

МОДЕЛИРОВАНИЕ РЕАКЦИИ ЩЕЛОЧНОГО ГИДРОЛИЗА АЦЕТИЛГОРМИНОНА НА СТАДИИ ЖИДКОФАЗНОЙ ЭКСТРАКЦИИ ПОЛУЧЕНИЯ СУБСТАНЦИИ АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ ИЗ КОРНЕЙ *SALVIA OFFICINALIS* L.

М.К. Булушева

аспирант, науч. сотрудник, лаборатория фитохимии,
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)
E-mail: mbulusheva@inbox.ru

В.И. Шейченко

к.ф.-м.н., вед. науч. сотрудник,
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)

А.А. Савина

к.х.н., вед. науч. сотрудник, лаборатория фитохимии,
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)

В корнях шалфея лекарственного из веществ, обладающих антимикробной активностью, доминируют два соединения, относящихся к дитерпенам абиетанового ряда: 7-гидроксиройлеанон (горминон) и 7-ацетоксиройлеанон (ацетилгорминон). Для доказательства возможности получения субстанции антимикробного действия путём щелочной обработки суммы ройлеанонов и превращения ее в индивидуальный горминон, было проведено моделирование реакции щелочного гидролиза ацетилгорминона [1].

Ключевые слова: корни шалфея лекарственного, горминон, щелочной гидролиз ацетилгорминона, стабильность горминона в щелочной среде.

В ФГБНУ ВИЛАР разработан способ получения субстанции антимикробного действия (САД) из корней шалфея лекарственного, в которой в качестве наиболее активного компонента присутствует индивидуальное соединение – горминон (его активность в отношении золотистого стафилококка – 15,6 мкг/мл, ацетилгорминона – 62,5 мкг/мл). Схема получения САД следующая: экстракция проводится 96%-ным этанолом, затем отгоняется растворитель, кубовый остаток разбавляется водой, полностью отгоняется спирт. Кубовый остаток обрабатывается хлороформом с последующей экстракцией целевого продукта из хлороформа раствором водной щелочи; щелочной раствор подкисляется соляной или серной кислотой. Осадок целевого продукта отфильтровывается, промывается, сушится, измельчается [2].

Экстракцией щелочью целевого продукта решаются сразу две задачи: первая – превращение менее активного 7-ацетоксиройлеанона (ацетилгорминона) в более активный (горминон), вторая – отделение от горминона примесей липофильных веществ, остающихся в хлороформе.

Цель работы – доказательство стабильности целевого продукта в щелочной среде при введении в схему получения САД щелочного агента (1%-ного водного раствора гидроксида натрия).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Спектры ^1H ЯМР получены на спектрометре Gemini 200 с рабочей частотой 200 МГц. Используются растворители и реактивы: CDCl_3 , CD_3OD , внутренний стандарт – тетраметилсилан, натрий гидроксид марки «х.ч.».

Для подтверждения стабильности горминона в щелочной среде был записан ^1H ЯМР-спектр горминона, обработанный 1%-ным раствором гидроксида натрия в дейтерометаноле (CD_3OD). Опыт проведен следующим образом: 2,5 мг горминона растворяли в 0,5 мл CD_3OD и записывали ^1H ЯМР-спектр через 20 мин, 6 ч и 24 ч. Отсутствие конкурирующих реакций в ходе щелочного гидролиза ацетилгорминона доказывали с помощью следующего опыта: 20 мг ацетилгорминона растворяли в 5 мл 1%-ного раствора NaOH в D_2O . Пробы по 1 мл раствора отбирали через 6, 11, 16 и 23 мин после

растворения, подкисляли 5%-ным раствором HCl до нейтральной реакции, извлекали продукты реакции дейтерохлороформом, удаляли водную фазу и записывали ¹H ЯМР-спектр хлороформного раствора.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изменений в спектрах горминона в щелочной среде не наблюдалось в течение 24 ч (рис. 1). Следовательно, можно сделать вывод об устойчивости горминона к воздействию щелочи и о возможности жидкофазной экстракции в течение такого времени.

