

УДК 547.914.4

**СТРУКТУРА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ
ИЗ ЭКСТРАКТОВ МИРТА**

**Л. П. ДАВИДЮК, А. П. ДЕГТЯРЕВА, Л. Б. ДМИТРИЕВ,
В. Н. ДРОЗД, И. И. ГРАНДБЕРГ**

(Кафедра органической химии)

Установлена структура двух новых ацилфлороглюцинолов, миртакоммулона-С и миртакоммулона-Д, выделенных из мирта, главным образом на основании детального анализа их масс-спектров и спектров ПМР.

Мирт (*Myrtus communis* L.) — кустарник семейства Myrtaceae подсемейства Myrtoideae, широко распространенный в Средиземноморье. Экстракты этого растения обладают сильной антибактериальной активностью [1, 2]. В 1974 г. израильские ученые [3] выделили из этих экстрактов два индивидуальных вещества и на основании спектральных данных (в основном спектров ПМР) предложили их структуры (схемы 1 и 2).

Миртакоммулон-А обладает высокой антибактериальной активностью по отношению к грамположительным бактериям (1 γ /мл).

Продолжая исследование ацилфлороглюцинолов, мы извлекали их из сухих измельченных листьев мирта мацерацией петролейным эфиром по методике, предложенной А. П. Дегтяревой [2]. Из полученного экстракта ацилфлороглюцинолы последовательно извлекали 0,1 н. раствором соды и 0,1 н. раствором едкого натра. После насыщения карбонатного раствора CO_2 повторной экстракцией петролейным эфиром и

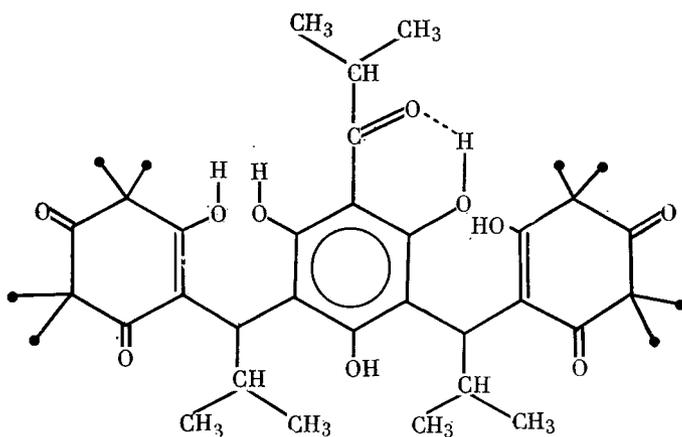


Схема 1. Миртакоммулон-А.

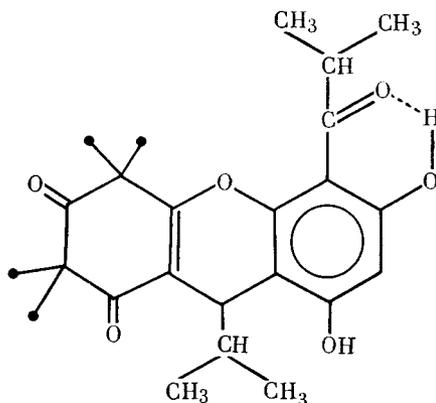


Схема 2. Миртакоммулон-В.

фракционной кристаллизацией из этанола получали фракции I и II (последняя хуже растворима), а после аналогичной обработки щелочного раствора — фракции III и IV (последняя хуже растворима в спирте).

Вещество фракции I после кристаллизации из этилацетата имеет т. пл. 179—181°C, кристаллы желтые; это вещество идентифицировано нами как миртакоммулон-А по т. пл. (в литературе приведена т. пл. 185—186°C) и ИК, УФ, масс- и ПМР-спектрам. Рисунок последнего в CDCl_3 приведен в работе [3].

Предлагаемая нами структура для вещества фракции II, которому может быть дано название миртакоммулон-С, представлена на схеме 3. Вещество после кристаллизации из смеси этанол — петролейный эфир (1 : 1) имеет т. пл. 141—143°C, кристаллы светло-желтые. По данным элементного анализа, брутто-формула вещества $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_{10}$, молекулярная масса 696,886. Однако молекулярная масса, определенная масс-спектрометрическим методом химической ионизации, оказалась равной 650, т. е. $[\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_{10} - \text{O}_2\text{H}_5\text{OH}]$. Мы предполагаем, что молекула этилового спирта присоединилась по двойной связи соответствующего енола в процессе кристаллизации из этанола.

