

Министерство Здравоохранения Республики Узбекистан

Ташкентский Фармацевтический Институт

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

На правах рукописи

Резванов Артём Сергеевич

**ИЗУЧЕНИЕ АЛКАЛОИДОВ ЖИВОКОСТИ АЯКСА
(DELPHINIUM AJACIS L.)**

Специальность: 5A720503-фармацевтическая химия и фармакогнозия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание степени магистра

Научный руководитель: д. фарм. н. Х.М. Комилов,

д. хим. н. Б.Т. Салимов

Оппонент:

доц. К.А. Убайдуллаев

ТАШКЕНТ-2008

“ТАСДИКЛАЙМАН”

М.М.
Кафедра муdiri
“12” июн 2008 й

МАГИСТРЛИК ДИССЕРТАЦИЯСИНИ ЁЗИШ
БЎЙИЧА ТОПШИРИҚЛАР

Тошкент Фармацевтика институти ректорининг 2008 й “21” 06
Сон буйруғи билан тасдиқланган 75

Фармакогнозия кафедраси буйича
Изланиши алкалоидлар тирокости ваясса.
магистрлик диссертациясининг номи

мавзудаги магистрлик диссертацияси

Илмий раҳбар Комилов Х.М. профессор д.ф.р.и.н.

Салимов Б.Т. д.хим.н. бошчилигида

(илмий раҳбарнинг исми-фамилияси, лавозими, илмий даражаси ва илмий унвони)

Руванов Артём Сергеевич. томонидан
(тингловчининг исми-фамилияси)

туғалланган ҳолда 2008 й “ ” май да фарма-
когнозия кафедрасига дастлабки химоя учун тақдим этилади.

Тадқиқот ишида Токтослойнак и Колокотовнак хушматоза-
фия, ИК-, ПМР-, ¹³C-спектрометрия.

фойдаланилади

Фармацевтика соҳаси, тиббиёт соҳаси буйича чоп этилган адабиётлардан, замонавий усул
ва услублардан ва х.к.)

Ишда Изланиши алкалоидлар тирокости ваясса (Delphinium ajacis L.), ярақлиги в
Ташкентский области. берилиши кўзда тутилади

Ишда куйидаги масалалар баён этилади:

1-боб Обзор литературы. Характеристика синтезированных
(номи) алкалоидов.

2-боб Основная часть. Описание тирокости ваясса и
(номи)

характеристика синтезированных алкалоидов.

3-боб _____
(номи)

24.06.08г.

(сана, ой, йил)

Илмий раҳбар Х.М. Комилов д.ф.р.и.н. профессор, Б.Т. Салимов д.хим.н.
(исми, фамилияси, илмий даражаси ва унвони)

Магистрант 2007 й “20” февралда топшириқни қабул қилди.

План

Введение.....	2
Глава 1. Обзор литературы	
1.1. Общая характеристика дитерпеноидных алкалоидов.....	4
1.2. Обнаружение дитерпеноидных алкалоидов в растительном сырье.....	17
1.3. Количественное определение суммы дитерпеноидных алкалоидов.....	22
1.4. Фармакологические свойства дитерпеноидных алкалоидов.....	24
Выводы.....	27
Глава 2. Основная часть.	
2.1. Живокость Аякса: морфология, заготовка, сушка и хранение...28	
2.2. Выделение, разделение и идентификация алкалоидов живокости Аякса (<i>Delphinium ajacis</i> L.).....	29
2.3. Фармакологические свойства выделенных алкалоидов.....	48
Выводы.....	49
Список литературы.....	50
Приложение.....	55

Введение.

Растения рода *Delphinium* L. – Живокость или шпорник (сем. лютиковые – *Ranunculaceae*) наряду с представителями рода *Aconitum* L. являются основными источниками дитерпеноидных алкалоидов. Благодаря сложности структуры и высокой физиологической активности дитерпеноидные алкалоиды, выделенные из растений рода *Delphinium*, вот уже много лет привлекают внимание химиков и фармакологов. Хотя, химия и фармакология алкалоидов живокости получили своё развитие лишь после того, как была установлена природа основного гетероциклического скелета, часто называемого ликоктониновым, с помощью рентгеноструктурного анализа.

Главные алкалоиды растений *D. confusum* M. Pop., *D. dictyocarpum* DC., *D. elatum* L. (кондельфин, мелликтин, элатин) послужили основой для создания и внедрения в медицинскую практику курареподобных препаратов тем самым дав начало новому направлению по поиску и созданию лекарственных средств на основе дитерпеноидных алкалоидов. Как результат дальнейших исследований в этом направлении в Институте химии растительных веществ АН РУз. им. акад. С.Ю. Юнусова создан и внедрён в медицинскую практику высокоэффективный антиаритмический (АА) препарат «Аллапинин». Кроме того, открыт ряд высокоактивных дитерпеноидных алкалоидов, обладающих антиаритмической, местноанестезирующей, противовоспалительной, спазмолитической активностью. Несмотря на это, до сих пор многие виды живокости остаются малоизученными. Наибольший интерес в практическом плане вызывают однолетние виды живокости, поскольку их выращивание и заготовка в качестве сырья не вызывают особых затруднений.

В связи с выше изложенным, изучение алкалоидов однолетнего растения живокости Аякса является актуальным и направленным на выделение интересных в фармакологическом отношении дитерпеноидных алкалоидов.

В настоящей работе приводятся результаты исследования *Delphinium ajacis* L., выращиваемой в Ташкентской области. Из неё (всё растение) выделены три

алкалоида, которые идентифицированы с дельказином, дельсолином и аяконином. В литературном обзоре рассматриваются физико-химические, фармакологические свойства некоторых C_{20} -дитерпеноидных и C_{19} -нордитерпеноидных алкалоидов.

Целью настоящей работы явилось изучение алкалоидов живокости Аякса, выращиваемой в Ташкентской области. Задачами исследования явились: разработка схемы выделения и разделения смеси оснований; идентификация выделенных алкалоидов; передача на испытания неизученных в фармакологическом отношении алкалоидов.

Впервые нами была изучена живокость Аякса, выращиваемая в Ташкентской области, показана возможность разделения алкалоидов по их силе основности в процессе экстракции. Показано наличие в этом растении двух типов дитерпеноидных алкалоидов: ликокотонинового и дигидроатизинового. Полученный нами алкалоид дигидроатизинового типа – аяконин послужит новым модельным соединением в выявлении закономерностей взаимосвязи структура-активность в ряду дитерпеноидных оснований.

1. Обзор литературы

1.1. Общая характеристика для дитерпеноидных алкалоидов

Растения рода *Delphinium* (живокость, шпорник) семейства *Ranunculaceae* (лютиковые) широко распространены по всему земному шару. Их название произошло от греческого слова «дельфинион», что объясняется удивительным сходством между детёнышами дельфинов и нераскрытыми бутонами цветков растений этого рода [1]. На территории СНГ произрастает 81 вид живокости, а 60 из них описаны в Центральной Азии [2].

Издревле виды живокости использовались в народной медицине различных стран. Так препараты из семян *D. staphisagria* использовались в Европе как эффективное средство против телесных вшей, а экстракты растения *D. consolida* – как седативное, рвотное и антигельминтное средство [1]. Имеются сведения о применении корней *D. bonvolatii* в народной медицине Китая для обезболивания, для лечения различных воспалительных процессов и при ревматизме [3]. А растение *D. brunonianum* применялось в тибетской медицине для лечения гриппа, сыпного зуда и в качестве средства против укуса змей [4]. Турецкие виды живокости использовались для обезболивания при ревматизме и для уничтожения телесных вшей.

Изучение алкалоидов живокости было начато ещё 1819 году Лаззайоном и Фепеулле: из семян растения *D. staphisagria* они выделили основание, названное дельфинином [6-7]. Структуру дельфинина удалось окончательно установить в 1971 году Визнеру с сотрудниками [7]. Дельфинин, будучи нейрoкардиотоксином, на самом деле менее токсичен, чем широко известный своей ядовитостью аконитин [1,8].

Первое сообщение о том, что живокость Аякса содержит алкалоиды было опубликовано в 1913 году, где указывалось на присутствие в растении алкалоида аяцина (см.табл.1 соед. №17) [9].

Consolida ambigua, больше известная как *Delphinium ajacis*, это декоративное растение с общим названием садовый шпорник. Известно, что некоторые растения из рода *Consolida* обладают инсектицидной и подавляющей рост бактерий активностью. Уже давно было известно, что семена этого растения содержат алкалоиды. В 1914 году Келлер и Волкер сообщили выделении аяконина (см. табл.1 соед. №3) впервые из семян садового шпорника. В последствии Дворник и Эдвартс установили структуру аяконина в 1960 году. С тех пор были представлены ещё несколько работ касающихся выделения и установления строения дитерпеноидных алкалоидов ликоктонинового ряда из семян этого растения.

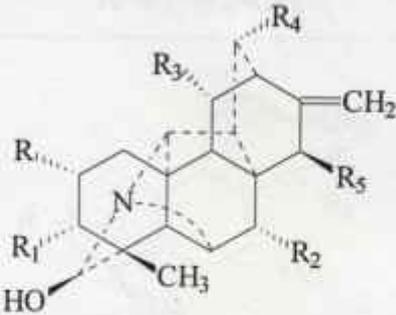
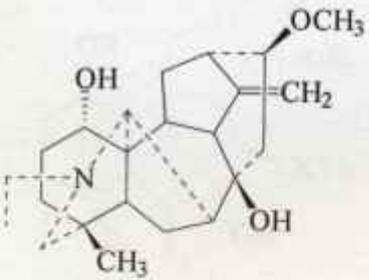
В 1972 году Састри и Валлер доложили о наличии пяти компонентов при анализе, содержащего дейтерий триметилсилильного производного чистого аяконина в gc-ms системе. Позже эта же лаборатория сообщила о выделении и идентификации алкалоидов из «обычного шпорника» (*D. ajacis*) с применением tic, gc и gc-ms методов. В процессе исследования они обнаружили присутствие четырёх известных алкалоидов: аяконина, делькозина, ацетилдельсолина, дельсолина, и четырёх неизвестных. Идентификация четырёх известных алкалоидов проводилась только с применением масспектрального метода. Основываясь на данных масспектрального анализа и биосинтетических показаниях, были предложены структуры четырёх новых алкалоидов: делосина, дельколина, диметилацетилдельсолина и триметилацетилделькозина. Ни один из алкалоидов, найденных Валлером и Лауренси не был выделен в кристаллической форме и полностью охарактеризован.

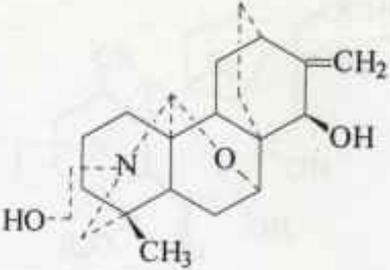
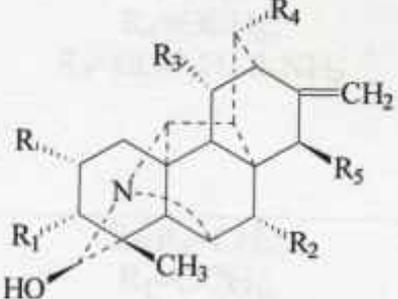
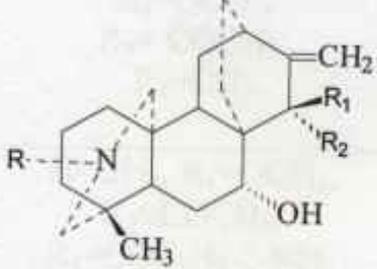
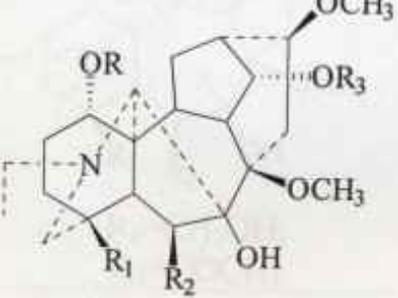
Дальнейшими исследованиями обнаружено присутствие в *D. ajacis* L. алкалоидов аконитинового, акталинового, барбелинового, гетизинового, дигидроатизинового и ликоктонинового типов [10-12]. Следует отметить, что C_{20} -дитерпеноидный алкалоид аябицин, в отличие от других представителей указанной группы оснований, содержит бицикло(3.2.1)октановую кольцевую систему (см. табл.1, соединение 2). Подробнее о структурных типах

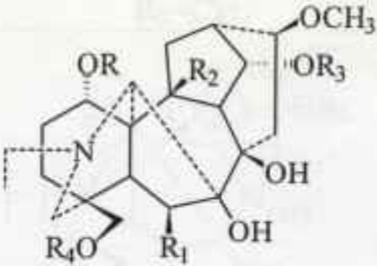
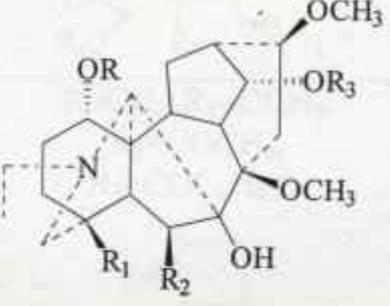
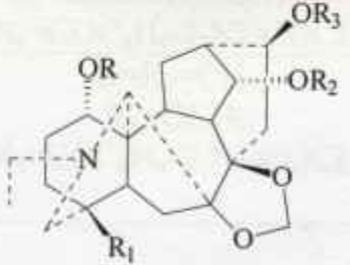
дитерпеноидных алкалоидов рассматривается в работах [13-14]. В пользу необходимости изучения алкалоидов растений из рода *Delphinium* говорит и тесная связь их с алкалоидами растений рода *Aconitum*. Например, продукт омыления кондельфина идентичен с изоталанизидином – алкалоидом, выделенным из *Acanitum talassicum* M. Pop. [16].

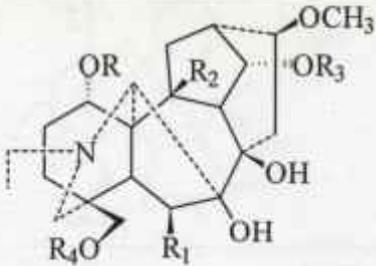
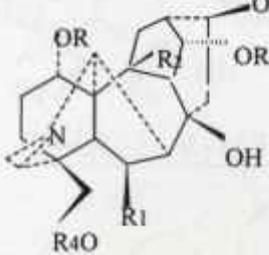
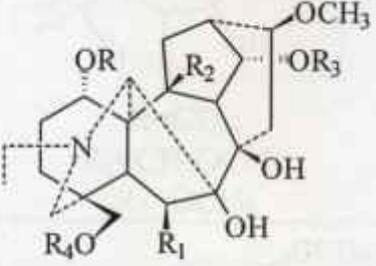
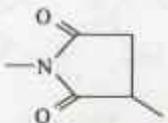
Дитерпеноидные алкалоиды, когда-либо выделенные из Живокости Аякса L. (*Delphinium ajacis*).

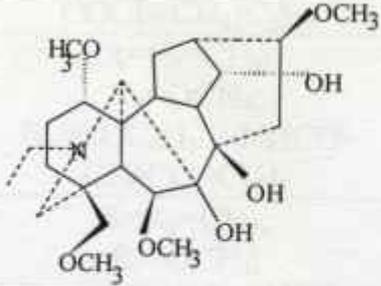
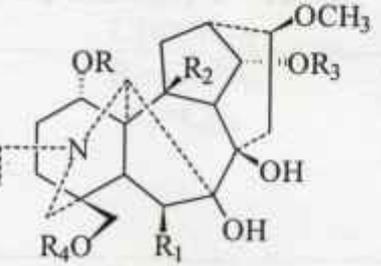
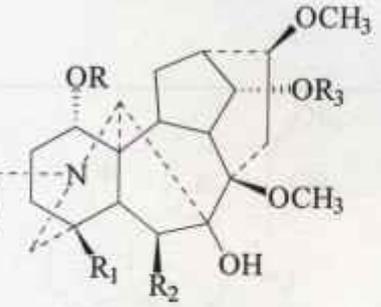
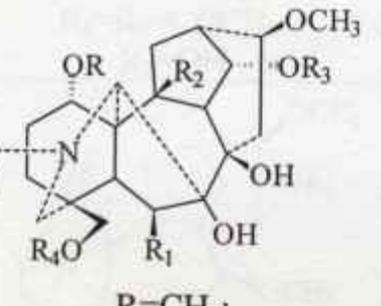
Таблица 1.