Следующей задачей являлось доказательство отсутствия конкурирующих реакций в ходе щелочного гидролиза ацетилгорминона типа дегидратации и получения единственного целевого продукта – горминона. Из анализа хода реакции следует, что реакция идет по одному пути и действительно наблюдается образование одного продукта – горминона (рис. 2). В ¹H ЯМР-спектрах, с помощью которых контролировали ход реакции, присутствуют сигналы только исходного 7-ацетилгорминона (H-7 5,8 м.д., мультиплет) и продукта реакции – горминона (H-7 4,75 м.д., мультиплет). Отсутствуют дублеты дублетов в ароматической

области (6,5–6,8 м.д.), характерные для олефиновых протонов 6,7-дегидроройлеанона. Таким образом, побочная реакция дегидратации при элиминировании ацетоксигруппы не имеет места.

Реакция щелочного гидролиза является реакцией второго порядка, однако при многократном превышении концентрации щелочи по отношению к ацетилгорминону может рассматриваться как реакция первого порядка и будет подчиняться уравнению $2,303 \lg \frac{C_0}{C} = kt$. Так как в формулу входит

отношение начальной концентрации (C_0) и мгновенной концентрации (C), то величина отношения не зависит от единиц, в которых выражены концентрации. Следовательно, правомочно использовать для этой цели отношения интегральных интенсивностей сигнала протона при C-7 молекулы гидролизующегося ацетилгорминона в ¹H ЯМР-спектрах. Подставляя в уравнение реакции соотношение концентраций ацетилгорминона за промежутки времени 5, 10, 17 мин: $\frac{64}{51}(6-11 \text{ мин})$,

$\frac{64}{42}(6-16 \text{ мин})$, $\frac{64}{29,5}(6-23 \text{ мин})$, получаем значе-

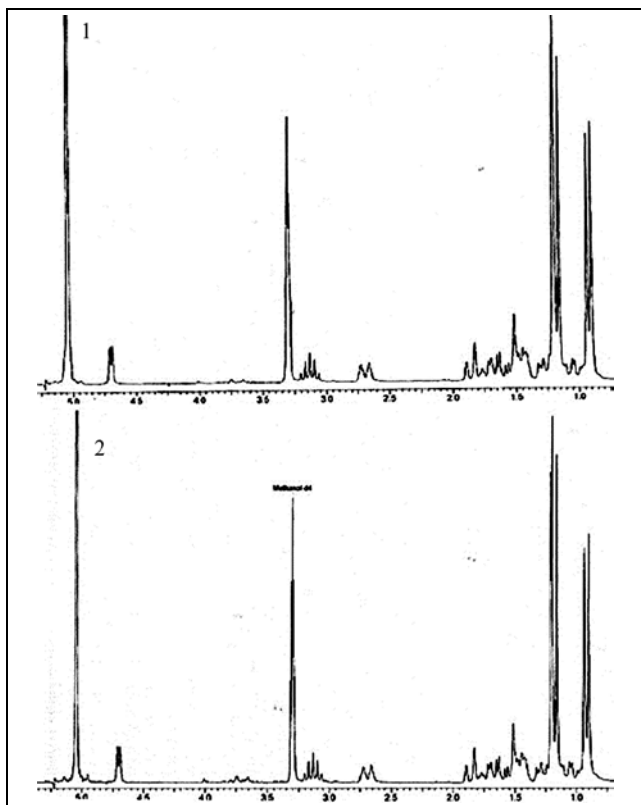


Рис. 1. ¹H ЯМР-спектры горминона в 1%-ном растворе гидроксида натрия в дейтерометаноле через 20 мин после растворения (1) и через 24 ч (2)

