

**МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН**

ТАШКЕНТСКИЙ ХИМИКО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

На правах рукописи
УДК 547.633:547.192

УСМАНОВ ДУРБЕК АБДИХОШИМОВИЧ

**ИРИДОИДОВ РАСТЕНИЙ EREMOSTACHYS SP.
В КАЧЕСТВЕ ПИЩЕВЫХ ДОБАВОК.**

Специальность: 5А 552907– «Биотехнология пищевых и кормовых
продуктов»

ДИ С С Е Р Т А Ц И Я

на соискание академической степени магистра

Научный руководитель

проф. Рамазанов Н.Ш.

Работа рекомендована к публичной
защите на кафедре “Биотехнология”,
прот. № «___» _____ 2012 г.
Заведующей кафедры _____

проф. Ташмухаммедов М.С.

Допущен к защите:
«___» _____ 2012 г.
Начальник отдела магистратуры

к.т.н. Мухамедов Қ. Г.

ТАШКЕНТ – 2012

О Г Л А В Л Е Н И Е

	стр
Введение	3-6
ГЛАВА I. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	7-29
1.1. Общие сведения.....	7
1.2. Распространение в растительном мире.....	11
1.3. Физико-химические свойства.....	13
1.4. Обнаружение иридоидов в растительном сырье.....	13
1.5. Количественное определение.....	16
1.6. Методы выделения и разделения иридоидов.....	17
1.7. Применение спектральных методов при доказательстве строения иридоидов.....	19
1.7.1. Масс - спектрометрия иридоидов.....	20
1.8. Биологическая активность иридоидных гликозидов.....	23
1.9. Иридоиды в пищевой промышленности.....	25
ГЛАВА II. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	30-41
ГЛАВА III. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	42-44
Выводы	45
Литература	46-53
Приложения	54

ВВЕДЕНИЕ

В Узбекистане за годы независимости выросло действительно разносторонне одаренное, талантливое, высокообразованное и интеллектуально развитое молодое поколение. Сама жизнь доказала правильность осуществляемой под руководством Президента страны нацеленной в будущем огромной работы по созданию всех необходимых условий для того, чтобы молодежь Узбекистана, обладающий огромным потенциалом, в полной мере могла реализовать его на благо своей страны, своего народа, строящего новую жизнь

Президент Республики Узбекистан Ислам Абдуганиевич Каримов о проводимых реформах в нашей стране сказал, что в ходе реализации экономических реформ предстоит обеспечить экономическую стабильность, укрепить национальную валюту, углубить процессы разгосударствления и приватизации, широко развернуть создание малых частных предприятий, сформировать реальную конкурентную среду. Всё это должно служить прочной основой для осуществления глубоких структурных преобразований, подъёма экономики на качественно иной уровень, обеспечивающий её выход на мировые рынки, ускорение интеграции в мировую экономическую систему.

Каждый из нас должен отдавать себе отчет в том, что Узбекистан сегодня – это составная часть мирового пространства и глобального финансового – экономического рынка.

Наглядным свидетельством этому являются все возрастающие нами связи с внешним миром, реализация с помощью ведущих развитых стран программ по развитию, модернизация, техническому и технологическому переоснащению отраслей экономика, интеграция Узбекистана в международную сферу торговли, рост импорта и экспорта продукции и товаров» [1].

Независимость Республики Узбекистан и переход ее промышленности на рыночные условия экономики ставит перед работниками производства и науки, задачу интенсивного развития народного хозяйства, при этом важное значение придаётся перерабатывающим отраслям пищевой промышленности.

За годы независимости много сделано для того, чтобы в соответствии с сегодняшними требованиями, оснастить перерабатывающие отрасли новейшими технологиями и оборудованием, повысить квалификацию работающих и их руководителей, усовершенствовать методы работы. Разработана концепция внедрения малых ёмких технологий производства продукции, способных за короткое время насытить внутренний рынок. Это позволит обеспечить ускоренное развитие производства многих видов важнейших товаров, в том числе и продуктов питания.

Основной целью должно быть создание конкурентно способной продукции в мировой торговлей сети. И самое главное, инициаторами проектов должны быть мы, молодые специалисты.

Связи с этим, для моей диссертационной работы я выбрал изучению иридоидных гликозидов и как их можно применять в пищевой промышленности.

Иридоидные гликозиды представляют собой одну из важнейших групп природных соединений. Среди разнообразных вторичных метаболитов, продуцируемых растениями, особое место занимают иридоиды. В настоящее время становится ясным, что соединения данного типа широко распространены в растительном мире. Наличие у них ряда ценных биологических свойств - противоопухолевой, тонизирующей, желчегонной, седативной, антимикробной, усиление процесса секреции молока и других активностей делают весьма перспективным с практической точки зрения их дальнейшее изучение.

Иридоидные гликозиды представляют также значительный теоретический интерес как с чисто химической точки зрения, так и благодаря их участию в качестве предшественников в биосинтезе алкалоидов.

Давно уже было замечено, что у растений, содержащих иридоидные гликозиды, в высушенном или увлажненном состоянии наблюдается появление черной пигментации. Значительно позднее было высказано предположение, что при этом происходит ферментативное расщепление гликозидов до агликонов, которые легко полимеризуются в темно - коричневые пигменты с образованием различных промежуточных продуктов.

В связи с этим поиск новых иридоидсодержащих растительных источников, разработка рациональных схем выделения этих соединений, установление строения, определение физико - химических характеристик новых веществ и полезных свойств - представляет одну из актуальных проблем современной биоорганической химии.

Актуальность работы. Среди разнообразных низкомолекулярных биологически активных веществ, синтезируемых растениями, заметное место занимают иридоиды. В настоящее время становится ясным, что соединения данного типа широко распространены в растительном мире.

Иридоидные гликозиды представляют также значительный теоретический интерес как с чисто химической точки зрения, так и благодаря их участию в качестве предшественников в биосинтезе алкалоидов.

В связи с этим поиск новых иридоид содержащих растительных источников, разработка рациональных схем выделения этих соединений, установление строения, определение физико - химических характеристик новых веществ и полезных свойств - представляет одну из актуальных проблем современной биоорганической химии.

Цели и задачи исследования. Проведение химических исследований иридоидов растения рода *Eremostachys sp*, нахождение доступных и богатых

целевыми продуктами источников сырья, разработка методов выделения суммы иридоидов.

В соответствии с целью исследования и полученными результатами на защиту выносятся:

1. Доказать что растения рода *Eremostachys sp* содержат иридоидов, методом тонкослойной хроматографии и методом Высоко эффективная житкосная хроматография – (ВЭЖХ).
2. Разработка эффективный метод разделение сумм иридоидов, изолированных из растения *Eremostachys sp*.

Научная новизна работы. Впервые показано, что растения рода *Eremostachys sp* содержат иридоиды. Разработана схема выделения иридоидов из этого растительного источника. Разработана методика ВЭЖХ для определения иридоидов из этого источника. А также, методика ВЭЖХ для определения иридоида гарпагида.

Практическое значение работы. Диссертации определяется тем, что в результате изучения растения рода *Eremostachys sp* выявлен перспективный дополнительный источник для получения пищевых добавок, способностью усиливать процесс секреции молока у лактирующих животных.

Публикации и апробация работы. По материалам диссертации опубликовано 3 тезиса.

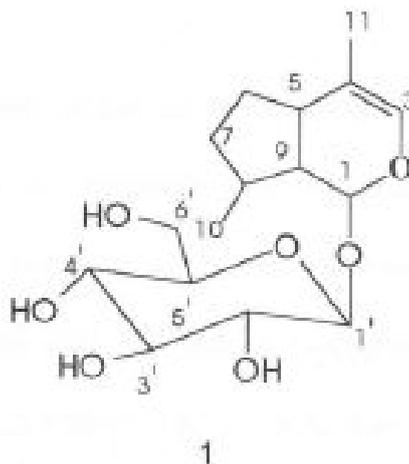
Структура и объем диссертации.

Диссертационная работа изложена на 73 страницах машинописного текста и состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, выводы и список цитируемой литературы.

ГЛАВА I. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Общие сведения

Иридоиды - группа монотерпеновых соединений растительного происхождения, содержащих в своей структуре циклопентанпирановый скелет (1) [2].



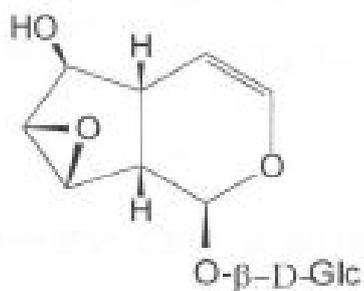
Иридоидные гликозиды в основном по химическому строению (1) имеют два циклических ядра: одно из них является α - пирановым, а второе циклопентановым. В положении 1 как правило присоединена β - глюкоза, между атомами С - 3 - С - 4 имеется двойная связь, образующая типичный енол - эфир. Двойная связь также может часто присутствовать в циклопентановом кольце.

Иридоиды были впервые выделены в середине XIX в., но лишь в 1958 г. О.Халперн и др.[3] в своем исследовании предложили основную структуру иридоидов.

Интенсивное изучение иридоидных гликозидов начато со второй половины XX в. [4 - 6].

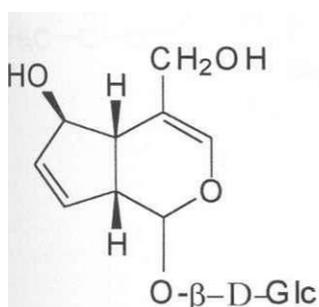
Иридоиды были впервые выделены в середине XIX в., но лишь в 1958 г. О.Халперн и др. [3] в своем исследовании предложили основную структуру иридоидов.

Иридоидными гликозидами являются гликозиды, агликоповая часть которых имеет иридоидную природу. Название "иридоидные гликозиды"

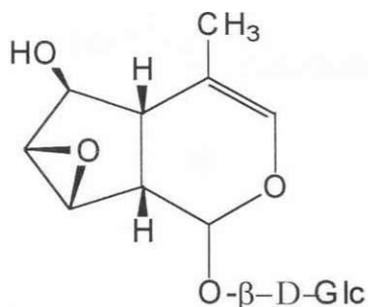


4

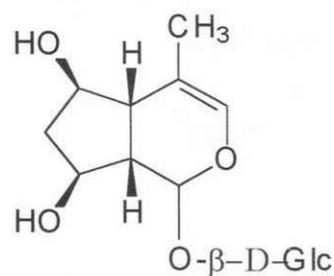
Иридоидные гликозиды типа С - 9 подразделяют на две группы: С - 10 - нор и С - 11 - нор гликозиды. Иридоидные гликозиды С - 10 - нор группы подразделяются на подгруппы декалозида (5), деуциозида (6) и деуциола (7).



5

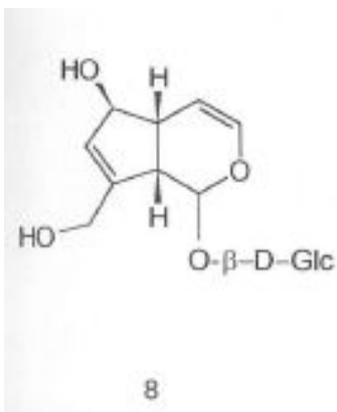


6

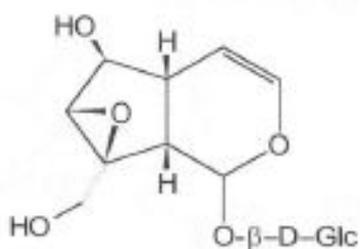


7

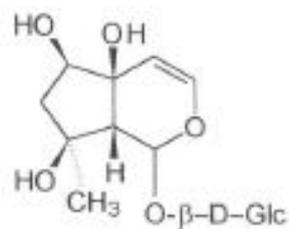
В свою очередь, по наличию и расположению двойной связи и эпоксидного кольца в циклопентановой части С - 11 - нор гликозиды подразделяют на подгруппы аукубина (8), каталпола (9) и гарпагида (10).



8

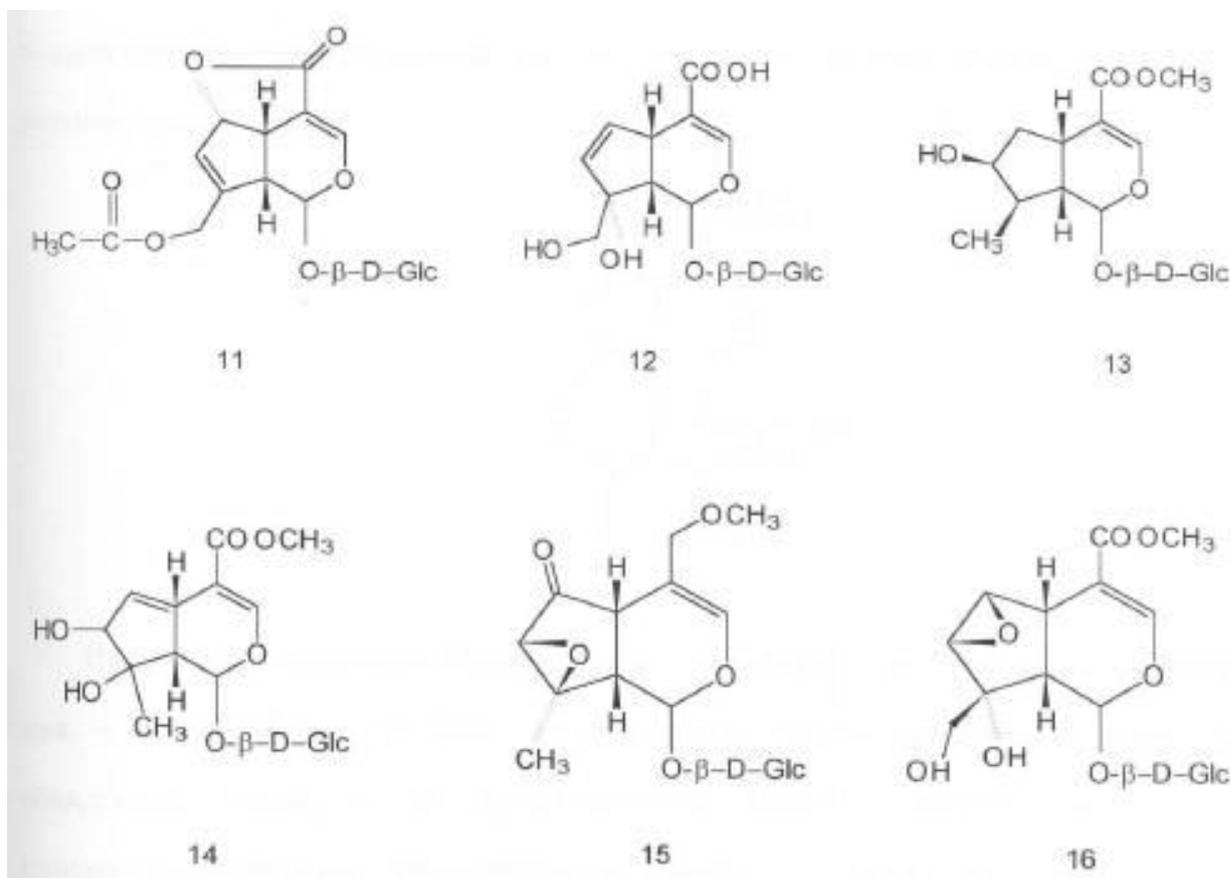


9

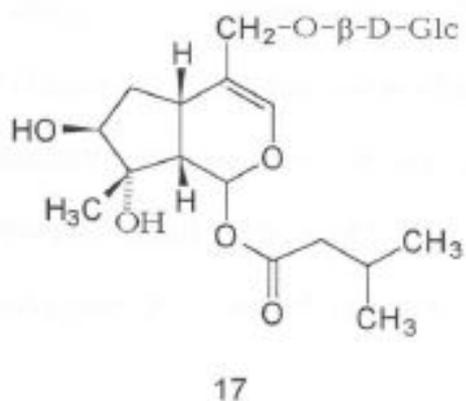


10

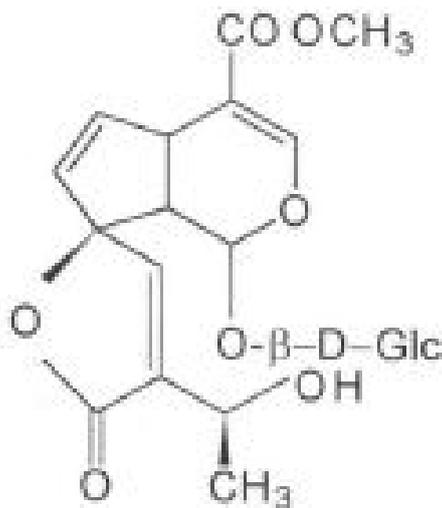
По тем же признакам иридоидные гликозиды типа С - 10 подразделены на группы асперулозида (11), монотропеина (12), логанина (13), гентиозида (14), ирингок - сида (15) и б (3, 7 (3 - эпокси - силенозида (16).