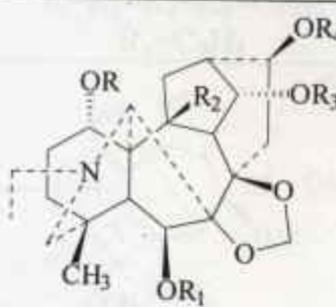
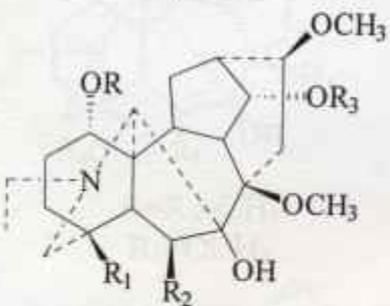
Алкалоид	Структура	Литература
1	2	3
C₂₀-Дитерпеноидные алкалоиды		
<p>13-О-Ацетил-вахматин (1), C₂₂H₂₉NO₅, аморф., [α]_D -20° (x)</p>	 <p>R=R₃=OH; R₄=OCOCH₃ Здесь и далее все неуказанные R=H</p>	12
<p>Аябицин (2), C₂₃H₃₅NO₃</p>		12,17

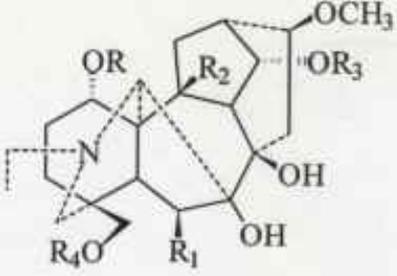
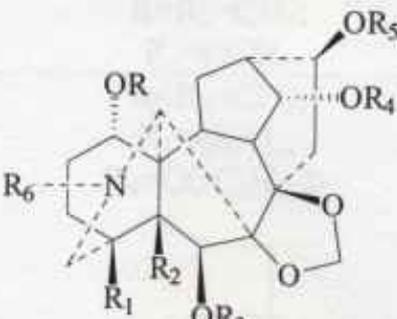
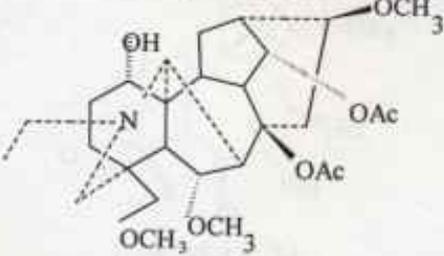
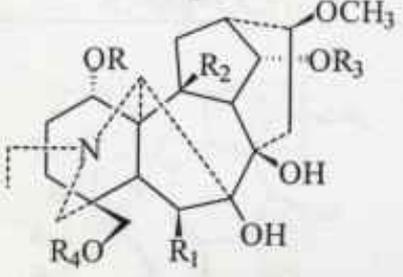
<p>Аяконин (3), $C_{23}H_{33}NO_3$, т. пл. 167°, из ацетона $[\alpha]_D -122^\circ(\varepsilon)$</p>		<p>12,18,19</p>
<p>Вахматин (4), $C_{20}H_{27}NO_4$, т. пл. $170,5 - 174,5^\circ$, $[\alpha]_D +12,6^\circ (M)$</p>	 <p>$R=R_3=R_4=OH$</p>	<p>12</p>
<p>Дигидроаяконин (5), $C_{22}H_{35}NO_3$, т. пл. $99-100^\circ$, $[\alpha]_D -35^\circ(\varepsilon)$</p>	 <p>$R=CH_2CH_2OH$; $R_1=OH$</p>	<p>12,19</p>
<p>C_{19}-Нордистерпеноидные алкалоиды</p>		
<p>Амбиквин (6), $C_{28}H_{45}NO_8$, т.пл. $106-108^\circ$, $[\alpha]_D +36^\circ(x)$</p>	 <p>$R=CH_3$; $R_1=CH_2OCH_3$; $R_2=OCH_3$; $R_3=COCH_3$</p>	<p>12, 19, 20, 21, 22</p>

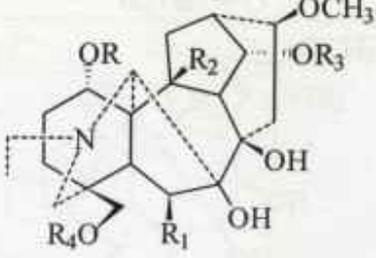
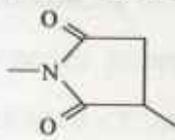
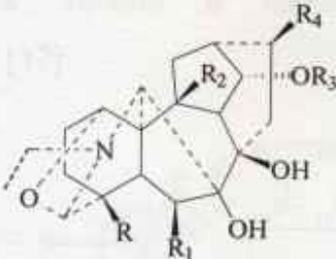
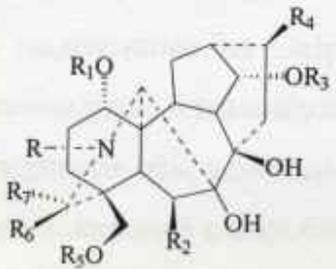
		
<p>Антраноил-ликоктонин (7), $C_{32}H_{46}N_2O_8$, т.пл. 162°, $[\alpha]_D +50^\circ$ (x)</p>	$R=R_3=CH_3$; $R_1=OCH_3$; $R_4=COC_6H_4-2-NH_2$	19, 20
<p>14-Ацетилброуниин (8), $C_{27}H_{43}NO_8$, т.пл. $123-124^\circ$, $[\alpha]_D +27,8^\circ$ (x)</p>	$R=R_4=CH_3$; $R_1=OCH_3$; $R_3=COCH_3$	20, 21
<p>14-Ацетилделькозин (9), $C_{26}H_{41}NO_8$, т.пл. $193-195^\circ$, $[\alpha]_D +30,4^\circ$</p>	$R_1=OCH_3$; $R_3=COCH_3$; $R_4=CH_3$	20
<p>14-Ацетилделектин (10) (андерсонидин), $C_{33}H_{46}N_2O_9$, т.пл. $118-120^\circ$, $[\alpha]_D +42^\circ$ (x)</p>	$R=CH_3$, $R_1=OCH_3$, $R_3=COCH_3$, $R_4=COC_6H_4-2-NH_2$	12
<p>Аядельфин (11), $C_{25}H_{39}NO_7$, $[\alpha]_D +2,0^\circ$ (x)</p>	 $R_1=CH_2OH$; $R_3=COCH_3$	23
<p>Аядельфинин (12), $C_{23}H_{35}NO_6$, $[\alpha]_D -22,6^\circ$ (x)</p>	 $R_1=CH_2OH$	23

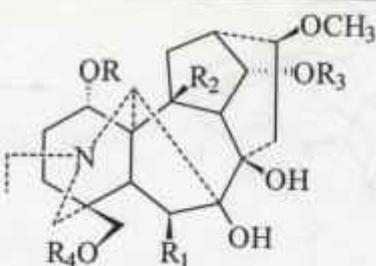
<p>Аядин (13), $C_{35}H_{48}N_2O_{10}$, т.пл. 134-136°, $[\alpha]_D +43,9^\circ(\vartheta)$</p>	<p style="text-align: center;">$R_3=CH_3$</p>  <p style="text-align: center;"> $R=CH_3; R_1=OCH_3;$ $R_3=COCH_3;$ $R_4=COC_6H_4-2-NH-COCH_3$ </p>	<p>19, 20, 21, 24</p>
<p>Аядинин (14) $C_{33}H_{42}N_2O_{10}$,</p>	 <p style="text-align: center;"> $R=CH_3; R_1=OCH_3;$ $R_3=COCH_3;$ $R_4=COC_6H_4-2-NH-COCH_3$ </p>	<p>19, 20, 21, 24</p>
		
<p>Аякузин (15), $C_{43}H_{52}N_2O_{11}$, т.пл. 158-161° $[\alpha]_D$ $+65,2^\circ(\vartheta)$</p>	<p style="text-align: center;"> $R=CH_3; R_1=OCH_3;$ $R_3=COCH_3;$ $R_4=COC_6H_4-2-$ </p> 	<p>19, 20, 21, 24</p>
<p>Аянин (16), $C_{38}H_{52}N_2O_{11}$</p>	<p style="text-align: center;"> $R=CH_3; R_1=OCH_3;$ $R_3=COC(CH_3)(OH)C_2H_5$ $R_4=COC_6H_4-2-NHCOCH_3$ </p>	<p>25</p>
<p>Аяцин (17), $C_{34}H_{48}N_2O_9$, т.пл. 142-143°, $[\alpha]_D +50^\circ(\vartheta)$</p>	<p style="text-align: center;"> $R=R_3=CH_3;$ $R_1=OCH_3;$ $R_4=COC_6H_4-2-NHCOCH_3$ </p>	<p>19, 20, 21</p>

<p>Броуниин (18)</p>		<p>35</p>
<p>Гигактонин (19), $C_{24}H_{39}NO_7$, т. пл. 168-169°, $[\alpha]_D +49^\circ(\varepsilon)$</p>	 <p>$R_1=OCH_3$; $R_3=CH_3$</p>	<p>12, 20, 21, 23, 26, 27</p>
<p>14-Дезацетиламбиквин (20), $C_{26}H_{43}NO_7$, $[\alpha]_D +36,6^\circ(\varepsilon)$</p>	 <p>$R=CH_3$; $R_1=CH_2OCH_3$; $R_2=OCH_3$</p>	<p>22</p>
<p>14-Дезацетилаядин (21) (N-Ацетилделектин), $C_{33}H_{46}N_2O_9$, т. пл. 116-118°, $[\alpha]_D +30^\circ(x)$</p>	 <p>$R=CH_3$; $R_1=OCH_3$; $R_4=COC_6H_4-2-NH-COCH_3$</p>	<p>20, 21, 26, 27, 28</p>
<p>Делектин (22), $C_{31}H_{44}N_2O_8$, т.пл.107-109°, $[\alpha]_D +49^\circ(x)$</p>	<p>$R=CH_3$; $R_1=OCH_3$; $R_4=COC_6H_4-2-NH_2$</p>	<p>8, 12, 20, 21, 27</p>
<p>Дельядин (23), $C_{38}H_{54}N_2O_{10}$</p>	<p>$R=CH_3$; $R_3=COCH_3$; $R_1=OCH_3$; $R_4=COC_6H_4-2-NH-$</p>	<p>25</p>

	$\text{COCH}(\text{CH}_3)\text{C}_2\text{H}_5$	
Дельбаяцин (24) $\text{C}_{37}\text{H}_{52}\text{N}_2\text{O}_9$	$\text{R}=\text{R}_3=\text{CH}_3$; $\text{R}_1=\text{OCH}_3$; $\text{R}_4=\text{COC}_6\text{H}_4\text{-2-NHCO-}$ $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}_2\text{H}_5$	25
Дельбаяцирин (25), $\text{C}_{36}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_9$	$\text{R}=\text{R}_3=\text{CH}_3$; $\text{R}_1=\text{OCH}_3$; $\text{R}_4=\text{COC}_6\text{H}_4\text{-2-NHCO-}$ $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	25
Делькозин (илиензин) (26), $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{NO}_7$, т.пл.203-204°, $[\alpha]_D +53,6^\circ(\text{x})$	$\text{R}_1=\text{OCH}_3$; $\text{R}_4=\text{CH}_3$	8, 19, 20, 27, 29
Дельсолин (акомонин) (27), $\text{C}_{25}\text{H}_{41}\text{NO}_7$, т.пл.212-213°, $[\alpha]_D +54,3^\circ(\text{x})$	$\text{R}_1=\text{OCH}_3$; $\text{R}_3=\text{R}_4=\text{CH}_3$	8, 20, 21, 27
Дельталин (28), $\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{NO}_8$, т.пл.182-184° (из ацетона), $[\alpha]_D -30^\circ(\text{M})$	 <p>$\text{R}=\text{R}_4=\text{CH}_3$; $\text{R}_1=\text{R}_3=\text{COCH}_3$; $\text{R}_2=\text{OH}$</p>	12
Дельтатсин (29), $\text{C}_{25}\text{H}_{41}\text{NO}_7$, аморф., $[\alpha]_D +28,6^\circ(\text{э})$	 <p>$\text{R}_1=\text{CH}_2\text{OCH}_3$; $\text{R}_2=\text{OCH}_3$</p>	12

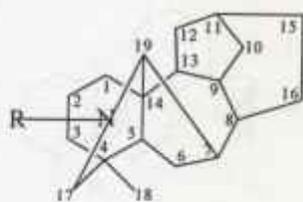
<p>Дельфатин (30), $C_{26}H_{43}NO_7$, т.пл. 106°, $[\alpha]_D +38,2^\circ(x)$</p>	 <p>$R=R_3=R_4=CH_3$; $R_1=OCH_3$</p>	<p>8, 19, 20, 21, 27, 30</p>
<p>Дельфелин (31), $C_{25}H_{39}NO_6$, т.пл. $223-225^\circ$, $[\alpha]_D -24^\circ(x)$</p>	 <p>$R=R_1=R_4=R_5=CH_3$; $R_6=C_2H_5$</p>	<p>8, 12, 20, 27</p>
<p>Дельфизин (32), $C_{28}H_{39}NO_8$, т.пл. $121,5-122,5^\circ$, из смеси ацетон-гексан</p>		<p>12</p>
<p>Конамбин (33), $C_{37}H_{54}N_2O_9$, $[\alpha]_D +47,3^\circ(x)$</p>	 <p>$R=R_3=CH_3$ $R_1=OCH_3$ $R_4=COC_6H_4-2-NHCOC \begin{matrix} CH_3 \\ \\ C_2H_5 \\ \\ H \end{matrix}$</p>	<p>36</p>

<p>Ликоктонин (34) $C_{25}H_{41}NO_7$, т.пл. 136-140°, $[\alpha]_D^{+52}$ (э)</p>	 <p>(Здесь и далее неуказанные R равны H) $R=R_3=CH_3$; $R_1=OCH_3$</p>	<p>20</p>
<p>Метилликаконитин (35), $C_{37}H_{50}N_2O_{10}$, т.пл. 194-195°, (перхлорат) $[\alpha]_D^{+49}$ (э)</p>	<p>$R=R_3=CH_3$; $R_1=OCH_3$; $R_4=COC_6H_4-2-$</p> 	<p>20, 21, 27, 31, 32, 33</p>
<p>18-Метоксигадезин (36), $C_{24}H_{37}NO_7$, Т.пл. 180-184°</p>	 <p>$R=CH_2OCH_3$; $R_1=R_4=OCH_3$</p>	<p>12, 20, 34</p>
<p>19-Оксоантра- оилликаконитин (37), $C_{32}H_{44}N_2O_9$</p>	 <p>$R=C_2H_5$; $R_1=R_3=CH_3$; $R_2=R_4=OCH_3$; $R_5=COC_6H_4-2-NH_2$ $R_6+R_7=O$</p>	<p>12</p>
<p>19-Оксодельфатин (38), $C_{26}H_{41}NO_8$</p>	<p>$R=C_2H_5$; $R_1=R_3=R_5=CH_3$; $R_2=R_4=OCH_3$;</p>	<p>12</p>

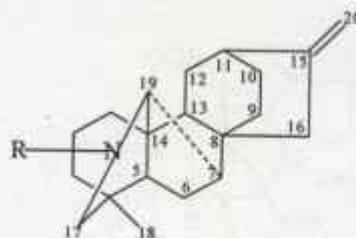
	$R_6 + R_7 = O$	
Такаозамин (39) $C_{23}H_{37}NO_7$, т.пл. 174-175°, $[\alpha]_D +61,6^\circ(x)$		12, 20
	$R_1 = OCH_3$	

Примечание: m-метанол, x-хлороформ, э-этанол.

Дитерпеноидные, или как их часто называют, аконитиновые алкалоиды, избранно накапливаются в растениях, относящихся к родам *Aconitum*, *Delphinium* и *Garya*. Аконитовые алкалоиды можно разделить на две большие группы: 1) аконитины, углеродный скелет которых состоит из 19 углеродных атомов и которые имеют ликоктониновый скелет; 2) обладающие углеродным скелетом из 20 углеродных атомов и имеющие в своей основе пергидрофанантеновый скелет [37].

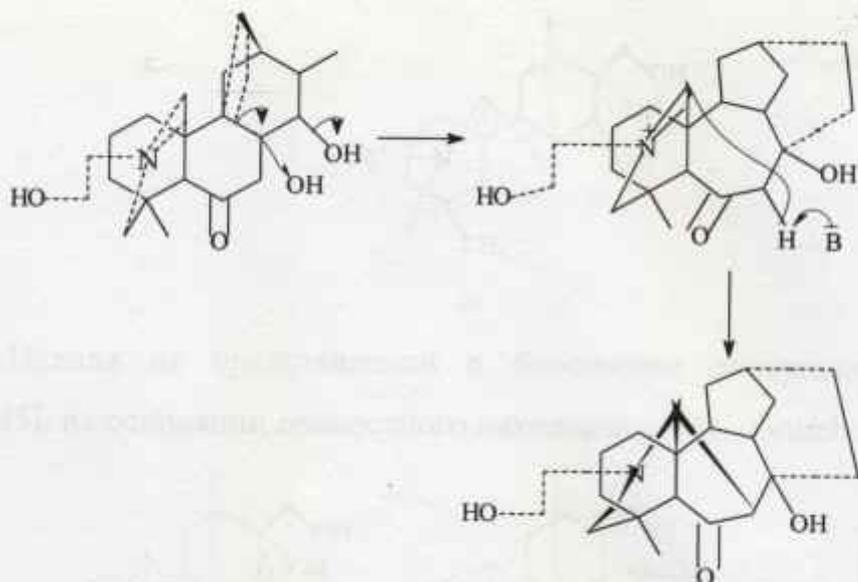


Аконитины



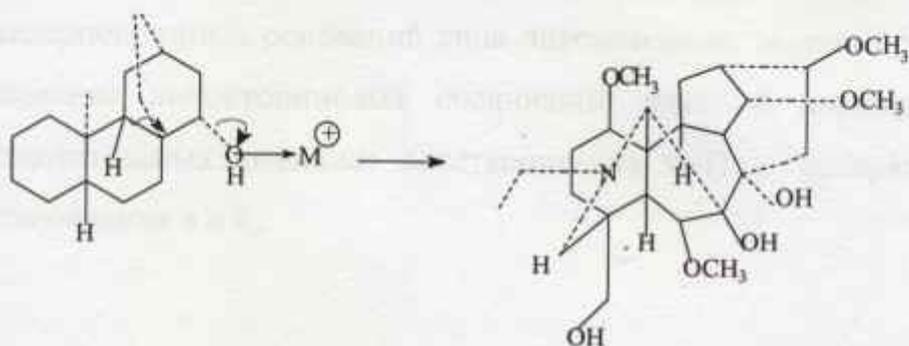
Атисины

Как видно из таблицы 1, выделенные из *Delphinium ajacis* алкалоиды относятся к пяти типам дитерпеноидных алкалоидов, и большинство из них представлены C_{19} -нордитерпеноидными основаниями ликоктониновым типом, по названию первого выделенного алкалоида с подобной структурой [16, 38-40] (см. табл.1 соед. №6-13, 15-31, 33-39). Предполагают, что ликоктониновый скелет может образоваться в результате процессов биохимического удаления метильной группы и образования семичленного

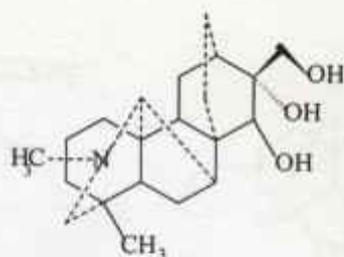


кольца «В» [44].

В более поздней работе [42], посвящённой стереохимии и биосинтезу дитерпеноидов отмечено, что связь 8-9 и C_{15} -ОН должна быть компланарной, т.е. гидроксильная группа у C_{15} должна иметь α -конфигурацию.

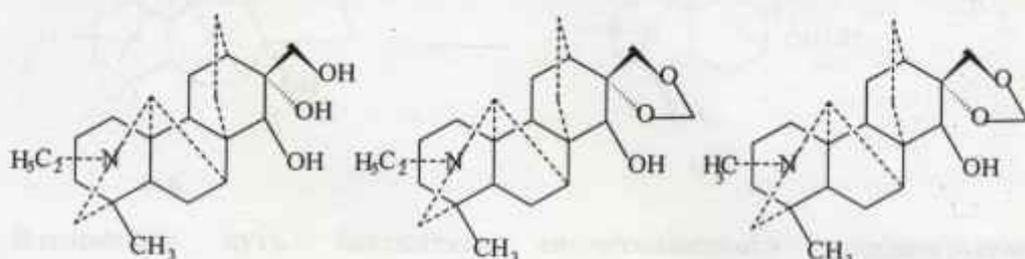


Высказанная в работе [44] гипотеза о биосинтезе алкалоидов с ликоктониновым скелетом нашла своё подтверждение, например, обнаружением совместного присутствия алкалоидов атизинового и ликоктонинового рядов в *D. corumbosum* [43,44], которая наряду с диктизином (40), содержит десять дитерпеноидных алкалоидов типа ликоктонина.