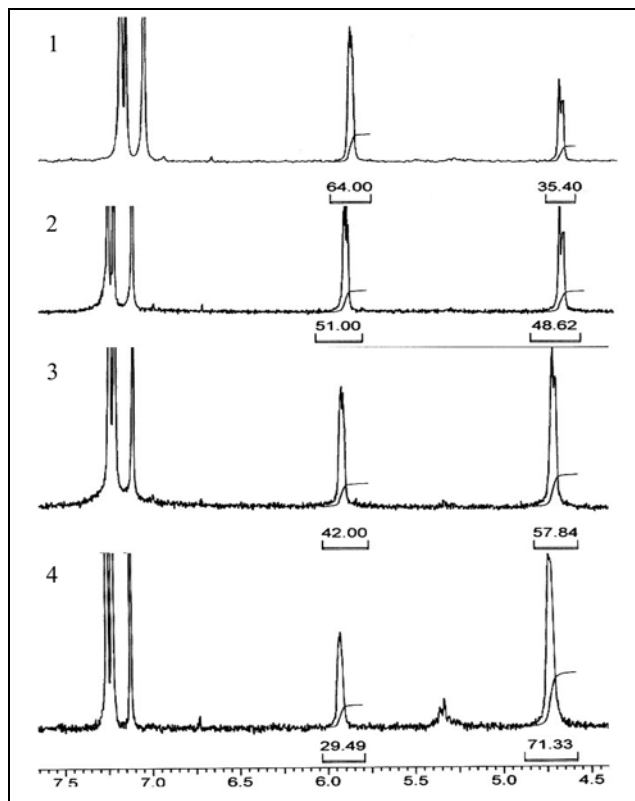


Рис. 2. ¹H ЯМР-спектры (фрагменты, содержащие H-7 ацетилгорминона и горминона) через 6 мин (1), 11 мин (2), 16 мин (3), 23 мин (4) после начала реакции

ния kt 0,227; 0,421; 0,774, которые хорошо распределяются на прямой (таблица, рис. 3 и 4).

Константа скорости составит соответственно $\frac{2,303 \lg(C_0/C)}{t} = 0,045; 0,042; 0,045$.

Для реакций первого порядка исчезновение исходного вещества будет наблюдаться через бесконечно большой промежуток времени, т.е. реак-

ция первого порядка никогда не заканчивается полностью. Так, при моделировании процесса щелочного гидролиза через 270 мин еще остается 13% исходного вещества.

Для более полного проведения реакции гидролиза были предложены четыре жидкофазные экстракции щелочью хлороформного раствора, содержащего ацетилгорминона.

Таблица. Кинетика реакции гидролиза ацетилгорминона

$C_{\text{ац.горм.}}$	$C_{\text{горм.}}$	t , мин	Δt_{2-t_1}	Δt_{3-t_1}	Δt_{4-t_1}
64	35,4	6	5	10	17
51	48,62	11			
42	57,84	16	–	–	
29,5	71,33	23	–	–	
13,8	86,71	270	–	–	–

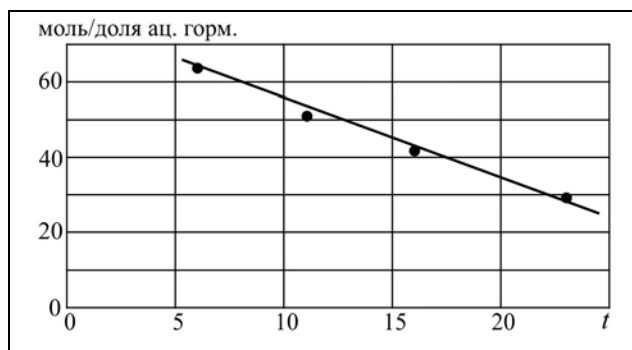


Рис. 3. График зависимости мольной доли ацетилгорминона от времени реакции

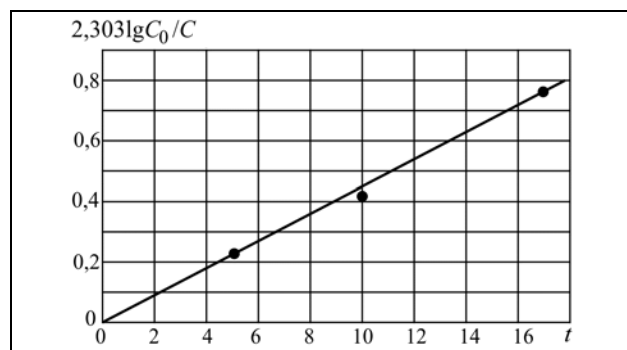


Рис. 4. График логарифмической зависимости отношения начальной к мгновенной концентраций от времени реакции

Таким образом, в результате описанных экспериментов моделирования реакции щелочного гидролиза ацетилгорминона и способности горминона сохранять стабильность в течение 24 ч, показана возможность использования этой реакции в технологии получения САД Ройлевин.

