Гц). В спектре ЯМР ^{13}C вещества **2.51** проявляются сигналы, соответствующие 6 CH_3 , 11 CH_2 , 5 CH и 8 C атомам углерода. В областях 183,2 и 178,2 м.д. присутствуют пики, принадлежащие углеродам карбоксильных групп, причем последняя является замещенной. Локализация двойной связи при C-12 и C-13, пяти CH_3 групп подтверждены НМВС спектром, который свидетельствует о принадлежности тритерпеноида к олеановому типу. Наличие COOCH_3 группы в C-23 положении подтверждено на основании корреляции сигналов протона при 3,67 м.д. (OCH_3) с углеродом при 178,2 м.д. (C-23). Спектром NOE доказана стереохимия метильных групп и заместителей. Для вещества **2.51** получено перацетильное производное – **2.51a**, в масс-спектре которого наблюдается молекулярный пик с m/e 600, что соответствует наличию двух гидроксильных групп в структуре исходной молекулы.

Таким образом, на основании полученных химических и спектральных данных в сравнении с данными литературы вещество **2.51** идентифицировано как метиловый эфир $3\beta,29$ -дигидрокси-12-ен-олеан-23,28-диовой кислоты. Ранее вещество было получено путем гидролиза сапонина и названо калидиумином. Для растительных объектов вещество выделено впервые.

Вещество **2.52** по хроматографическому поведению отнесено к гликозиду вещества **2.51**, что было подтверждено гидролизом. В продуктах гидролиза идентифицированы агликон, идентичный веществу **2.51**, и моносахарид – глюкозу. Подтверждением наличия в молекуле вещества углеводного компонента служит присутствие в масс-спектре (БУА отрицательных ионов) осколочного фрагмента с m/e 515 $[\text{M}-\text{H}-162]$, в то время как масса агликона с m/e 677 $[\text{M}-\text{H}]$ соответствует брутто-формуле $\text{C}_{37}\text{H}_{58}\text{O}_{11}$. В спектрах ЯМР аномерный протон обнаружен в области 5,37 м.д. в виде дублета с КССВ $J=8,0$ Гц, а сигналы углеродных атомов резонируют в пределах от 62,0 до 95,7 м.д. (таблица 2). Спектр НМВС подтверждает место присоединения глюкозы в C-28 положении молекулы. Для вещества **2.52** также получен его перацетат **2.52a**.

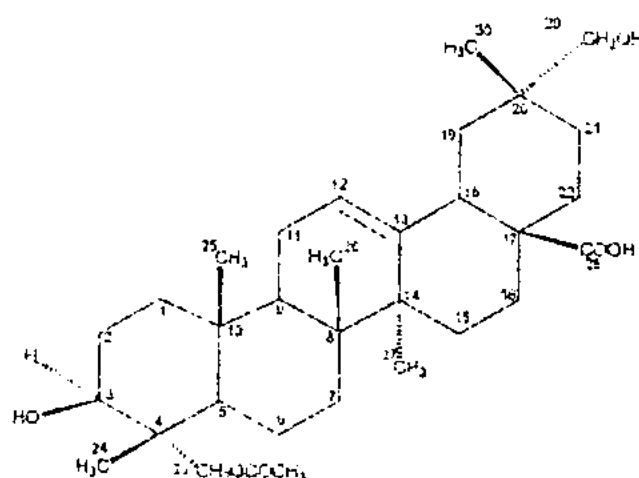
Таким образом, на основании экспериментальных и литературных данных вещество **2.52** идентифицировано как метиловый эфир 28-О- β -Д-глюкопиранозид- $3\beta,29$ -дигидрокси-12-ен-олеан-23,28-диовой кислоты. Данное вещество получено путем синтеза и названо калидиумозид А, но из растительного сырья оно выделено впервые.



2.52

Вещество **2.54** является также производным вещества **2.51**, что было подтверждено данными ЯМР и масс-спектрометрии. При сравнении спектров ЯМР ^1H веществ **2.51** и **2.54** у последнего выявлены сигналы протонов ацетильной при 1,88 м.д. (3H, с) и метиленовой групп в области 3,69 и 3,94 м.д. в виде дублета с КССВ $J=10$ Гц. Появление дублетного сигнала и его смещение в низкочастотную область связано с присоединением заместителя, что подтверждено НМВС - спектроскопией. Так, обнаружена корреляция протонов метильной и метиленовой групп с четвертичным углеродом, принадлежащим карбонилу ацетильной группы при 175,8 м.д., что указывает на присоединение OSCOCH_3 группы к метиленовому радикалу в положении С-23 молекулы тритерпеноида. Место присоединения $\text{CH}_2\text{OSCOCH}_3$ -группы определено также спектром НМВС.