Данные ПМР-спектроскопии миртакоммулона-С в растворе ССЦ приведены на схеме 3: даны химические сдвиги (в скобках мультиплетность сигналов), значения J; соответствующие отнесения подтверждены экспериментом по двойному резонансу. Кроме того, в спектре имеется 8 синглетов изолированных металлических групп со следующими значениями δ : 1,21; 1,24; 1,31; 1,34; 1,39; 1,49; 1,53; и 1,58 м. д. Этоксигруппа

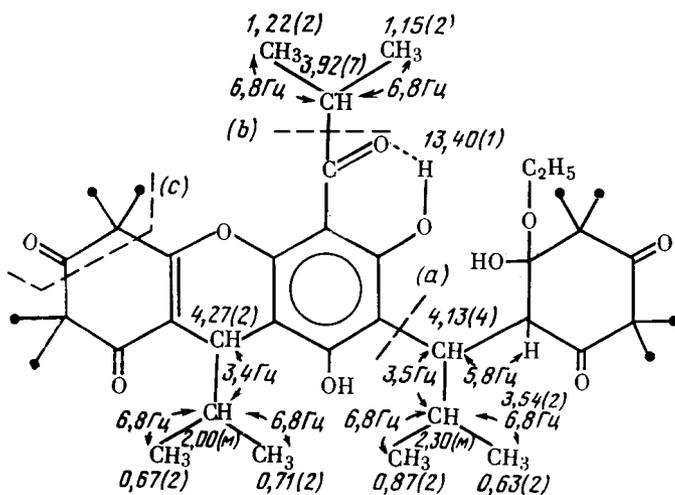


Схема. 3. Миртакоммулон-С.

дает триплет при 1,10 и квадруплет при 3,51 м. д. J 7 Гц. Константы изобутилиденовой группы левой части молекулы соответствуют константам, приведенным для миртакоммулона-В [3], а константы такой же группы правой части молекулы несколько отличаются от констант миртакоммулона-А, что свидетельствует в пользу предполагаемой структуры. Константы изобутирильной группы близки к таковым соответствующих групп обоих известных миртакоммулонов. В пользу полуацетальной формы молекулы свидетельствует спин-спиновое взаимодействие конечного протона изобутилиденовой группы правой части молекулы при 4,13 м. д. (квадруплет) с протоном при 3,54 м. д. (дублет, J 5,8 Гц). Однако в спектре не обнаружено протонов полуацетального гидроксила и второго гидроксила ароматического кольца.

При выдерживании раствора в течение нескольких недель, возможно, за счет смещения таутомерного равновесия спектр начинает усложняться: появляются новые сигналы метильных групп, квадруплет при 4,30 м. д и т. п.

Как указывалось выше, масс-спектральным методом не удается определить молекулярную массу миртакоммулона-С, что объясняется легким отрывом молекулы этанола в процессе съемки масс-спектра. При низкой энергии ионизации (химическая ионизация) ион $[M-C_2H_5OH]^+$ = 650 достаточно устойчив, а характер его дальнейшей фрагментации соответствует общей схеме (схема 3), предложенной для миртакоммулона-А [3]. Распад в основном идет по пути *a* с образованием осколочных ионов с массами 414 ($C_{24}H_{30}O_6$)—левая часть — и 236 ($C_{14}H_{20}O_3$) — правая часть — и по пути *b* с образованием иона $[650-(i-Pr)]^+$ = 607. Образование фрагментарного иона с массой 236 и ионов, соответствующих его дальнейшему распаду (221, 193, 166) [3], однозначно определяет строение правой части молекулы. Наличие в масс-спектре ионов с массами 414 и 371 $[414-(i-Pr)]^+$ указывает на то, что в левой части молекулы замкнуто пирановое кольцо, поскольку в масс-спектре миртакоммулона-А этим ионам отвечают соответственно ионы 432 и 389, содержащие на 18 а. е. больше [3]. При дальнейшем распаде иона 371 по пути *c* образуется ион с массой 301 ($C_{17}H_{17}O_5$).