Отдельную группу С-10 типа иридоидных гликозидов составляют гликозиды, характеризующиеся наличием гликозилоксизаместителя не при С-1, а при С-11, подобно валерозидатулиду (17).



Последний тип - С - 14 - иридоидные гликозиды (тип плумиерида (18)), скелет которых содержит на четыре углеродных атома больше, чем монотерпены. Однако, их причисляют к иридоидным гликозидам на основании наличия в их структурах тетрагидроциклопентанпирановой системы (1) и их биогенетической общности с другими иридоидами.



18

1.2 РАСПРОСТРАНЕНИЕ В РАСТИТЕЛЬНОМ МИРЕ

Иридоиды довольно широко распространены в растениях таких семейств, как *Scrophulariaceae*, *Plantaginaceae*, *Rubiaceae*, *Nobulariaceae*, *Gentianaceae*, а также в отдельных видах семейства *Lamiaceae*.

Иридоиды являются важным хемосистематическим признаком, помогающим решать вопросы таксономии растений. При этом существенное значение имеет степень окисленности иридоидных соединений; предполагают, что имеет место ее увеличение в процессе эволюции видов [10]. Так, при анализе распространения иридоидных соединений в родах и видах семейства норичниковых установлено, что три из пяти исследованных видов рода *Odontites* содержат иридоиды 3 типов, которые не обнаруживаются в других родах (за исключением филогенетически близкого рода *Orthantha*)

аукубин, изокаталпол и каталпол, причем характерными являются аукубин - 8 - ацетат, одонтозид и ацетилодонтозид [11,12].

Богатым источником иридоидных соединений считаются виды семейства *Lamiaceae*. Распределение иридоидов в этом семействе также имеет хемотаксономическое значение. Например, ламиол и ламиозид обнаружены в яснотке-*Lamium* и зеленчуке-*Galeobdolon*, а гарпагид—только в дубровнике *Melampyrum*. Иридоидные гликозиды не найдены только в подсемействе *Satureoideae*, но оно в отличие от других богато эфирными маслами, в состав которых входят цитраль (один из предшественников иридоидов) и непетолактон (первый представитель иридоидов в семействе, выделенный из эфирного масла котовника обыкновенного).

Иридоиды обнаружены в видах 22 родов, относящихся к подсемействам *Ajugoidae*, *Scutellarioidae*, *Stachyoidae*. Эти соединения представлены в основном гарпагидом, гарпагид - 8 - ацетатом и гарпагозидом в надземных частях 11 видов живучки и 18 видов дубровника.

Иридоидные гликозиды обнаружены во всех органах растений класса двудольных - *Dicotyledones*. Из 325 семейств этого класса иридоидные гликозиды обнаружены только в 33 представителях. Наиболее богаты иридоидными гликозидами семейства *Scrophulariaceae*, *Rubiaceae*, *Lamiaceae*, *Verbenaceae* и *Bignoniaceae*. Однако, принимая во внимание количество родов и видов в семействах, на первое место по количеству иридоидных гликозидов следует вывести монотипные семейства *Adoxaceae*, *Eucotmiaceae*, *Daphniphyllaceae*, а также небольшие семейства *Glob* и *Iaria селе*, *Fouquieriaceae* и *Plantaginaceae* [13].

В растениях иридоиды локализуются в различных органах: в соцветиях - коровяк мучнистый *Verbascum lychinitis*, цветах - к. скипертовидный *V. thapsiforme Schrad.*, листьях - к. выемчатый *V. sinuatum*, во всей надземной части - норичник бокоцветковый *Scrophularia lateriflora Traut.*, в корнях и

основаниях стебля - педикулярис болотный *Pedicularis palustris L.*, во всем растении - подорожник азиатский *Plantago asiatica* и т. д. [12, 14, 15].

Пристальное внимание к этой группе соединений в последнее время в различных странах Европы, Америки, Азии (особенно Японии) обусловлено их биологической активностью. Аукубин и его производные оказались эффективными антибиотическими веществами.

Поскольку объектами нашего исследования выбрали растения рода *Eremostachys*, произрастающие в Узбекистане, нами сделана попытка обобщить литературные данные об изучении указанных растений на содержание иридоидов.

1.3 ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Иридоиды - бесцветные кристаллические или аморфные (вербаскозид А и др.) вещества с температурой плавления от 50 до 300°C, в большинстве своем легко растворимые в воде и низших спиртах. Однако встречаются иридоиды, трудно растворимые в воде и лучше в этилацетате, например одонтозид 5 - п - кумароилаукубин.

1.4 ОБНАРУЖЕНИЕ ИРИДОИДОВ В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ

Для доказательства присутствия в растениях иридоидных соединений наиболее часто используют реакцию - Трим - Хилла [16]. Спиртовое извлечение из растительного сырья, освобожденное от пигментов экстракцией хлороформом, прибавляют к смеси, состоящей из 5 мл концентрированной, соляной кислоты, 10 мл 0.2% раствора сульфата меди и 100 мл ледяной уксусной кислоты (реактив Трим - Хилла). Жидкость нагревают до кипения и через 1 - 2 мин при наличии иридоидов наступает более или менее интенсивное голубое окрашивание.

Хотя указанная реакция является общепринятой, некоторые иридоиды (например, вербеналин, логанин, плюмирид), ею не выявляются. Для более достоверного суждения о содержании иридоидов в растениях можно использовать бумажную хроматографию и более удобный метод хроматографии в тонком слое силикагеля. Определенной комбинацией различных систем растворителей удастся достигнуть разделения всех иридоидов [17].

В качестве растворителей в хроматографии на бумаге пригодна, смесь Патриджа - н - бутанол - уксусная кислота - вода (БУВ) 4:1:5 (I), а также системы, в которых уксусная кислота заменена метиловым спиртом для предотвращения гидролиза гликозидов типа аукубина, - бутанол - метанол - вода 4:1:5 (II) и н - пропанол - вода 4 :1 (III).

Обычно для ТСХ используют этанол в комбинации с менее полярным растворителем (ацетон, этилацетат или хлороформ). В качестве стандартного растворителя наиболее пригодна система этанол - хлороформ в соотношениях 1:1 (IV) и 3:7 (V) и этанол - ацетон 3:7 (VI), этанол - этилацетат 1:1 (VII).

После высушивания хроматограмму опрыскивают одним из реактивов. Чаще всего используют кислые реагенты (2 н. серная кислота или метанольный раствор трихлоруксусной кислоты), реагенты на сахар (анисовый альдегид - серная кислота и раствор анилин - фталата), а также реактив Бэкон - Эдельмана (0,5 г бензидина и 10 г уксусной, кислоты в 100 мл этанола). Обработанные хроматограммы нагревают 15 мин в сушильном шкафу при 110°C.

После проявления последним реактивом иридоиды в зависимости от строения чаще всего окрашиваются от лимонно - желтого до коричневого цвета: каталпол дает желтовато - розовую и коричневую окраску, а в УФ - свете - яркую лимонно - желтую флуоресценцию; аукубин - лимонно -

желтую окраску. Однако известны иридоиды, окрашивающиеся при этом в сине - фиолетовый цвет [18].

Для обнаружения иридоидов хроматограмму, полученную вышеописанным способом, опрыскивают реактивом Трим - Хилла. При их наличии получают пятна синего цвета с различными оттенками [12]. Кроме того, в микроаналитической практике находит применение реактив Шталя, для приготовления которого 1 г п-ди-метиламинобензальдегида (п-ДМАБА) растворяют в смеси 5 г фосфорной и 50 г уксусной кислот и разбавляют водой до 100 мл [19]. В этом случае наблюдаются пятна синего цвета с зеленоватым или серым оттенками. Аукубин и каталпол обнаруживаются в виде соответственно сиреневого и темно - синего пятен.

Пример 1. 1 г измельченного воздушно - сухого сырья, исчерпывающе обрабатывают хлороформом в аппарате Сокслета, затем сырье высушивают, заливают 10 мл 70% этанола и оставляют на сутки при периодическом перемешивании. Спиртоводный экстракт сгущают в вакууме, хроматографируют на бумаге в системе БУВ 4:1:2 и высушенные хроматограммы проявляют реактивом Шталя. В зависимости от структуры иридоиды на хроматограммах проявляются в виде коричневого, зеленого и синего пятен [20].

Пример 2. К навеске сырья приливают 50% этанол (1:5) и оставляют на 24 ч (периодически встряхивают). К отфильтрованной жидкости добавляют активированный уголь (0,4 г на 5 мл), смесь оставляют на 30 мин при комнатной температуре и затем отфильтровывают, промывая фильтр 50% этанолом. Фильтрат хроматографируют на бумаге в системе Бензол - Уксусная кислота - Вода (4:1:5). Детекцию веществ осуществляют 1 % раствором п - ДМАБА в смеси этанол - хлористо - водородная кислота, (2:1), нагревая хроматограммы при 80°C в течение 5 мин. При этом аукубин обнаруживается в виде серо - голубого пятна [14].

Пример 3. Сухие измельченные листья и соцветия коровяка грузинского *Verbascum georgicum* настаивают с метанолом (1:5). Сгущенные под вакуумом мета - нольные извлечения до 0,6 л разбавляют водой до 1 л и промывают последовательно бензолом (4x0,5 л), хлороформом (4x0,5 л), эфиром (8x0,5 л) и этилацетатом (6x0,5 л). Очищенный водный раствор анализируют методом БХ в системе БУВ (4:1:5), обнаруживая иридоиды реактивом Бэкон - Эдельмана. В отдельной пробе сахар выявляют анилинфталатным реактивом. В результате получают пятна оранжевого и серого цвета.

1.5. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Для установления количественного содержания иридоидов используют фотоэлектродиметрический метод, основанный на получении окрашенных соединений с вышеназванными реактивами.

Пример 1. Около 1 г измельченного сырья (т. м.) растирают в течение 15 мин с 50 мл 50% этанола, смесь оставляют в закрытом сосуде на 24 ч при комнатной температуре. Затем жидкость отфильтровывают через бумажный фильтр и промывают на фильтре 50% этанолом до исчезновения реакции на присутствие аукубина в фильтрате. К фильтрату добавляют активированный уголь в количестве 0,4 г на 5 мл и смесь оставляют на 30 мин при комнатной температуре. Уголь отфильтровывают и промывают трижды по 5 мл 50% этанолом, получая основной раствор для колориметрических определений.

Эталонный раствор. 0,0022 г аукубина растворяют в 25 мл 50% этанола. Готовят 8 проб с возрастающей концентрацией от 44 до 352 мг аукубина. Каждую пробу доводят до 5 мл 50% этанолом и затем прибавляют по 1 мл 0,5% спиртового раствора п-ДМАБА и 1 мл концентрированной HCl, нагревают при температуре 65°C в течение 8 мин, затем охлаждают 15 мин на водяной бане при 20°. Параллельно готовят - контрольный опыт, беря вместо раствора аукубина: 5 мл 50% этанола. Оптическую плотность

окрашенных растворов (в голубой цвет) измеряют со светофильтром в кюветах с толщиной слоя 1 см против контрольного раствора. В аналогичных условиях колориметрируют опытные образцы.

Содержание аукубина в 13 видах растений сем. *Scrophulariaceae* колебалось в пределах от 0,08 до 5,11%.

Пример 2. 0,2г измельченного растительного сырья (т. м.) перемешивают с небольшим количеством - кальция карбоната и трижды экстрагируют эталолом по 30 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. Объединенные фильтраты (30 мл) упаривают в вакууме досуха, остаток обрабатывают петролейным эфиром. К очищенному остатку прибавляют 5 - 10 мл дистиллированной воды и раствор фильтруют через небольшую колонку с нейтральным оксидом алюминия (1x10 см), после чего колонку промывают водой до получения 20 мл фильтрата; 1 мл исследуемого раствора смешивают с 0,5 мл реактива Трим-Хилла, 2,5 мл 50% уксусной кислоты и нагревают в течение 15 мин при 70°C. Полученный раствор синего цвета охлаждают и перемешивают в течение 5 мин. Для сравнения используют смесь из 50% уксусной кислоты, реактива Трим-Хилла и воды (5:1:2). Фотоэлектроколориметрирование (ФЭК) проводят в кюветах с толщиной слоя 0,5см с желтым светофильтром. Содержание иридоидов определяют по колориметрической кривой, полученной для аукубина[12].

1.6 МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ И РАЗДЕЛЕНИЯ ИРИДОИДОВ

В настоящее время не существует общего метода выделения иридоидов. Учитывая гидрофильный характер этих соединений, доминирующим подходом к их изолированию является экстракция растительного материала низшими спиртами и водно - метанольными (или этанольными) смесями, освобождение экстрактов от красящих и липофильных веществ с последующим разделением методом распределительной колоночной хроматографии.

При этом измельченное растительное сырье предварительно обрабатывают тем или иным реагентом для нейтрализации органических кислот, очищают от хлорофилла, жиров и удаляют фенольные соединения. В некоторых случаях при неоднократной перекристаллизации из смеси иридоидов получают индивидуальные вещества. Разделение проводят также методом колоночной хроматографии на капроне, элюируя комбинацией различных систем растворителей, а также препаративной хроматографией на бумаге.

Пример 1. Выделение иридоидов из зубчатки поздней *Odontites serotina* [6]. Воздушно - сухое растительное сырье смешивают с карбонатом кальция (10:1) и подвергают исчерпывающей экстракции 50% метанолом на водяной бане при 60°C. Объединенные экстракты после фильтрования концентрируют в вакууме до водного остатка, который упаривают до половины объема и обрабатывают петролейным эфиром для очистки от хлорофилла, жиров и других балластных веществ. Затем водный раствор фильтруют через колонки (5x10 см) с капроном и оксидом алюминия. Фильтрат упаривают досуха, остаток растворяют в небольшом количестве этанола и примеси сапонинов, резервных углеводов и др., осаждают ацетоном. Выпавший осадок собирают на фильтре, а спиртоацетоновый фильтрат, содержащий сумму иридоидов, концентрируют. В холодильнике смесь иридоидов осаждается в виде кристаллического порошка бледно - желтого цвета, горького вкуса и растворимого в теплой воде и в спирте. Выход - 1,5% в пересчете на абсолютно сухую массу растения.

Выделение одонтозида из смеси иридоидов. 3,3 г порошкообразной смеси иридоидов растворяют в теплой воде и одонтозид исчерпывающе экстрагируют этилацетатом. Этилацетатный экстракт упаривают в вакууме досуха, остаток растворяют в минимальном количестве горячей воды и оставляют на ночь в холодильнике. При стоянии образуется желеобразная масса, которая затем кристаллизуется в виде белых крупных розеток.

Кристаллы отфильтровывают, перекристаллизовывают из безводного этилацетата

Выделение аукубина. Водный раствор после обработки этилацетатом упаривают досуха, остаток растворяют в небольшом количестве этилового спирта, после стояния выпадает осадок, который отфильтровывают промывают этилацетатом и высушивают.

Пример 2. Цветки коровьяка скипетровидного *Verbascum thapsiforme Schrad* экстрагируют исчерпывающе этанолом, экстракт помещают на колонку с активированным углем и силикагелем и с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии ВЭЖХ с обращенной фазой выделяют иридоидные гликозиды[15].

Пример 3. Надземную часть глобулярии карликовой *Globularia pappi* обрабатывают петролеином эфиром. Обезжиренный остаток экстрагируют метанолом полученный экстракт концентрируют досуха, остаток обрабатывают водой, водный слой помещают на колонку с нейтральным оксидом алюминия. Гликозидную фракцию элюируют водой, рехроматографируют на колонке с силикагелем, выделяя сумму иридоидов системой хлораформ - метанол - вода 80:20:1. Затем с помощью ВЭЖХ получают индивидуальные иридоиды [22].

1.7 ПРИМЕНЕНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ МЕТОДОВ ПРИ ДОКАЗАТЕЛЬСТВЕ СТРОЕНИЯ ИРИДОИДОВ

Методы определения строения иридоидных гликозидов, базирующиеся на широком использовании инструментальных методов (ИК -, УФ -, масс -, ПМР-, ¹³С-, ЯМР-спектроскопия), подробно описаны в различных источниках [2,23 - 31].