На основании полученных данных вещество **2.54** охарактеризовано как 3β , 29-дигидрокси-23-ацетокси-12-ен-олеан-28-овая кислота, которое является новым, не описанным в литературе соединением.



2.54

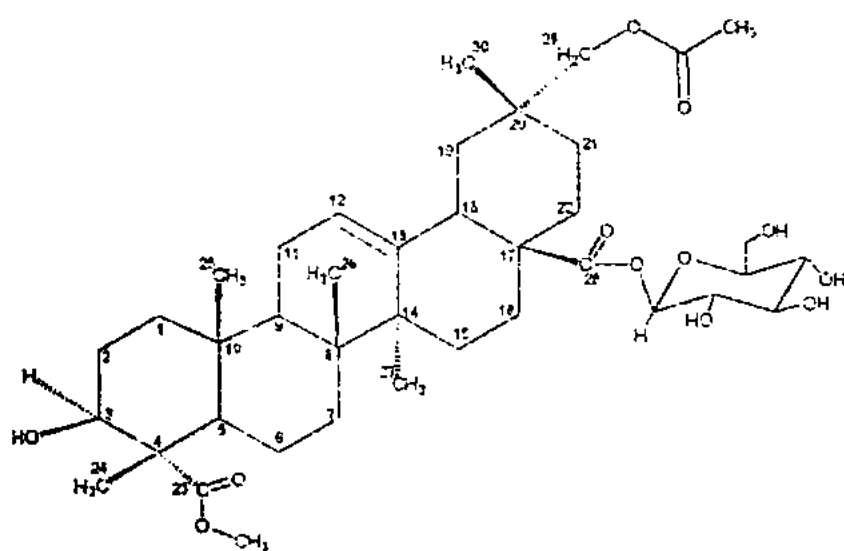
Вещества **2.55** и **2.64** относятся к гликозидам и производным вещества **2.51**, их гликозидная природа подтверждена данными кислотного гидролиза, ЯМР и масс-спектрометрией. В спектре ЯМР ^1H веществ наличие заместителей указывает появление сигналов в областях 2,47 и 3,67 м.д. (**2.55**); 3,61 и 3,67 м.д., (**2.64**) в виде синглетов интенсивностью в 3H, принадлежащие ацетильной группе (таблица 2). Для вещества **2.64** дополнительно резонирует пик второй метильной группы при 3,61 м.д., а также метиленовой (H-2') в области 3,70 м.д. На основании J-resolved спектра для вещества **2.55** и ЯМР ^1H спектра для вещества **2.64** установлены идентичные сигналы в виде двух дублетов, что обусловлено присоединением заместителя в положении С-29. Для вещества **2.64** выявлен химический сдвиг (H-2') в области 3,70 м.д. (41,8 м.д.), принадлежащий дополнительной метиленовой группе. Местоположения заместителей подтвердили спектром НМВС. Так, для вещества **2.55** обнаружена корреляция протонов метильной (2,47 м.д.) и метиленовых групп (3,83 и 3,94 м.д.) с четвертичным углеродом карбонильной группы (170,8 м.д.), что обусловлено присоединением COCH_3 группы в С-29 положении молекулы. Для вещества **2.64** обнаружена корреляция протонов метиленовой группы при 3,70 м.д. (H-2') с карбонильными углеродами при 167,0 м.д. (С-1') и 167,5 м.д. (С-3'), а протоны при 3,61 м.д. коррелируют с углеродом метиленовой группы

(С-2'), что указывает на их принадлежность метоксималоновой группе в С-29 положении.