В масс-спектре миртакоммулона-С, снятом под действием электронного удара, отсутствует ион с массой 650 (первый ион низкой интенсивности — 0,5 % — соответствует массе 635 $[M-CH_3]^+$). Низкая стабильность иона 650 при электронном ударе хорошо согласуется с данными масс-спектрометрического анализа миртакоммулона-А [3], где в аналогичных условиях отсутствует сигнал фрагментарного иона с этой

массой, который должен был генерироваться при отрыве H_2O от молекулярного иона ($[668-H_2O]$). Первым интенсивным ионом миртакоммулона-С в данных условиях является ион с массой 607, образующийся по схеме $[650-(i-Pr)]$, который является первым интенсивным осколочным ионом в масс-спектре миртакоммулона-А [3].

Ионы с массами 621 и 385 отвечают фрагментарным ионам примеси к основному веществу гомолога с массой 664 в количестве 5—10 %.

Для вещества фракции IV, которому может быть дано название миртакоммулон-D, мы предлагаем структуру, представленную на схеме 4. Вещество после кристаллизации из смеси этилацетат-гексан (1:1) имеет т. пл. 173—175 °С. По данным элементного анализа, его бруттоформула $C_{38}H_{52}O_9$, молекулярная масса 652,843; молекулярная масса, определенная масс-спектрометрически при действии электронного удара и с помощью химической ионизации, — 652, в масс-спектре высокого разрешения — 652,361.

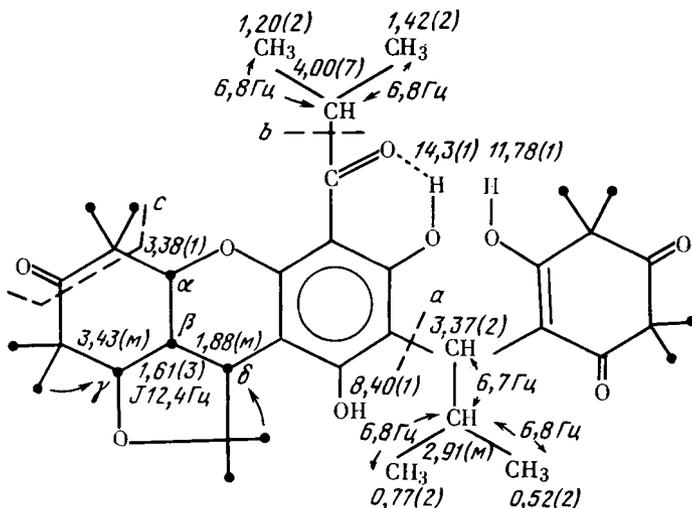


Схема 4. Миртакоммулон-D.

Данные ПМР-спектроскопии миртакоммулона-D в растворе CCl_4 приведены на схеме 4; соответствующие отнесения подтверждены экспериментом по двойному резонансу. Отнесения сигналов 3 гидроксильных групп даны как наиболее вероятные. Кроме того, в спектре имеется 10 синглетов изолированных метильных групп со следующими значениями δ : 0,860; 1,286; 1,300; 1,328; 1,337; 1,346; 1,362; 1,380 (наложение 2 метильных групп) и 1,479, некоторые из которых уширены (съемка при 400 МГц). Отсюда ясно, что вторая изобутилиденовая группа в молекуле отсутствует. Поскольку, по данным масс-спектрометрии, в левой части молекулы на 2 атома водорода больше, чем в молекуле миртакоммулона-С, нами и была предложена изображенная структура. Наибольшие затруднения вызывает отнесение в спектре протонов α — γ (обозначены точками). Приходится допустить что центральный β -протон с δ 1,61 м. д. (триплет) практически не взаимодействует с α -протоном 3,38 м. д. (синглет). При *цис*-расположении всех 4 протонов (модель Дрейдинга) двугранный угол $\alpha\beta$ равен $\sim 60^\circ$, а угол β , γ и угол $\beta\delta$ — примерно 10° , что приблизительно соответствует наблюдаемым величинам j (0 и по 12,4 Гц). Взаимодействие между протонами ρ , γ и δ подтверждается результатами эксперимента по двойному резонансу. Неожиданное уширение сигналов γ - и δ -протонов может быть логично объяснено дальним спин-спиновым взаимодействием по W-типу через 4 связи с *транс*-расположенными метильными группами (на схеме 4 обозначено стрелками) в образовавшейся жесткой системе.

