



УДК 547.597+543.422.25

## СПЕКТРОСКОПИЯ $^{13}\text{C}$ -ЯМР АГЛИКОНОВ ГЛИКОЗИДОВ ГОЛОТУРИЙ

*Калиновский А. И., Шарыпов В. Ф., Столик В. А.,  
Дзизенко А. К., Еляков Г. Б.*

*Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВНЦ  
Академии наук СССР, Владивосток*

Изучены спектры  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ряда агликонов, полученных при гидролизе гликозидов голотурий *Stichopus japonicus* и *Thelonota ananas*. Показана характеристичность спектров. Спектроскопически подтверждена структура основного нативного генина голотурий *Stichopus chloronotus* и *Thelonota ananas*.

Тритерпеновые гликозиды голотурий интересны своей высокой биологической активностью: цитотоксической, нейротоксической, антигрибковой, противоопухолевой [1—4]. Трудности, которые возникают при установлении их структуры, определяются рядом обстоятельств, в частности изменением структуры нативных генинов при гидролизе [5, 6].

По спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР тритерпеновых гликозидов голотурий имеется лишь сообщение японских авторов об установлении структуры углеводной части голотурина В [7]. Наши данные свидетельствуют о том, что спектроскопия  $^{13}\text{C}$ -ЯМР перспективна также при анализе кислотоллабильных агликонов гликозидов.

Для этой цели нами были изучены спектры  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ряда агликонов (I)–(IV) (см. табл. 1).

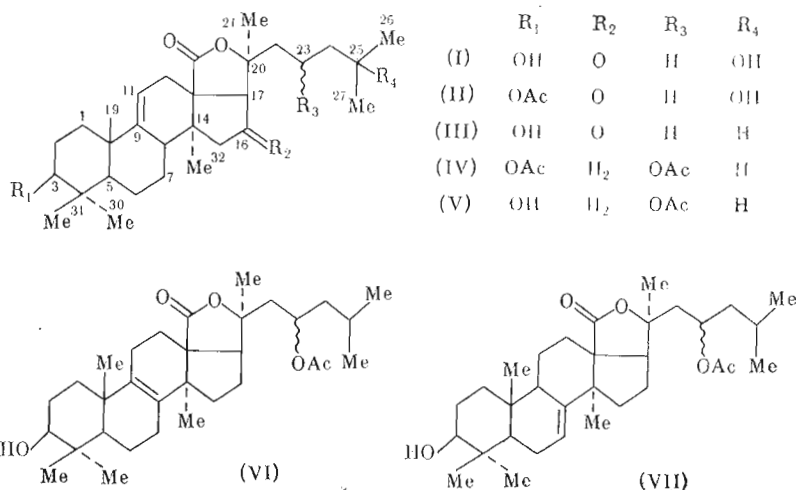


Таблица 1

Спектры  $^{13}\text{C}$ -ЯМР соединений (I)–(IV) \*

Атомы углерода	Соединение				Атомы углерода	Соединение			
	(I)	(II) **	(III)	(IV) **		(I)	(II) **	(III)	(IV) **
C1	35,9	35,6	35,9	35,7	C16	213,0	213,0	212,9	21,4
C2	27,7	24,05	27,9	24,1	C17	61,5	61,5	61,6	52,45
C3	78,8	80,65	78,8	80,8	C18	175,9	176,0	176,0	177,4
C4	39,2	38,1	39,1	38,0	C19	21,8	21,8	21,8	21,8
C5	52,4	52,4	52,4	52,4	C20	83,2	83,25	83,2	82,8
C6	21,0	20,8	20,9	21,0	C21	26,9	26,9	26,8	27,55
C7	28,3	28,1	28,3	27,8	C22	38,8	38,8	38,8	43,9
C8	38,5	38,4	38,5	39,6	C23	18,9	18,9	21,8	68,2
C9	151,3	151,0	151,3	151,0	C24	43,9	43,9	39,1	45,4
C10	39,8	39,6	39,8	39,4	C25	70,8	70,8	27,9	24,4
C11	110,5	110,7	110,4	110,9	C26	29,4 ***	29,4 ***	22,55	22,2
C12	32,2	32,2	32,2	33,2	C27	29,1 ***	29,1 ***	22,55	23,2
C13	55,6	55,5	55,5	57,9	C30	15,7	16,8	15,7	16,8
C14	42,0	42,0	42,0	47,0	C31	28,3	28,1	28,3	28,1
C15	51,9	51,9	51,8	35,7	C32	20,7	20,8	20,7	19,95