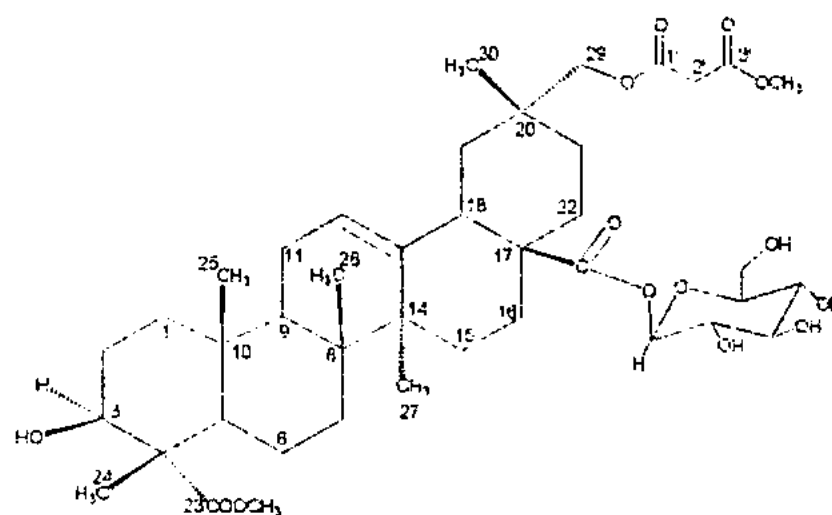
Данные масс-спектрометрии (БУА отрицательного иона) подтверждают структуры соединений **2.55** и **2.64**. Наличие пиков с м/е 720 и м/е 777 соответствуют молекулярным формулам $C_{39}H_{60}O_{12}$ и $C_{41}H_{61}O_{14}$. Присутствие осколочных ионов $[M-43]^-$ свидетельствует о потере $COCH_3$ для вещества **2.55**, а $[M-100]^-$ – $COCH_2COOCH_3$ – для вещества **2.64**.

Таким образом, на основании химических и физико-химических методов анализа вещество **2.55** является метиловым эфиром 28-О-β-Д-глюкопиранозид-3β-гидрокси-29-ацетокси-12-ен-олеан-23,28-диовой кислоты, а вещество **2.64** – метиловым эфиром 28-О-β-Д-глюкопиранозид-3β-гидрокси-29-метилмалонокси-12-ен-олеан-23,28-диовой кислоты.

Охарактеризованные соединения являются новыми и ранее не описанными в литературе.



2.55



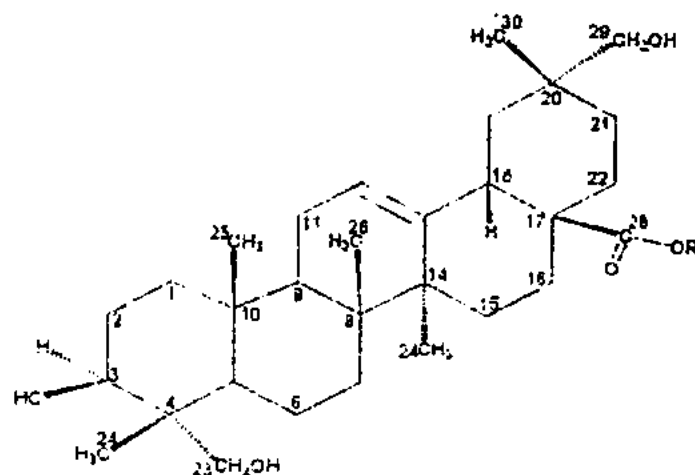
2.64

Вещества 2.59 и 2.60. В спектре ЯМР ^{13}C (таблица 2) химические сдвиги при 180,0 м.д. (**2.59**) и 178,0 м.д. (**2.60**) соответствуют карбоксильным группам, причем смещение сигнала в слабое поле способствует замещению, что подтверждается появлением дополнительных пиков в области 52,0 м.д. принадлежащих метоксильной группе (**2.59**), и наличием сигналов атомов углерода углеводного компонента (**2.60**). В ЯМР 1H спектре полученного перацетата (**2.60a**) обнаружено наличие семи ацетильных групп при 3,65 - 3,93 м.д., 4,25-4,45 м.д. и 3,95-4,08 м.д., принадлежащие гидроксильным группам глюкозы и двум карбинольным при С-23 и С-29 соответственно.

Спектром НМВС для веществ выявлено местонахождение одной CH_2OH группы в С-23 по корреляции метиленовых протонов с С-24 и С-5, а другой – в С-29, что подтверждается взаимосвязью метиленовых протонов с С-19, С-21 и С-30. Также выявлена корреляция углерода $COOH$ группы с протонами OCH_3 группы (**2.59**) и аномерным протоном глюкозы (**2.60**).

На основании химических и спектральных методов анализа вещества идентифицированы как 28-метилат-3β,23,29-тригидрокси-12-ен-олеан-28-овая кислота (**2.59**) и 28-О-β-Д-глюкопиранозид-3β,23,29-тригидрокси-12-ен-олеан-

28-овая кислота (2.60). Вещества являются новыми и ранее не описанными в литературе.