В масс-спектре миртакоммулона-D) фрагментация молекулярного иона подобна распаду других миртакоммулонов (схема 4). Распад по пути *a* приводит к образованию осколочных ионов с массами 416 ($C_{24}H_{32}O_6$) — левая часть — и 236 ($C_{14}H_{20}O_3$) — правая часть, причем дальнейшая фрагментация иона 416 по схеме $[416-(i-Pr)]=373$ подтверждает тот факт, что в левой части молекулы содержится на 2 атома водорода больше, чем в соответствующем фрагменте миртакоммулона-C. Распад иона с массой 236 аналогичен таковому в спектрах миртакоммулона-A и миртакоммулона-C. При распаде молекулярного иона по пути *b* образуется фрагментарный ион массой 609, а при потере последним H_2O — ион массой 591.

Фракция III, которая является смесью миртакоммулона-D и вещества, имеющего молекулярную массу 666, подробно не исследовалась.

Экспериментальная часть

Спектры ПМР сняты на приборе WM-250, внутренний стандарт — ТМС. Масс-спектры получены на приборе Finnigan MAT H-SQ-30 при непосредственном вводе образца в ионный источник, энергия ионизирующих электронов — 70 эВ, ускоряющее напряжение — 3 кВ (электронный удар); химическая ионизация: газ — реагент изобутан, давление — 0,5 торр, нагрев образца — до 250°C со скоростью 100°/мин. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) осуществлялась на приборе «Милюхром» с УФ-детектором ($\lambda=240$ нм) на колонке 2×64 мм с неподвижной фазой «Нуклеосил С-18», диаметр частиц — 5 мк. Элюирование проводили смесью гексан — изопропанол — хлороформ в соотношении 70 : 22 : 8 при скорости подачи раствора 50 мкл/мин (А) или в режиме ступенчатого градиента (по 200 мкл) смесью гексан — хлороформ при уменьшении концентрации хлороформа от 60 до 0 % ступенями в 10% при скорости подачи раствора 100 мкл/мин (Б). Регистрация ИК-спектров произведена на приборе Perkin-Elmer 577. Электронные спектры сняты на спектрофотометре Hitachi EPS-3Т, положения $\lambda_{\text{макс}}$ приведены в нм, в скобках указаны $I_g e$; растворитель — изопропанол. pK_a определяли спектрофотометрически на универсальном ионметре ЭВ-74 со стеклянным и каломельным электродами в системе этанол — вода (1 : 1).

Выделение ацилфлороглюцинолов. Сухие измельченные листья мирта в течение суток выдерживали в петролейном эфире — ПЭ (1,5 л ПЭ на 1 кг сухой массы), затем мацерацию повторяли (1 сут, 0,8 л ПЭ). После второй мацерации сырье еще 6 раз промывали ПЭ порциями по 500 мл и 5×300 мл. Из объединенного экстракта активные вещества извлекали сначала небольшими порциями (по 100 мл) 0,1 н. раствора Na_2CO_3 до тех пор, пока окраска водного раствора не изменялась от ярко-желтой до бесцветной. Затем ПЭ-раствор экстрагировали также небольшими порциями (по 100 мл) 0,1 н. раствора NaOH. Полноту извлечения контролировали по прекращению помутнения щелочного раствора после подкисления 5 % HCl или микробиологически. Далее содовый и щелочной растворы обрабатывали раздельно по одинаковой методике.

Водные растворы промывали дважды небольшими порциями ПЭ и фильтровали. Ацилфлороглюцинолы осаждали насыщением растворов CO_2 и экстрагировали несколько раз небольшими порциями ПЭ. После сушки безводным Na_2SO_4 и фильтрования ПЭ удаляли в вакууме при 55 °С.