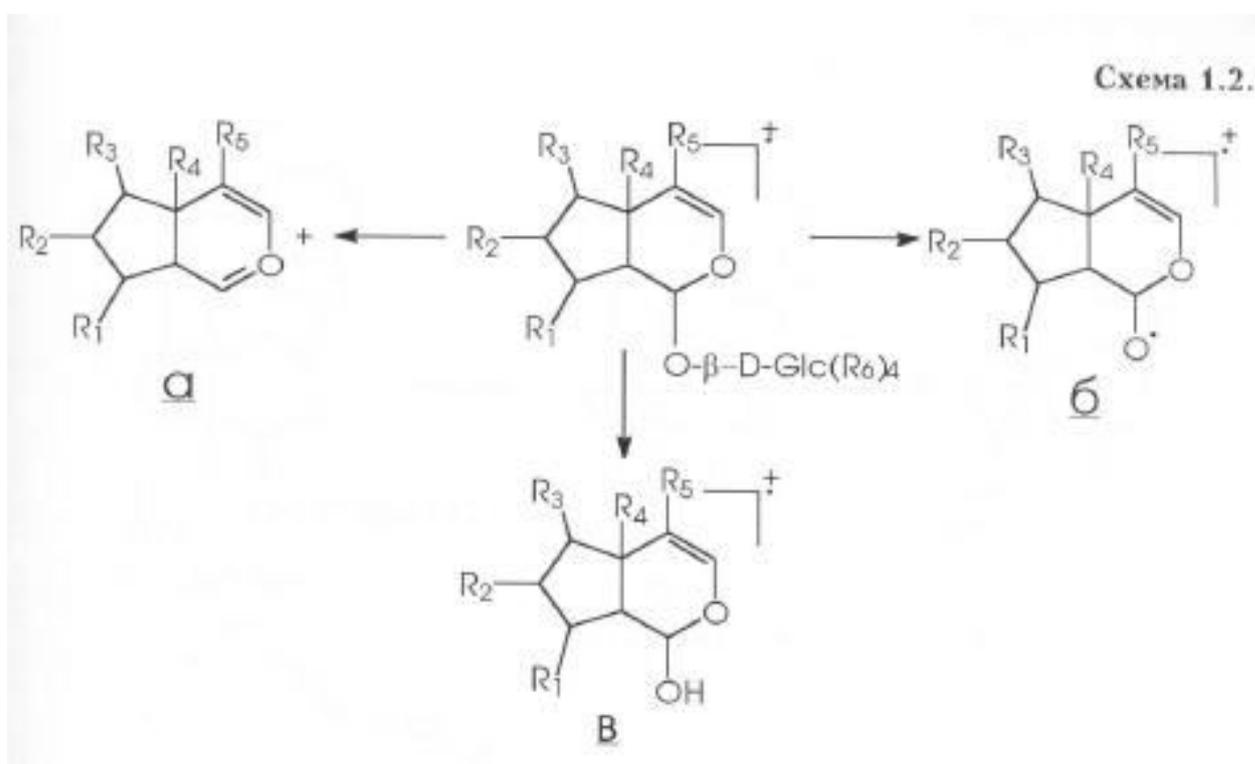
1.7.1. МАСС - СПЕКТРОМЕТРИЯ ИРИДОИДОВ

При выяснении строения и стереохимии иридоидов широко используются различные физико - химические методы анализа.

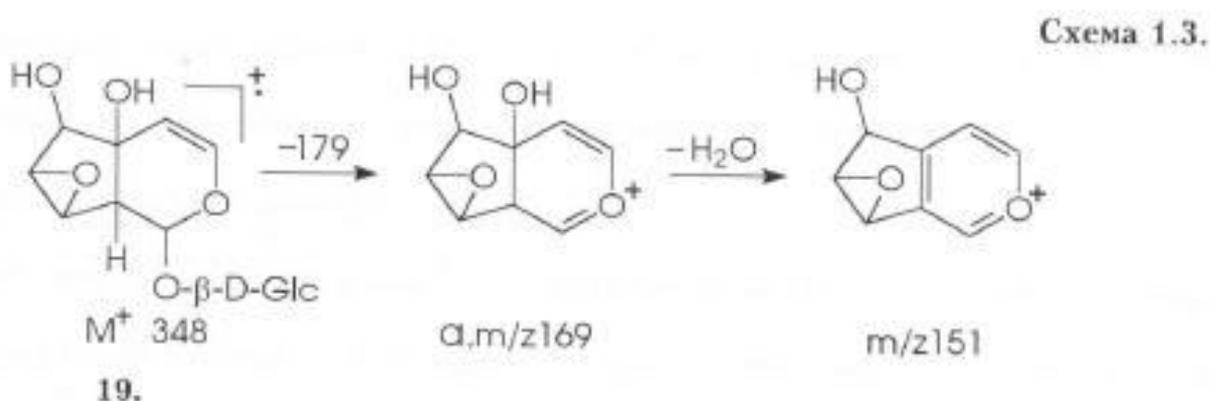
Органическая масс - спектрометрия, как известно, является одним из наиболее информативных методов для установления строения ряда классов соединений, как природного, так и синтетического характера.

Однако, в исследовании структур иридоидов этот метод не получил широкого применения: во-первых, из - за "плохой летучести" этих соединений под электронным ударом. Во-вторых, поскольку иридоиды полифункциональны, то в результате масс - спектрометрирования образуется множество фрагментов, что усложняет спектры.

Несмотря на это указанный метод успешно был использован для установления строения отдельных фрагментов. Полученные сведения о фрагментах, образованных при отщеплении от молекулы углеводной части, показывают, что этот процесс может протекать тремя путями, давая фрагменты а, б и в [28] (схема 1.2).

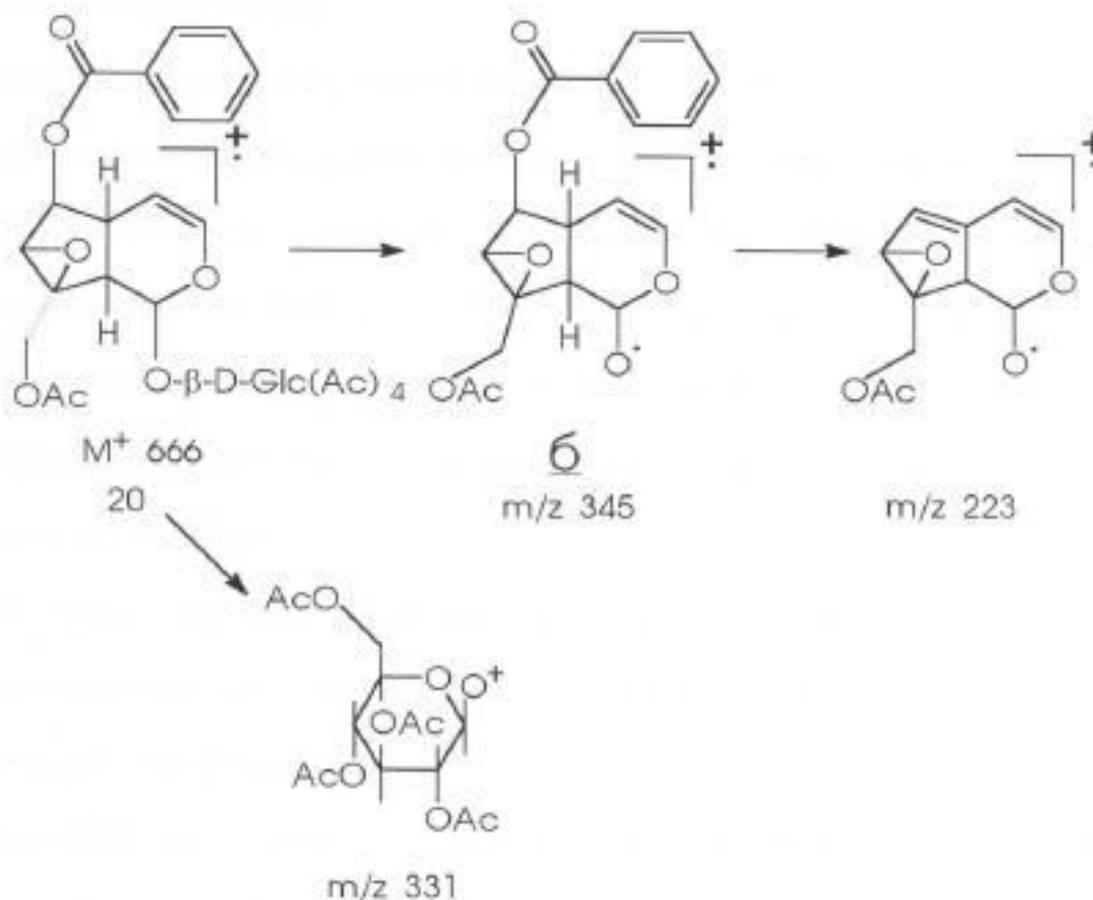


Из литературы известно [32,33,34], что ионы серии а в большинстве случаев обладают достаточной устойчивостью, которая достигается ароматизацией иона. В схеме 1.3. на примере стильберикозида (19) показан способ образования данного иона и его дальнейший путь фрагментации с удалением молекулы воды.



Осколки ионов серии б можно наблюдать при распаде пентаацетата вероникозида (20) [35]. Здесь уместно отметить, что ацетатные производные наиболее приемлемы для масс - спектрометрических исследований иридоидных гликозидов. Однако, при этом в спектре доминирующими являются пики ионов ацетилированных сахарных остатков (схема 1.4)

Схема 1.4.



Фрагментация иона в подробно показана в работе [28]. При этом можно наблюдать элиминирование воды с образованием иона г, дальнейшая фрагментация которого зависит от наличия и типа заместителей в циклопентановом кольце и в положении С-4 иридоидного ядра.

Второй путь фрагментации иона заключается в разрыве трех связей, распада типа ретро - Дильса - Альдера с образованием двух ионизированных осколков.

Вследствие наличия в молекуле иридоидов сахарных остатков и других полярных групп масс - спектры электронного удара иридоидов не дают ценную информацию о молекулярной массе и, тем более, о структуре молекулы [28]. Причем, в данном режиме перацетатные и перметилированные производные иридоидов главным образом показывают

пики стабильных ионов, относящихся к сахарной части молекулы и ее фрагментам [2].

Появление в арсенале масс - спектрометрии разных способов "мягкой" ионизации таких, как бомбардировка быстрыми атомами (ББА), вторично - ионной масс - спектро - метрии (ВИМС), полевой и лазерной десорбционной масс - спектрометрии (ПДМС и ЛДМС), очень сильно расширило круг исследуемых веществ этим методом, особенно немодифицированных полярных термолабильных соединений [30,36 - 41].

Развитие этих методов способствовало внедрению масс - спектрометрии в исследование иридоидов [30, 42 - 44].

По этой причине мы задались целью рассмотреть поведение иридоидов в условиях вторично - ионной масс - спектрометрии (ВИМС) с использованием в качестве жидкой матрицы глицерина [45].

1.8. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ИРИДОИДНЫХ ГЛИКОЗИДОВ

Иридоидные гликозиды рассматриваются в настоящее время как перспективный для поиска новых лекарственных препаратов класса природных соединений.

Фармакологическое изучение иридоидов, выделенных из разных растений, подтверждает, что эти соединения обладают довольно широким спектром действия. Было обнаружено, что в большинстве случаев носителем биологической активности является агликоновая часть молекулы, и как правило, агликон превосходит по своей активности гликозид.

Испытания ряда иридоидных гликозидов показали, что их антимикробная активность наблюдается лишь в присутствии (3 - глюкозидазы [47 - 49]. Это однозначно указывает на агликоны, как на активное начало. Предположили, что антимикробная активность агликонов обусловлена их реакцией в

альдегидной форме с ферментами микроорганизмов [50]. Наибольшую антимикробную активность проявляет агликон аукубина.

Среди иридоидных гликозидов обнаружены соединения с противоопухолевой активностью. Ямаухи и др. выделили протоплюмерицин [51-52], рассматриваемый ими как иридоидный источник для получения плюмерицина [53], обладающего антилейкемической активностью. Такой же активностью обладает пенстемид [54].

В китайской медицине для лечения некоторых видов опухолей применяется надземная часть гедайотиса диффузного - *Hedyotis diffusa Willd.* (сем. *Rubiaceae*), содержащая помимо других биологически активных соединений и асперулозид [55, 56]. Плюмерицин - обладающий также антимикробной активностью, применяется при различных заболеваниях кожи [50, 57].

Препарат стахиридин представляет собой смесь иридоидных гликозидов: гарпагида, ацегилгарпагида, гарпагозида и аюгола, проявляет выраженную желчегонную активность и рекомендован для лечения заболевания печени и желчных путей [58]. В Институте химии растительных веществ введен в медицинскую практику препарат "Ирихол" - гарпагид (1) и ацетилгарпагид (2), обладающий гепатозащитным и желчегонным, также лактостимулирующим действием, созданный на основе иридоидов, выделенных из *Ajuga turkestanica* [59, 60].

Японскими учеными запатентован ряд желчегонных препаратов на основе иридоидных гликозидов [61 - 64].

Валопатриаты используются в качестве седативного средства при вегетативных расстройствах [50, 65]. Смесь иридоидных гликозидов - одонтозид и аукубин, обладает выраженным свойством повышать выносливость организма к комбинированному стрессу и повышать физическую работоспособность [66].

Аукубин оказывает стимулирующее воздействие на выделение мочевой кислоты из почек [67], а также применяется в случае дерматомикозов, при астме и язвенной болезни пищеварительного тракта [47, 68].

Сумма иридоидов коры калины оказывает сильно выраженное кровоостанавливающее действие [69].

Сузуки И. установлено диуретическое свойство плодов *Catalpa*, которое обусловлено наличием в них иридоидных соединений: каталпозида и каталпола [70].

Секоиридоид - гентиопикрозид [71], выделенный из разных видов растений рода *Gentiana L.*, обладает жаропонижающим, болеутоляющим и желчегонным действием. Кроме того, для гентиопикрозида выявлено противовоспалительное действие [72].

Для многих иридоидов характерна слабительная активность. Было установлено, что для максимального проявления этой активности необходимо наличие карбо - метоксильной группы при С-4 агликоновой части молекулы. Введение же гидроксильной группы в положении С - 6 ведет к снижению активности [73].

Ряд иридоидных гликозидов проявляет выраженную антифидантную активность, например, иполамиид, по отношению к некоторым видам гусениц, каталполовые иридоиды - по отношению к насекомым, ведущим ночной образ жизни, а также известна ядовитость иридоидных гликозидов для членистоногих [2].

1.9. ИРИДОИДЫ В ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Нони (*Morinda Citrifolia Linn.*) испокон веков является популярным лекарственным растением среди широкой области тропических регионов, таких как Южная Азия, Карибский бассейн и острова Тихого океана. В дополнение к хорошо известным плодам растения нони, его листья, семена, корни, и цветки также традиционно используются для

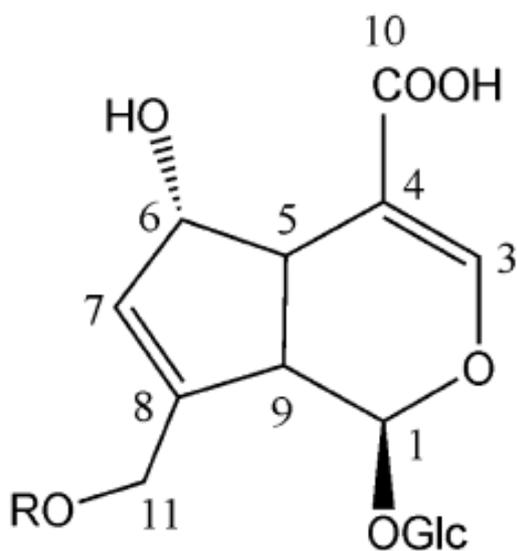
лечения многих недугов, включая артрит, инфекции, рак, диабет, воспаления, боли и многих других (McClatchey, 2002; Wang и др., 2002). Корни традиционно использовались в качестве слабительного и жаропонижающего средства, а также применялись наружно для обезболивания. Листья помогали для заживления язв и ран, вместе с плодами становились эффективны при проблемах горла, а также ушибах, фурункулах, и ранениях.