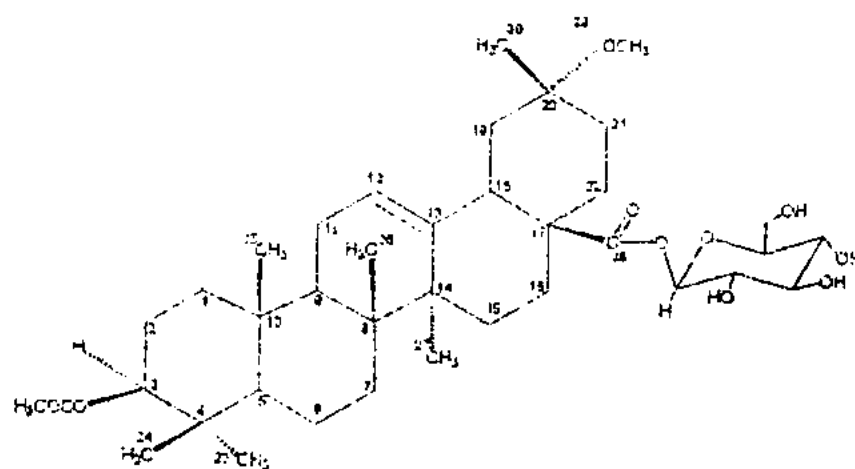


2.59 R=CH₃, 2.60 R=Glu

Вещество 2.61 является гликозидированной формой тритерпеноида. В масс-спектре (EI) вещества наблюдаются пики с m/e 528 [M^+-162], m/e 499 [$M-162-31$]⁺, а также с m/e 499 [$528-31$]⁺, соответствующие отщеплению глюкозы и OCH₃ группы. В ЯМР ¹H спектре прописываются сигналы при 3,58 м.д. (3H, с), 1,88 м.д. (3H, с) и 5,28 м.д. (д, J=6,4 Гц), принадлежащие метоксильной, ацетильной группам и аномерному протону глюкозы соответственно (таблица 2).

Местоположения заместителей установлены на основании HMBC, NOESY спектров. HMBC спектром подтверждается присоединение одной OCOCH₃ группы в С-3, а гликозидного остатка в С-28 положения молекулы. На основании NOESY спектра выявлена корреляция протонов OCH₃ группы (3,58 м.д.) с CH₂OH группой (3,10 м.д.), что свидетельствует о присоединении метоксильной группы к метиленовому радикалу в положении С-29 тритерпеноида.

На основании полученных данных вещество 2.61 идентифицировано как 28-О-β-Д-глюкопиранозид-3β-ацетокси-29-метокси-12-ен-олеан-28-овой кислоты, которое является новым соединением, ранее не описанным в литературе.

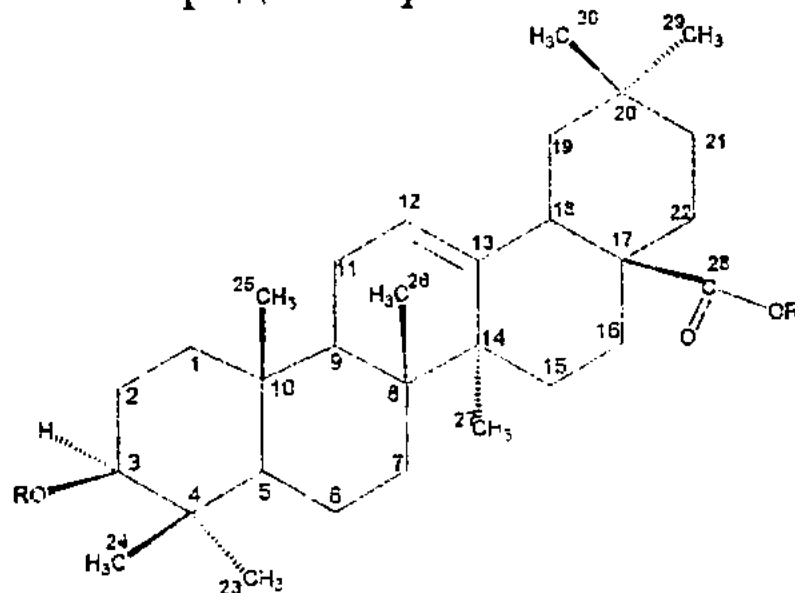


2.61

Таким образом, из растений рода *Kalidium* изолировано 13 веществ тритерпеноидной природы, из которых 2.51, 2.52, 2.54, 2.55, 2.59-2.61 и 2.64 являются новыми природными метаболитами. Вещества 2.50, 2.53, 2.56, 2.57 и 2.58 выделены ранее из других природных объектов, а из растений семейства *Cheporodiaceae* впервые.