40

Исходя из представлений о биосинтезе дитерпеноидных алкалоидов [44,45], на основании совместного нахождения в *D. corumbosum* N-этил-дез-N-

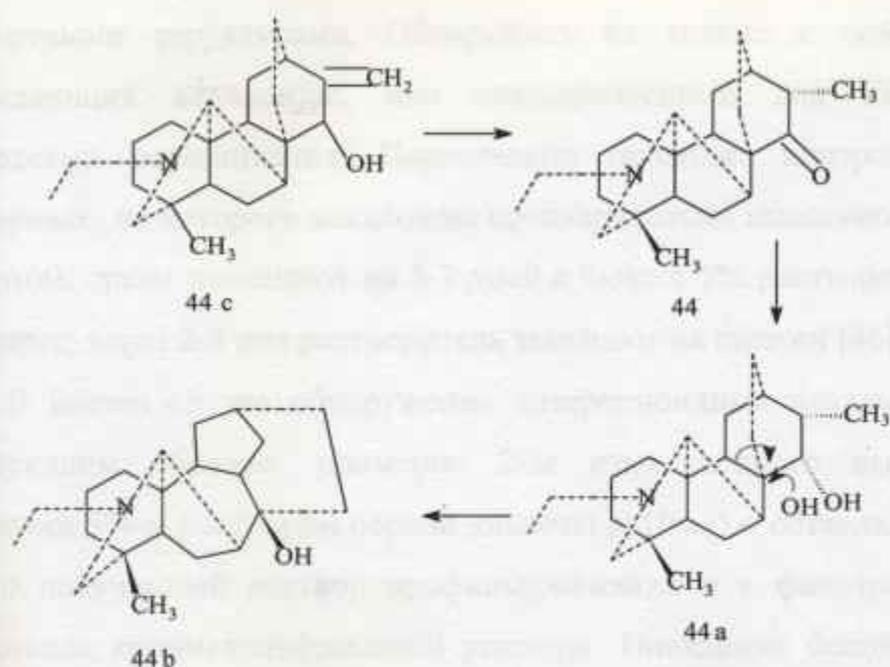


41

42

43

метилдиктизина (41), корумдизина (42), корумдизинин (43) и C_{19} -нордидерпеноидных оснований типа ликокотонина, можно предположить, что образование ликоктониновых соединений идёт из кордизина (44) путём последовательных реакций: восстановление (44) и превращение продукта восстановления а в б.



Возможный путь биосинтеза ликоктонинового предшественника C_{19} -ордитерпеноидных алкалоидов *D. corumbosum*.

Интересно, что во всех алкалоидах ликоктонинового ряда у C_4 , C_7 , C_8 , C_{10} и C_{15} присутствуют кислородсодержащие заместители, а у C_1 , C_3 и C_6 они имеются не всегда. Кроме того, у этих алкалоидов при C_1 может находиться заместитель, как в α -, так и в β -конфигурациях, также все известные алкалоиды этого ряда при C_6 и C_{15} содержат заместители только с β -, а при C_{10} – только с α -конфигурацией. Будучи третичными основаниями, они содержат в своей молекуле значительное количество кислородных заместителей. Ими могут быть карбонильная, гидроксильная, антраноилоксильная, ацетилантроноилоксильная группы или остатки ортозамещённых бензойных кислот, а так же метилendioкси группа.

1.2. Обнаружение дитерпеноидных алкалоидов в растительном сырье.

В живом растении дитерпеноидные алкалоиды содержатся в виде раствора в клеточном соке; при высыхании растительного материала они образуют неразличимые в обычном микроскопе сгустки или адсорбируются различными

клеточными структурами. Обнаружить их можно с помощью реактивов, осаждающих алкалоиды, или специфическими для каждого алкалоида реакциями окрашивания. Параллельно проводят контрольные опыты на материале, из которого алкалоиды предварительно вымываются подкисленным спиртом: срезы помещают на 5-7 дней в бюкс с 5% раствором винной кислоты в спирте; через 2-3 дня растворитель заменяют на свежий [46].

В нашем случае обнаружение дитерпеноидных алкалоидов проводилось следующим образом: примерно 2-3г измельчённого высушенного сырья заливали 5%-м раствором серной кислоты (≈ 10 мл) и оставляли на сутки. После этого полученный раствор профильтровывали и к фильтрату добавляли 3-4 кристалла кремневольфрамовой кислоты. Появление белой мути в растворе говорило о присутствии алкалоидов в сырье. Подобная операция проводилась на всех этапах экстрагирования сырья изучаемого растения.

Качественное обнаружение дитерпеноидных алкалоидов в растительном сырье можно рассмотреть на примере аконитина.

Реакции с реактивами группового осаждения алкалоидов. Аконитин с реактивами Бушарда, Драгендорфа, Майера, Шейблера, Зонненшейна и другими даёт осадки.

Реакция с перманганатом калия. На предметное стекло наносят несколько капель хлороформного раствора исследуемого вещества и выпаривают досуха. К сухому остатку прибавляют 1-2 капли 1%-го раствора серной кислоты, а затем каплю 1%-го свежеприготовленного раствора перманганата калия. При наличии аконитина через 10-20 мин. появляются красно-фиолетовые кристаллы (сростки из призм, сфероиды). Предел обнаружения: 0,02 мг аконитина в пробе.

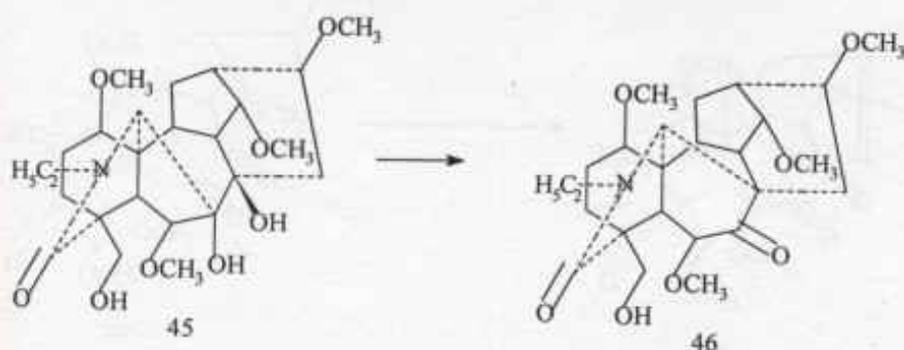
Реакция с роданидом кобальта. В делительную воронку вносят несколько капель раствора исследуемого вещества, прибавляют 3-5 капель 20%-го раствора гидроксида натрия и 10 мл хлороформа. Содержимое делительной воронки взбалтывают 10 мин. Затем от водной фазы отделяют

хлороформную вытяжку, к которой прибавляют 0,2г винной кислоты, 1 мл раствора роданида кобальта и взбалтывают. При наличии аконитина хлороформный слой приобретает синюю окраску.

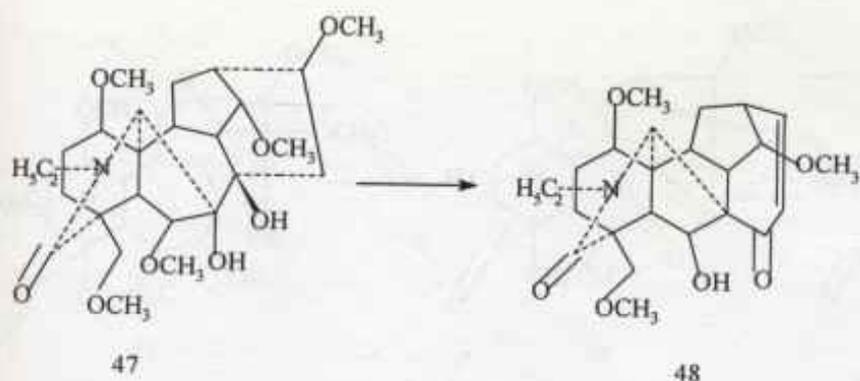
Реакция с резорцином и серной кислотой. 5-10 капель исследуемого раствора вносят в фарфоровую чашку и выпаривают досуха. К остатку прибавляют 4 капли 80%-го раствора серной кислоты и нагревают на водяной бане в течение 5 мин. Затем прибавляют несколько кристалликов резорцина и продолжают нагревание. Появление красной окраски (через 3-20 мин) указывает на наличие аконитина в пробе.

Кроме того, дитерпеноидные алкалоиды можно обнаруживать при помощи УФ-, ИК-, ЯМР- спектроскопических методов анализа [47].

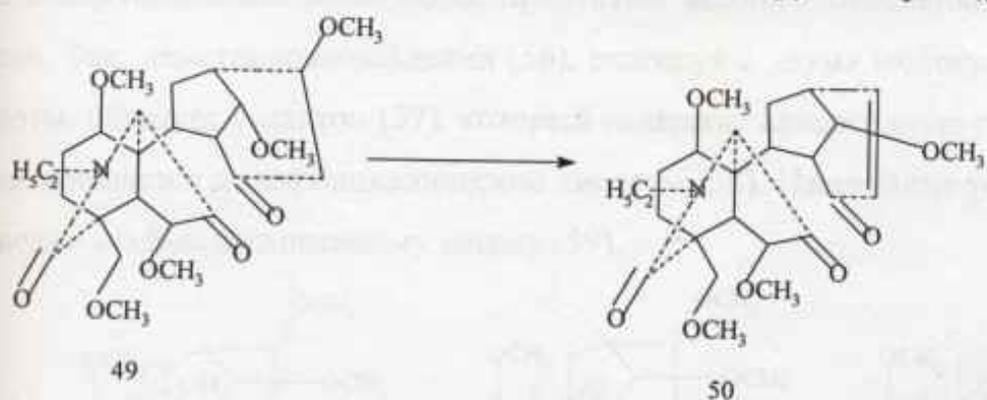
Одним из характерных свойств рассматриваемых алкалоидов является пинаколиновая перегруппировка. Так оксоликоктонин (45), полученный окислением ликоктонина перманганатом калия, при нагревании с хлористым ацетилом превращается в ангидрооксоликоктонин (46).



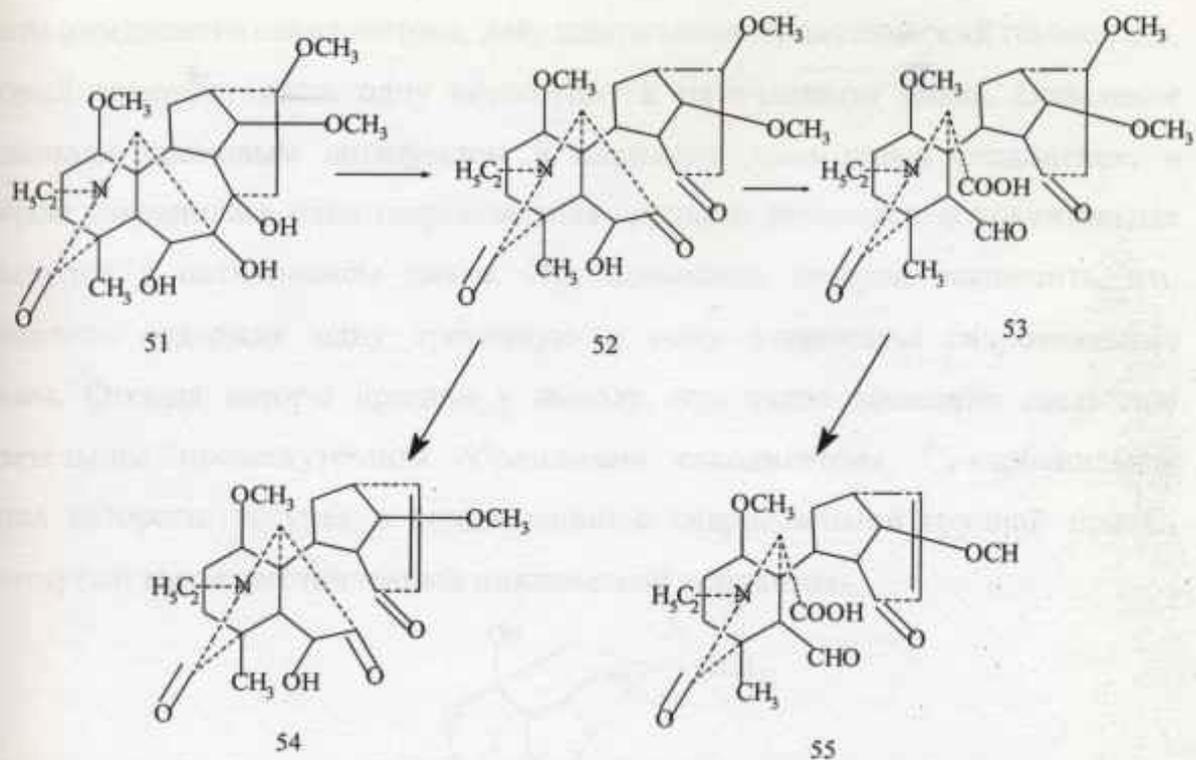
При нагревании оксодельфатина (47) с хлористым цинком в присутствии 3%-го раствора соляной кислоты пинаколиновая перегруппировка идёт иначе, в результате чего происходит элиминирование молекулы воды, метанола и диметилирование C₆-метоксильной группы с образованием α,β-ненасыщенного кетона (48) (λ_{max} 245нм, 1g ξ 3,98) [45].



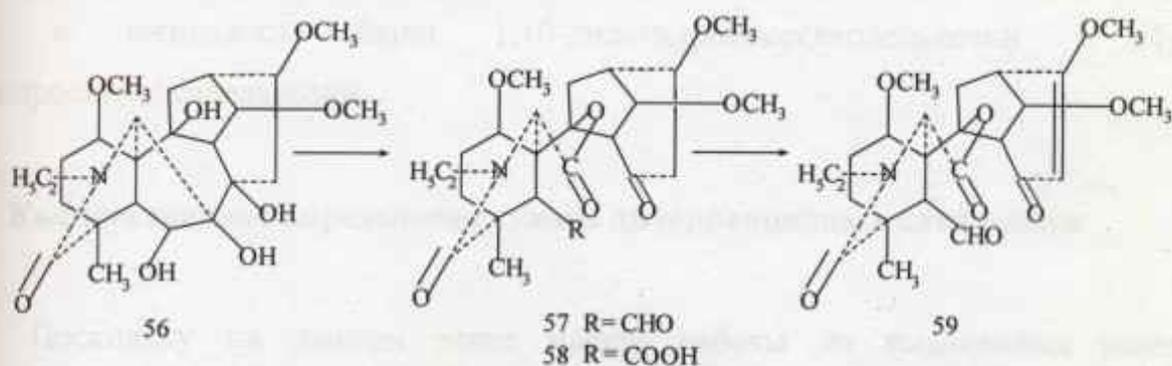
Важным отличительным свойством алкалоидов типа ликоктонина является образование дикетона при окислении йодной кислотой или тетраацетатом свинца. Например, (45) окисляется йодной кислотой до дикетона (49) – оксосеколикокктнина, содержащего одну кетогруппу в пятичленном, а другую – в шестичленном циклах. (49) при обработке минеральными кислотами теряет молекулу метанола и превращается в оксосекодегидрометоксиликотонин (50), являющийся α,β -ненасыщенным кетоном. Лёгкое элиминирование молекулы метанола указывает на β -ориентацию метоксильной группы при C_{15} [48].



Дметиленоксодельфелин (51) может взаимодействовать с одной молекулой йодной кислоты с образованием секодикетона (52). Дальнейшее окисление (52) йодной кислотой даёт кислоту (53). Обработка (52) и (53) разбавленной соляной кислотой приводит к α,β -ненасыщенному кетону (54) и α,β -ненасыщенной кислоте (55), соответственно [49].



При одновременном нахождении гидроксильных групп в положениях 6 и 13 в ликоктониновых алкалоидах продуктом йодного окисления является γ -лактон. Так, деметленоксоэльделин (56), реагируя с двумя молекулами йодной кислоты, образует γ -лактон (57), который содержит альдегидную группу [50] и легко окисляется до карбоциклической кислоты (58). Нагревание γ -лактона (57) приводит к α,β -ненасыщенному кетону (59).



Марион и Скарлик в ходе изучения строения делькозина показали, что присутствие α -гидроксильной группы в положении 1 ликоктонинового скелета существенно влияет на ход реакции окисления 7,8-диольной системы [51,52]. Также было обнаружено, что окисление оксоделькозина тетраацетатом свинца,

вместо ожидаемого секодикетона, даёт шестичленный циклический гемикеталь, который содержит лишь одну кетогруппу в пятичленном цикле. Окисление гемикеталей хромовым ангидридом в пиридине дало новое соединение, в котором сохранилась одна гидроксильная группа и появилась дополнительная кетогруппа в пятичленном цикле. Это позволило авторам заключить, что гемикеталь содержит одну третичную и одну вторичную гидроксильные группы. Отсюда авторы пришли к выводу, что такое возможно лишь при обязательном промежуточном образовании секодикетона, C₈-карбонильная группа которого, вступая в конденсацию с гидроксильной группой при C₁ упомянутый выше шестичленный циклический гемикеталь.



Для подтверждения этого авторы подвергли окислению 1,10-дидегидрооксоделькозин и 1-дегидрооксоделькозин. Продуктами этих реакций, как и ожидалось, были 1,10-дидегидрооксосекоделькозин и 1-дегидрооксосекоделькозин.

1.3. Количественное определение суммы дитерпеноидных алкалоидов

Поскольку на данном этапе нашей работы из выделенных нами алкалоидов главным алкалоидом считается делькозин, то методика, приводимая ниже, может быть использована в пересчёте на него.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1мм. Около 10г измельчённого сырья помещают в колбу вместимостью 250 мл, приливают 150 мл эфира, 7 мл

раствора аммиака и взбалтывают смесь в течение 1 ч. Эфирное извлечение быстро фильтруют через вату в колбу вместимостью 200 мл, прикрывая воронку часовым стеклом. К фильтрату прибавляют 5 мл воды, энергично взбалтывают и оставляют до просветления эфирного слоя, после чего отмеривают с помощью мерного цилиндра 90 мл эфирного извлечения в делительную воронку вместимостью 200 мл. Цилиндр дважды ополаскивают эфиром порциями по 10 мл, которые присоединяют к отмеренному эфирному извлечению.