В последнее десятилетие многие научные исследования были проведены на тему химических компонентов нони. В этом растении обнаружены аминокислоты, антрахиноны, жирные кислоты, флавоноиды, иридоиды, лигнаны, полисахариды, стерины, сахара и терпеноиды. Не смотря на то, что для плодов, листьев, корней, семян и цветов нони наблюдались различные химические профили, эти части растений могут иметь общие фитохимические компоненты, например, вездесущие флавоноиды. Кроме того, иридоиды, выделенные из плодов нони, листьев и корней, могут являться биохимической характеристикой разных частей растения нони. Иридоиды обычно присутствуют в виде гликозидов, являясь важнейшим таксономическим биомаркером растений семейства *Rubiaceous* (Inouye и др., 1988), (Dinda и соавт., 2007a).

Основными биологически активными компонентами нони являются иридоиды. Химическая структура иридоидов: асперулозидная кислота (AA): $R = Ac$, деацетиласперулозидная кислота (DAA): $R = H$ (20).

Доказано научными исследованиями, иридоиды противостоят образованию свободных радикалов, контролируют холестерин, повышают энергию, поддерживают здоровье сердца, повышают иммунитет в организме, снижают воспаление, предотвращают мутацию клеток и поддерживают здоровую мозговую активность. Иридоиды – мощные фитохимикалии, которые присутствуют в растениях в качестве защиты против инфекций и

других вредных воздействий на них. Иридоиды присутствуют в растениях и очень редко присутствуют во фруктах.



DAA: R = H
AA: R = COCH₃

20

Биологически активные фитохимикалии, которые редко встречаются во фруктах. Отличаются от флавоноидов, которые можно найти в большинстве фруктов. Обладают широким спектром биологического воздействия. В отличие от флавоноидов, стабильны и устойчивы к распаду при переработке и хранении. Являются основными биологически активными компонентами в соке *Tahitian noni*. Биологически активные компоненты – вещества растительного происхождения, обладающие оздоровительными свойствами.

Издавна существует связь между растениями и людьми Нони – лекарственное растение. Эффективность лекарственных растений напрямую связана с биологически активными компонентами, которые они содержат, и био - доступностью этих компонентов. Лекарственные растения содержат биологически активные вещества, способные улучшать здоровье. Целый ряд факторов воздействует на биодоступность вещества, включая стабильность и растворимость. Чем стабильнее компонент, тем лучше он противостоит химическому распаду под воздействием света, тепла, воздуха и пр. Высоко растворимые компоненты быстро разносятся кровью по организму и

27

поглощаются клетками. Биологически активные вещества – химические компоненты, подобные витаминам и минералам, которые необходимы для протекания биологических процессов в организме *Нони* содержит необычайно широкий диапазон биологически активных компонентов, включая иридоиды, лигнины, кумарины, полисахариды, флавоноиды и жирные кислоты.

Нони – это не сказочный фрукт, это чудодейственное растение, сок из которого, сок TANI-TIAN NONI действительно работает, и мы знаем почему! В течение последних 50 лет изучался биохимический состав плода нони, что позволяет нам утверждать, что все заявления о благотворном воздействии продуктов из нони на организм человека верны. И с каждым днём всё новые и новые исследования доказывают нашу правоту. Компании принадлежит научно - исследовательская лаборатория, единственная в мире, которая занимается исследованием только одного растения – нони. Данной лабораторией руководят и ведут работу учёные мирового класса. Именно потому, компания основывается в своей работе над созданием новой продукции на научных исследованиях и разработках.

Не смотря на то, что наука продвинулась далеко вперёд на пути изучения нони, первоначальное заявление не теряет своей актуальности - нони даёт только пользу. В последнее время, новые компании, продающие сок из супер - фруктов, большой акцент делают на содержании в них флавоноидов и полифенолов, однако они содержатся во многих фруктах. Также, флавоноиды не могут считаться устойчивыми к внешнему воздействию. Они распадаются при хранении и в процессе переработки (пастеризации) Иридоиды, в отличии от флаваноидов и полифенолов, устойчивы к внешнему воздействию. Синтез иридоидов – это сложный биохимический процесс, их можно отнести к группе веществ, называемых фитохимикалиями. D – аспарагиновая кислота, которая присутствует в соке TANI-TIAN NONI обладает широким спектром воздействия на организм человека. Он

сохраняет биоактивные иридоиды, которые не содержатся в обычной пище. И благодаря тому, что иридоиды являются очень устойчивыми к внешнему воздействию, вы можете быть уверены, что с каждой бутылкой сока TANIPIAN NONI мы получаем максимальное количество полезных веществ, которые можно найти в свежем фрукте нони.

Исходя из этого, нами была поставлена задача найти отечественное растение, которое содержит в себе большое количество иридоидов, и таким образом создать конкурентоспособный продукт.

ГЛАВА II. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из надземной части растения *Eremostachys sp*, произрастающего на Сурхандарьинской области, выделены суммы иридоиды. В связи с этим для создания препарата из *Eremostachys sp* в качестве пищевых добавок, нами была разработана схема выделения суммы иридоидов.

Разработанная схема получения суммы иридоидов из надземной части *Eremostachys sp* состоит из следующих стадий:



2.1. Характеристика сырья и материалов.

№	Наименование сырья, материалов и полупродуктов	Государственный или отраслевой стандарт, технические условия, регламент или методика на подготовку сырья	Показатели обязательные для проверки	Регламентируемые показатели с допустимыми отклонениями
Основные				
1	Надземная часть <i>Eremostachys sp</i> не менее 2 - х летнего возраста	ГОСТ 3448 - 78	Влажность - 9,42 %. Содержание иридоидов до 8,5 %.	
2	Метиловый спирт	Марка «Ч» ГОСТ 6995 - 67		
3	Бутанол - 1	Марка «чда» ГОСТ 6006 - 78		
4	Хлороформ	Марка «Ч» ТУ 6.07.3212 - 94		
Вспомогательные материалы				
6	Бумага фильтровальная	ГОСТ 12028 - 81Е		
7	Бумага этикеточная	ГОСТ 7625 - 55		
8	Банки стеклянные	ОСТ 64 - 2 - 71 - 8		
9	Крышки	ОСТ 64 - 2 - 87 -		

	пластмассовые	81		
10	Силикагель	Марка КСК		
11	Гипс (CaSO ₄ * 2H ₂ O)	ГОСТ 3210 - 66		
12	Пластинки Silufol	UV - 254		
13	Вода дистиллированная	ГОСТ 6709 - 72		

2.2. Технологическая схема

№ п.п.	Наименование сырья	Этап	Наименование операции	Наименование полупродуктов
1	Надземная часть <i>Eremostachys sp</i>	Этап 1	Измельчение растит. сырья и просеивание	Измельченное сырье
2	Спирт метиловый, измельченное сырье	Этап 2	Экстракция 6 - и кратная	Метанольный экстракт на этап 3
3	Метанольный Экстракт	Этап 3	Упаривание	Густой экстракт на этап 4. Отгон метанола на этап 2
4	Густой экстракт, вода дистилл.	Этап 4	Разбавление водой	Водно - метанольный раствор экстракта
5	Водный раствор экстракта, хлороформ	Этап 5	Обработка водного раствора хлороформом 5 раз.	Хлороформное извлечение, на этап 3. Отгон хлороформа на этап 5, остаток на выброс.
6	Водный раствор	Этап 6	Обработка	Бутанольное

	экстракта, н - бутанол, насыщенный водой		бутанолом (7 раз.)	извлечение (этап 3). Отгон н - бутанола на этап 6 сухой остаток на этап 7.
7	Сухой остаток	Этап 7	Растирание в порошок	Бутанольное извлечение в виде порошка на этап 8.
8	Бутанольное извлечение (порошок), система хлороформ - метанол	Этап 8	Обработка порошка системой хлороформ - метанол (9:1) (7 раз).	хлороформ – метанольное (9:1) извлечение на этап 3. твердая фаза (не раствор количе.) обработки на этап 9. остаток после упаривания смеси на этап 7, затем 10. Отгон растворителей на утилизацию.
9	Бутанольное извлечение (порошок), после обработки системой хлороформ - метанол	Этап 9	Фильтрование, сушка	Фильтрат их этап 2,
10	Остаток после упаривания смеси хлороформ - метанол	Этап 10.	Сушка размол, просеивание, упаковка.	Склад

3.3. Аппаратура

Наименование	Количество	Материал	Техническая характеристика
1	2	3	4
Этап 1. Измельчение сырья			
Мельница	1	Чугун	Тип ДДК, п/е 385 ⁻¹ , производитель. 100 кг/час, дм отверстий сита 6 мм, загрузка и выгрузка вручную.
Этап 2. Экстракция иридоидов из сырья			
Весы	1		Электронные ЭЛ.
Экстрактор	1	Стекло	Баллон, емк. 20,0 л
Мерник	1	Стекло	Цилиндр емкостью 2,0 л
Термометр	1	Стекло	Ртутный, ГОСТ 215 - 57, диапазон измерений 0 - 250 ⁰ С
Сборники	2	Стекло	Баллон. емк. 5,0 л
Фильтр		Бязевое полотно	Размер 20x20 см
Воронка для слива	1	Стекло	Воронка химическая, дм 200 мм.
Этап 3 Упаривание экстрактов			
Роторный испаритель	1	Металл, стекло	Тип РВО - 64, 220 В, 50 Гц, 100 ВА, регул. числа оборот. 45 - 125 об/мин. Разрежение 0,88 кг/см ² , Прага, Чехословакия.
Плитка электрическая	1	Металл	
Водоструйный насос	1	Стекло	Разрежение 10 - 14 мм. рт. ст.

Этапы 4, 5, 6 обработка суммы экстрактивных хлороформом, бутанолом, системой хлороформ – метанол (9:1)			
Колбы плоскодонные	4	Стекло	Объем 1,0 и 2,0 литра
Делительная воронка	1	Стекло	Объем 1,0 литр
Мерный цилиндр	1	Стекло	Емкость 1,0 л
Этап 7,8 Сушка, размол, просеивание и упаковка			
Воронка Бюхнера	2	фарфор	Дм 125 и 100мм.
Колба Бунзена	1	Стекло	Емк. 2,0 л
Вакуум эксикатор	1	Стекло	Дм 220 мм, высота 250 мм.
Ступка	1	фарфор	Дм 130 мм.
Сита	1	Медь	Размер отверстий 0,063 мм, производ. ГДР.
Банки с навинчивающимися крышками		Стекло, пластмасса	ОСТ 64 - 2 - 71 - 8 ОСТ 64 - 2 - 87 - 81

2.4. Изложение технологического процесса

Подготовка сырья. Надземную часть *Eremostachys sp* 3 кг измельчают на кулачковой мельнице. Измельченное растение просеивают через сито с размером отверстий не более 0,6 см. Получают 2,93 кг готового к экстракции сырья с содержанием экидистерона 247,35 мг (8,5 %).

Наименование аппарата	Наименование процесса	Наименование технических показателей			
		Количество загружаемого сырья	Кол - во получаемого сырья	Размер частиц	Потери
Мельница	измельчение сырья	3,0 кг	2,93 кг	4-6 мм	0,07 кг

3.5.Экстракция сырья. Измельченную надземную часть *Eremostachys sp* в количестве 810 г загружают в стеклянную бутылку емкостью в 20 л, заливают 5 л метанола и настаивают при комнатной температуре 18 часов, периодически встряхивая. Затем экстракт сливают через бязевое полотно, в сборник, а оставшееся сырье заливают новой порцией метанола (5 л), снова настаивают 10 - 12 час.

Таким образом, экстракцию проводят еще 4 раза. Всего экстрагируют 6 раз. израсходовав 26,6 л метанола, и получив 24,29 л экстракта. Потери метанола составляют 2,31 л. Последний экстракт сливают более тщательно, оставшийся шрот высушивают на воздухе от остатков метанола и выбрасывают в отвал.

2.6. Нормы технологического режима на стадии

Этап 2. Экстракция сырья

Наименование и номер аппарата по схеме	Наименование операций, элементов работы	Наименование технологических показателей и нормы режима				
		Температура, °С	Продолжительность, час	Кол - во загружаемых и получаемых веществ, гр.		потери
Экстрактор (Р - 2)	Загрузка измельченной н\ч <i>Eremostachys sp,</i>			810 г		
	1 - я экстракция	22	18	5л.	3,89л	1,11л
	2 - я экстракция		12	5	4,81	0,19
	3 - я экстракция		12	5	4,86	0,14
	4 - я экстракция		12	4,6	4,13	0,47
	5 - я экстракция		12	3,5	3,26	0,24
	6 - я экстракция		12	3,5	3,34	0,16
Суммарный расход метанола				26,6	24,29	2,31

Потеря метанола на стадии экстракции	2,31 (9,13 %)
Суммарный выход продукта	275 г

2.7. Упаривание экстракта

Объединенные метанольные экстракты в количестве 24,29л порциями упариваются на роторном испарителе при температуре 40 - 50 °С и пониженном давлении в 12 - 14мм.рт.ст. до консистенции густой смолистой массы. Отгон метанола (20,65 л) собирают в емкости для хранения и используют для экстракции следующей партии сырья.

2.8. Нормы технологического режима

Наименование и номер аппарата по схеме	Наименование продукта	Названия операции	Наименование технологических показателей и нормы режима			
			Температура, °С	Давление	Кол - во загружаемых в - в, л.	Кол - во получаем в - в, (л)
Вакуум - выпарной аппарат Р – 7	Метанольный экстракт	Упаривание	40 - 50	12 - 14 мм.рт.ст	24.29л	20.65л
Сухой остаток после упаривания						275 г

Потери метанола на стадии упаривания составляют 3,64 л (10,49 %).
Суммарные потери метанола на этапах экстракции и упаривания - 19,62 %.

Этапы 4 и 5. Разбавление водой и обработка экстракта.

Этап 4. Густую смолистую массу, полученную в результате упаривания метанольного экстракта (275 г) разбавили 200 мл питьевой воды в той же емкости, перемешивая до получения однородного раствора. Раствор переносят в делительную воронку и обрабатывают последовательно хлороформом и н - бутанолом, насыщенным водой (этапы 5 и 6).

Этап 4.(Разбавление водой)

Нормы технологического режима

Наименование аппарата	Наименование продуктов, сырья	Содержание основного в - ва.	Температура °С.	Загружено масса, кг	Получено, г, мл.
Р – 8	Метанольный экстракт, вода питьевая		18 – 22	275 г, 200 мл	475 мл

Обработка хлороформом

К водному раствору метанольного экстракта в делительной воронке (475 мл) приливали 100 мл хлороформа, осторожно перемешивали содержимое и после расслоения хлороформ сливали, а к раствору приливали новую порцию хлороформа (100 мл). Операцию проводили ещё 3 раза.

Всего раствор обрабатывали 5 раз по 100 мл. Объединенные хлороформные извлечения, упаривали на роторном испарителе досуха. Сухой остаток выбрасывали, а отгон хлороформа после регенерации используют для обработки следующих партий.

Нормы технологического режима

Наименование аппарата	Наименование реагентов	Наименование процесса	Температура	Количества	
				Загружено, масса	Получено
Делительная воронка	Водный раствор экстракта Хлороформ	Обработка	Комн. температура	5 х 0,100 л	1,155 л
	Хлороформ, экстракт	Упаривание	35 - 40	1,155 л	1,005 л
	Потери при упаривании				0,150 л
Сухой хлороформного экстракт					47 г

Обработка н - бутанолом

К водному раствору экстракта (475 мл) приливали 150 мл бутанола - 1, насыщенного водой. Смесь перемешивали, осторожно встряхивая делительную воронку, оставляли для расслоения и отделяли бутанольный слой. К водному раствору приливали новую порцию бутанола (150 мл). Операцию проводили ещё 5 раз. Объединенные бутанольные извлечения (1,050 л) упаривали досуха на роторном испарителе. Сухой остаток (69 г) содержит иридоиды, экдистероиды, флавоноиды, тритерпеновые гликозиды, олигосахариды. Его высушивают, растирают и отправляют на стадию обработки.

Водный раствор после обработки бутанолом сбрасывают в канализацию.

Нормы технологического режима

Наименование аппарата	Наименование полупродукта	Цикл	Температура, °С.	Количество веществ	
				Загружено масса	Получено
Делительная воронка	Водный раствор метанольного экстракта Бутанол - 1 насыщенный водой	Обработка	18 - 23	457 мл	1050 л
				150x7 мл	
	бутанол - 1 Потери бутанола на стадии	Упаривание	75 - 80	1,050 л	0,972 л 0,078 л
	Сухой остаток				69 г

ГЛАВА III. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В Институте химии растительных веществ, введен в медицинскую практику препарат "Ирихол" (гарпагид и ацетилгарпагид) обладающего гепатозащитным и желчегонным действием, созданный на основе иридоидов, выделенных из *Ajuga turkestanica* [74].