2.6.2 Тритерпеноиды растений рода *Camphorosma*

Вещества 2.76 и 2.77 выделены из хлороформного экстракта растения рода *Camphorosma*. На основании химических и физико-химических методов анализа вещество 2.76 идентифицировано как 3-О-β-Д-глюкопиранозид олеаноловой кислоты, а вещество 2.77 – 28-О-β-Д-глюкопиранозид олеаноловой кислоты. Вещества ранее были выделены из растений других семейств, но впервые описаны для растений рода *Camphorosma*.



2.76 R= Glu, R₁=H 2.77 R= H, R₁= Glu

Таким образом, вышеизложенные данные свидетельствуют о том, что терпеноидный состав исследуемых видов солеустойчивых растений семейств *Tamaricaceae* и *Chenopodiaceae* составляют пентациклические тритерпеноиды α- и β-амиринового рядов, причем для растений рода *Kalidium* характерны тритерпеноиды, относящие к 23-гидроксиолеановому типу. Многообразие производных тритерпеноидов представлено наличием таких заместителей, как COOH, COOCH₃, CH₂OH, CH₂OCOSCH₃, CH₂OCOSCH₂COCH₃, а также гликозидированной и ацилированной формами. Углеводным компонентом гликозидированных форм является глюкоза. Ацильные остатки представлены как алифатическими (уксусная, малоновая), так и ароматическими (феруловая, кофейная, *n*-кумаровая) кислотами.

2.7 Идентификация компонентов хлороформных экстрактов

Состав высших предельных и непредельных карбоновых кислот в растениях определен методом ГЖХ. Установлено, что все исследуемые виды растений имеют идентичный качественный состав жирных кислот (11 компонентов), но различаются их количественным соотношением. Содержание органических кислот убывает в ряду растений: *Kalidium* > *Tamarix* > *Camphorosma*. Во всех образцах обнаружено достаточно высокое содержание линолевой и олеиновой кислот (~ от 20 до 46 %). Методом ГЖХ с масс-спектрометрией (метод экстракции) впервые определен химический состав компонентов хлороформного экстракта *C. monspeliacum*.

Идентификация веществ осуществлялась автоматически по аналогии с известными масс-спектрами образцов, заложенных в банк данных компьютера прибора (в соответствии данными NIST WILEY LIBRARY DATE). В результате

проведенной идентификации определены 11 веществ: 3-октанон (2.65) – 0,56 %; 5 метил-3-гептанон (2.66) – 0,43 %; дибутилфталат (2.67) – 1,08 %; N-гидрокси-2-метокси-N-фенилбензокарботиоамид (2.68) – 0,76 %; 2,3-дегидро-7-метокси-3-фенил-4Н-1-бензопиран-4-он (2.69) – 7,65 %; 3,4-диметокси-N-(пиридилметил) бензоамид (2.70) – 46,12 %; 5-фенил-2-(4-метоксифенил)-1,3,4-тиадиазол (2.71) – 13,73 %; ацетальдегид-(2,4-динитрофенил)-гидразон (2.72) – 20,36 %; эйкозан (2.73) – 1,86 %; генэйкозан (2.74) – 3,35 %; 1-(4-нитрофенил)-3-фенил 2-пропен-1-он (2.75) – 4,10 %.

Следует отметить, что исследуемое растение преимущественно содержит азотсодержащие соединения, причем некоторые из них, такие как 3,4-диметокси-N-(пиридилметил) бензоамид; ацетальдегид-(2,4-динитрофенил)-гидразон; 5-фенил-2-(4-метоксифенил)-1,3,4-тиадиазол находятся в достаточно большом количестве.

Полученные экспериментальные данные для растений рода *Camphorosma*, произрастающих на почвах с сульфатно-хлоридным засолением, подтверждают известный тезис о том, что хлоридное засоление сопровождается образованием азотсодержащих соединений.

2.8 Установление химического состава полифенольных соединений в солеустойчивых растениях рода *Tamarix*, *Kalidium* и *Camphorosma* семейств *Tamaricaceae* и *Chenopodiaceae*

2.8.1 Установления строения флавоноидов

Количественный анализ флавоноидного состава исследуемых растений показал их преобладание в растениях Алматинского региона по сравнению с Аральским. Данный факт свидетельствует о накоплении флавоноидов в условиях умеренного засоления по сравнению с сильно засоленными почвами. В этилацетатных, бутанольных (*Kalidium*) и водных экстрактах исследуемых видов с использованием специфических проявителей (пары аммиака, хлористый алюминий, антоцианидиновая проба) обнаружены окисленные формы флавоноидов и их гликозиды.