\* Измерены в  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.\*\* Для  $\text{CH}_3\text{COO}$  21,3 м.д., для  $\text{CH}_2\text{COO}$  171,0 м.д.

\*\*\* Отнесение сигналов неоднозначно.

Таблица 2

## Химические сдвиги сигналов протонов метильных групп в спектрах ПМР \* соединений (I) и (II) согласно [9] и [10]

Соединения	Хим. сдвиги протонов Me-групп (интенсивность сигнала)						Ссылки
	C31 (3H)	C30 (3H)	C32 (3H)	C19 (3H)	C18 (3H)	C26, 27 (6H)	
(I)	0,86	0,91	1,23	1,01	1,42	1,23	[9]
(II)	0,91	0,92	1,25	1,15	1,42	1,23	
(I)	0,87	0,92	1,02	1,24	1,42	1,23	[10]
(II)		0,88	0,90	1,24	1,43	1,24	

\* Сняты в  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.

Положение сигналов атомов C3, C9, C11, C16, C18 в спектре агликона (I) следует из общих сведений о химических сдвигах  $^{13}\text{C}$  [8], положение сигналов атомов C20, C25 — из сравнения спектров (I) и (IV) и экспериментов с неполной развязкой от протонов. Сигналы C8, C12, C15 для генина (II) относили селективной развязкой от сигналов протонов спектра ПМР в соответствии с литературными данными [9, 10]. Сигналы метиленовых углеродов C1, C2, C6, C7 и четвертичных C4 и C10 относили, исходя из данных спектра  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ланост-9-ен-3 $\beta$ -ола [11] с учетом сдвигов ацетилирования по C3 [12]. Сигналы метиновых атомов C5 и C17 и четвертичных C13, C14 отнесены с учетом  $\beta$ -эффектов карбонильной группы [13].

Сигналы C22, C23, C24 относили следующим образом. Сигнал C23 должен быть в наиболее сильном поле, как испытывающий действие  $\gamma$ -эффектов со стороны заместителей при C20 и C25. Экспериментальное значение 18,9 м.д. согласуется с рассчитанным по [14] значением 17,0 м.д. Расчет  $\delta$  C24 дает 44,1 м.д. [15], т. е. значение, близкое к 43,9 м.д. Таким образом, для химического сдвига C22 остается значение 38,8 м.д.

В работах [9, 10] имеется расхождение в отнесении сигналов протонов метильных групп (см. табл. 2).

Сравнение химических сдвигов метильных сигналов в спектрах

<sup>13</sup>C-ЯМР соединений (II) и (IV) позволяет считать, что в отношении сигналов C10-CH<sub>3</sub> и C14-CH<sub>3</sub> правы авторы работы [9]. Таким образом, в соответствии с [5, 10] в экспериментах по селективной развязке от протонов использованы следующие полученные нами значения химических сдвигов сигналов протонов метильных групп ( $\delta$ , C<sup>2</sup>HCl<sub>3</sub>) для агликона (II) 0,89–0,92 (C30, 3H; C31, 3H; C32, 3H); 1,21 (C19, 3H; C26, 3H; C27, 3H), 1,42 (C21, 3H); для агликона (III) 0,84–0,90 (C30, 3H; C31, 3H; C26, 3H; C27, 3H), 1,00 (C32, 3H), 1,20 (C19, 3H), 1,40 (C24, 3H); для агликона (IV) 0,87–0,95 (C30, 3H; C31, 3H; C26, 3H; C27, 3H; C32, 3H), 1,81 (C19, 3H), 1,40 (C21, 3H).