Разработана схема получения суммы иридоидов растения *Scrophularia leucoclada*, обладающей гепатозащитной активностью и способностью усиливать процесс секреции молока у лактирующих животных [75].

Для нашего исследования мы выбрали растения рода *Eremostachys* (Сем. *Labiatae*), произрастающие в Узбекистане.

Eremostachys. — Пустынноколосник

Чашечка трубчатая, трубчато - колокольчатая или колокольчатая с широким колесовидным отгибом, с прямым зевом, с пятью б. м. колючими, обычно короткими зубцами. Венчик двугубый с заключенной или с выдающейся из чашечки трубкой, снабженной внутри волосистым, иногда зачаточным кольцом; верхняя губа шлемовидная, нижняя отклоненная, трехлопастная. Тычинки в числе 4, сходящиеся под верхней губой, все или верхние при основании с придатком, реже все без придатка. Орешки трехгранные, на верхушке прямо или косо усеченные, обычно здесь волосистые, реже голые. Многолетние травы с реповидным корнем или с клубневидными утолщениями на корнях.

Форма и расположение на корнях клубневидных утолщений несомненно играют важную роль для выяснения систематического положения видов этого рода, а также имеют большое значение для различения видов. К сожалению, коллекторы не обращают на это внимания и обычно подсекают растения чуть ниже корневой шейки.

При сборах в гербарий необходимо так выкапывать растения, чтобы можно было иметь представление о их корневой системе [76].

Из надземной части растения *Eremostachys sp*, произрастающего на Сурхандарьинской области, выделены суммы иридоиды. В связи с этим для создания препарата из *Eremostachys sp* в качестве пищевых добавок, нами была разработана схема выделения суммы иридоидов.

Перед нами стояла задача разработать способ получения суммарной иридоидной фракции из надземной части растений *Eremostachys sp*, который был бы более дешевым, менее трудоемким, экономически выгодным, с сохранением качественных и количественных характеристик конечного продукта при использовании этой технологии в больших масштабах.

Надземная часть *Eremostachys sp* помимо иридоидов содержит флавоноиды, экидистероиды, тритерпеновые сапонины, олиго- и полисахариды.

Сырьем для получения иридоидов служит надземная часть культивируемого растения *Eremostachys sp*.

Надземную часть растения экстрагировали метанолом. Метанольный экстракт после упаривания разбавляли водой, и водный раствор последовательно обрабатывали хлороформом и бутанолом. Сухое бутанольное извлечение обрабатывали системой хлороформ - метанол (9:1) и упаривания органических извлечений досуха. Получили сумму иридоидов и перекристаллизация конечного продукта в системе этилацетат - метанол при соотношении 9:1.

Аналитические образцы всех веществ сушили в вакууме при температуре кипения бензола или толуола.

Температуры плавления анализируемых соединений определяли в капиллярах в блоке с электрическим нагревом; все значения температур плавления даны без поправок на выступающий столбик ртути.

В работе для тонкослойной и колоночной хроматографии использовали силикагель марок КСК и L 100/140, 100/160 мкм (Чехословакия).

Тонкослойную хроматографию (ТСХ) проводили на закрепленном слое силикагеля, содержащего 13% гипса и на пластинках *Silufol* (UV - 154).

Для бумажной хроматографии использовали бумаги марок Filtrak - 7, 11, 12, 16.

Для хроматографирования применяли следующие системы растворителей:

1. Хлороформ - метанол (100:1)
2. Хлороформ - метанол (50:1)
3. Хлороформ - метанол (9:1)
4. Хлороформ - метанол (4:1)
5. Хлороформ - метанол - вода (5:1:0.1)
6. Хлороформ - метанол - вода (4:1:0.1)
7. Хлороформ - метанол - вода (70:23:4)
8. Хлороформ - метанол - вода (70:23:3)
9. Хлороформ - бензол (1:1)
10. Этилацетат - метанол - вода (100:16.5:13.5)
11. Этилацетат - толуол (3:5)

Иридоидные гликозиды на ТСХ обнаруживали опрыскиванием ванилин - серной кислотой и последующим нагреванием в течение 2 - 5 мин. при 110 - 120°C [77].

Отгонку растворителей проводили в вакууме на ротационном испарителе при 35 - 60°C.

ВЫВОДЫ

1. В результате проведенных исследований представителя рода *Eremostachys* выделено сумма иридоидов.
2. Разработана эффективная схема выделения суммы иридоидов из растения *Eremostachys sp.*
3. Впервые показано, что растения *Eremostachys sp* содержат иридоиды. Показано, что в надземных органах этого растения содержание иридоидов 8,0 - 8,5 %.
4. Впервые разработана методика ВЭЖХ для определение иридоидов в растении *Eremostachys sp.*
5. Впервые разработана методика ВЭЖХ для определение гарпагида из растительного сырья.
6. Выделено индивидуальные иридоиды для дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каримов И.А. Мировой финансово-экономический кризис, пути и меры по его преодолению в условиях Узбекистана. - Ташкент: Узбекистан, 2009 - 48 с.
2. Мнацаканян В.А. Иридоидные гликозиды. Ереван: 1986. 186 с.
3. Halpern O., Schmid H., Einleitung A. //Zuz Kenntnis des Plumierides. //Melv. Chim. Acta. 1958. V. 41. P.1109-1154.
4. Hansel Von R. //Glycosidische bitterstoffe der monoterpenzeihe. // Planta Med. Suppl. 1966. P.61-77.
5. Bate-Smith E.C., Swain T. // The asperuloside and the aucubins. // Phytochem. 1966. P.159-171.
6. Sticher O. Iridoids. // Pharm. Acta Helv. 1969. XLIV. P.453-463.
7. Structure of asperuloside. //Briggs L.H., Cain B.F., Le Quesne P.W., Shoolery J.N. //Tetrahedron Lett. 1963. P.69-74.
8. Bobbitt J.M., Segebarth K.P. //The iridoid glycosides and similar substances, in Taylor W., Battersby A.R. In: Cyclopentanoid Terpene Derivatives. //New York: 1969. P.1-145.
9. Иридоиды. //Краснов Е.А., Березовская Т.П., Алексеюк П.В., Белоусова Н.И. и др. //Выделение и анализ природных физиологически активных веществ. Томск: Изд-во Том. ун-та. 1987. С.77-92.
10. Coggen S.S. W. Iridoids with algicidal properties from *Allamanda cathartica*. // Phytochemistry. -1983. - v. 22. -№ 1. - P. 178-182.
11. Деготь А. В., Литвиненко В. И., Ковалев И. П. Одонтозид - новый иридоид *Odontites serotina*.-Химия прир.соед., 1970, № 4, с. 474-475.
12. Деготь А. В., Литвиненко В. И., Ковалев И. П. Иридоиды из *Odontites serotina* (Lam) Dut. // Растит. ресурсы, 1971, т. 7, вып. 3, с. 390—396.

13. Агабаян Э.Ю., Арутюнян Л.С., Мнацанкяян В.А., Гач - Байтц Э., Радич Л. Иридоиды *Verbascum georgicum*. - Химия природ. соед. - 1982. - № 4. - С. 446-451.
14. Лебедев-Косов В. И. Флавоноиды и иридоиды подорожника большого и азиатского. // Растит. ресурсы, 1980, т. 16, вып. 3, с. 403-406.
15. Swiatek L., Salama O., Sticher O. 6-O-D-xylopyranosylcatapol, a new iridoid glycoside from *Verbascum thapsilorme*.-*Planta med.*, 1982, v 45, № 13, p.153.
16. Trim A.R., Hill R. The preparation and properties of aucubin, asperulosid and sowie related glycosides.- *J. Biochem.*, 1952, v. 50, p. 310-319.
17. Wieffering I.H. Aukubinartige Glukiside Pseudoindikane und verwandte Heteroside als systematische Merkmale.- *Phytochemisrtry*, 1966, v. 5, p. 1053.
18. Литвиненко В. И., Аронова Г. Н. Иридоиды *Betonica foliosa*. — Химия прир. соед., 1968, № 5, с. 319.
19. Stahl E. Mikro-Asulennachweismethod fur Schrafgarten., - *Dtsch. Apoth.-Zig.*, 1963, Bd. 93, № 12, S. 197.
20. Пакалн Д. А., Захаров Ат. М. Поиск флавоноидных и иридоидных соединений в семействе губоцветных флоры Кавказа.— *Фармация*, 1976, № 5, с. 36—41.
21. B rod a B., Swentek L., Drutschinski Ja. — *Arch. Pharm.*, 1976, Bd. 309, S. 829-836.
22. Chandhuri R. K., Sal am a O., Sticher O. Iridoid and Arylglucosides from *Globularia nudicaulis* and *Globularia nana*.—*Helv. Chim. Acta*, 1981, v. 64, № 7, p. 2401—2404.
23. ¹³C NMR-spectroscopy of naturally occuring iridoid glycosides and their acylated derivatives. //Chaudhuri R.K., Afifi-Yazar F.U., Sticher O., Winkler T. //*Tetrahedron*. 1980. V.36. P.2317-2326.

24. Damtoft S., Jensen S.R., Nielsen B.J. // ¹³C and H-NMR spectroscopy as a fool in the configuration al analysis of iridoid glucosides. //Phytochemistry. 1981. V.20. N-12. P.2717-2732.
25. Iridoids. XXXI. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of free iridoid glucosides in D₂O solution. //Bianco A., Caciola P., Guiso M., Iavarone C. et al. //Gazz. Chim. Ital. 1981. V.III. P.201-206.
26. Boros C., Stermitz R. //Iridoids. An updated review. Part 1. //J. Nat. Prod. 1990. V.53. P.1055-1147.
27. Bianco A., Passacantilli P. //Rearrangements of iridoid aglycones in aqueous acidic medium. //Gazz. Chim. Ital. 1981. V.111. P. 0223-226.
28. Bentley T.W., Johnstone A.W.//Aspects of Mass spectra of Organic compounds. Part IV. Cyclopentane Monoterpenes of the Iridoid group. //J. Chem. Soc. 1967. (c). 2P. 02234-2240.
29. Sevenet T., Thai C., Potier P. //Isolement et structure du cantleyoside. Nouveau glucoside terpenique de cantleya corniculata (Becc.) Howard, (Icacinacees). //Tetrahedron. 1971. V 27. P.663-668.
30. Yang C., He Z. //Fast atom bombardement and field desorption mass spectrometry of some iridoidal glycosides. //Yunnan Zhiwu Yanjiu. 1993. 2 V.15 (4). P.413-421. C.A. 1994. V.121. N-15. 180002 a.
31. Иридоиды *Verbascum georgicum*. //Агабабян Э.Ю., Арутюнян Л.С., Мнадаканян В.А., Гач-Байтц Э. и др. //Химия природ, соедин. 1982. С.446-451.
32. Scrophulariosid, ein neues Iridoidglucosid aus *Scrophularia lateriflora*. //Sticher O., Meier B., Lehmann D., Swiatek. //Planta Med. 1980. V.38. P.246- 254.
33. Rimpler H., Pistor H. //Iridoids and ecdysones from Verbenaceae. VI. Stibericoside, a new C - iridoid from *Stilbe ericoides*. //Z. Naturforsch. 1974. V.29 c. P.368-373.

34. Rimpler H., Timm H. //Iridoids and ecdysones from Verbenaceae. V. Iridoids from *Duranta repens*. //Z. Naturforsch. 1974. V.29 (3-4) с. P. 111-115.
35. Sticher O., Afifi-Yazar F.U. //Veronicosid, ein neues Iridoidglukosid aus *Veronica officinalis* L. (Scrophulariaceae). //Helv. Chim. Acta. 1979. V.62. P.530- 534.
36. Martin S.A., Costello C.E., Biemann K. //Optimization of Experimental Procedures for Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry. //Anal. Chem. 1982. V.54. N-13. P.2362-2368.
37. Kambera H., Hishida S. //Secondary Ion Mass Spectra of Nonvolatile Bioorganic Compounds. //Anal. Chem. 1981. V.53. N-14. P.2340-2344.
38. Secondary Ion Mass Spectra of tryptic peptides of human hemoglobin chains. //Katakuse J., Ischihara T., Nakabuschi H., Matsuo T. et. al. //Biomed. Mass Spectrom. 1984. V. 11. P.386-391.
39. Исследование простагландинов и тромбоксана В2 методом масс-спектрометрии вторичных ионов. //Садовская В.Л., Ракитин ЛАО., Галованова Н.К., Кочтев Л.С. и др. //Биоорган, химия. 1986. Т.12. С.956-960.
40. Масс-спектрометрия вторичных ионов монотетраозидов ряда спиростана и фуростана. //Мильгром Ю.М., Садовская В.Л., Рашкес Я.В., Воллернер Ю.С. //Химия природ, соедин. 1991. N-1. С.53-58.
41. Масс-спектры гликозидов экистероидов и их перадетатов. //Мильгром Ю.М., Рашкес Я.В., Садовская В.Л., Саатов З. //Химия природ, соедин. 1991. N- 2. С.226-231.
42. Абдуллаев У. А., Максудов М.С., Саатов З.//ВИМС некоторых производных каталпола и муссаенозида. //Химия природ, соедин. 1996. С.62-65.
43. Чепмен Дж. Практическая органическая масс-спектрометрия. "Мир", Москва, 1988. 216 с.

44. Nepetanudoside, an iridoid glucoside with an unusual stereostructure from *Nepeta nuda* SSP. *Albiflora*. //Takeda Y., Morimoto Y., Matsumoto T., Honda G. et al. ..*J. Nat. Prod.* 1995. V.58. N-8. P.1217-1221.
45. Рашкес Я.В., Мильгром Е.Г., Мильгром Ю.М. //Сопоставление масс-спектров вторичных ионов и электронного удара алкалоидов. // *Химия природ, соедин.* 1993. С.384-394.
46. Isolation of Stansioside, a new iridoid glucoside from *Tecoma Stans*, and reassignment of the Stereochemistry of the C(8) centre of tecomoside.//Bianco A., Guiso M., Iavarone C., Massa M. et. al.//*Gazz. Chim. Ital.* 1982. V.112. P.199-203.
47. Hansel R.//Glycosidic bitter substances in the monoterpene series. //*Dtsch. Apoth. Ztg.* 1966. V.106. N-48. P.1761-1767. C.A. 1967. 2 V.66. 0 85964 c.
48. Ishiguro K., Yamaki M., Tagaki Sh. //Studies on the iridoid related compounds. 1. On the antimicrobial activity of aucubigenin and certain iridoid aglycones. //*Yakugaku Zasshi.* 1982. V.102. N-8. P.755-759. C.A. 1983. V.98. 14234 c.
49. Sluits V. -D.W.G., Nat J.M., Labadie R.P. //Thin-layer chromatographic bioassay of iridoid and secoiridoid glucosides with a fungitoxic aglucone moiety using (3-glucosidase and the fungus *Penicillium expansum* as a test organism. //*J. Chromatogr.* 1983. N-259. P.522-526.
50. Bucbbauer G. //Iridoids and their pharmaceutical significance. //*Osterr. Apoth. Ztg.* 1974. V.28. N-10. P. 173-178. C.A. 1974. V.81. 16672 d.
51. Yamauchi T., Abe F., Taki M. //Protoplumericin, an iridoid bis-glucoside in *Allamanda neriifolia*. //*Chem. Pharm. Bull.* 1981. V.29. N-10. P.3051-3055.
52. Bobbitt J.M., Schmid H., Africa T.B. //Catalpa glycoside. 1. The Characterization of Catalposide. //*J. Org. Chem.* 1961. V.26. P.3090-3094.
53. El-Naggar S.F., Doskotch R.W. //Specioside: A new iridoid glycoside from *Catalpa speciosa*. //*J. Natur. Prod.* 1980. V.43. (4). P.524-526.