Из эфирного извлечения алкалоиды максимально извлекают 1% раствором хлористоводородной кислоты порциями по 20, 15, 10 мл (проба с реактивом Майера), каждый раз фильтруя через смоченный водой бумажный фильтр диаметром 5 см во вторую делительную воронку такой же вместимости. Фильтр промывают дважды 1% раствором хлористоводородной кислоты по 5 мл, присоединяя промывную жидкость к общему кислотному извлечению.

Кислотное извлечение подщелачивают раствором аммиака до щелочной реакции по фенолфталеину, и алкалоиды извлекают последовательно 20, 15, 10 мл хлороформа взбалтывая по 3 мин. Хлороформное извлечение фильтруют в колбу для отгонки вместимостью 100 мл через бумажный фильтр, на который предварительно помещают 4-5 г свежeproкаленного безводного натрия сульфата, смоченного хлороформом. Фильтр дважды промывают хлороформом по 5 мл. Хлороформ отгоняют на водяной бане до объема 1-2 мл, остаток хлороформа в колбе удаляют продуванием воздуха до полного исчезновения запаха растворителя. Сухой остаток растворяют в 15 мл раствора хлористоводородной кислоты (0,02 моль/л) при подогревании на водяной бане, прибавляют 2 капли спиртового раствора метилового красного и 1 каплю раствора метиленового синего и избыток хлористоводородной кислоты оттитровывают раствором натра едкого (0,02 моль/л) до появления зелёной окраски.

Содержание суммы алкалоидов в пересчёте на делькозин в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(15-V) \cdot 0,009060 \cdot 100 \cdot 100}{m(100-W)}$$

Где 0,009060 – количество алкалоидов в пересчёте на делькозин, соответствующее 1 мл раствора хлористоводородной кислоты (0,02моль/л), в граммах; V – объём раствора натра едкого (0,02моль/л), израсходованного на титрование в миллилитрах; m – масса сырья, соответствующая отмеренному объёму эфирного извлечение, в граммах; W – потеря в массе при высушивании сырья в процентах [53].

1.4. Фармакологические свойства дитерпеноидных алкалоидов.

Большую часть алкалоидов *D. ajacis* с ликоктониновым скелетом составляют сложноефирные основания, являющиеся физиологически более активными, чем соответствующие им аминоспирты. В работе [54] было показано, что 14-ацетилделектин (О-ацетилделектин) и аядин (N,О-диацетилделектин) обладают выраженной курареподобной активностью, несколько уступающей таковой известного препарата «Мелликтин», а в работе [55] указывается, что 14-ацетилброуниин, дельфатин, дельфелин и дельталин (эльделин) проявляют умеренную антиаритмическую (АА) активность, подобно хинидину. Следует отметить, что при переходе от ликоктонина, проявляющего слабую курареподобную активность, к дельфатину, появляется качественно новый АА эффект.

Дельсолин, отличающийся от дельфатина наличием гидроксильной группы у C_1 вместо метоксильной, оказывает заметно больший, чем ликоктонин или делектин курареподобный эффект (КП). Тем самым было установлено, что подобным эффектом обладают аминоспирты ликоктонинового типа, имеющие при C_1 или при C_{18} гидроксильную группу [55]. При сравнении доз, при которых появляется курареподобная активность в ряду алкалоидов делектин,

N-ацетилделектин, антроноилликоктонин, аяцин, O-ацетилделектин, N,O-диацетилделектин, было обнаружено, что C_{14} -OCH₃, C_{14} -OCOH₃ способствуют появлению КП активности сложноэфирных соединений, при C_{18} которых имеются антарноилокисьная или ацетилантроноилокисьная группы. В работе [56] сравнивались дозы, при которых наблюдался АА эффект в ряду алкалоидов броуниин, 14-ацетилброуниин, 14-бензоилброуниин, делькозин, 14-бензоилделькозин, эльделин, 6-бензоилэльделин и было установлено, что независимо от природы заместителей у атома C_1 сложноэфирные соединения с бензоилоксигруппой у атомов C_6 или C_{14} проявляют практически одинаковое высокое АА действие. Как видно из таблицы 1. живокость Аякса продуцирует также и алкалоиды типа дигидроатизина (аяконин, дигидроаяконин), гетизина (вахматин, 13-O-ацетилвахматин). В работе [57] показано, что алкалоиды гетизинового ряда (гетизин, заравшанизин, тоджаканин), а также соединение дигидроатизинового типа – дигидроатизин, проявляют выраженную АА активность, превосходя в этом отношении хинидин, новокаиnamид, аймалин ритмилен. При этом было установлено, что по АА активности на модели аконитиновой аритмии дигидроатизин, хотя и уступает лапаконитину – действующему веществу препарата «Аллапинин», однако на других моделях аритмии сердца он оказался эффективным антиаритмиком. Будучи антагонистом ионов кальция, он превосходит по активности препараты второй группы (верапомил, нифедипин и др.) [58].

На сегодняшний день не все дитерпеновые алкалоиды, выделенные из живокости Аякса, изучены фармакологически. Вот некоторые данные. Из C_{19} -нордитерпеноидных алкалоидов антроноилликоктонин (LD_{50} 20.1 мг/кг (в/в, в/б)) снижает артериальное давление, проявляет ганглиоблокирующее и курареподобное действие, *in vitro* в концентрации 2×10^{-6} М блокирует на 50% амплитуду миниатюрных потенциалов концевой пластинки. 14-ацетилброуниин (LD_{50} 57 мг/кг) проявляет противоаритмическую активность, в дозе 10 мг/кг увеличивает латентный период аконитиновой аритмии в 5 раз. 14-

ацетилделектин (LD_{50} 15,5 мг/кг (в/в), >50 мг/кг (в/б)) проявляет курареподобную активность, уступает мелликтину. Аядин (LD_{50} 9,0 мг/кг (в/в), 35,4 мг/кг (в/б)) проявляет курареподобную активность, и тоже уступает мелликтину. Гигактонин (LD_{50} 88 мг/кг (в/в)) Н-холинолитическая активность. Делектин (LD_{50} 35,8 мг/кг (в/в, мышцы)) в острых опытах на кошках вызывает снижение артериального давления, угнетение проведения нервных импульсов в симпатических ганглиях, в больших дозах (10-15 мг/кг) блокирует передачу импульсов с нерва на мышцу. Делькозин (LD_{50} 107 мг/кг (в/в, мышцы)) оказывает курареподобное действие. Дельсолин (LD_{50} 175, 550мг/кг (в/в, в/б, мышцы)) снижает артериальное давление, блокирует Н-холинорецепторы ганглиев, обладает мышечно-расслабляющей активностью. Дельталин (LD_{50} 136 мг/кг (в/в)) проявляет курареподобное и ганглиоблокирующее действие, противоаритмическая активность выражено сильнее, чем у хинидина и новокаинамида. Дельфатин (LD_{50} 100 мг/кг) проявляет умеренную антиаритмическую активность. Ликоктонин (LD_{50} 170.0 > 600мг/кг (в/в, в/б)) проявляет гипотензивная, Н-холинолитическую активность. Метилликаконитин (LD_{50} 3,9 мг/кг (в/в), 19,5 мг/кг (в/б)) активное курареподобное средство, оказывает действие при введении в желудок, в медицине применяется под названием мелликтин [8, 12, 17, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34].

Выводы.

1. Дитерпеноидные алкалоиды – это обширный класс азотсодержащих органических оснований, со свойственной ему структурой, физико-химическими свойствами и физиологической активностью.
2. Все дитерпеноидные алкалоиды обладают высокой специфической биологической активностью, что делает их интересными с научно-практической точки зрения.
3. Изучаемая нами живокость Аякса, может стать ценнейшим источником лекарственных препаратов широкого спектра действия.
4. Полученные в будущем из этого растения основания аминоспиртов могут стать источником получения физиологически более активных их производных.

Глава 2. Основная часть.

2.1. Живокость Аякса: морфология, заготовка, сушка и хранение.

Если верить легенде, то название данного растения произошло от имени древнегреческого героя – Аякса, из крови которого будто бы вырос цветок, напоминающий своей формой первую букву его имени.

Живокость Аякса – *Consolida ambigua* (*Delphinium ajacis* L.) или садовый шпорник.

Сем.: лютиковые – *Ranunculaceae*

Ботаническая характеристика

Это однолетнее травянистое растение, его стебель 30 – 100 см в высоту, ветвистый, с оттопыренными ветвями, прижато-опушённый; листья многократно тройчато-рассечённые, с узколинейными дольками; нижние прицветники пальчато-рассечённые на линейные дольки, прицветники мелкие, линейные, отодвинутые от основания цветка; цветоносы прижато-опушённые, с белыми волосками, некоторыми при основании пузыревидно расширенными и желтоватыми; цветки в рыхлых или густоватых кистях, интенсивно окрашенные в голубой цвет или бледно-розовые, реже беловатые, верхний и нижние боковые листочки околоцветника ланцетно-яйцевидные, 12 – 15 мм длиной и 5 – 6 мм шириной, верхние боковые – округло-яйцевидные, 1 – 1,2 см шириной, при основании суженные в коротенький ноготок. И те и другие – снаружи немного опушённые; шпорец почти прямой 1,5 – 1,6 см и при основании около 2 – 2,25 мм толщиной, немного длиннее верхнего листочка околоцветника.

Нектарник крупный, с пластинкой 1,3 – 1,6 см длиной (длина её берётся от основания шпорца), трёхлопастной, со средней лопастью продолговатой, 7 – 8 мм длиной, на конце выемчатой, так же как и листочки околоцветника, окрашенной; с боковыми широкими, полукруглыми или округло-

треугольными, тупыми листочками, листовка обычно 1,5 – 2 см длиной густоопушённая более мелкими отстоящими волосками и жёлтыми пузыревидно расширенными при основании, на верхушке продолжена с одной стороны в коротенький носик, 2,5 – 2,75 мм длиной; края её шва очень слабо утолщены; семена чёрные, трёхгранные, покрытые пластиночками. Цветёт и плодоносит в мае – октябре.

Распространение.

Встречается, как редкий, случайно заносимый сорняк в огородах, посевах и у жилищ – Европейская часть: Крым; Кавказ: Предкавказье, Даг., Тал.; Средняя Азия: Кара-кум (Мерв). Общее распространение: Средиз. Зап. (Праванс, каменистые склоны), Ср.Евр.(южная часть), Балк. – Малоаз. Занесено в Индию и северную Америку. Описан, как садовое растение, происхождение которого неизвестно [15].

Заготовка.

Заготавливают живокость в фазе бутонизации или зацветания растения, её скашивают или срезают серпом на уровне нижних зелёных листьев и раскладывают на предварительно выкошенном участке. Грубые толстые стебли, содержащие мало алкалоидов, сразу же удаляют.

Сушка.

Сушат сырьё на солнце. Разложив тонким слоем; лучше сырьё получается при сушке под навесами или в сушилках. Сушку нельзя затягивать, так как, пересушенное сырьё складывают в копны на хорошо обдуваемых местах, измельчают на соломорезке или топором и укладывают в мешки.

Хранение.

Готовое сырьё упаковывают в тюки или в кипы по 50 кг. Хранят с предосторожностью, отдельно от прочего лекарственного сырья.

2.2. Выделение, разделение и идентификация алкалоидов живокости Аякса (*Delphinium ajacis* L.)

1,5кг измельчённого сырья перед экстракцией смочили 1,5л 10%-го раствора натрия гидрокарбоната. Для вымывания солей алкалоидов из клеток растительного сырья. Обработанное таким образом сырьё загрузили в перколятор и оставили на два часа. После залили сырьё экстрагентом, в качестве которого выступал хлороформ. Объём залитого экстрагента составил 6,3 литра.

После суточного отстаивания произвели первый слив экстракта. Далее полученное извлечение сгустили, отогнав хлороформ при 50-60°C на водяной бане. В последующем всего было получено 6 сливов, которые были также сгущены.

Для подтверждения наличия алкалоидов в полученных извлечениях к пробе, взятой после объединения всех сгущённых экстрактов, добавили 10 мл 5%-й серной кислоты и 3-4 капли кремневольфрамовой кислоты, но реакция оказалась отрицательной. Тем не менее, полученный объединённый экстракт был обработан 5%-й серной кислотой. Параллельно проводили определение содержания алкалоидов и в оставшемся травяном шроте так же, как указывалось выше.

Экстракт многократно обрабатывался 5%-й серной кислотой. При первой обработке добавили 100мл кислоты, после взбалтывания образовалась эмульсия, которая была разрушена при простом отстаивании раствора. Операцию проводили в делительной воронке объёмом 1литр. Кислые сливы собирали 6 раз (с начала все 100 мл, а потом по 25мл). После этого кислые сливы очищали, добавляя 50 мл хлороформа (каждый слив по три раза). Образующийся после обработки кислый водный раствор, содержащий алкалоиды, нейтрализовали порошком натрия гидрокарбоната в количестве 16,4г. Затем добавили ещё натрия карбоната до образования слабощелочной реакции. Полученный раствор снова промываем хлороформом три раза по 100мл, для перехода алкалоидов оснований из водного раствора в хлороформный слой. К полученному хлороформному извлечению с рН 8

добавляем безводный сульфат натрия для удаления остаточной влаги (извлечение А). К оставшемуся щелочному водному раствору добавили натрия карбонат до рН 9-10 и промыли 3 раза по 100мл хлороформом. Хлороформные извлечения объединили и к ним также добавили безводный натрия сульфат (извлечение В). После этого к оставшемуся водному щелочному раствору добавили концентрированный раствор КОН, и после взбалтывания промыли три раза хлороформом по 100мл. Хлороформные извлечения с рН > 12 объединили и добавили к ним безводный натрия сульфат (извлечение С). Таким образом, получены три хлороформных извлечения А, В и С.

Оставшийся после хлороформной экстракции шрот залили 7 литрами 94%-го этанола. После суточного настаивания сделали первый слив объёмом 5литров. Проба на алкалоиды с кремневольфрамовой кислотой в кислой среде была положительной. Затем растворитель отогнали на роторном испарителе. Всего получено 6 спиртовых сливов. Растворитель в каждом случае был отогнан под вакуумом. Остаток растворили в смеси серная 5%-я серная кислота-хлороформ = 300:150. Смесь перенесли в делительную воронку, и после взбалтывания, отделили хлороформный слой. А кислый остаток 3 раза промыли хлороформом по 5 мл. Затем оставшийся кислый водный раствор подщелочили 40г натрия гидрокарбоната до рН 8 и обработали хлороформом три раза по 100мл. Хлороформные вытяжки объединили и добавили к ним безводный натрия сульфат (извлечение D).

К оставшемуся водно-щелочному раствору добавили 10мл натрия карбоната до рН 9-10, после чего также обработали хлороформом. Так как реакция на алкалоиды этого извлечения была слабая, было решено подщелочить водно-щелочной раствор концентрированным раствором КОН и продолжить извлечение алкалоидов. К водно-щелочному раствору добавили 50мл 10% раствора КОН до рН \geq 12 и обработали его хлороформом три раза по 100мл. Хлороформные извлечения объединили и добавили к ним безводный сульфат натрия (извлечение E).

Из хлороформных фракций А, В и С используя роторный испаритель были получены три фракции сумм алкалоидов А=4,8г, В=0,33г и С=0,2г. Общая масса всех трёх фракций составила 5,33г, что составляет 0,35% от массы сухого растительного сырья. Образец от каждой из трёх фракций растворили в хлороформе и нанесли капилляром на хроматографическую пластинку с закреплённым слоем силикагеля и поместили в камеру с системой растворителей хлороформ-96% этанол = 9:1 на 15 минут, затем пластинку вынули, сушили под тягой 5-7 минут. Для просмотра картины разделения пластинку поместили в камеру с парами йода, затем обработали пластинку реактивом Драгендорфа. Хроматограмма показала качественно отличающиеся составы трёх выделенных фракций (см. рис. 1).

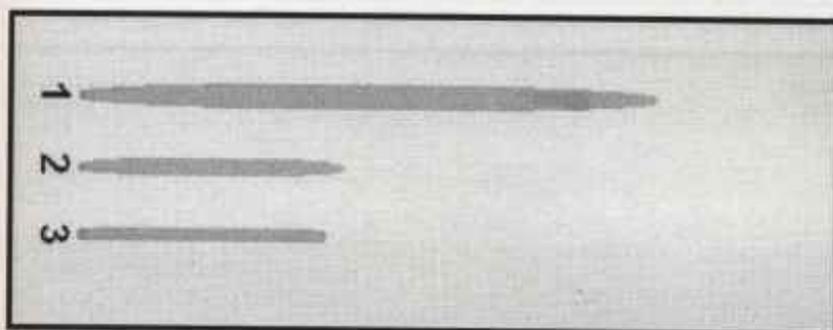


Рис.1

- | | |
|-------------------|--------------|
| 1-первая | хлороформная |
| фракция с рН8 | |
| 2-вторая | хлороформная |
| фракция с рН9-10 | |
| 3-третья | хлороформная |
| фракция с рН > 12 | |

Далее на другую пластинку ТСХ с закреплённым слоем силикагеля нанесли образец кислой промывной фракции после экстракции хлороформом первой суммы алкалоидов и два свидетеля образца дельказина и гигаكتонина. Пластинку поместили в систему хлороформ-этиловый спирт 9:1. Хроматограмма показала наличие в исследуемой фракции, как дельказина, так гигаكتонина (см. рис.2)

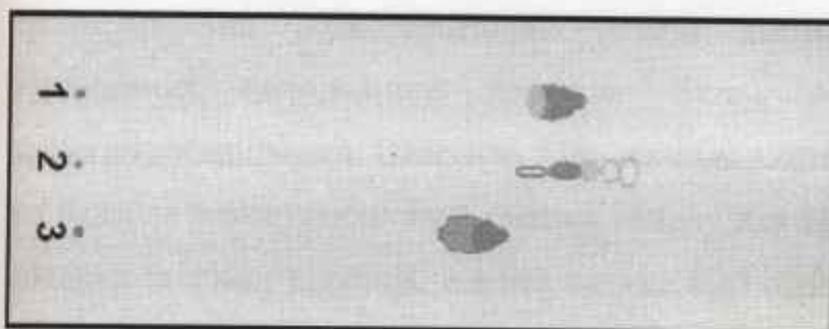


Рис. 2

- | |
|-----------------------|
| 1-делькозин |
| 2-образец исследуемой |
| фракции |
| 3-гигактонин |

Далее проводилось неоднократное сравнение кислой промывной фракции после экстракции хлороформом первой суммы алкалоидов с имеющимися у нас образцами дитерпеноидных алкалоидов. На пластинках с закреплённым слоем силикагеля или оксида алюминия в различных системах растворителей (см. рис 3,4).