Выводы

Показана возможность получения субстанции антимикробного действия из корней шалфея лекарственного путем превращения суммы ройлеанонов (7-ацетоксигорминон и горминон) в более активный – горминон. Это заключение основано на стабильности горминона в щелочной среде и получении в ходе щелочного гидролиза ацетил-

горминона одного продукта – горминона, что показано с помощью данных ¹H ЯМР-спектров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Савина А.А., Шейченко В.И., Сокольская Т.А., Ильин М.М., Фатеева Т.В., Ласская О.Ф., Булушева М.К., Кирьянова И.А. Изучение химического состава корней шалфея лекарственного. Ройлеаноны // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2015. № 4. С. 3–6.
2. Патент № 2554501 (РФ). Способ получения 7-гидроксиройлеанола, обладающего антимикробным действием / А.А. Савина, Т.А. Сокольская, А.Г. Федотов, Л.Д. Шипулина, Т.В. Фатеева, В.И. Шейченко, И.А. Кирьянова, Н.И. Сидельников, А.И. Громакова, О.Ф. Ласская, А.И. Соколова.

Поступила после доработки 30 мая 2017 г.

THE MODELING OF THE REACTION OF ALKALINE HYDROLYSIS ACETYLGORMINON AT THE STAGE OF THE LIQUID PHASE EXTRACTION OF OBTAINING SUBSTANCE OF ANTIMICROBIAL ACTION FROM *SALVIA OFFICINALIS* L. ROOTS

© Authors, 2017

M.K. Bulusheva

Post-graduate Student, Research Scientist, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)
E-mail: mbulusheva@inbox.ru

V.I. Sheichenko

Ph.D. (Phys.-Math.), Leading Research Scientist, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

A.A. Savina

Ph.D. (Chem.) Leading Research Scientist, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

The roots of *Salvia officinalis* contains basically two compounds having antimicrobial activity: 7-hydroxyroyleanon (horminone) and 7-acetoxyroyleanon (acetoxyhorminone). To prove the possibility of obtaining an antimicrobial action substance by alkaline treatment of the royleanones sum with recieving horminone, there was modeled the reaction of alkaline hydrolysis of acetylhorminone. As a result of the described experiments modeling the reaction of hydrolysis of acetylhorminone and the ability of the horminone to remain stable for 24 hours, the possibility of using this reaction in the technology of obtaining the substance of the antimicrobial action of Roilevin is shown.

Key words: *Salvia officinalis* roots, horminone, acetoxyhorminone's alkaline hydrolysis, stability of horminone in an alkaline medium.

REFERENCES

1. Savina A.A., Shejchenko V.I., Sokol'skaja T.A., Il'in M.M., Fateeva T.V., Lasskaja O.F., Bulusheva M.K., Kir'janova I.A. Izuchenie himicheskogo sostava kornej shalfeja lekarstvennogo. Rojleanony // Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmacevticheskoy himii. 2015. № 4. S. 3-6.
2. Patent № 2554501 (RF). Sposob poluchenija 7-gidroksi-rojleanona, obladajushhego antimikrobnym dejstviem / A.A. Savina, T.A. Sokol'skaja, A.G. Fedotov, L.D. Shipulina, T.V. Fateeva, V.I. Shejchenko, I.A. Kir'janova, N.I. Sidelnikov, A.I. Gromakova, O.F. Lasskaja, A.I. Sokolova.



Лекарственные препараты, разработанные ВИЛАР

Хелепин (таблетки, мазь) рег. №№ 87/1186/10; 87/1186/7 – противовирусное средство при заболеваниях, вызываемых ДНК-геномными вирусами группы герпеса, получаемое из травы дикорастущего растения леспециды копеечников (*Lespedeza hedysaroides* (Pall.) Kitag.).

Хелепин Д (таблетки, мазь, глазные капли), рег. №№ 94/108/6; 94/108/7; 99/47/11 – противовирусное средство, получаемое из травы культивируемого растения десмодиума канадского (*Desmodium canadense* D.C.).

Тел. контакта: 8(495)388-55-09; 8(495)388-61-09; 8(495)712-10-45

Fax: 8(495)712-09-18;

e-mail: vilarnii.ru; www.vilarnii.ru