Обнаружение сигнала C21 не вызывает затруднений. Различие между C19, C26 и C27 (21,8; 29,4; 29,1 м.д.) можно сделать, рассчитав химические сдвиги C26, C27. Для последних эти значения оказались равными 30,3 м.д. [15]. Следовательно, сигнал при 21,8 м.д. может быть приписан C19. Значения 16,8; 28,1; 20,8 м.д. приняты для химических сдвигов C30, C31 и C32 соответственно, исходя из данных для ланост-9-ен-3 $\beta$ -ола.

Аналогично отнесены сигналы в спектрах соединений (III) и (IV). Сигнал C22 независимо от конфигурации C23 должен находиться в более сильном поле, чем сигнал C24 в спектре агликона (IV), как испытывающий дополнительный  $\gamma$ -эффект со стороны C25 [16]. К такому предположению приводит рассмотрение возможных наиболее стабильных конформаций боковой цепи. Из приведенных данных видно, что спектры <sup>13</sup>C-ЯМР характерны для соединений данного класса.

Изучение спектров <sup>13</sup>C-ЯМР гликозидов А из голотурий *Stichopus chloronotus* и *Thelonota ananas*, полученных в условиях как полной, так и неполной развязки от протонов, показало их идентичность в области сигналов агликона. В предыдущем сообщении [17] нами было показано, что при обычно применяющейся процедуре определения структуры генина (гидролизе с последующим разделением фракций и изучением структуры) происходит последовательный 7,8→8,9→9,11-сдвиг двойной связи, приводящий в зависимости от условий к выделению соединения (V) или (VI) [5, 18]. Таким образом был сделан вывод о структуре соединения (VII) для нативного генина этих гликозидов. Сейчас мы имеем возможность дать спектроскопическое подтверждение этой структуры.

Подавляющее большинство углеродов ацетилированных сахаров [19] и тритерпеновых агликонов резонируют в существенно различных областях, поэтому, имея сведения о моносahаридном составе углеводной части, можно анализировать агликон.

Сигналы 145,6 м.д. (C8) и 120,4 м.д. (C7) в спектрах гликозидов близки к соответствующим сигналам в спектрах тирукалла-7,24-диепа-3 $\beta$ -ола и родственных соединений [20]: 145,3 и 147,3 м.д. Сигналы 179,7; 90,3; 68,3; 22,2; 23,2; 24,5; 45,4; 44,0 и 83,2 м.д. в спектре (IV) соответствуют сигналам C-атомов C18, C3, C23; C26, C27, C25, C24, C22, C20, при этом учтено влияние углеводной части на химический сдвиг C3 [21]. Сигналы метиленовых углеродов 35,9 и 26,6 м.д., четвертичных C-атомов 39,3 и 35,3 м.д. могут быть отнесены к C1, C2, C4, C10 соответственно [20], сигналы четвертичных углеродов 51,4 и 58,5 м.д. — к C14 и C13 (здесь учтено влияние 7,8-двойной связи на химический сдвиг C14 — 51,4 м.д.) [11]. Сигнал метинового углерода при 47,0 м.д. отнесен к C9, как имеющему протон в слабом поле (синглет при селективной развязке от протонов на 282 Гц относительно ТМС). Сигналы при 47,8 и 54,0 м.д. отнесены к оставшимся метиновым углеродам C5 и C17 в соответствии с данными табл. 1 и работы [11]. Метильный сигнал при 27,0 м.д. отнесен к C21 селективной развязкой от протонов ( $\delta$  1, 42, 3H). Среди метиновых сигналов агликона в области сигналов C-атомов ацетилированных ксилозы и хиनावозы, входящих в состав углеводной части гликозида из *Stichopus chloronotus*, находится и сигнал C23, однако он легко может быть выделен сравнением со спектром неацетилированного гликозида.