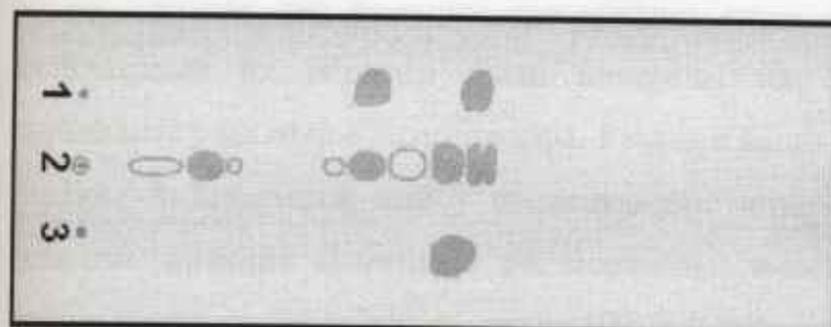


Рис. 3
1-смесь антроноил-
ликоктонина и ликоктонина
2-фракция А
3-аяцин
Пластинка с закреплённым
слоем оксида алюминия.
Система хлороформ :
этиловый спирт (9:1).

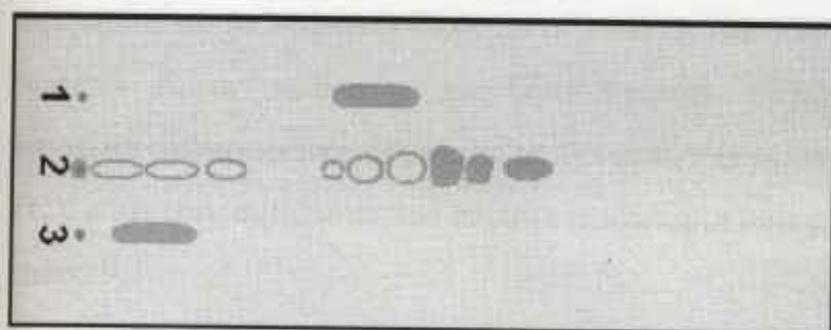


Рис. 4
1-дельказин
2-фракция А
3-гигактонин
Пластинка с закреплённым слоем оксида алюминия. Система хлороформ : этиловый спирт (9:1)

Из фракции А отобрали 0,5г на фармакологические испытания. Оставшиеся 4,3г перенесли в фарфоровую чашку. Сюда же добавили порцию предварительно подготовленного оксида алюминия. И перемешали до образования однородного порошка. Затем подготовили колонку для хроматографирования. Отвесили 129г оксида алюминия, добавили к нему 20-30 мл бензола и заполнили этой смесью колонку для хроматографирования. Конец колонки закрыли пробкой, а в неё налили ещё около 100 мл бензола. Через 30

минут колонку открыли снизу и выпустили часть растворителя со скоростью примерно 20 капель в минуту. Столбик растворителя над сорбентом был 4-5 см в высоту и колонку снова закрыли. Затем в колонку добавили нашу пробу для хроматографирования. Колонка оставлялась на 2 часа. После этого колонку снова открыли и слили бензол капельно. Убедившись, что бензол смочил всю колонку, его снова залили в неё. Далее начали собирать бензольные фракции по 50 мл. Первые две фракции проверились нами на содержание алкалоидов: капиллярами их образцы были нанесены на фильтровальную бумагу и опрысканы реактивом Драгендорфа. Реакции были отрицательными. Подобная картина наблюдалась ещё у последующих четырёх фракций. Перед сбором седьмой фракции заменили растворитель: вместо чистого бензола стали использовать систему бензол-спирт 100:1. Далее снова стали получать фракции и сгущать их на водяной бане до объёма около 3 мл. Перед сбором 38 фракции система была заменена на бензол-спирт 100:2. Параллельно проводили хроматографирование образцов полученных сгущённых фракций на пластинках ТСХ с закреплённым слоем оксида алюминия или силикагеля в системе бензол-спирт 9:1.

После сгущения некоторые фракции начали кристаллизоваться. Так мы осуществили отделение кристаллов из фракций 45, 46, 47 при добавлении к ним ацетона. После перемешивания раствора и отсоса ацетона под вакуумом, были получены кристаллы.

Параллельно проводилось хроматографирование кристаллов и маточных растворов из фракций 41, 42, 43 для определения степени чистоты кристаллов. В выше указанной системе на пластинке ТСХ, с выше указанным сорбентом. Проявителем служат пары йода (см. рис. 5, 6).

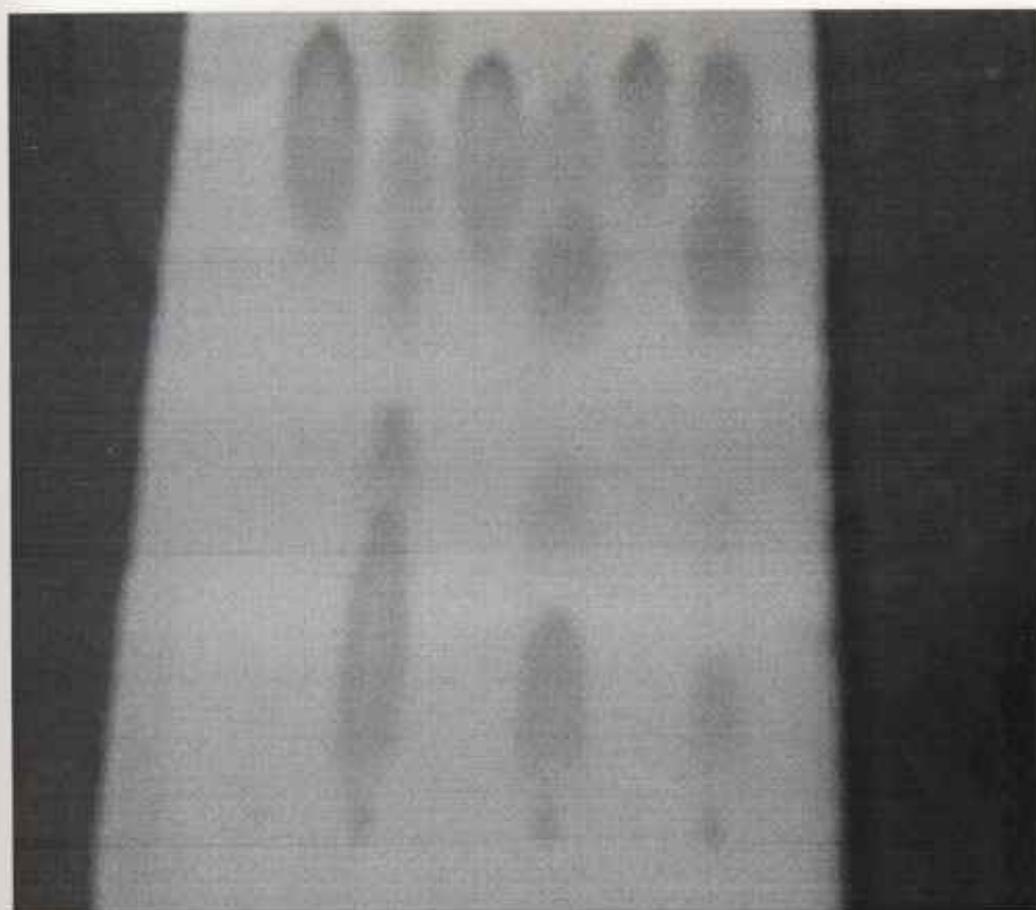


Рис. 5. Кристаллы и маточные растворы фракций 41-43.



Рис. 6. Фракции 48-51.

Хроматграммы показали необходимость объединения 49, 50, 51 фракций, а также объединение 52 и 53 фракций для увеличения выхода кристаллов алкалоидов (см. рис. 7).

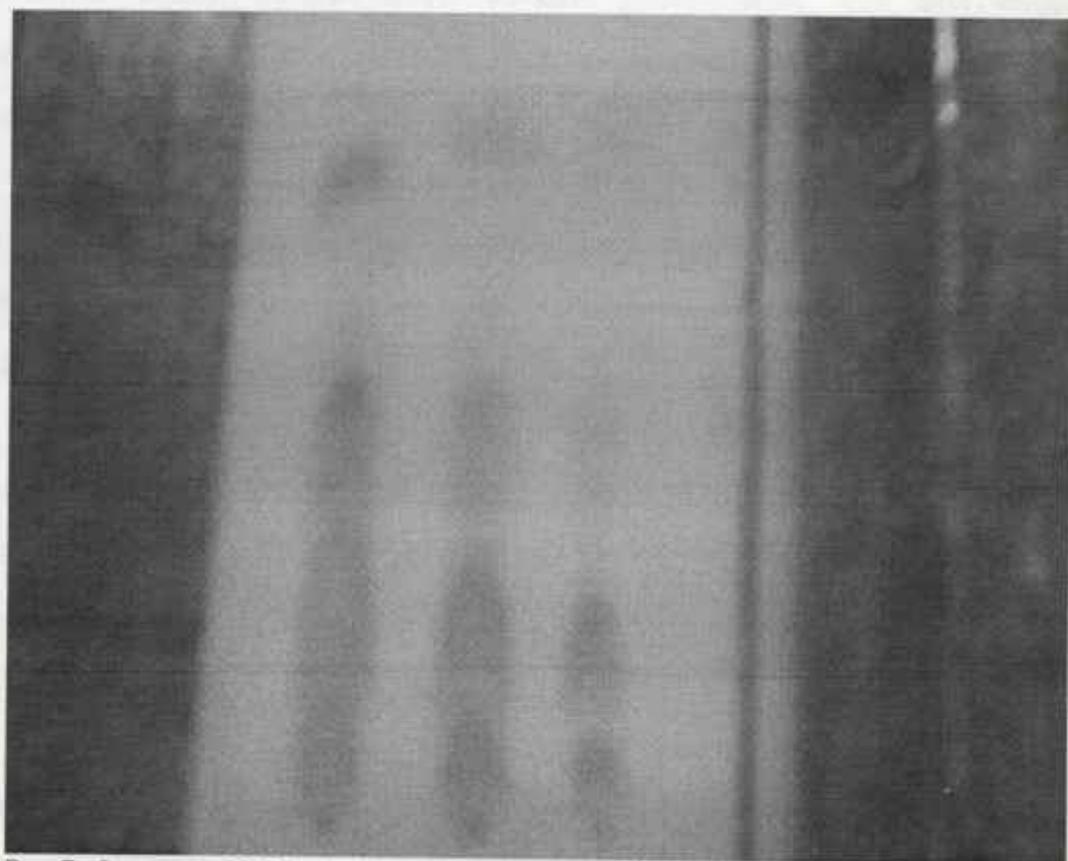


Рис.7. Фракции 52-54.

После сбора 55 фракции система была заменена на бензол-спирт 50:1. Провели хроматографическое исследование кристаллической части сильноосновных алкалоидов в системе хлороформ-метанол 8:1 на пластинке оксида алюминия со свидетелем атизином. Далее проводим перекристаллизацию из ацетона полученных кристаллов.

Перекристаллизованные кристаллы вновь хроматографировались на пластинке ТСХ с закреплённым слоем оксида алюминия в системе хлороформ - метиловый спирт 8:1, проявитель – пары йода. Сравнивается R_f , полученных пятен. А также предварительно проверяется температура плавления, выделенных кристаллов, а так же снимались их ИК-, ПМР-, и углеродные спектры.

Вещество «А₁» C₂₄H₃₉NO₇, т.пл. 203-204°C, Rf пятна идентично Rf пятна делькозина (пластинке ТСХ с силикагелем в системе бензол-спирт 9:1), ИК-спектр этого вещества идентичен ИК-спектру делькозина (см. рис.8). На основании выше изложенного можно утверждать, что полученное нами вещество «А₁» из слабоосновной фракции суммы алкалоидов живокости Аякса является делькозином.

Вещество «А₂» C₂₅H₄₁NO₇, т.пл. 212-213°C Rf пятна идентично Rf пятна дельсолина. На основании выше изложенного можно заключить, что выделенное нами вещество «А₂» из слабоосновной фракции суммы алкалоидов живокости Аякса, является дельсолином.

Вещество «Е₁» C₂₃H₃₃NO₃, т.пл. 167°C, ПМР- и углеродные спектры идентичны аяконину (см. рис.9, 10, 11, табл.3., приложение 1.). На основании выше изложенного можно утверждать, что выделенное нами вещество «Е₁» из сильно основной фракции Е суммы алкалоидов живокости Аякса, является аяconiном.

Взвешивание полученных кристаллов идентифицированных алкалоидов показывает, что на данном этапе главным алкалоидом изучаемого растения является делькозин.

Спектры ¹H и ¹³C ЯМР снимали на приборе SFT-20 ("Varian" Швеция), ИК-спектры на Фурье-ИК-спектрометре PerKin-Elmer-2000 в вазелиновом масле. Для тонкослойной хроматографии (ТСХ) применялись силикагель марки КСК, окись алюминия «Для хроматографии», а для колоночной хроматографии – дезактивированная окись алюминия. Для ТСХ на пластинках с силикагелем использовались системы растворителей бензол-спирт 9:1, хлороформ-спирт 9:1, а для ТСХ на пластинках с окисью алюминия – системы растворителей бензол-спирт 20:1, бензол-спирт 9:1, хлороформ-метанол 8:1. Температуры плавления не исправлены.

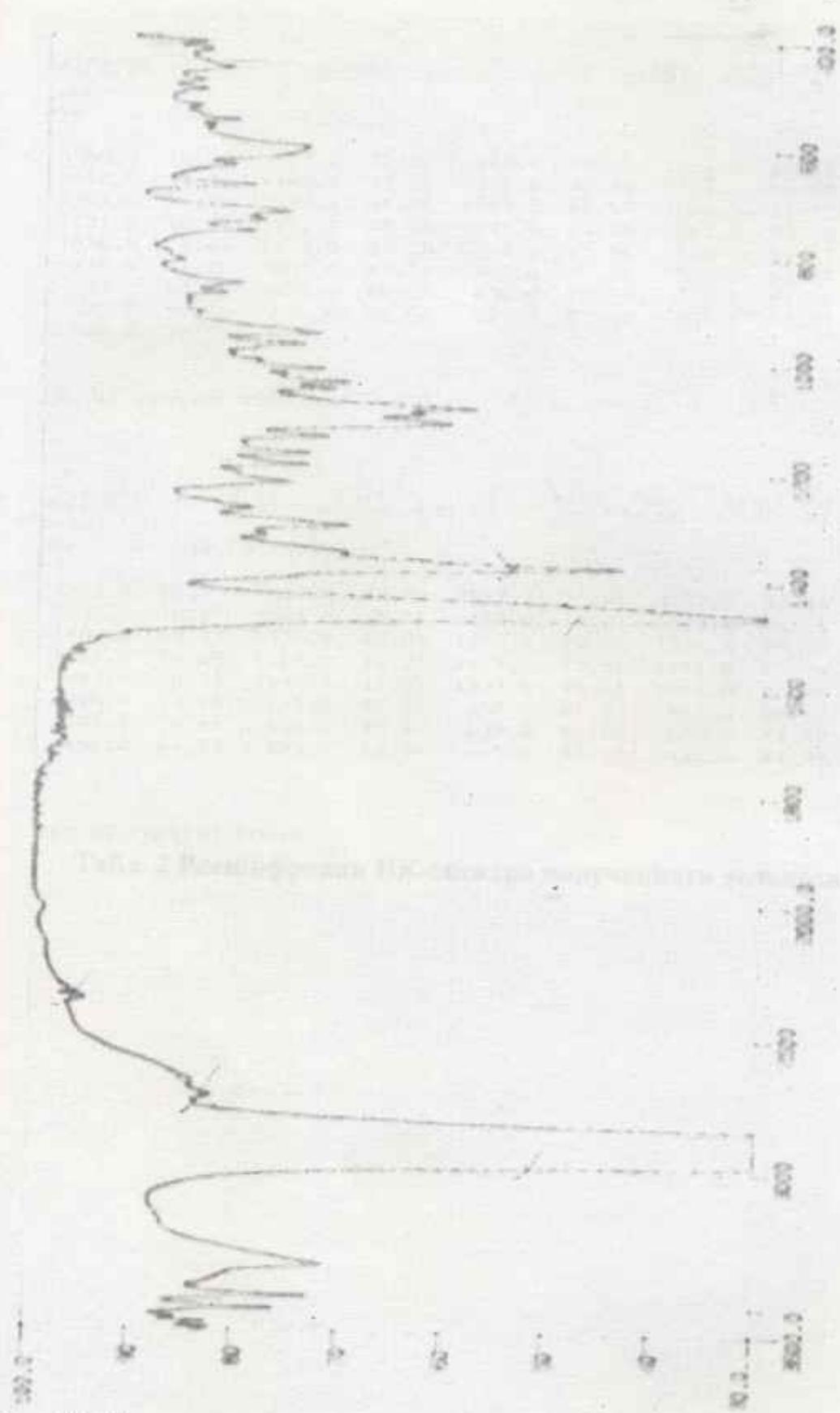


Рис. 8 ИК-спектр полученного делькозина (из вазелина).

filename	#pts	start	end	mid	max	res	ord	acc	thresh
DELKOZIN.DP	3201	3600.00	400.00	20.76	68.87	4.00	41		2.00
none									
REP	2000.00	81.55							
3569.0	79.98	3517.0	71.36	3473.0	67.80	3352.0	62.13	2921.0	20.76
2854.0	21.58	1463.0	27.91	1378.0	40.49	1352.0	60.54	1322.0	67.44
1302.0	57.39	1270.0	68.04	1222.0	62.52	1188.0	59.73	1167.0	60.51
1137.0	58.25	1111.0	46.70	1093.0	47.40	1083.0	42.40	1049.0	57.86
1036.0	54.42	1014.0	57.25	968.0	60.96	949.0	59.07	911.0	73.98
875.0	71.36	857.0	67.74	814.0	77.14	759.0	68.57	739.0	71.13
722.0	73.87	674.0	66.29	636.0	70.39	601.0	61.31	553.0	70.83
527.0	76.80	496.0	76.60	479.0	77.20	455.0	74.04	422.0	77.59
408.0	78.23								

END 41 PEAK(S) FOUND

filename	#pts	start	end	mid	max	res	ord	acc	thresh
DELKOZIN.DP	3201	3600.00	400.00	5.11	100.06	4.00	41		2.00
none									
REP	2000.00	98.52							
3589.0	81.95	3569.0	82.23	3517.0	75.91	3471.0	72.66	3351.0	71.36
2953.0	10.87	2924.0	5.11	2855.0	12.31	2724.0	82.28	1655.0	96.34
1460.0	29.87	1377.0	43.89	1302.0	70.39	1271.0	79.73	1222.0	75.97
1188.0	74.45	1167.0	74.27	1137.0	72.51	1111.0	60.70	1093.0	63.38
1083.0	58.31	1049.0	72.02	1037.0	70.58	1014.0	73.06	968.0	74.91
949.0	73.48	875.0	82.55	857.0	81.03	814.0	86.58	759.0	79.87
722.0	76.61	674.0	79.81	636.0	81.86	602.0	74.88	553.0	81.59
496.0	84.72	479.0	84.95	455.0	82.33	422.0	84.39	409.0	84.89

END 40 PEAK(S) FOUND

Табл. 2 Расшифровка ИК-спектра полученного делькозина.