54. Iridoids from *Catalpa bignonioides*. //Iwagawa T., Hamada T., Kurogi S., Hase T. et. al. //Phytochemistry. 1991. V.30. P.4057-4060.
55. Борисов М.И. Иридоиды отечественных растений семейства мареновых.-В кн.: Современные проблемы фарм. науки и практики: Тезис докладов II съезда фармацевтов Украины. Киев. 1972. С.679-681.
56. Попова Т.П., Литвиненко В. И. Иридоиды в растениях семейства губоцветных. -В кн: Современные проблемы фарм. науки и практики: Тезис докладов II съезда фармацевтов Украины. Киев. 1972. С.692-695.
57. Bobbitt J.M., Segebarth K.P. //The iridoid glycosides and similar substances, in Taylor W., Battersby A.R. In: Cyclopentanoid Terpene Derivatives. //New York: 1969. P.1-145.
58. Савченко В.Н. Фармакологическое исследование стахириды на-препарата, полученного из чистеца вздутого: Автореф. дисс. канд. мед. наук.-М., 1979. С. 14.
59. Заявка на А. с. N-4841736/14, МКИ 35/77, Р 61К 7/00. Способ лечения хронического гепатита в эксперименте. // Сыров В.Н., Саатов З., Набиев А., Маматханов А.У., Хушбактова З.А., Умарова Р.У., Арипджанов А.К., Когенко Л.Д., Якубова М.Р., Пак А.П., Туляганов Н.Т., Генкина Г.Л., Горовиц М.Б., Шакиров Т.Т., Абубакиров Н.К., Хамидходжаев С. А.-Заявлено 25.06.90.- Положительное решение 15.05.92.
60. Заявка на А. с. N-493898/14, МКИ 35/77, А 61К 7/00. Способ получения средств, обладающего гепагозащитным и желчегонным действием. // Маматханов А.У., Саатов З., Аригшжанов А.К., Умарова Р.У., Ходжаев К.Н., Якубова М.Р., Котенко Л.Д., Набиев А., Сыров В.Н., Хушбактова З.А., Горовиц М.Б., Шакиров Т.Т., Абубакиров Ы.К. -Заявлено 24.05.91 .-Положительное решение 15.06.92.
61. Заявка Японии N-56-34627, опубл. 6.04.81. Желчегонный препарат (Сигэбуми Т., Сэйки Ю., Хейахатино Т., Тору К., Итиро Е.) //РЖ. Химия. 1982. N-12. О. 154 П.

62. Заявка Японии N-56-90010. опублик. 21.07.81. //Желчегонный препарат на основе агликоне логанине. (Масаки А., Сигэбуми Т., Кадзунори Ю.) //РЖ. Химия. 1982. N-13. О. 246. П.
63. Заявка Японии N-56-90009. опублик. 21.07.81. Желчегонный препарат. (Сигэбуми Т., Масаки А., Кадзунори Ю.) //РЖ. Химия. 1982. N-13. О. 244. П.
64. Заявка Японии N-56-92211. опублик. 25.07.81. Желчегонный препарат. (Масаки Ю., Хейахатино Т., Тору Э., Сигэбуми Т., Итиро И., Кадзунори Ю.) //РЖ. Химия. 1982. N-21. О. 206. П.
65. Von Eickstedt K.W. Die Beeinflussung der Alcohol-Wirkung durch Valepotriate. -Arzneimittel-Forsch. 1969. Bd. 2 19. 0 995-997.
66. А.С. 1028335 (СССР). Способ получения фракции иридоидов, обладающей способностью повышать физическую работоспособность. Мнацакян В. А., Арутюнян Л.С., Ерибемян М.И., Ширинян Э.А., Авакян О.М.
67. Kato Y. //Mechanism of uric acid excretion stimulation by aucubin. //Folia Pharmacol. Japan. 1946. V.42. P.37-40. С.А. 1953. V.47. 1843 i.
68. Hegnauer R. //Aucubin-like glucosides distribution and significance as a systematic criterion. //Pharm. Acta. Helv. 1966. V.41. XLI. P.577-587. С.А. V.66. 1967. 52906 g.
69. Иванов В. Д. Фармакогностическое изучение калины обыкновенной (*Viburnum opulus L.*): Автореф. дис. канд. мед. наук.-М.; 1983.
70. Suzuki Y. //Diuretic action of the fruit of *Catalpa ovata*. //Nippon Yakurigaku Zasshi 1964. 2V.60 (6). 544-549. С.А. 1965. V.62. 15300 f.
71. Iridoid glycoside from *Gentiana macrophylla*. //Liu Y., Li X., Liu Y., Yang C. //Yunnan Zhiwu Yanjiu. 1994. 2 V.16. 0 N-1. P.85-89. С.А. 1994. V.121. N-15. 175127 с.

72. Иридоиды растений рода *Gentiana* из семейства *Gentianaceae*.
//Бакуридзе А.Д., Даргаева Т.Д., Николаева Г.Г., Патудин А.В. и др.
//Химия природ, соедин. 1987. С.3-11.
73. Sticher O. Cyclopentanoid monoterpenes and derivatives. In: New Natural Products and Plant Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutical Activityi Proc. Int. Congr. 1st. 1976. Wagner II., Wolff P. (Eds). -Berlin-Heidelberg-New York: Springer-Ver 1 ag. 1977. P.137-176.
74. А. с. №-4841736/14. Способ лечения хронического гепатита в эксперименте. // Сыров В.И., Саатов З., Набиев А. и др.
75. Максудов М.С. Иридоиды растений семейств *Scrophulariaceae*, *Bignoniaceae* и *Lamiaceae*: диссерт. канд. хим. наук. Ташкент. – 1996. 136 с.
76. Флора Узбекистана. Под. редак. Введенский А.И. Изд - во. АН РУз. Ташкент. - 1961. - Том V. - С. 402 - 405.
77. Galbraith M.N., Horn D.H.S. //Insect moulting hormones: crustecdysone (20-ITydroxyecdysone) from *Podocarpus elatus*. //Aust. J. Chem.-1969. V.22. P.1045- 1057.

Приложения

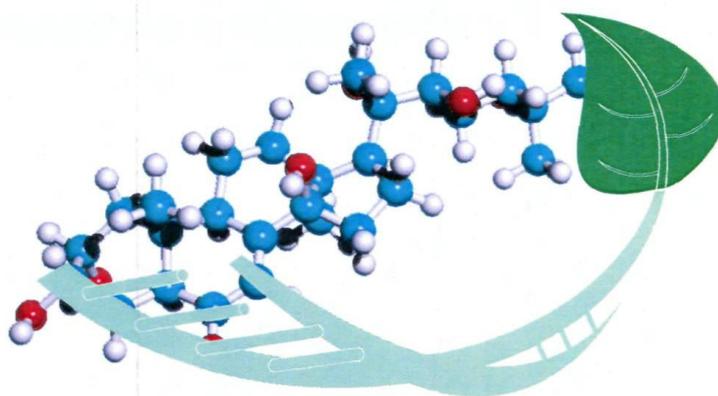
Опубликованные статьи по теме диссертации

**АКАДЕМИЯ НАУК
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
ИНСТИТУТ ХИМИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ
ВЕЩЕСТВ им. акад. С.Ю.ЮНУСОВА**



МАТЕРИАЛЫ
КОНФЕРЕНЦИИ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ
"АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ХИМИИ
ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ",
ПОСВЯЩЕННОЙ ПАМЯТИ
акад. С.Ю. ЮНУСОВА

19 марта



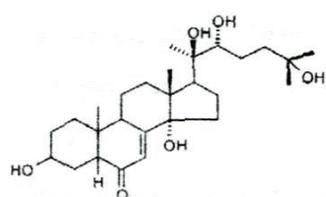
Ташкент - 2012

ФИТОЭКДИСТЕРОИДЫ РАСТЕНИЯ *Dianthus uzbekisticus*

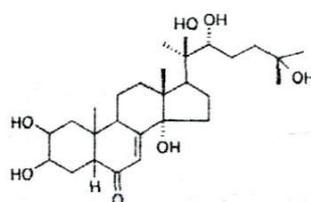
С. Т. Косназаров^{1,3*}, Д. А. Усманов², И. Д. Бобаев³, Н. Ш. Рамазанов³

- 1) Комплексный институт естественных наук, Каракалпакское отделение АН РУз
- 2) Ташкентский химико-технологический институт
- 3) Институт химии растительных веществ им. акад. С. Ю. Юнусова АН РУз, Ташкент

С целью выявления новых источников экдистероидсодержащего сырья мы изучали растение *Dianthus uzbekisticus* (сем. *Caryophyllaceae*). Предварительная тонкослойная хроматография метанольного экстракта надземной части *D. uzbekisticus* показала, что растение содержит, по крайней мере, 4 разных экдистероида. Высушенную и измельченную надземную часть *D. uzbekisticus* экстрагировали 7 раз MeOH. Экстракт концентрировали и разбавляли равным объемом воды. Полученный осадок удаляли фильтрацией и упаривали MeOH. Водную часть последовательно экстрагировали хлороформом, бутанолом-1. После упаривания из бутанольной вытяжки хроматографическим разделением на колонке с силикагелем были выделены фракции, рехроматографированием которых, элюируя системами хлороформ-метанол 30:1, 15:1, 9:1, 4:1, выделили 2-дезоксидеозиды. В полученных фракциях сравнением с подлинными образцами обнаружили 20-гидроксиэкдизон, два неидентифицированных соединения и смесь иридоидов.



2-дезоксидеозиды
20-гидроксиэкдизон



20-гидроксиэкдизон

Из этого вида растения указанные соединения выделены впервые.

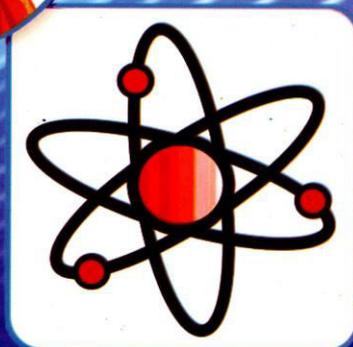
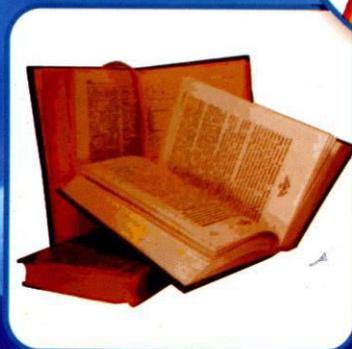
**КАРАКАЛПАКСКИЙ РЕСПУБЛИКАНСКИЙ СОВЕТ
ОБЩЕСТВЕННОГО ДВИЖЕНИЯ МОЛОДЕЖИ
«КАМОЛОТ»**

**КАРАКАЛПАКСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ АКАДЕМИИ НАУК
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН**

СОВЕТ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ РЕСПУБЛИКИ КАРАКАЛПАКСТАН

МАТЕРИАЛЫ

**XII Республиканской научной конференции молодых ученых Каракалпакстана
20 апреля 2012 г.**



Пушкин
«Илим»
2012

ФИТОЭКДИСТЕРОИДЫ РАСТЕНИЯ *DIANTHUS SP.*

Косназаров С.Т.¹, Усманов Д.А.², Бобаев И.Д.³, Рамазанов Н.Ш.³

¹Комплексный институт естественных наук Каракалпакского отделения Академии наук Республики Узбекистан, г. Нукус

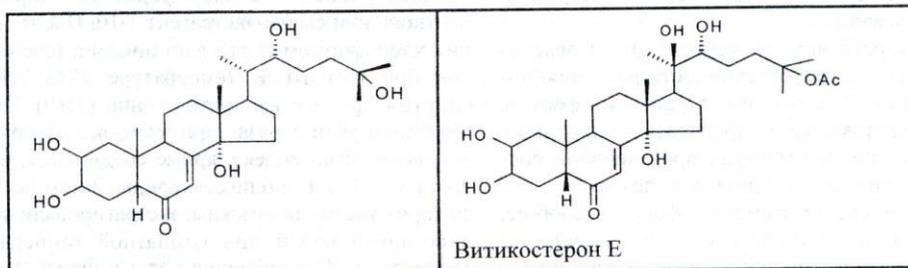
²Ташкентский химико-технологический институт, г. Ташкент

³Институт химии растительных веществ Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент

Обнаружение экдистероидов вызвало интерес к поиску экдистероидсодержащих видов растений и выяснению роли экдистероидов в них. Практическая значимость этих работ заключалась в использовании растений в качестве источников гормонов линьки. В медицине экдистероидсодержащие натуральные составы используются при нарушениях работы сердечно-сосудистой, центральной, нервной и репродуктивной системы, в качестве тонизирующих и стимулирующих средств при умственном и физическом утомлении, понижении работоспособности, импотенции, ослаблении функций разных органов. Могут применяться для заживления ран и язв, лечения ожогов, улучшения половой функции, стимулирования либидо и устранения дискомфорта в сексуальной жизни.

С целью выявления новых источников экдистероидсодержащего сырья мы изучали растение *Dianthus sp.* (сем. Caryophyllaceae). Предварительная

тонкослойная хроматография метанольного экстракта надземной части *Dianthus sp.* показала, что оно содержит по крайней мере 5 разных экдистероидов. Высушенную и измельченную надземную часть *Dianthus sp.* экстрагировали 5 раз MeOH. Экстракт концентрировали и разбавляли равным объемом воды. Полученный осадок удаляли фильтрацией и упаривали MeOH. Водную часть последовательно экстрагировали хлороформом, бутанолом-1. После упаривания растворителей под вакуумом были получены фракции BuOH. Из бутанольной вытяжки метанольного экстракта хроматографическим разделением на колонке с силикагелем были выделены фракции, из которых рехроматографированием, элюируя системами хлороформ-метанол 50:1, 40:1, 30:1, 15:1, 9:1, 4:1, выделили α -экдизон и в очищенных фракциях сравнением с подлинными образцами обнаружили витикостерон E и смеси малополярных экдистероидов, иридоидов.



ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕРУЛЫ ВОНЮЧЕЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ КАРАКАЛПАКСТАН

Сейтназарова О.М., Бердимбетова Г.Е.

Комплексный институт естественных наук Каракалпакского отделения Академии наук Республики Узбекистан, г. Нукус

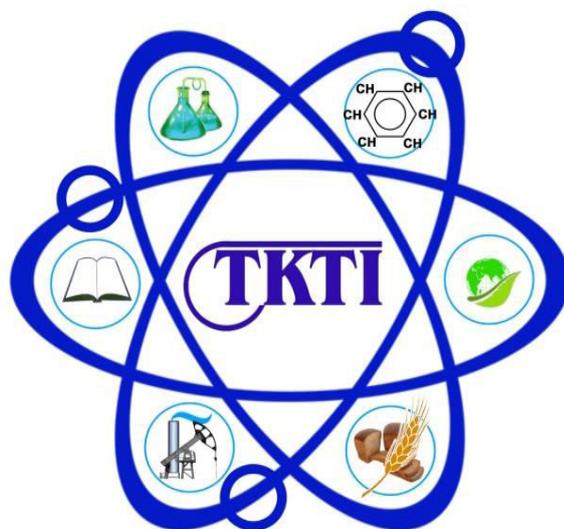
Как отмечали в сообщении [1], род *Ferula L.* (ферула) относится к сем. сельдерейных (зонтичных) – *Ariaceae* (Umbeliferae). В мире встречается более 190 видов ферулы, большинство распространено в Азии. В Центральной Азии встречается 104 вида, в Узбекистане более 50. В РК, согласно определителю [2], встречаются 4 вида. По С.Ережепову описаны 6 видов. Каракалпакское название геурек.

Ферула вонючая – многолетнее, неприятно пахнущее травянистое растение. Цветет в марте-апреле, плодоносит в апреле-мае. Ферулы известны в основном своими целебными свойствами.

В медицинской практике используются части растений, содержащие биологически активные вещества, положительно влияющие на организм человека. В основном как лекарственное средство применяются корни и корневища, листья, кора, цветки, плоды и другие части растений.

«Умидли кимёгарлар-2012»

*ЁШ ОЛИМЛАР, МАГИСТРАНТЛАР ВА БАКАЛАВРИАТ
ТАЛАБАЛАРИНИ XXI - ИЛМИЙ-ТЕХНИКАВИЙ
АНЖУМАНИНИНГ МАҚОЛАЛАР ТЎПЛАМИ*



ТРУДЫ

*XXI - НАУЧНО- ТЕХНИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ, МАГИСТРАНТОВ И СТУДЕНТОВ
БАКАЛАВРИАТА*

1 том

ТОШКЕНТ 2012

РАЗРАБОТКА СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ СУММЫ ИРИДОИДОВ ИЗ *EREMOSTACHYS SP*

Маг. Усманов Д.А.

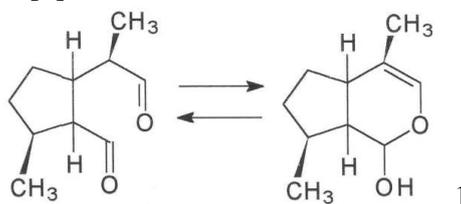
Научный руководитель Рамазанов Н.Ш., Бобаев И.Д.

Институт химии растительных веществ им. акад. С.Ю.Юнусова АН РУз

Иридоиды – группа монотерпеновых соединений растительного происхождения, содержащих в своей структуре циклопентанпирановый скелет.