Методами одномерного и двумерного бумажного (тонкослойного) хроматографирования в соответствующих системах, свечением в УФ-свете вещества 2.13, 2.14 отнесены к флавонам, вещества 2.9-2.12, 2.15-2.19 к флавоноловым агликонам со свободной гидроксильной группой в положении С-3, а вещества 2.22-2.30, 2.42-2.44, 2.62, 2.63, 2.81 – к их гликозидам. С использованием различных видов хроматографии из растений рода *Tamarix* в индивидуальном состоянии выделены 23 флавоноида, из *Camphorosma* – 3, *Kalidium* – 4. Флавоноиды 2.10, 2.12- 2.14, 2.22, 2.24-2.26, 2.23-2.64, 2.44, 2.54 впервые выделены из растений семейств *Tamaricaceae* и *Chenopodiaceae*.

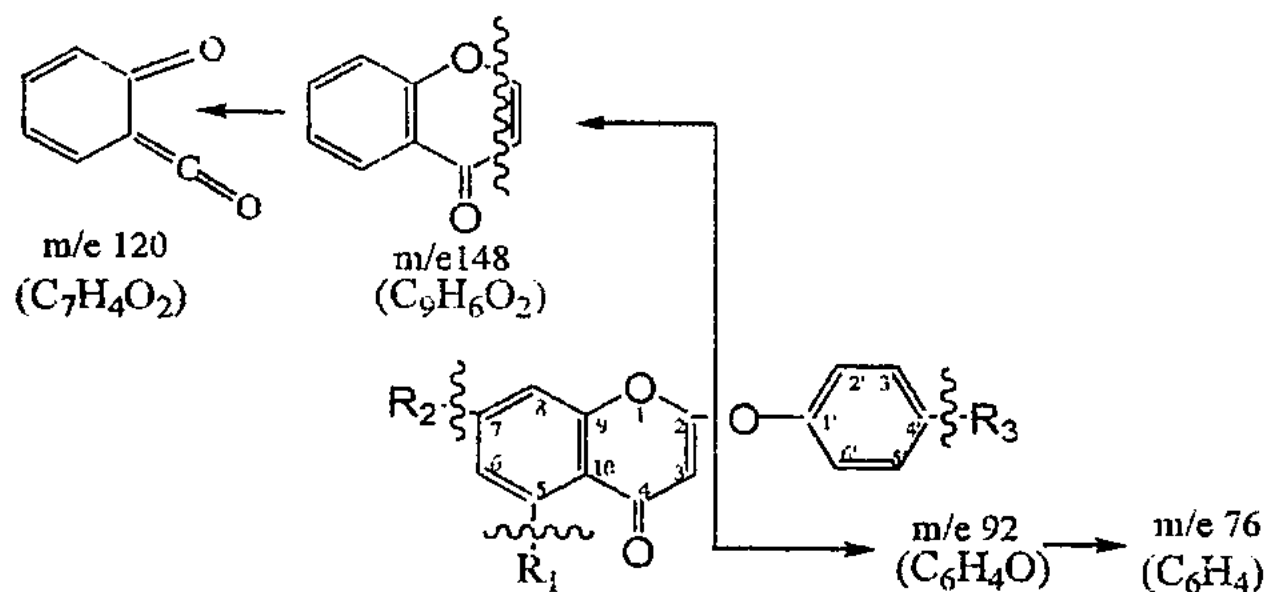
Флавоноиды исследуемых растений представлены, в основном, метоксилированными производными кемпферола, кверцетина и их замещенными гликозидами при С-3 положении. Углеводными компонентами являются глюкоза, галактоза, рамноза и арабиноза. Следует отметить, что изорамнетин и 3-О-β-Д-глюкопиранозид изорамнетина являются таксонами для исследуемых видов растений.

Наряду с гликозидированными формами флавоноидов в водном остатке растений рода *Tamarix* выделены и охарактеризованы сульфатные формы флавоноидов. На основании химических и физико-химических данных установлены структуры веществ: 2.26 как калиевая соль 3-О-сульфат тамариксетина (тамариксин), 2.27 – 3-О-сульфат кверцетина, 2.28 – 7-О-сульфат изорамнетина. Вещество 2.28 впервые выделено из растений рода *Tamarix*, а 2.26 и 2.27 были выделены ранее из растений данного рода. В условиях сульфатного засоления накопление сульфатных форм фенольных соединений способствует адаптации растений к солевому стрессу.