NMR - UNITY 400*/ICPS
 Sample: SALTANOV B.
 0.01, CCl4 (25mg)
 from O-diacid
 Tm, 153-4 C
 Solvent: CCl4
 Exp: 22 Pul 1M
 Ref: NMR5 92m
 Date: 15.03.78

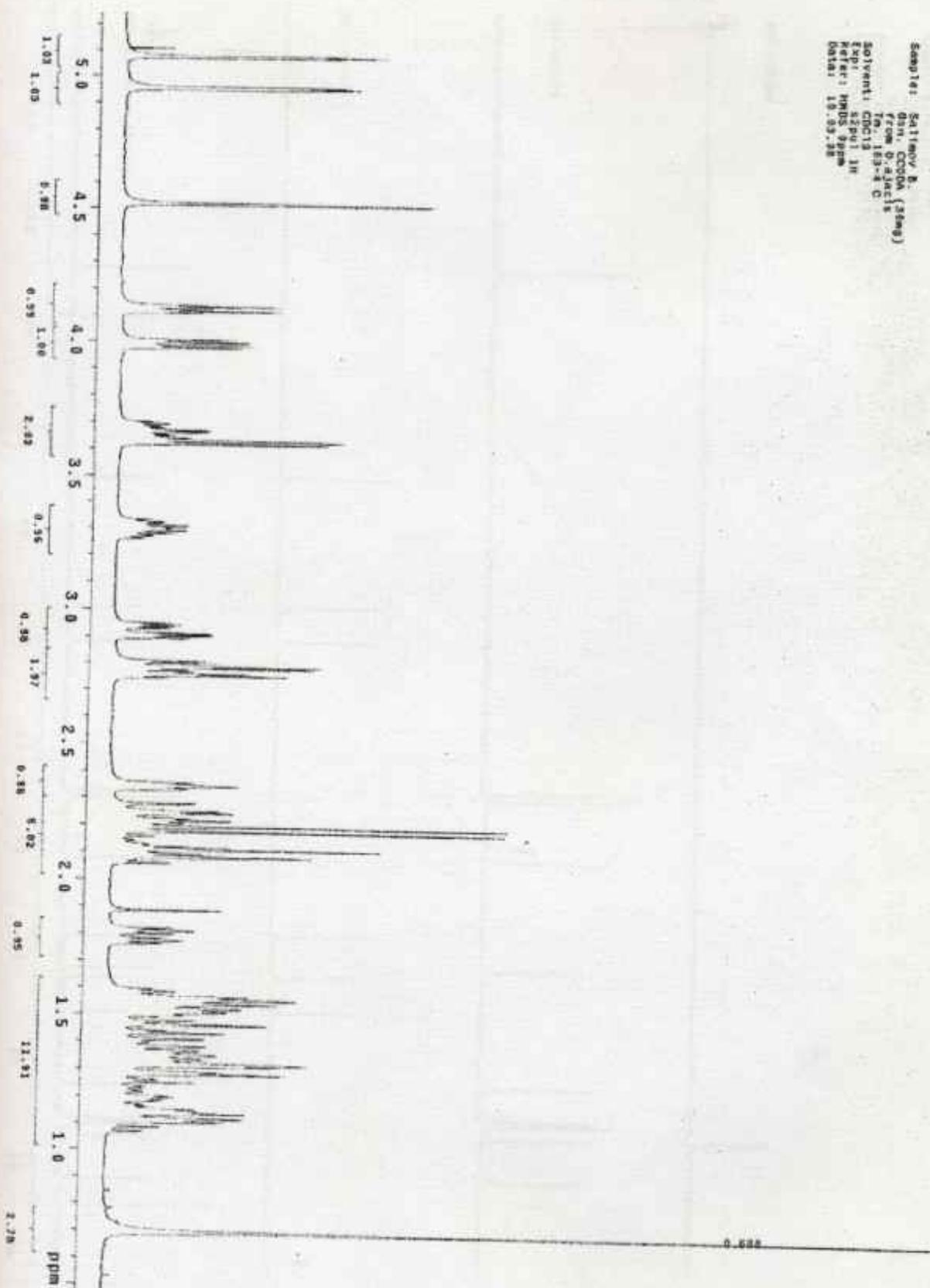


Рис. 9. ПМР-спектр полученного аяконина.

MM-UNITY 400, ICPS
Sample: Salimov R.
Solvent: CDCl₃ (38mg)
F1: 01.03.15
F2: 01.03.15
Solvent: DMSO-d₆
Exp: 4501
Date: 19.05.09

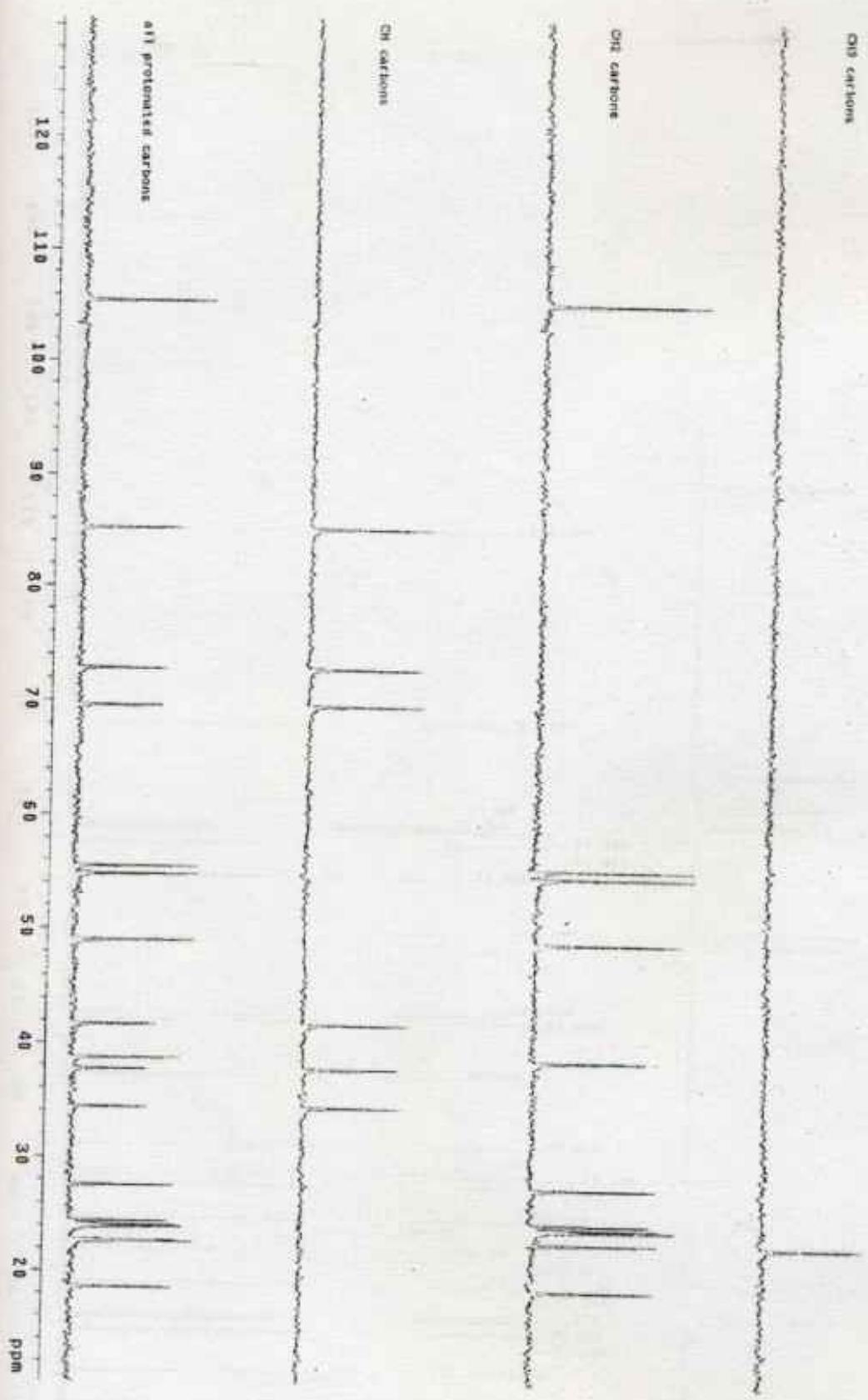


Рис. 10 Углеродный спектр (¹³C) полученного аяконина, с выделением углерод-водородных атомов.

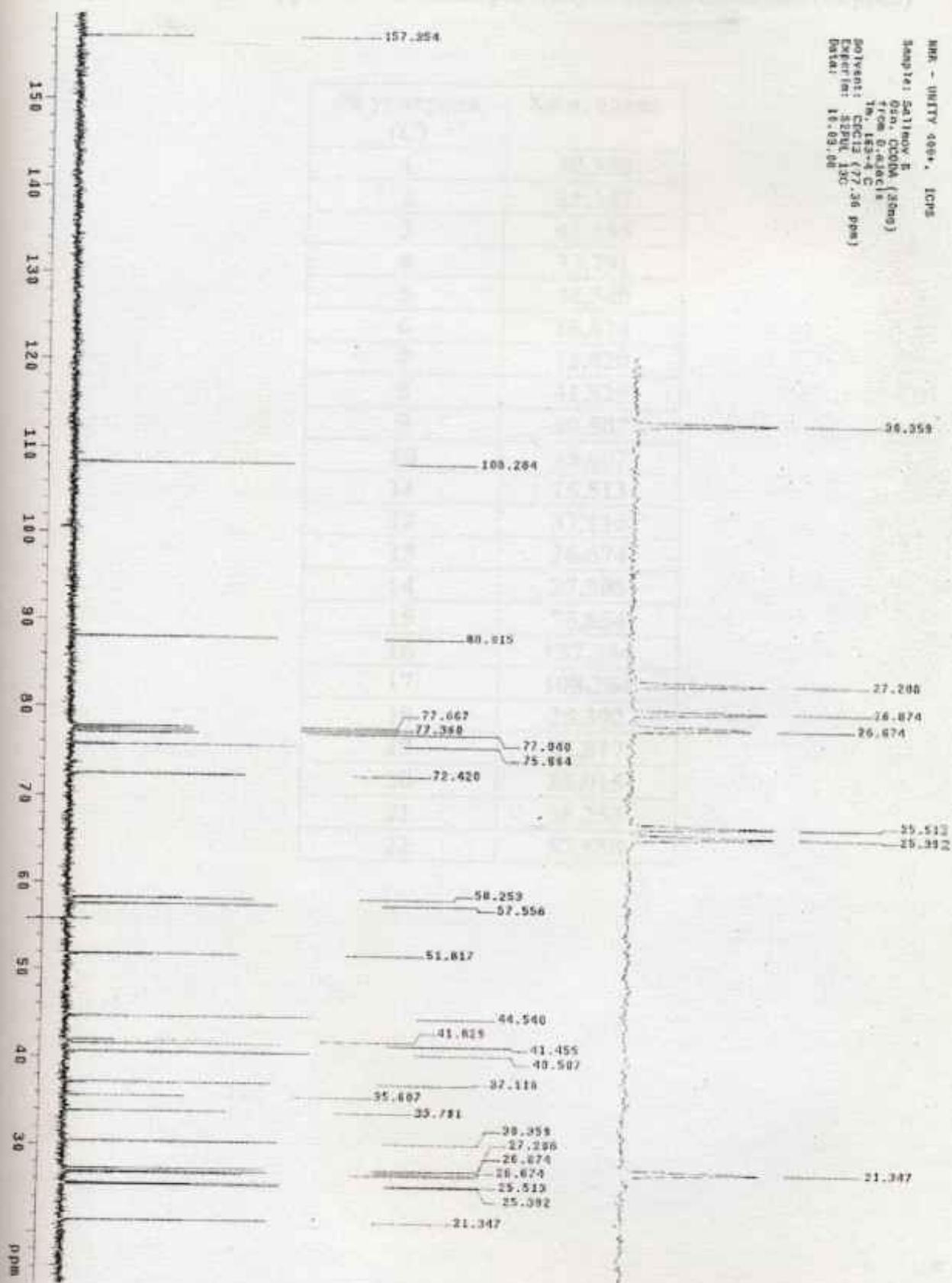
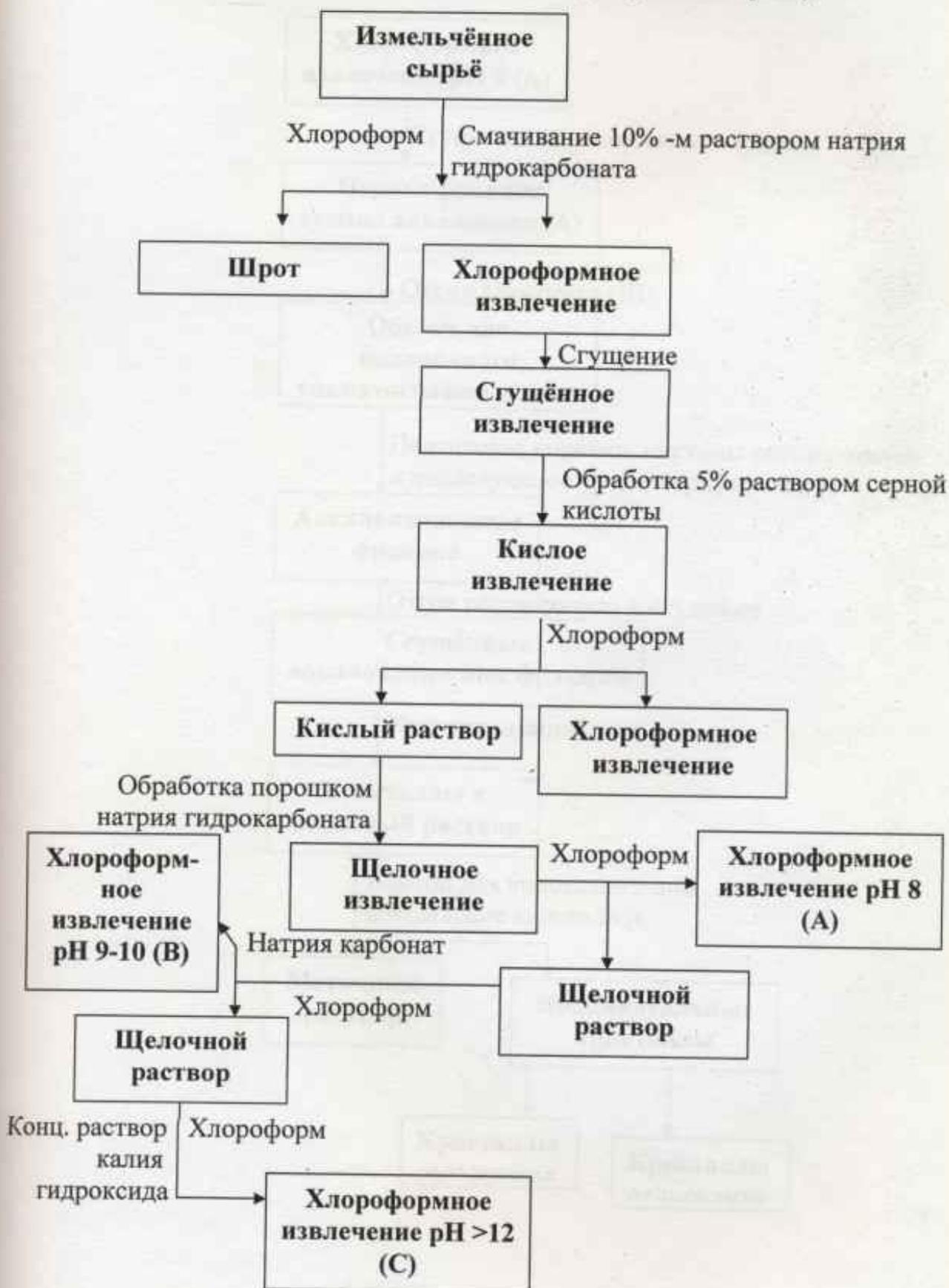


Рис. 11. Развёрнутый ¹³C-спектр, полученного аяконина (77.667, 77.360, 77.040 – пики растворителя хлороформа CDCl₃).