Выделение и структурные исследования иридоидных гликозидов были затруднены их чувствительностью к кислотам и неустойчивостью агликонов. Однако интенсивные исследования растительных иридоидов начались после 1946 г. с классических работ П. Каррера и Н. Шмидта по аукубину [1].

Иридоидными гликозидами являются гликозиды, агликоновая часть которых имеет иридоидную природу. Название "иридоидные гликозиды" было предложено в 1963 г. Бриггсом [2] и основано на структурном и возможном биогенетическом родстве агликоновой части этих гликозидов с иридодиалом (1)-веществом, выделенным впервые из муравьев *Iridomyrmex detectus* [3].



В 1982 г. Вайнгес предложил принять в качестве основы для химического названия иридоидных гликозидов гетероциклическую систему, названную им ириданом, сохранив в ней нумерацию скелета, принятую для полуацетальной формы иридодиала (1), и для всех иридоидных гликозидов [4].

Иридоидные гликозиды обнаружены во всех органах растений класса двудольных - *Dicotyledones*. Из 325 семейств этого класса иридоидные гликозиды обнаружены только в 33 представителях. Наиболее богаты иридоидными гликозидами семейства *Scrophulariaceae*, *Rubiaceae* и *Lamiaceae*. Однако, принимая во внимание количество родов и видов в семействах, на первое место по количеству иридоидных гликозидов следует вывести монотипные семейства *Adoxaceae*, *Eucommiaceae*, *Daphniphyllaceae*, а также небольшие семейства *Globulariaceae*, *Fouquieriaceae* и *Plantaginaceae* [4].

Иридоидные гликозиды рассматриваются как перспективный класс соединений для создания новых лекарственных препаратов и пищевых добавок на основе природных веществ. Фармакологическое изучение иридоидов, выделенных из разных растений, подтверждает, что эти соединения обладают довольно широким спектром действия. Доказано научными исследованиями, что иридоиды противостоят образованию свободных радикалов, контролируют холестерин, повышают энергию и иммунитет в организме, снижают воспаление, предотвращают мутацию клеток и поддерживают здоровую мозговую активность и работу сердца. Среди иридоидных гликозидов обнаружены соединения с противоопухолевой активностью. Так, Ямауки и др. [5] выделили протоплумерицин, обладающий противоопухолевой активностью.

Препарат стахиридин, представляющий собой смесь иридоидных гликозидов: гарпагида, ацетилгарпагида, гарпагозида и аюгола, проявляет выраженную желчегонную активность и рекомендован для лечения заболеваний печени и желчных путей .

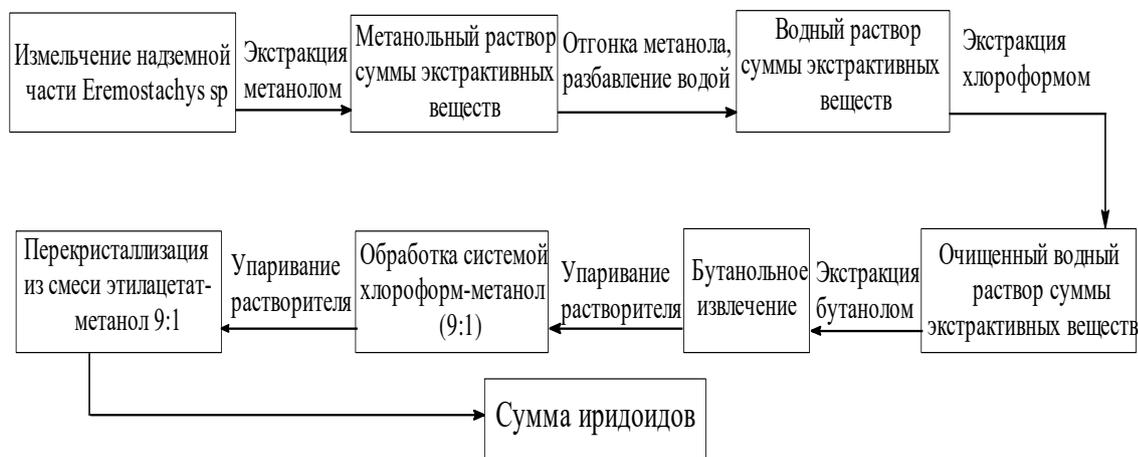
В Институте химии растительных веществ введен в медицинскую практику препарат "Ирихол" (гарпагид и ацетилгарпагид), обладающий гепатозащитным и желчегонным действием, созданный на основе иридоидов, выделенных из *Ajuga turkestanica*.

Испытания ряда иридоидных гликозидов показали, что их антимикробная активность наблюдается лишь в присутствии β -глюкозидазы. Это однозначно указывает на агликоны, как на активное начало. Предположили, что антимикробная активность агликонов обусловлена их реакцией в альдегидной форме с ферментами микроорганизмов

Ранее был разработан метод получения суммы иридоидов из растения *Scrophularia leucoclada*, обладающей гепатозащитной активностью и способностью усиливать процесс секреции молока у лактирующих животных. Для нашего исследования мы выбрали растения рода *Eremostachys* (Сем. Labiatae), произрастающие в Узбекистане. Из надземной части растения *Eremostachys* sp, произрастающего в Сурхандарьинской области, выделена сумма иридоидов. В связи с этим для создания препарата из *Eremostachys* sp в качестве пищевой добавки, нами в 2011 г. была разработана схема выделения суммы иридоидов.

Перед нами стояла задача разработать способ получения суммарной иридоидной фракции из надземной части растений *Eremostachys* sp, который был бы более дешевым, менее трудоемким, экономически выгодным, с сохранением качественных и количественных характеристик конечного продукта при использовании этой технологии в больших масштабах. Надземную часть растения экстрагировали метанолом. Метанольный экстракт после упаривания разбавляли водой, и водный раствор последовательно обрабатывали хлороформом и бутанолом. Сухую бутанольную вытяжку обрабатывали смесью хлороформ-метанол (9:1) и упаривали органическое извлечение досуха. После перекристаллизации конечного продукта из смеси этилацетат-метанол при соотношении 9:1, получили сумму иридоидов.

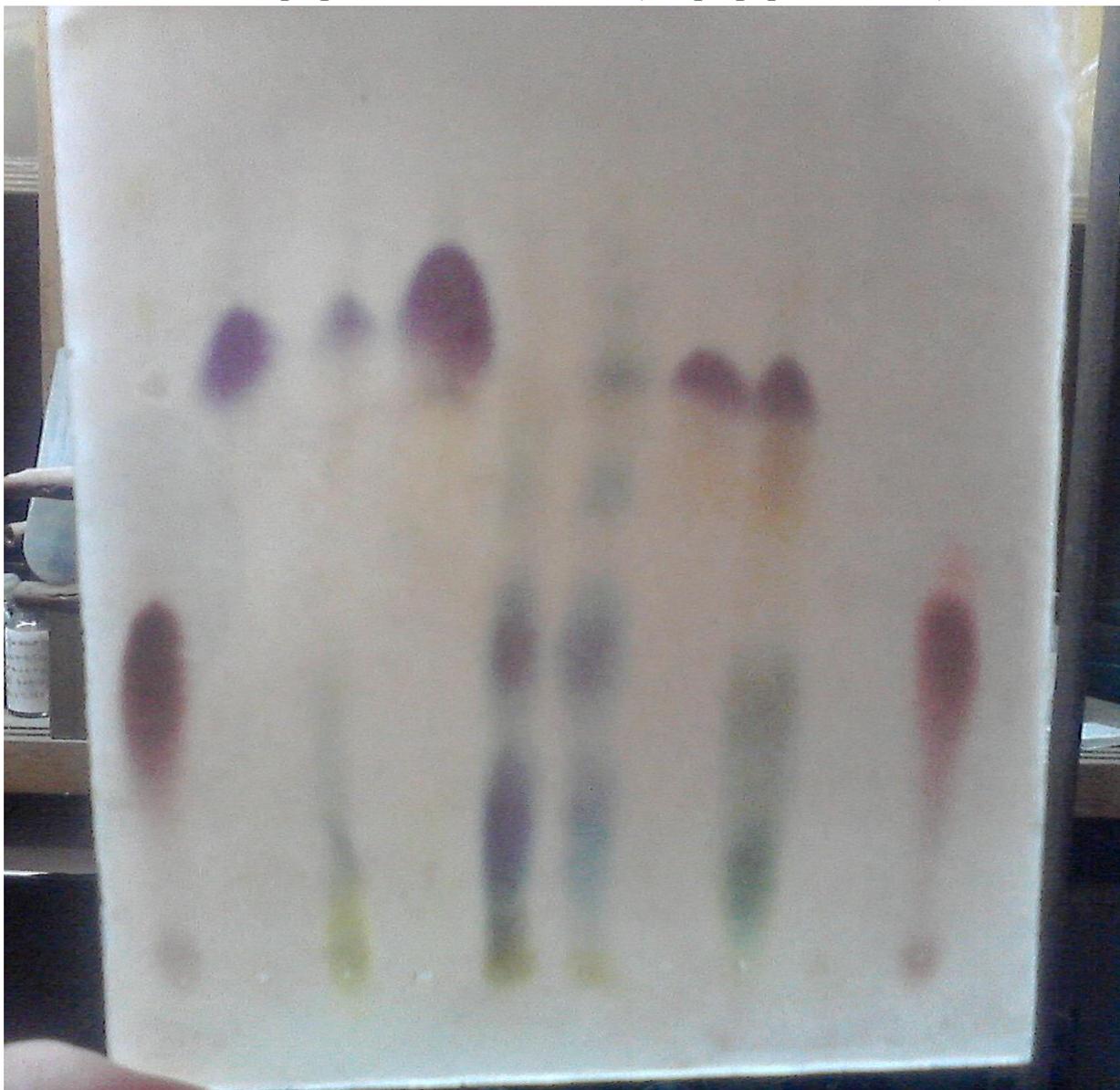
Разработанная схема получения суммы иридоидов из надземной части *Eremostachys* sp состоит из следующих стадий:



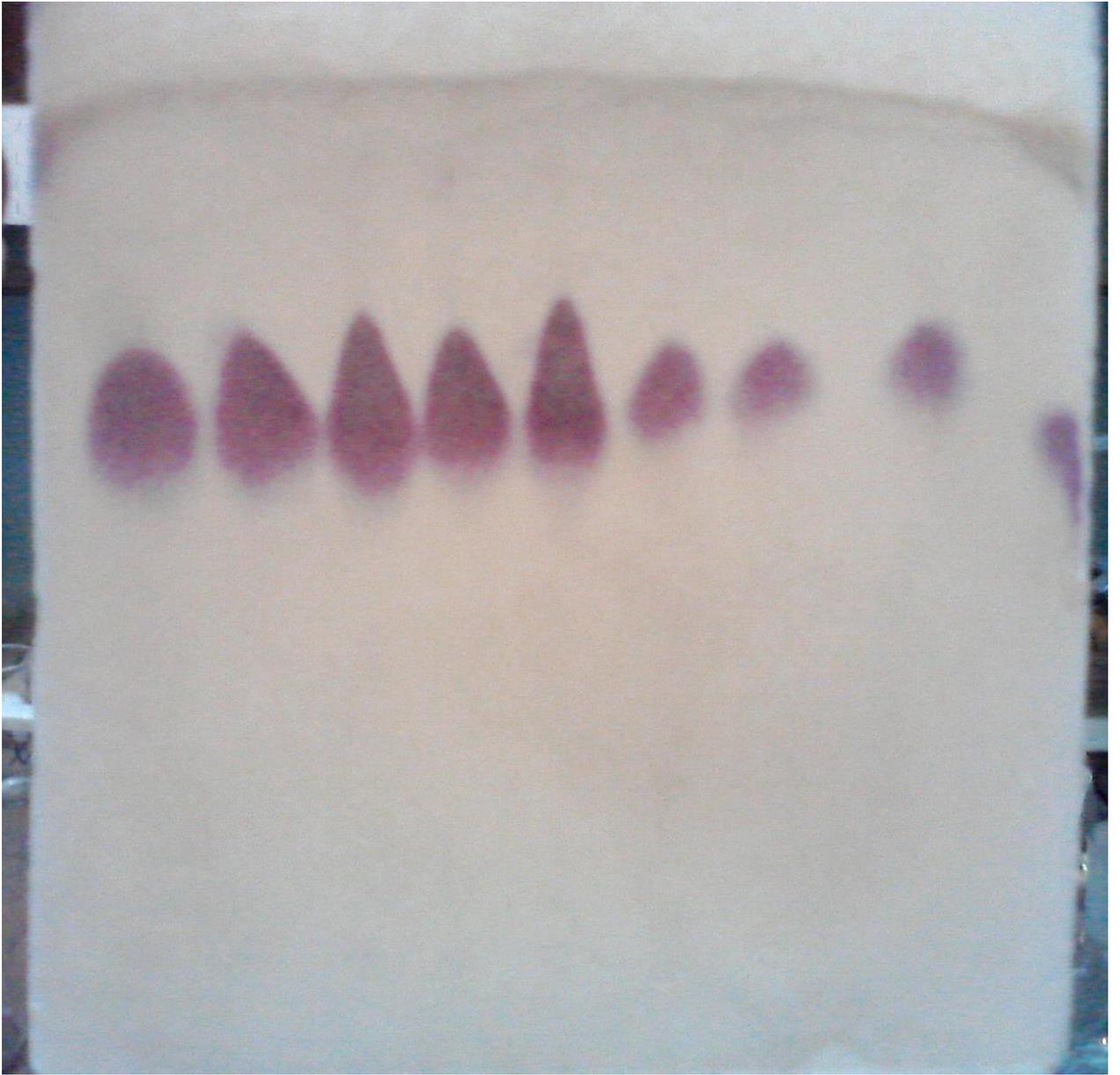
Литература

1. Иридоиды. //Краснов Е.А., Березовская Т.П., Алексеюк Н.В., Белоусова Н.И. и др. Томск: Изд-во Том. ун-та. 1987. С.77-92
2. Briggs L.H., Cain B.F., Le Quesne P.W., Shoolery J.N. Tetrahedron Lett. 1963. P.69-74.
3. Bobbitt J.M., Segebarth K.P. Cyclopentanoid Terpene //New York: 1969. P.1-145.
4. Мнацаканян В.Л. Иридоидные гликозиды. Ереван: 1986. 186 с.
5. Yamauchi T., Abe F., Taki M. Chem. Pharm. Bull. 1981. V.29. №-10. P.3051-3055.

Фотография ТСХ, система 4:1(хлороформ-метанол).