## Экспериментальная часть

Все спектры  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР снимали на приборе НХ-90Е Bruker. Химические сдвиги измеряли в м.д. в  $\text{C}^2\text{HCl}_2$  относительно ТМС. Соединения (I)–(III) получены при гидролизе гликозидной фракции *Stichopus japonicus* [10]. Температура плавления для соединения (I) составляет 239–242°С, для (II) – 220–223°С, для (III) – 258–260°С. Производное (IV), т. пл. 178–181°С, получено из агликона голотурии *Thelonota ananas* согласно [5].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Friess S. L., Durant R. C. (1965) *Toxic. Appl. Pharmac.*, **7**, 373–378.
2. Friess S. L., Chanley J. D., Hudak W. V., Weems H. B. (1970) *Toxicol.*, **8**, 211–219.
3. Анисимов М. М., Щеглов В. В., Стоник В. А., Кульга А. И., Левина Э. В., Левин В. С., Еляков Г. Б. (1972) *Докл. АН СССР*, **207**, 711–713.
4. Pettit G. R., Gherryll H. (1976) *J. Pharm. Sci.*, **65**, 1558–1559.
5. Kelecom A., Daloz D., Tursch B. (1976) *Tetrahedron*, **32**, 2353–2359.
6. Chanley J. D., Rossi C. (1969) *Tetrahedron*, **25**, 1897–1909.
7. Kitagawa I., Nishino T., Matsuno T., Akutsu H., Kyogoku Y. (1978) *Tetrahedron Lett.*, 985–988.
8. Stothers I. B. (1972) *Carbon-13 NMR Spectroscopy*, Acad. Press.
9. Wai Lee Tan, Djcrassi C. (1975) *J. Org. Chem.*, **40**, 466–470.
10. Kitagawa I., Sugawara T., Yosioka I., Kuriyama K. (1976) *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 266–274.
11. Beierbeck H., Saunders J. K. (1977) *Can. J. Chem.*, **55**, 2813–2828.
12. Tori K., Seo S., Shimaoka A., Tomita Y. (1974) *Tetrahedron Lett.*, 4227–4230.
13. Breitmaier E., Voelter W. (1974)  *$^{13}\text{C}$  NMR Spectroscopy*, Verlag Chemie, p. 148.
14. Lindeman L. P., Adams J. Q. (1971) *Anal. Chem.*, **43**, 1245–1252.
15. Roberts J. D., Weigert F. J., Kroschwitz J. I., Reich J. D. (1970) *J. Amer. Chem. Soc.*, **92**, 1338–1347.
16. Stothers I. B. (1972) *Carbon-13 NMR Spectroscopy*, Acad. Press, p. 114.
17. Стоник В. А., Шарынов В. Ф., Калининский А. И., Еляков Г. Б. (1979) *Докл. АН СССР*, **245**, 1133–1134.
18. Kelecom A., Daloz D., Tursch B. (1976) *Tetrahedron*, **32**, 2313–2319.
19. Калининский А. И., Евтушенко Е. В. (1979) *Химия природы. соедин.*, 6–8.
20. Polonsky J., Varon Z., Rabanal R., Jacouemin H. (1977) *Israel J. Chem.*, **16**, 16–19.
21. Toti K., Seo S., Arita H., Tomita Y. (1977) *Tetrahedron Lett.*, 179–182.

Поступила в редакцию  
10.IV.1979

После доработки  
19.VI.1979

## $^{13}\text{C}$ NMR SPECTROSCOPY OF AGLYCONES OF HOLOTHURIA GLYCOSIDES

KALINOVSKY A. I., SHARYPOV V. F., STONIK V. A.,  
DZIZENKO A. K., ELYAKOV G. B.

*Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far East Scientific  
Center of the Academy of Sciences of the USSR, Vladivostok*

The  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of a number of aglycones obtained upon hydrolysis of glycosides of holothuria *Stichopus japonicus* and *Thelonota ananas* have been studied. The structure of native genins of *Stichopus chloronotus* and *Thelonota ananas* glycosides was confirmed by spectroscopic means.