2.8.2 Установление строения хромонов

В хлороформном экстракте *S. monspeliacum* обнаружены вещества фенольного характера, имеющие флуоресценцию в УФ-свете, желтое окрашивание в парах аммиака и с сульфатом церия. В УФ-спектре веществ 2.78-2.79 обнаружили максимумы поглощения в области $\lambda_{\max} = 207-288$ и $305-368$ нм. В спектре ИК имеются полосы поглощения С=О группы при 1654 см^{-1} (2.78), 1641 см^{-1} (2.79), 1664 см^{-1} (2.80); ОН группы при 3456 см^{-1} (2.79) и 3413 см^{-1} (2.80).

В масс-спектре наблюдаются пики молекулярных ионов с m/e 268 (2.78), 314 (2.79) и 300 (2.80), соответствующие брутто-формулам $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_4$, $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$ и $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$. Фрагментация молекулы с образованием хромонового ядра и феноксила подтверждена присутствием пиков с m/e 148 и m/e 92 соответственно. Наличие характеристичного фрагмента с m/e 120 соответствует ретродиеновому распаду γ -пиронового цикла хромонового ядра (рисунок 5).



2.78: $\text{R}_2 = -\text{OCH}_3$ m/e 268 $[\text{M}]^+$, 252, 236

2.79: $\text{R}_1 = \text{R}_2 = -\text{OCH}_3$; $\text{R}_3 = \text{OH}$ m/e 314 $[\text{M}]^+$, 284, 267, 250, 234

2.80: $\text{R}_1 = \text{R}_2 = -\text{OH}$; $\text{R}_3 = \text{OCH}_3$ m/e 300 $[\text{M}]^+$, 285, 268, 251, 235

Рисунок 5 – Схема фрагментации веществ 2.78- 2.80

В спектре ЯМР ^1H (таблица 3) сигналы протона при С-3 резонируют в областях 6,84 м.д. (2.78); 6,71 м.д. (2.79) и 6,82 м.д. (2.80). Два мультиплетных

Таблица 3 — Физико-химические характеристики веществ 2.78-2.80

В-во	Т.пл, °С (MeOH)	ИК- спектр (KBr, ν , см^{-1})	УФ - спектр (MeOH, $\lambda_{\text{пркс}}$, нм)	ЯМР ^1H (500 МГц, CD_3OD , δ , м.д., JГц)	ЯМР ^{13}C (125 МГц, CD_3OD)	Масс-спектр, m/e, %:
2.78	110-112	1654, 1625, 1605, 1446, 1164	207, 280, 306, 360.	3,96 (3H, c, -OCH ₃), 6,84 (1H, c, H-3), 7,58 (1H, д, J=8,0, H-5), 7,09 (1H, ад, J=2,2; 8,8, H-6), 7,23 (1H, д, J=2,1, H-8), 8,03 (2H, м, H- 2', H-6'), 8,04-8,06 (3H, м, H- 3', H-4', H-5').	166,5 C-2; 116,2 C-3; 180,0 C-4; 160,0 C-5; 107,5 C-6, 165,0 C-7; 101,6 C-8; 159,0 C-9; 118,0 C-10; 148,0 C-1', 132,8 C-2', 127,5 C-3', 159,0 C-4', 127,4 C-5', 130,2 C-6', 56,60 (-OCH ₃).	268 (10,0), 252 (100,0), 236 (3,8), 148 (6,5), 120 (14,4), 92 (9,1), 76 (3,8), 61 (3,6)
2.79	138-140	3456, 1641, 1625, 1608, 1460, 1161	211, 283, 305, 368.	3,91 (3H, c, -OCH ₃), 3,94 (3H, c, -OCH ₃), 6,71 (1H, c, H-3), 6,54 (1H, д, J=2,0, H- 6), 6,81 (1H, д, J=2,0, H-8), 7,56 (2H, д, J=8,0, H-2', H- 6'), 7,97 (2H, д, J=8,0, H-3', H-5'), 56,61 (-OCH ₃).	166,6 C-2; 108,9 C-3; 180,0 C-4; 161,4 C-5; 97,5 C-6, 163,3 C-7; 94,3 C-8; 160,0 C- 9; 110,0 C-10; 147,5 C-1', 132,7 C-2', 130,2 C-3', 156,0 C-4', 127,2 C-5', 132,4 C-6', 56,60 (-OCH ₃).	314 (15,0), 284 (10,0), 267 (3,5), 250 (15,7), 234 (29,1) 148 (14,8), 120 (5,9), 92 (3,4), 77 (3,4)
2.80	160-162	3413, 1664, 1625, 1600, 1498, 1159	211, 288, 307	3,93 (3H, c, -OCH ₃), 6,82 (1H, c, H-3), 6,35 (1H, д, J=2,1, H-6), 6,73 (1H, д, J=2,2, H-8), 7,58 (2H, д, J= 8,0, H-2', H-6'), 8,07 (2H, д, J=8,0, H-3', H-5').	166,7 C-2; 106,2 C-3; 183,2 C-4; 163,0 C-5; 98,8 C-6, 164,8 C-7; 93,3 C-8; 158,7 C- 9; 110,0 C-10; 148,0 C-1', 132,7 C-2', 129,9 C-3', 158,7 C-4', 127,2 C-5', 132,1 C-6', 56,4 (-OCH ₃).	300 (10,0), 285 (10,0), 268 (100,0), 251 (3,8), 235 (47,1), 148 (2,6), 120 (13,5), 92 (8,2), 76 (5,5).