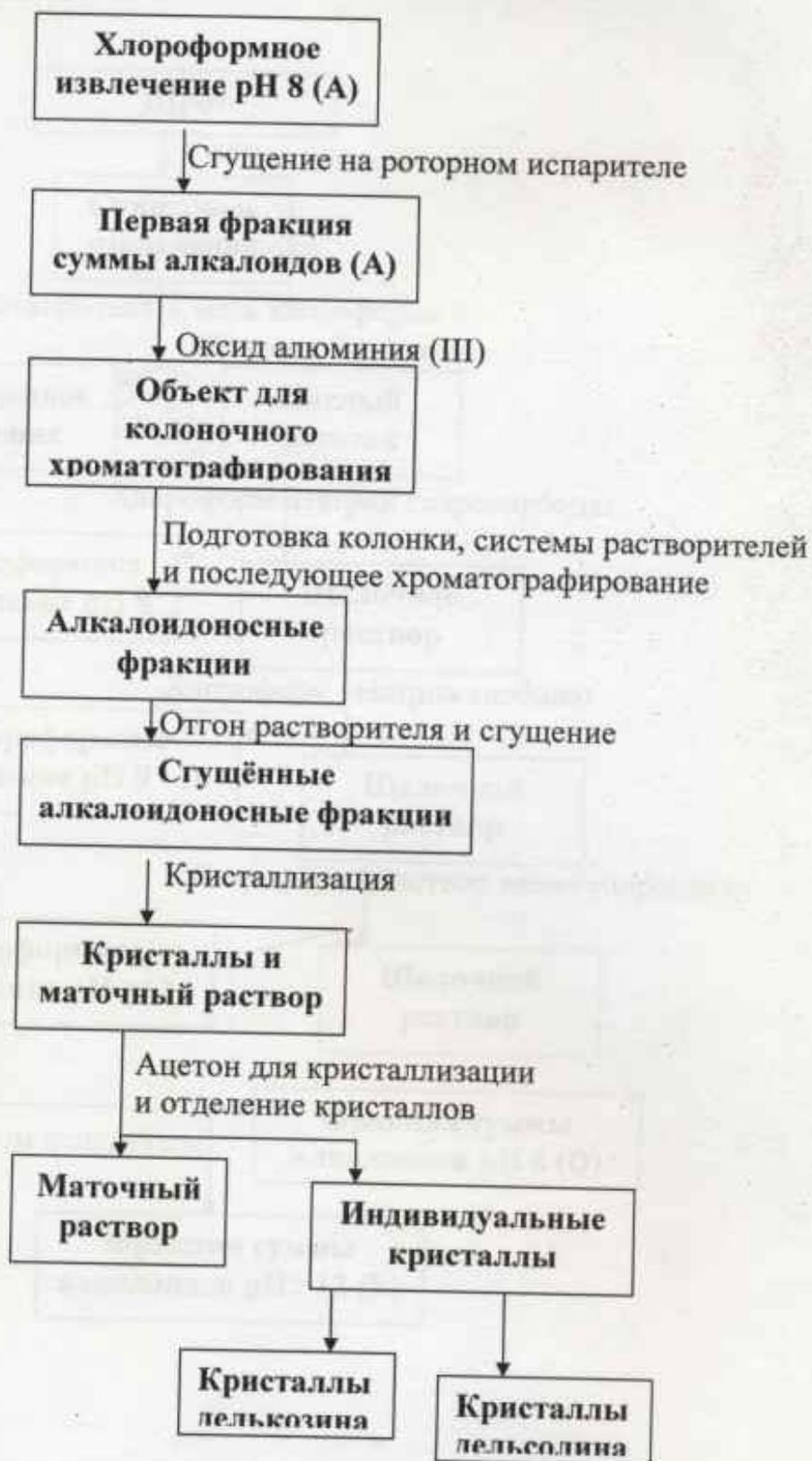
Табл. 3. Расшифровка ^{13}C -спектра, полученного яконина ($\pm 2\text{ppm}$)

№ углерода (C)	Хим. сдвиг
1	30,359
2	21,347
3	41,455
4	33,791
5	44,540
6	26,874
7	72,420
8	41,829
9	40,507
10	35,607
11	25,513
12	37,116
13	26,674
14	27,208
15	75,654
16	157,354
17	108,284
18	25,392
19	51,817
20	88,015
21	58,253
22	57,558

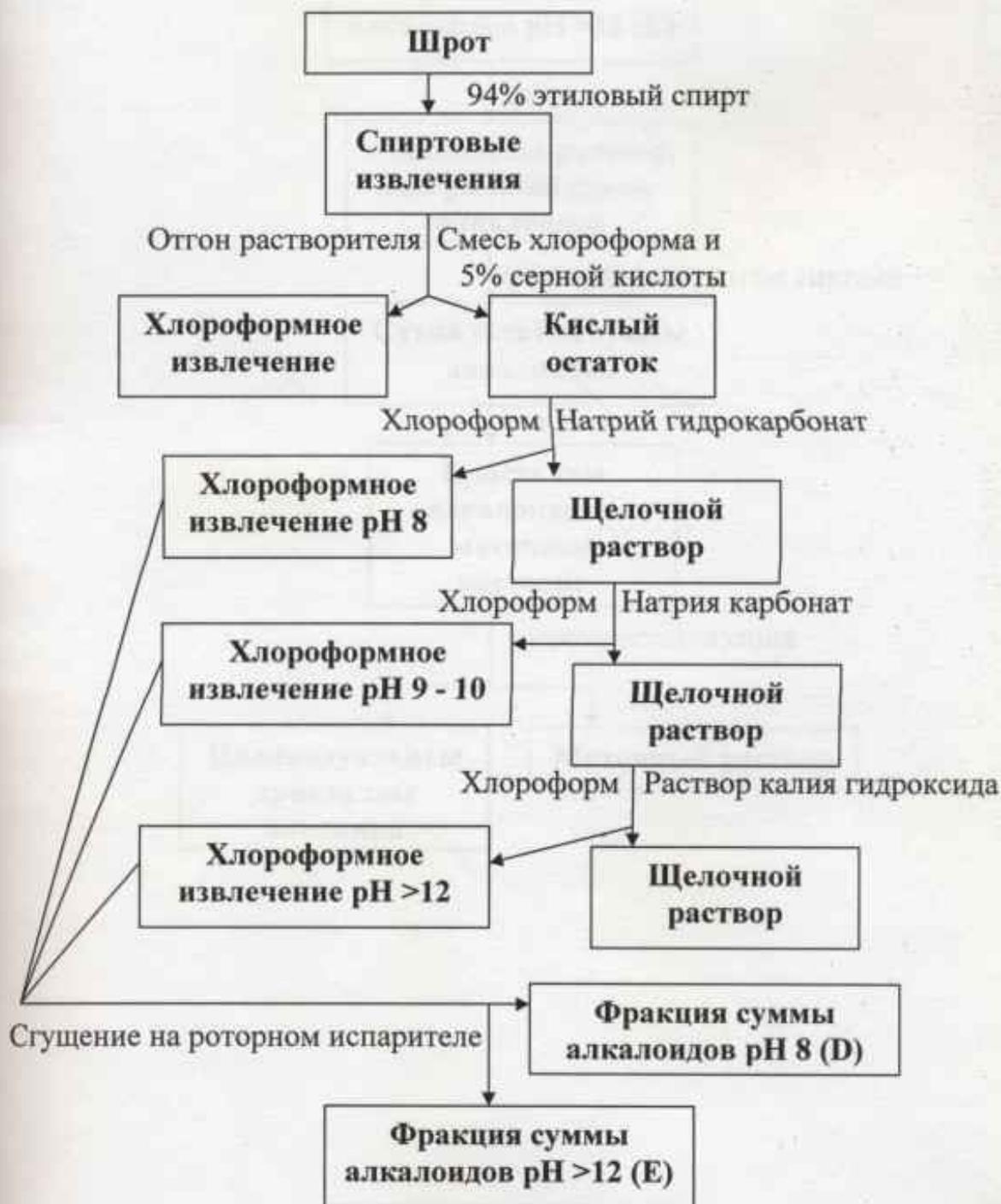
1. Схема технологического процесса выделения дитерпеноидных алкалоидов из живокости Аякса (*Delphinium ajacis*).



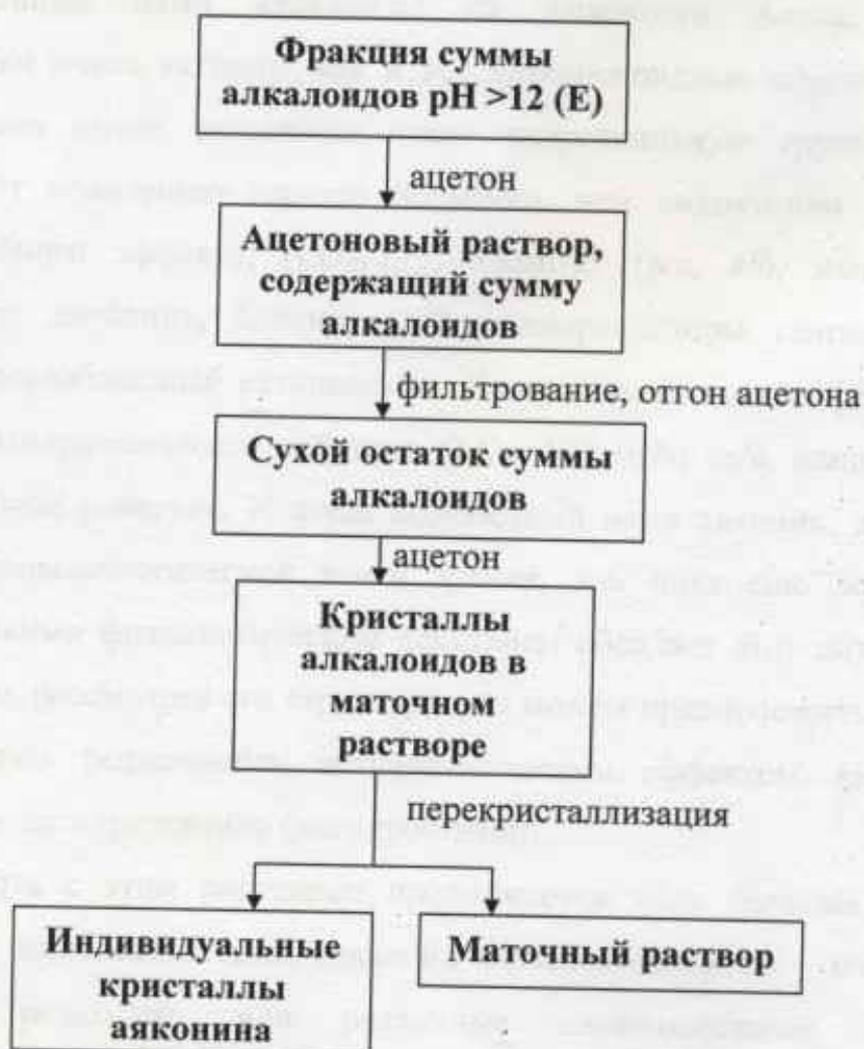
2. Схема технологического процесса выделения дитерпеноидных алкалоидов из живокости Аякса (*Delphinium ajacis*).



3. Схема технологического процесса выделения дитерпеноидных алкалоидов из живокости Аякса (*Delphinium ajacis*).



4. Схема технологического процесса выделения дитерпеноидных алкалоидов из живокости Аякса (*Delphinium ajacis*).



1.4 Фармакологические свойства выделенных алкалоидов.

Выделенные нами алкалоиды из живокости Аякса, несомненно, биологически очень активны, как и все дитерпеноидные алкалоиды. Так, как было указано выше, дельсолин имеет гидроксильную группы у C₁, что способствует появлению гораздо большего, чем ликоктонин или делектин курареподобного эффекта, (LD₅₀ 175, 550 мг/кг (в/в, в/б, мыши)) снижает артериальное давление, блокирует Н-холинорецепторы ганглиев, обладает мышечно-расслабляющей активностью. Делькозин, в свою очередь, проявляет высокое антиаритмическое действие, (LD₅₀ 107 мг/кг (в/в, мыши)) оказывает курареподобное действие. И лишь выделенный нами аяконин, до сих пор не изучен с фармакологической точки зрения, т.е. пока ещё доподлинно не известно, какими физиологическим действием обладает этот дитерпеноидный алкалоид. Но, рассмотрев его структуру, мы можем предположить, что аяконин будет обладать выраженным антиаритмическим эффектом, как некоторые производные дигидроатизина (дигидроатизин).

Но работа с этим растением продолжается, есть большая вероятность получить из живокости Аякса алкалоид метилликаконитин – очень сильный мышечный релаксант, или различные сложноэфирные производные выделенных алкалоидов, которые будут обладать заведомо большей физиологической активностью, чем соответствующие им аминоспирты

Выводы

1. Установлено, что исследуемое растение содержит алкалоиды ликоктонинового и дигидроатиизинового типов.
2. Качественный состав суммы алкалоидов исследуемого растения позволяет разделить их в процессе экстракции на две части: смесь слабых оснований и смесь сильных оснований.
3. *D. ajacis* L. может послужить источником получения аяконина – перспективного алкалоида, на основе которого предполагается получение лекарственного препарата широкого спектра действия.
4. *D. ajacis* L. может послужить источником уже исследованных с физиологической точки зрения дитерпеноидных алкалоидов, что делает её культурой для промышленной заготовки.
5. Живокость Аякса может стать источником других не дитерпеноидных алкалоидов и биологически активных веществ.

5. Список литературы

1. Benn M.N., Jacino J.M. The feziologiand pharmacologi of diterpenoid alkaloids. In: Alkaloids: chemical and biological perspectives. Ed by Pelletier S.W., John Wiley. – N.-Y., 1983. – (1). – P. 153-210.
2. //Флора СССР изд. АН СССР М. 1937Г т 7. С. .
3. Jiang Q.P., Sung W.L. The structures of bonvalotine, bonvalol and bonvalone, three new C₁₉-diterpenoid alkaloids. // Heterocycles. – Tokyo, 1984. – (22). – P. 2429-2432.
4. Dang W., Sung W.L. Brunonine, a new C₂₀-diterpenoid alkaloid. // Heterocycles. – Tokyo, 1986. – (24). – P. 869-872.
5. Ulubelen A., Desai H.K., Srivastava. S.K., Hart B.P., Park J.-C., Joshi B.S., Pelletier S.W, Mericli A.H., Mericli F., Ilarsan R. Diterpenoid alkaloids from *Delphinium davisii* // J. Nat. Prod. – Columbus, 1996. – (59). – P. 360-366.
6. Boit H.G. Ergebnisse der Alkaloid chemie bis 1960. Berlin, 1961. – S. 861.
7. Pelletier S.W., Mody N.V. The diterpenoid alkaloids of *Delphinium staphisagria* // Heterocycles. – Tokyo, 1976. – (5). – P. 771-792.
8. Шакиров Р., Тележенецкая М.В. и др. Растения, структура, свойства // Химия природ. соедин. – Ташкент, 1996. – №3. – С. 410-512.
9. Boit H.G. Ergebnisse der Alkaloid chemie bis 1960. Berlin, 1961. – S. 865.
10. Pelletier S.W., Sawhney R.S., Desai H.K., Mody N.V. The diterpenoid alkaloids of *Consolida ambigua* // J. Nat. Prod. – Columbus, 1980. – №3(43). – P. 395-406.
11. Desai H.K., Cartwright B.T., Pelletier S.W. Ajadinine: a new norditerpenoid alkaloid from the seeds of *Delphinium ajacis*. The complete NMR assignments for some lycocotanine-tipe alkaloids // J. Nat. Prod. – Columbus, 1994. – №5(57). – P. 677-682.
12. Venkateswarlu V., Srivastava S.K., Joshi B.S., Desai H.K., Pelletier S.W. 13-O-Acetylvakhmatine, a new diterpenoid alkaloid from the seeds of *Consolida ambigua* // J. Nat. Prod. – Columbus, 1995. – №10(58). – P. 1527-1532.

13. Pelletier S.W., Mody N.V. Developments in the chemistry of diterpenoid alkaloids // *J. Nat. Prod.* – Columbus, 1980. – № 1(43). – P. 41-71.
14. Султанходжаев М.Н., Нишанов А.А. Предполагаемый биосинтез diterпеноидных алкалоидов // *Химия природ. соединений.* – Ташкент, 1995. – С. 337-354.
15. Флора СССР изд. АН СССР М. 1937г. – т 7. – стр. 94-99.
16. Соколов В.С. Алкалоидоносные растения. – М. С.-П., 1952г. – С. 215.
17. Юнусов М.С. Дитерпеновые алкалоиды флоры России и сопредельных государств // *Башкирский хим. ж.* – Уфа. 1996. – Т.3. – Вып. 1-2. – С.17-33.
18. Pelletier S.W., Mody N.V. The chemistry of C₁₉-diterpenoid alkaloids. In: *The alkaloids. Chemistry and Physiology.* Ed. Rodrigo R.G.A. Academic Press. N.-Y. – 1981. – (XVIII). –P.99-216.
19. Pelletier S.W., Sawhney R.S., Desai H.K., Mody N.V. The diterpene alkaloids of *Consolida ambigua* // *J.Nat. Prod.* – Columbus, 1980. – (43). – P.395-406.
20. Pelletier S.W., Mody N.V., Joshi B.S., Schramm L.C. ¹³C and proton NMR shift assignments and physical constants of C₁₉-diterpenoid alkaloids. In: *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives.* Ed. by Pelletier S.W. John Wiley. – N.-Y., 1984. – (2). – P.205-462.
21. Pelletier S.W., Mody N.V., Varughese K.I., Maddry J.A., Desai H.K. Structure of 37 lycoctonine - related diterpenoid alkaloids // *J. Am. Chem. Soc.* – Washington, 1981. – (103). – P.6536-6538.
22. Pelletier S.W., Sawhney R.S., Mody N.V. Ambiquine and dihydroajaconine: two new diterpenoid alkaloids from *Cosolida ambigua* // *Heterocycles.* – Tokyo, 1978. – (9). – P.1241-1246.
23. Pelletier S.W., Bhandaru S., Desai H.K., Ross S.A., Sayed H.M. Two new norditerpenoid alkaloids from the roots of *Delphinium ajacis* // *J.Nat. Prod.* – Columbus, 1992. (55). – P. 736-743; *РЖ Химия.* – 1993. – 11E55.
24. Pelletier S.W., Sawhney R.S. Structures of ajacusine and ajadine, two new C₁₉-diterpenoid alkaloids from *Delphinium ajacis* L. // *Heterocycles.* – Tokyo, 1978. –

- (9). – P. 463-468.
25. Lu J., Desai H.K., Ross S.A., Sayed H.M., Pelletier S.W. New norditerpenoid alkaloids from the leaves of *Delphinium ajacis* // *J.Nat. Prod.* – Columbus, 1993. – (56). – P. 2098-2103; *C.A.* – 1994. – 120: 187190y.
26. Шакиров Р., Тележенецкая М.В., Бессонова И.А., Арипова С.Ф., Исраилов И.А., Султанходжаев М.Н., Виноградова В.И., Ахмеджанова В.И., Туляганов Т.С., Салимов Б.Т., Тельнов В.А. Алкалоиды. Растения, структура, свойства // *Химия природ. соедин.* – Ташкент, 1996. – С. 244-342.
27. Шакиров Р., Тележенецкая М.В., Бессонова И.А., Арипова С.Ф., Исраилов И.А., Султанходжаев М.Н., Виноградова В.И., Ахмеджанова В.И., Туляганов Т.С., Салимов Б.Т., Тельнов В.А. Алкалоиды. Растения, структура, свойства // *Химия природ. соедин.* – Ташкент, 1996. – С. 118-189.
28. Kulanthaivel P., Desai H.K., Pelletier S.W. 14-Deacetylalyadine, a new alkaloid from *Consolida ambigua* // *J.Nat. Prod.* – Columbus, 1989. – (52). – P. 143-144.
29. Юнусов М.С., Нежевенко В.Е., Юнусов С.Ю. Строение илиензина // *Химия природ. соедин.* – Ташкент, 1975. – С. 770-775.
30. Юнусов М.С., Юнусов С.Ю. Строение дельфатина // *Химия природ. соедин.* – Ташкент, 1970. – С. 334-339.
31. Bai Y., Benn M., Majak W. New C_{19} -norditerpenoid alkaloids from *Delphinium nuttallianum* Pritz. // *Heterocycles.* – Tokyo, 1989. (29). – P. 1017-1021.
32. Pelletier S.W. Studies in the chemistry of natural products: rearrangement reactions of diterpenoid and norditerpenoid alkaloids. // *J.Nat. Prod.* – Columbus, 1992. – (55). – P. 1-24.
33. Шакиров Р., Тележенецкая М.В., Бессонова И.А., Султанходжаев М.Н., Виноградова В.И., Ахмеджанова В.И., Туляганов Т.С., Салимов Б.Т., Тельнов В.А. Алкалоиды. Растения, структура, свойства // *Химия природ. соедин.* – Ташкент, 1996. – С. 615-681.
34. Gonzalez A.G., De la Fuente G., Munquia O. 18-Metroxygadesine, a new diterpenoid alkaloid // *Heterocycles.* – Tokyo, 1983. – (20). – P. 409-411.