Сухой остаток растворяли при нагревании в минимальном количестве этанола. После охлаждения выпавшие кристаллы отделяли от маточного раствора и промывали небольшими порциями охлажденного этанола (из содового экстракта получена кристаллическая фракция I, из щелочного — III). Из маточных спиртовых растворов после удаления растворителя получены фракции II (из содового раствора) и IV (из щелочного раствора).

Миртакоммулон-А. Лимонно-желтые кристаллы, т. пл. 179—181 °С (из этилацетата). Найдено, %: С 68,39, Н 7,94, О 23,68. $C_{38}H_{52}O_{10}$. Вычислено, %: С 68,24, Н 7,84, О 23,92. ВЭЖХ (время удерживания) 7,6 мин (Л). pK_a 8,60. ИК, УФ, ПМР- и масс-спектры совпадают с описанными ранее [3].

Миртакоммулон-С. После 2-кратной кристаллизации фракции II из смеси этанол — ПЭ (1 : 1), т. пл. 141—143 °С, светло-желтые кристаллы. Найдено, %: С 68,94, Н 8,06, О 22,69. $C_{40}H_{56}O_{10}$. Вычислено, %: С 68,42, Н 8,05, О 23,53. ВЭЖХ: 3,0 мин (Л), 17,8 мин (Б). pK_a 12,98. ИК-спектр (в cm^{-1}): 3480, 3200, 2975, 2880, 1725, 1703, 1662, 1618, 1470, 1425, 1389, 1268, 1182, 1165, 1140, 1115, 1080, 1048, 1022, 1005. УФ-спектр: 229(4,26), 263(4,13), 304(4,26). Масс-спектр, m/e , % (электронный удар): 635(0,5), 621(5), 607(37), 589(2), 425(4), 371(100), 301(13), 236(17), 221(5), 193(6), 166(19), 123(17), 96(7), 70(20); химическая ионизация: 650(15), 607(2), 415(18), 414(68), 372(11), 371(43), 301(3), 236(15), 237(100), 166(5).

Миртакоммулон-Д. После 2-кратной кристаллизации фракции IV из смеси этилацетат — гексан (1 : 1), т. пл. 173—175 °С, бесцветные рыхлые кристаллы. Найдено, %: С 70,00, Н 8,15, О 21,85. $C_{38}H_{52}O_9$. Вычислено, %: С 69,91, Н 8,03, О 22,06. ВЭЖХ: 3,6 мин (Л), 6,75 мин (Б). pK_a 13,70. ИК-спектр (в cm^{-1}): 3430, 3280, 2980, 2875, 2730, 2660, 1721, 1700, 1600 (шир.), 1469, 1462 1424, 1389, 1352, 1300, 1257, 1240, 1182, 1155, 1142, 1119, 1091, 1072, 1048, 1030, 1010. УФ-спектр: 235(4,34), 294(4,32). Масс-спектр, m/e , % (электронный удар): 652(25), 609(6), 592(18), 591(53), 539(3), 521(4), 513(15), 417(7), 416(32), 373(26), 317(19), 304(20), 303(100), 277(20), 259(13), 236(21), 233(22), 221(9), 207(14), 205(11), 193(14), 166(26), 165(20), 151(14), 140(7), 139(30), 137(12), 123(45), 121(14), 81(64), 70(85); химическая ионизация: 653 (M+1) (100), 635(3), 609(3), 591(12), 431(14), 418(14), 417(57), 416(20), 373(5), 303(15), 277(8), 237(87), 236(17), 221(4), 193(2), 166(7), 139(12).

ЛИТЕРАТУРА

1. А п л и я к И. В., С а м и ч Т. Н., К о г а н Г. И. — Экстракты мирта как консерванты. — Тр. Укр НИИ консервной промышленности, 1962, т. 4, с. 150. — 2. Дегтярева А. П. Биологически активные вещества из экстрактов мирта. — Тр. Гос. Никит. бот. сада, 1962, т. 36, с. 173—186. — 3. Kashman Y., Rotstein A., Lifshitz A. — Tetrahedron, 1974, vol. 30, p. 991—997.

Статья поступила 7 июля 1989 г.

SUMMARY

Structures of two new acylphloroglucinols, myrtucommulone-C, and myrtucommulone-D, have been deduced mainly as a result of a detailed study of the NMD and mass spectra of these substances.