сигнала вещества 2.78 в области 8,03 м.д. (H-2', H-6') и 8,04-8,06 м.д. (H-3', H-4', H-5') указывают на незамещенное кольцо феноксила, в то время как для веществ 2.79 и 2.80 сигналы наблюдаются в виде дублета с КССВ $J=7,9$ и $8,0$ Гц, что свидетельствует о замещении в 4' - положении этих соединений. Протоны ароматического кольца 2.78 при С-5 подвергаются дезэкранизации (карбонильная группа у С-4) и в отличие от остальных смещается в слабое поле при 7,58 м.д. (1H, д, $J=7,0$ Гц). Сигналы H-6 и H-8 проявляются в области 7,09 м.д. (1H, дд, $J_1=8,8$, $J_2=2,2$ Гц) и 7,23 м.д. (1H, д, $J=2,1$ Гц).

Протоны ароматического кольца хромонового ядра в веществах 2.79 и 2.80 обнаруживаются в виде дублетов с константой *мета*-расщепления, принадлежащие H-8, H-6, причем последний прописывается в более сильном поле, чем H-8. Кроме того, отмечены сигналы, принадлежащие ОСН₃ группе.

В спектре ЯМР ¹³С (метод ВВ, DEPT) для веществ 2.78 и 2.80 обнаруживаются шестнадцать углеродных атомов, а вещества 2.79 – семнадцать. Для 2-феноксихромонов характерными считаются сигналы атомов С-2, С-1' в областях 166,5-166,7 м.д. и 147,0-148,0 м.д. соответственно. Локализация ОСН₃ групп подтверждается спектром НМВС: сигнал протонов ОСН₃ группы в веществе 2.78 коррелирует с С-7; а в веществе 2.79 наблюдается корреляция двух ОСН₃ групп с С-5 и С-7.

На основании физико-химических методов анализа вещества идентифицированы как 7-метокси-2-феноксихромон – 2.78; 5,7-диметокси-2-(4'-гидроксифенокси)-хромон – 2.79 и 5,7-дигидрокси-2-(4'-метоксифенокси)-хромон – 2.80. Вещество 2.8 ранее было выделено из *R. rugosa* (*Compositae*), а 2.6 и 2.7 являются новыми, не описанными в литературе соединениями.

2.8.3 Идентификация фенолокислот и других родственных соединений

Методом двумерной БХ в соответствующих системах растворителей с применением специфических проявителей (ЖАК, ДзПНА/Na₂CO₃, УФ-свет) в водно-спиртовом экстрактах исследуемых видов растений обнаружены фенолокислоты. Оксibenзойные фенолокислоты состава С₆-С₁ (*n*-оксibenзойная и ванилиновая) присутствуют во всех исследуемых образцах растений, в то время как эллаговая, галловая и ее производные – только в растениях рода *Tamarix*. Из оксикоричных кислот состава С₆-С₃ – *n*-кумаровая и феруловая встречаются во всех изученных растениях. Галловая и эллаговая кислоты и их производные входят в состав выделенных гидролизуемых дубильных веществ: 2.20, 2.20а, 2.47 и 2.48.

2.9 Биологический скрининг экстрактов и некоторых веществ солеустойчивых растений рода *Tamarix*, *Kalidium* и *Camphorosma*

Антибактериальная активность испытана методом *Agar well diffusion method*, в качестве стандарта использовали тетрациклин. При концентрации 3 мкг/мл более эффективны и ингибируют рост бактерий водно-спиртовые экстракты: ТЕ-3 (*P. aeruginosa*), GL-3, GL-1 (*B. subtilis*), CM-3 (*E. coli*); этилацетатные – Zv-1 (*B. subtilis*, *P. mirabilis*, *S. boydii*), Ksh-1 (*B. subtilis*). Остальные экстракты ингибируют значительно ниже в отношении различных