35. Юнусов С.Ю., Абубакиров Н.К. Броуниин – новый аокаоид растения *Delphinium ajacis*. // ЖОХ. – , 1952 – (22). – С. 1461.
36. Desai H.K., Pelletier S.W. Conambine, a new norditerpenoid alkaloid from *Consolida ambigua* seeds // *Heterocycles*. – Tokyo, 1998. –(48). – P. 1343-1346.; РЖ Химия. – 1999. – 1E71.
37. Муравьёва Д.А. // Фармакогнозия. – «Медицина». – Москва, 1991г. – С. 389.
38. Voit H.G. Ergebnisse der Alkaloid chemie bis 1960. Berlin. – 1961. – S. 864.
39. Przybylsca M., Marion L. Crystal structure of de(oxymethylene)lycoctonine hydroiodide monohydrate. *Can. J. Chem.* – Ottawa, 1956. – (34). – P. 185-187; С.А. – 1956. – 50:9093h.
40. Edwards O.E., Przybylsca M. The lycoctonine family of alkaloids: a stereochemical revision. *Can. J. Chem.* – Ottawa, 1982. – (60). – P. 2261-2267.
41. Valenta Z., Wiesner K. Biogenetic interrelationships of diterpene alkaloids. // *Chem. and Ind.* – London, 1956. – P. 354.
42. Whalley W.B. The stereochemistry and biosynthesis of certain complex diterpenes. // *Tetrahedron*. – London, N.-Y., 1962. – №1(18). – P. 42-54.
43. Салимов Б.Т. Юнусов М.С. и др. Корумдефин – новый алкалоид из *Delphinium corumbosum*. // *Химия природ. соедин.* – Ташкент, 1985. – С. 95-96.
44. Салимов Б.Т. Делькоринин – новый алкалоид из *Delphinium corumbosum*. // *Химия природ. соедин.* – Ташкент, 2001. – С. 115-116.
45. Юнусов М.С., Юнусов С. Ю. Строение дельфатина. // *Химия природ. соедин.* – Ташкент, 1970. – С. 334.
46. Долгова А.А., Ладыгина Е.Я. Руководство к практическим занятиям по фармакогнозии. «Медицина». – Москва, 1976. – С. 39.
47. Крамаренко В.Ф. // *Токсикологическая химия*. – «Высшая школа». – Киев, 1989. – С. 277.
48. Edwards O.E., Marion L. Lycoctonine: acid catalyzed rearrangements. // *Can. J. Chem.* – Ottawa, 1954. – (32). – P. 708.
49. Coocson R.C., Trevett M.E. Aconitum and Delphinium alkaloids. // *J. Chem. Soc.*

– Washington, 1956. – P. 3121.

50. Кузовков Д.Л., Платонова Т.Ф. Исследование аконитиновых алкалоидов. // Журнал общ. Химии. 1959. – №29. – С. 2782.

51. Skarik V., Marion L. Reactions of oxodelcosine and interrelation of delcosine and delsoline. // Can. J. Chem. – Ottawa, 1960 – №12 (38). – P. 2433.

52. Skarik V., Marion L. The epimerization of delcosine // Can. J. Chem. – Ottawa, 1961. – №8(39). – P. 1579.

53. Машковский М.Д., Бабаян Э.А. и др. // Государственная фармакопея. – «Медицина». – Москва, 1989. – XI изд. – 2 вып. – С. 252-253.

54. Джахангиров Ф.Н., Салимов Б.Т. и др. Поиск и изучение курареподобных препаратов среди дитерпеноидных алкалоидов. // Химия природ. соедин. – Ташкент, 1995. – №6. – С. 841-848.

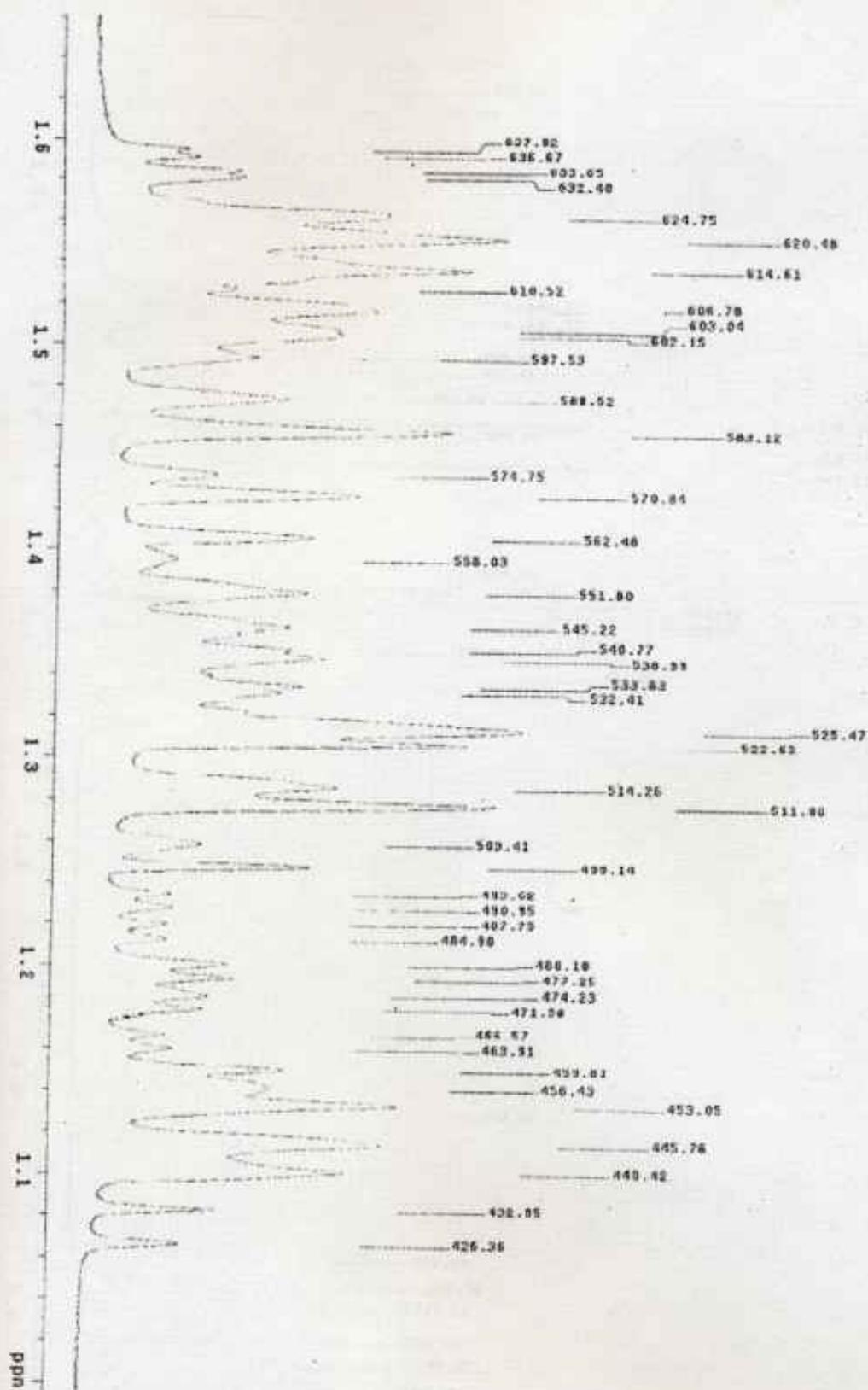
55. Джахангиров Ф.Н., Султанходжаев М.Н., Ташходжаев Б., Салимов Б.Т. Дитерпеноидные алкалоиды как новый класс антиаритмических средств. Взаимосвязь структура-активность // Химия природ. соедин. – Ташкент, 1997. – №2. – С. 254-270.

56. Джахангиров Ф.Н., Салимов Б.Т., Юнусов М.С. Взаимосвязь структура-антиаритмическая активность в ряду алкалоидов типа ликоктонина и их аналогов. // Азотистые гетероциклы и алкалоиды под ред. Карцева В.Г. и Тожтинова Г.А. «Иридиум-Пресс» – Москва, 2001г. – Т.1. – С. 300-302.

57. Салимов Б.Т., Кузибаева Ж.Х., Джахангиров Ф.Н. Изучение зависимости структура-активность в ряду алкалоидов *Aconitum zeravshanicum* и их аналогов. // Химия природ. соедин. – Ташкент, 1996. – С. 384-387.

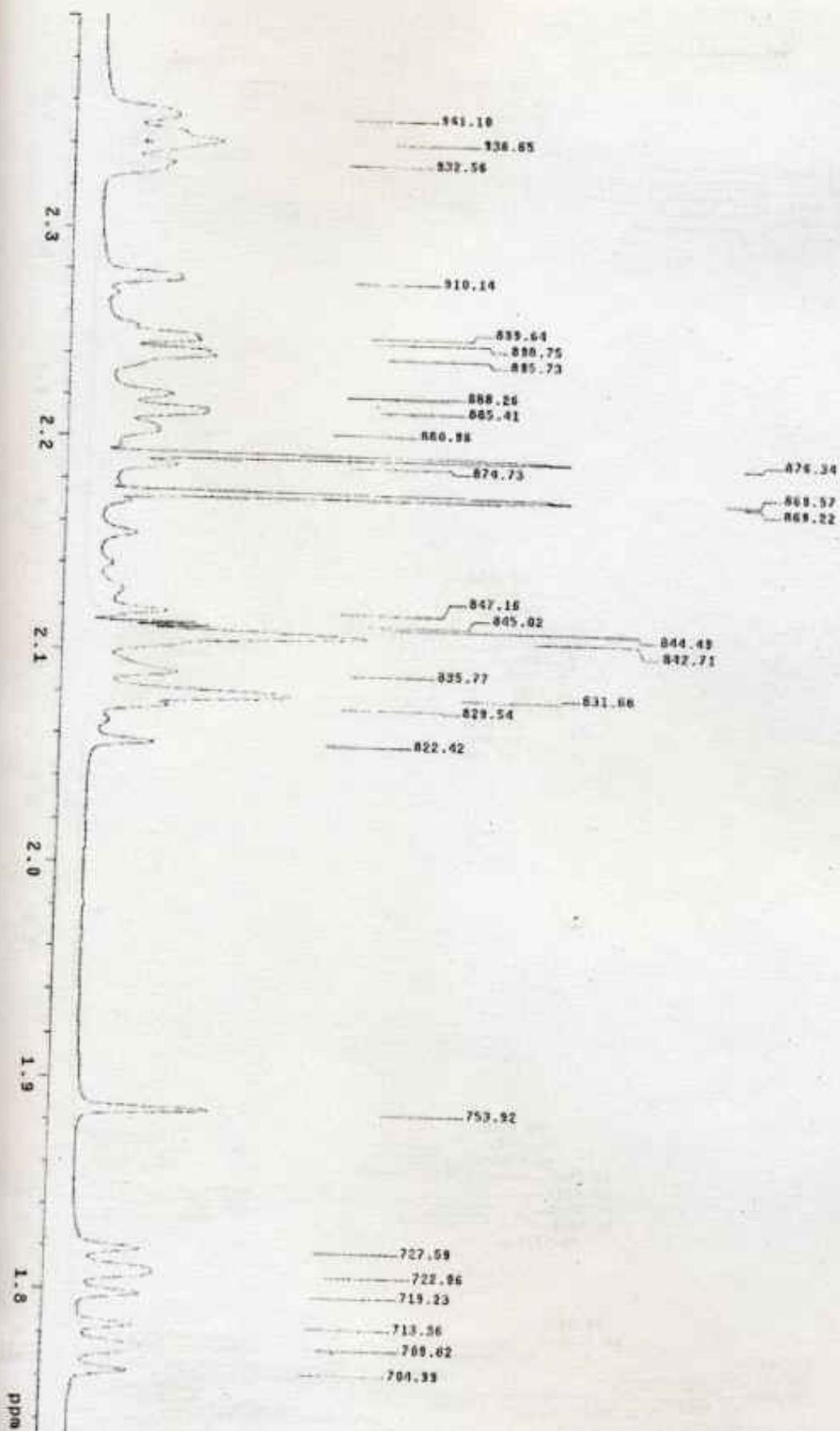
58. Салимов Б.Т. Дитерпеноидные алкалоиды растений рода *Delphinium* // Автореф. дис. ... докт. хим. наук. – Ташкент: ИБОХ АН РУз. 2007. – С.46.

Приложение 1. Увеличенные отрезки ^{13}C углеродного спектра полученного аяконина.

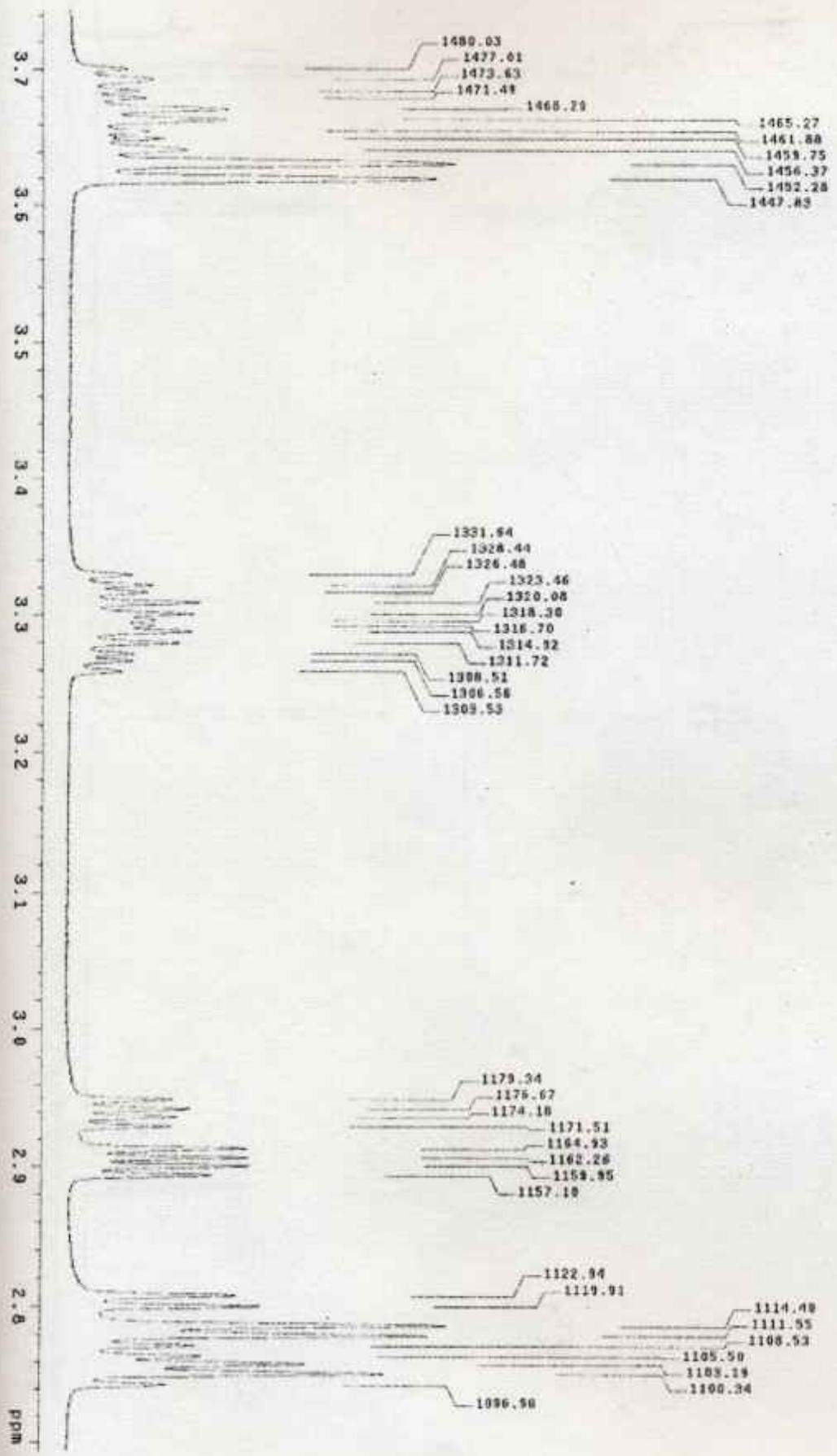


NMR - UNITY 400/100K
 Sample: 201 (ayakonin)
 91H, CDCl₃ (20mg)
 FROM D. N. I. 118
 T₀: 18.4°C
 Solvent: CDCl₃
 Exp: 12 Pul 14
 Refer: NMR 03 Exp
 Date: 18.03.88

NMR - UNITY 400+/ICPS
 Sample: Soltimov B
 0.7n, CDCl₃ (38mg)
 from D-alice(1)
 In 183-4 G
 Solvent: CDCl₃
 Exp: 12pt1 1H
 Refer: HMDS 9pm
 Date: 10.05.08



NMR - UNITY 400+/100S
 Sample: Sallimov D.
 Run: CDDM (30mg)
 from D.ajacic
 TM: 153-4 C
 Solvent: CDCl3
 Exp: 12p1 1H
 Refer: NMR5 0ppm
 Date: 16-03-05



Sample: 24112001 B.
Gen. COO0A (3mg)
From 0-AJalic
Tm. 153-4 C
Solvent: CDCl3
Epi: sicut LH
Refer: HM05 0ppm
Data: 10-03-08