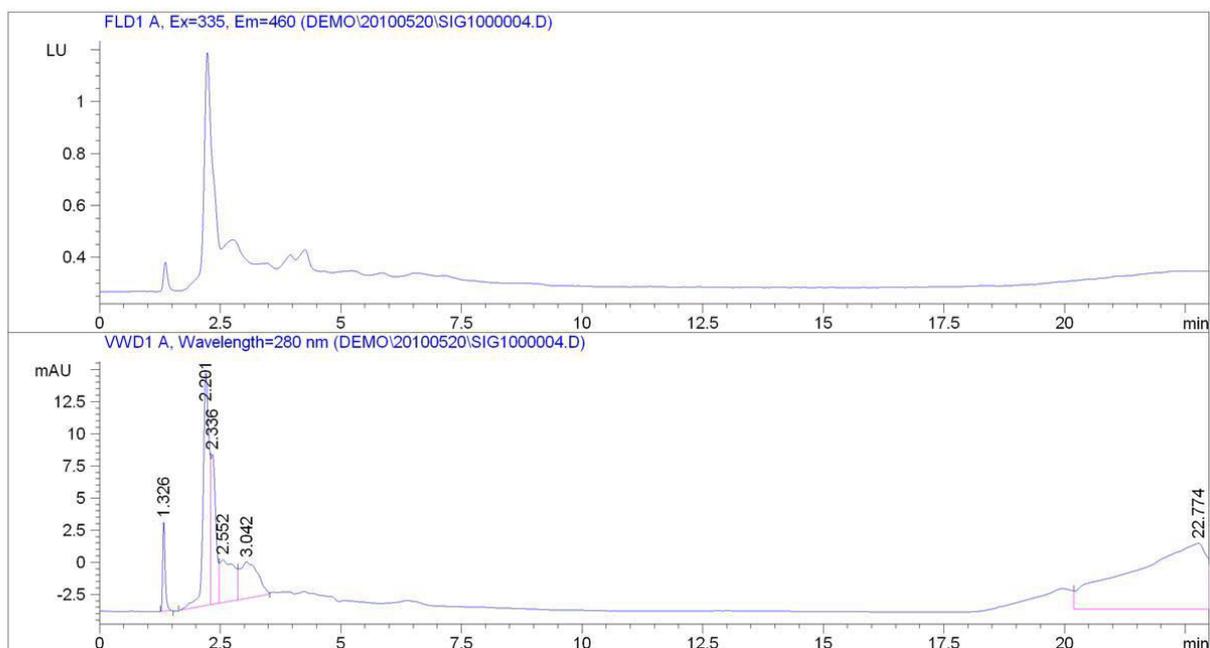


Данные ВЭЖХ анализа

Data File C:\CHEM32\1\DATA\DEMO\20100520\SIG1000004.D

Sample Name: B-karotin

```
=====  
Acq. Operator   : M.S. Tashmukhamedov  
Acq. Instrument : Instrument 1                Location : Vial 1  
Injection Date  : 17.05.2012 14:53:17  
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\DATA\20100520\SIG1000002.D\DA.M  
Last changed    : 17.05.2012 14:35:57 by M.S. Tashmukhamedov  
                  (modified after loading)  
Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\DEMO\20100520\SIG1000004.D\DA.M (DA.M)  
Last changed    : 17.05.2012 15:16:35 by M.S. Tashmukhamedov  
Method Info     : Gradient method for NNN testmix  
                  Water/acetonitrile 50:50 -> 20:80 in 7 minutes  
                  Injection volume: 2 µL  
  
Sample Info     : extraction CCL4,kefir  
=====
```



Area Percent Report

```
=====  
Sorted By      : Signal  
Multiplier     : 1.0000  
Dilution       : 1.0000  
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs  
=====
```

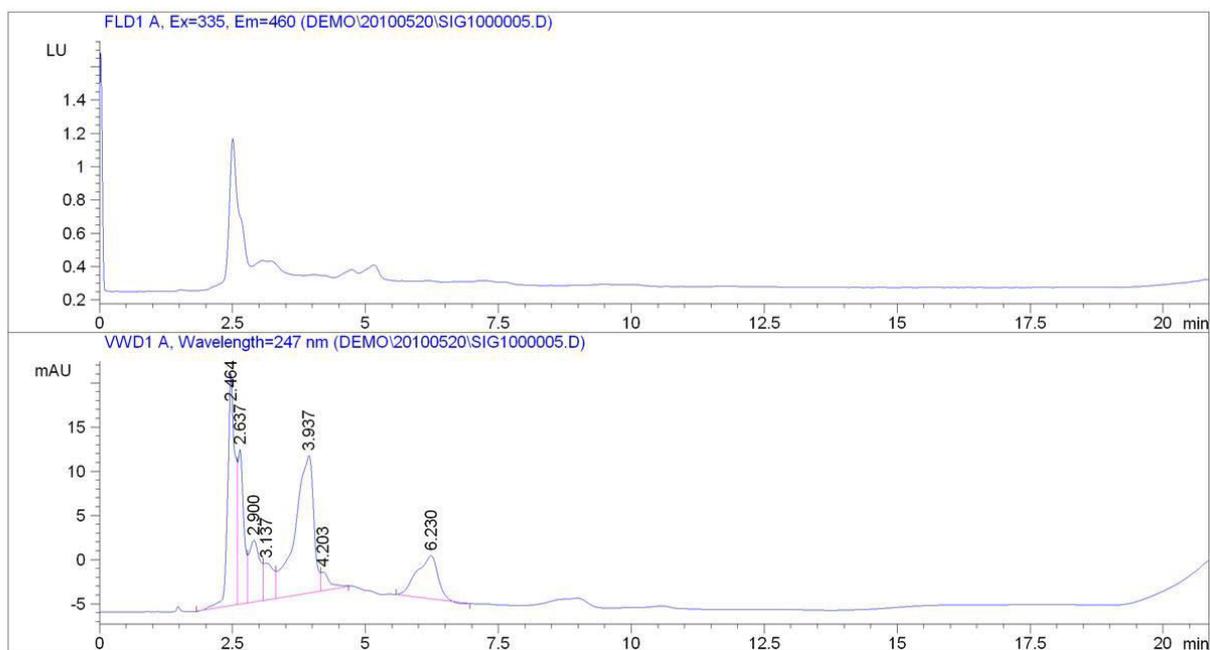
Signal 1: FLD1 A, Ex=335, Em=460

Data File C:\CHEM32\1\DATA\DEMO\20100520\SIG1000005.D

Sample Name: B-karotin

```
=====
Acq. Operator   : M.S. Tashmukhamedov
Acq. Instrument : Instrument 1                Location : Vial 1
Injection Date  : 17.05.2012 15:52:01
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\DATA\20100520\SIG1000002.D\DA.M
Last changed    : 17.05.2012 15:39:20 by M.S. Tashmukhamedov
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\DEMO\20100520\SIG1000005.D\DA.M (DA.M)
Last changed    : 17.05.2012 16:13:15 by M.S. Tashmukhamedov
Method Info     : Gradient method for NNN testmix
                  Water/acetonitrile 50:50 -> 20:80 in 7 minutes
                  Injection volume: 2 µL
=====
```

Sample Info : extraction CCL4,kefir



```
=====
Area Percent Report
=====
```

```
Sorted By      :      Signal
Multiplier     :      1.0000
Dilution       :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
```

Signal 1: FLD1 A, Ex=335, Em=460

Data File C:\CHEM32\1\DATA\DEMO\20100520\SIG1000005.D

Sample Name: B-karotin

Signal 2: VWD1 A, Wavelength=247 nm

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	2.464	BV	0.1311	260.15433	26.36926	23.8014
2	2.637	VV	0.1075	132.96330	17.50864	12.1648
3	2.900	VV	0.2061	101.74400	6.99344	9.3085
4	3.137	VV	0.1845	53.34682	4.16175	4.8807
5	3.937	VV	0.3248	386.59698	15.56159	35.3696
6	4.203	VB	0.1677	24.94578	2.10018	2.2823
7	6.230	BB	0.3712	133.26935	4.90004	12.1928

Totals : 1093.02055 77.59492

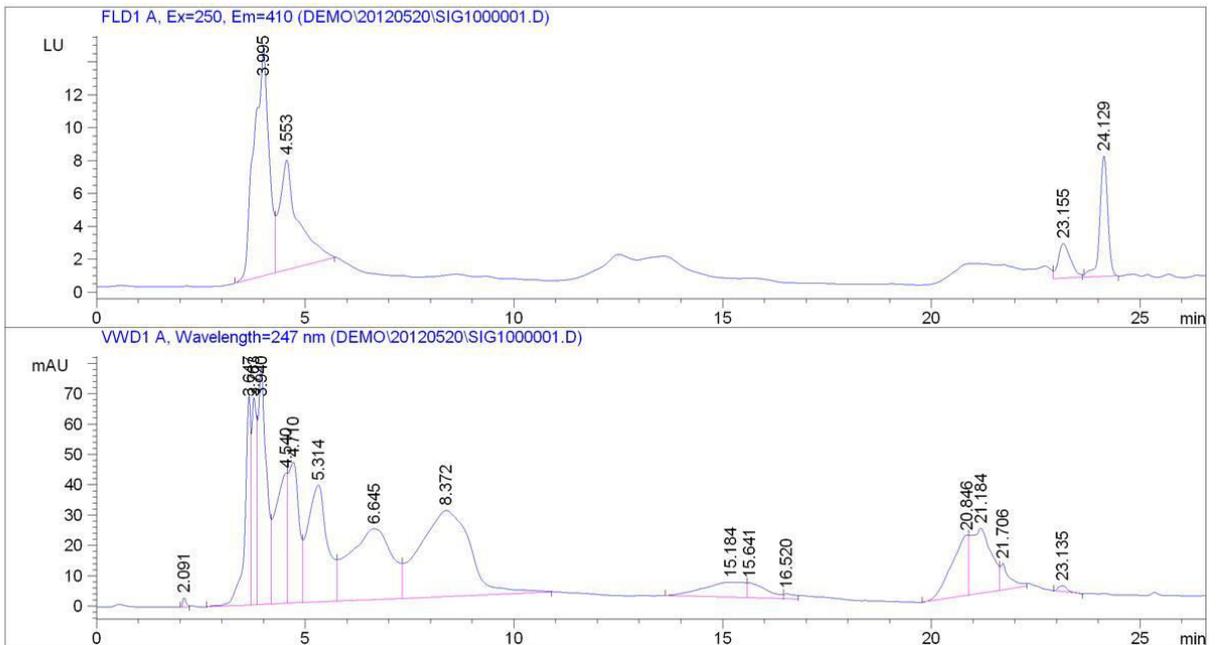
=====
*** End of Report ***

Data File C:\CHEM32\1\DATA\DEMO\20120520\SIG1000001.D
 Sample Name: iridoid

```

=====
Acq. Operator   : M.Tashmukhamedov,D.Usmanov
Acq. Instrument : Instrument 1                      Location : Vial 1
Injection Date  : 17.05.2012 17:51:23
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\METHODS\IRIDOID.M
Last changed    : 17.05.2012 17:45:55 by M.Tashmukhamedov,D.Usmanov
Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\DEMO\20120520\SIG1000001.D\DA.M (IRIDOID.M)
Last changed    : 17.05.2012 18:18:22 by M.Tashmukhamedov,D.Usmanov
Method Info     : Gradient method for NNN testmix
                  Water/acetonitrile 50:50 -> 20:80 in 7 minutes
                  Injection volume: 2 µL
  
```

Sample Info : Phlomis, 44 farksiya, 40:1 xloroform:metanol ekstraksiy asi.



=====
 Area Percent Report
 =====

```

Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: FLD1 A, Ex=250, Em=410

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area LU	Area *s	Height [LU]	Area %
1	3.995	BV	0.3216	346.60358		13.87931	49.6085
2	4.553	VB	0.4157	209.88197		6.69067	30.0399

Data File C:\CHEM32\1\DATA\DEMO\20120520\SIG1000001.D

Sample Name: iridoid

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area LU *s	Height [LU]	Area %
3	23.155	VB	0.2998	43.58360	2.12430	6.2380
4	24.129	BB	0.2064	98.60896	7.34055	14.1136

Totals : 698.67812 30.03483

Signal 2: VWD1 A, Wavelength=247 nm

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	2.091	BV	0.0841	17.23976	3.08646	0.1524
2	3.647	BV	0.1452	693.97266	68.87233	6.1362
3	3.763	VV	0.1159	566.86139	68.22664	5.0122
4	3.940	VV	0.1895	1081.97400	77.98167	9.5669
5	4.540	VV	0.2831	822.70105	42.96816	7.2744
6	4.710	VV	0.2607	835.73206	46.48207	7.3896
7	5.314	VV	0.4835	1260.62158	38.54805	11.1465
8	6.645	VV	0.9926	1657.10071	23.38766	14.6523
9	8.372	VB	1.1034	2390.83276	28.38798	21.1400
10	15.184	BV	0.8439	346.60718	4.98954	3.0647
11	15.641	VV	0.3813	155.13698	5.01476	1.3717
12	16.520	VV	0.2125	30.38694	1.77801	0.2687
13	20.846	BV	0.3885	557.29767	19.86078	4.9277
14	21.184	VV	0.4275	724.98035	21.46574	6.4104
15	21.706	VB	0.2050	138.99368	8.78572	1.2290
16	23.135	BB	0.2411	29.08777	1.94843	0.2572

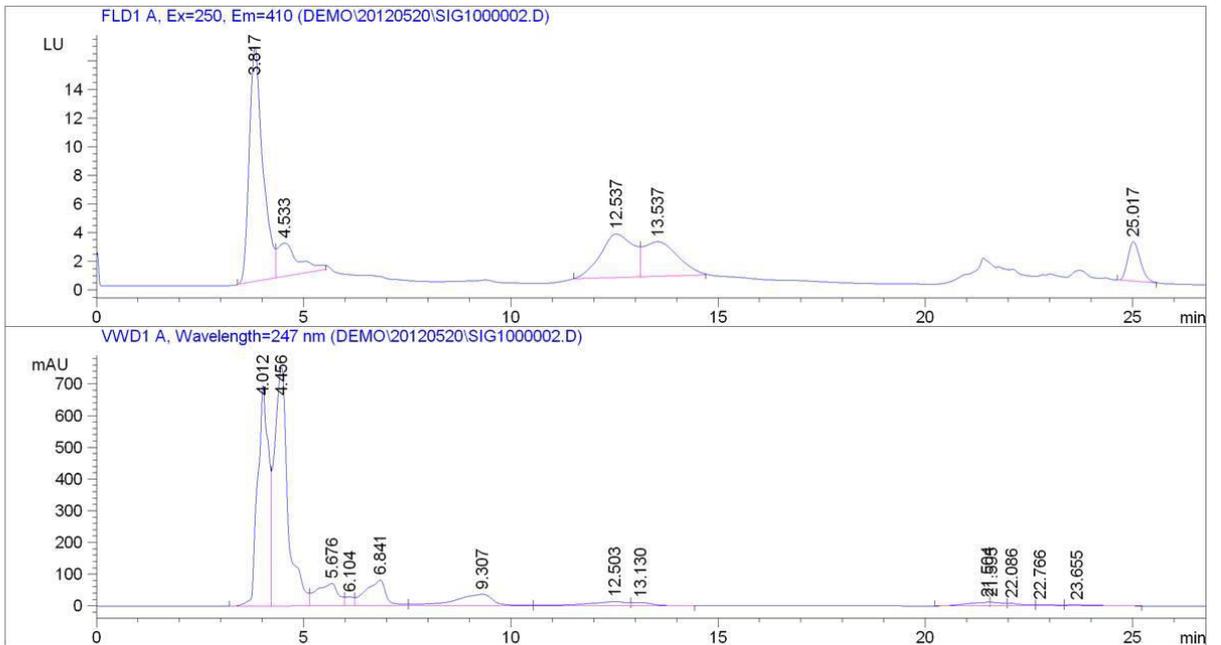
Totals : 1.13095e4 461.78402

=====
*** End of Report ***

Data File C:\CHEM32\1\DATA\DEMO\20120520\SIG1000002.D
Sample Name: iridoid

```
=====
Acq. Operator   : M.Tashmukhamedov,D.Usmanov
Acq. Instrument : Instrument 1                Location : Vial 1
Injection Date  : 17.05.2012 18:30:23
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\METHODS\IRIDOID.M
Last changed    : 17.05.2012 18:19:52 by M.Tashmukhamedov,D.Usmanov
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\DEMO\20120520\SIG1000002.D\DA.M (IRIDOID.M)
Last changed    : 17.05.2012 18:57:33 by M.Tashmukhamedov,D.Usmanov
Method Info     : Gradient method for NNN testmix
                  Water/acetonitrile 50:50 -> 20:80 in 7 minutes
                  Injection volume: 2 µL

Sample Info     : Phlomis, 44 farksiya, 40:1 xloroform:metanol ekstraksiy
                  asi.
=====
```



=====
Area Percent Report
=====

Sorted By : Signal
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FLD1 A, Ex=250, Em=410

Data File C:\CHEM32\1\DATA\DEMO\20120520\SIG1000002.D

Sample Name: iridoid

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area LU *s	Height [LU]	Area %
1	3.817	BV	0.3428	375.67004	16.40516	45.3291
2	4.533	VB	0.5102	83.12341	2.32385	10.0298
3	12.537	BV	0.8008	173.38838	3.07333	20.9214
4	13.537	VB	0.8323	138.73933	2.43041	16.7406
5	25.017	BB	0.3271	57.84068	2.75362	6.9792
Totals :				828.76186	26.98636	

Signal 2: VWD1 A, Wavelength=247 nm

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	4.012	BV	0.2425	1.29839e4	695.77411	31.5208
2	4.456	VV	0.3380	1.71490e4	754.38885	41.6325
3	5.676	VV	0.4710	2632.80273	71.87828	6.3916
4	6.104	VV	0.1987	408.97400	29.40285	0.9929
5	6.841	VV	0.4496	2830.48437	82.53403	6.8715
6	9.307	VV	0.8954	2523.41089	37.23718	6.1260
7	12.503	VV	0.9075	960.02838	13.97975	2.3306
8	13.130	VB	0.5245	375.01315	10.49687	0.9104
9	21.504	BV	0.4238	459.74872	13.20081	1.1161
10	21.595	VV	0.2507	258.12195	12.91063	0.6266
11	22.086	VV	0.3189	237.59836	9.51904	0.5768
12	22.766	VV	0.4379	157.45044	4.57524	0.3822
13	23.655	VB	0.6495	214.94203	4.08023	0.5218
Totals :				4.11915e4	1739.97789	

=====
*** End of Report ***