

615.322(043.3)
130

Тартуский Государственный университет

В. В. ПЕТРЕНКО

ФИТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ПУСТЫРНИКА ПЯТИЛОПАСТНОГО
(LEONURUS QUINQUELOBATUS GILIB)

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

ЗАПИСЬ
МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ
БИБЛИОТЕКА

Тарту—1967

Диссертация выполнена в Запорожском Государственном фармацевтическом институте.

Научные руководители— кандидат фармацевтических наук, доцент **И. В. Куринная**, доктор фармацевтических наук, профессор **В. И. Близинок**, доктор медицинских наук, профессор **Г. Е. Батрак**.

Постановлением Совета медицинского факультета Тартуского Государственного университета официальными оппонентами назначены:

1. Доктор фармацевтических наук, профессор **А. Сийм**.
2. Кандидат фармацевтических наук, доцент **И. Таммеорг**.

Защита назначена на 16 VII 1967 г.

Дата отправления автореферата 16 V 1967 г.

Ученый секретарь ТГУ

И. Маарооз
(И. МААРООЗ).

Среди задач, поставленных XXIII съездом Коммунистической партии Советского Союза в области здравоохранения, важное место занимает борьба с сердечно-сосудистыми, вирусными, опухолевыми и др. заболеваниями. Изыскание высокоэффективных средств для лечения указанных болезней является важной задачей химиков-синтетиков, фитохимиков и фармакологов.

Среди лекарственных средств, применяемых для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, большое значение имеют препараты растительного происхождения. Об этом свидетельствует тот факт, что до настоящего времени не найдены полноценные синтетические заменители гликозидов сердечного действия. Поэтому весьма интересным является изучение растений, используемых народной медициной для лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

Одним из таких растений является пустырник пятилопастный, который наряду с другими видами пустырников, широко используется в народной и научной медицине как сердечно-сосудистое, успокаивающее, мочегонное, противоастматическое средства. Трава и настойка пустырника включены в Государственную фармакопею IX-го издания.

Несмотря на широкое применение пустырника пятилопастного физиологически активные вещества его до настоящего времени не изучены. Это и послужило основанием для фитохимического исследования пустырника пятилопастного, широко распространенного на территории Украины. При этом особое внимание было уделено изучению флавоноидов и алкалоидов — природных веществ с широким диапазоном физиологического действия.

Наряду с этим изучалась динамика накопления некоторых физиологически активных веществ: флавоноидов, алкалоидов, гликозидов сердечной группы, дубильных веществ, аскорбиновой кислоты и разрабатывался метод получения лекарственного препарата.

Диссертация состоит из двух частей: в первую часть

входит введение и обзор литературы. Вторая часть включает экспериментальные исследования автора и состоит из четырех глав.

В первой главе излагаются результаты предварительных исследований на наличие алкалоидов, флавоноидов, гликозидов, сапонинов, дубильных веществ, аскорбиновой кислоты.

Исследования проводились с различными органами растения, собранными в разные фазы вегетации (таблица 1).

**Результаты предварительных качественных исследований
пустырника пятилопастного на алкалоиды,
флавоноиды и гликозиды**

Таблица 1

Фазы развития растения	Органы растения	Алкалоиды	Флавоноиды	Гликозиды
Фаза прикорневой розетки	Листья	сл.	+	+
	Корень	0	0	0
Фаза полного цветения	Листья	+	++	++
	Стебель	+	+	++
	Соцветия	++	+++	++
	Корень	0	0	0
Фаза массового плодоношения	Листья	сл.	+	+
	Стебель	0	0	+
	Корень	0	0	0
Фаза конца вегетации	Листья	сл.	+	+
	Стебель	0	0	0
	Корень	0	0	0

Анализ данных таблицы 1 показывает, что наиболее ярко выраженные реакции с сырьем, собранным в фазе полного цветения, поэтому в дальнейшем для проведения исследований использовался материал, собранный в этот период вегетации.

В результате проведенных исследований в траве пустырника пятилопастного обнаружено наличие флавоноидов, алкалоидов, гликозидоподобных веществ, дубильных веществ смешанной группы, сапонинов, аскорбиновой кислоты.

Вторая глава посвящена выделению и химическому изучению флавоноидов. Первоначально были разработаны оптимальные условия выделения суммы флавоноидов. Наиболее подходящим растворителем для извлечения флавоноидов оказался 95° этанол.

Для выделения суммы флавоноидов воздушно-сухую траву пустырника пятилопастного исчерпывающе экстрагировали 95° этанолом. Спиртовые извлечения упаривали до полного удаления растворителя, остаток обрабатывали горячей водой. После очистки полученных экстрактов от хлорофилла, дубильных и др. веществ флавоноиды многократно экстрагировали этилацетатом. После удаления растворителя получена смолистая масса, дававшая ярко выраженные реакции на флавоноиды. Дополнительную очистку полученной суммы флавоноидов осуществляли на полиамидном сорбенте. В результате был получен порошок лимонно-желтого цвета, который давал характерные для флавоноидов реакции.

При разделении суммы флавоноидов в различных системах растворителей методами одномерной и двумерной хроматографии было обнаружено шесть веществ флавоноидной природы.

Индивидуальные флавоноиды выделяли методом колоночной хроматографии на капроне с последующей кристаллизацией их из водно-этанольных смесей.

В результате проведенных исследований из наземной части пустырника пятилопастного выделено три индивидуальных вещества, которые можно отнести к флавоноидам.

Вещество I— $C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 2H_2O$, т. пл. 189—190°, $[\alpha]_D^{20} = -30^\circ$ (С, I, O; пиридин) представляет собой флавоноидный биозид и дает положительные реакции на флавоноиды (цианидиновую, с реактивом Вильсона, с 1% спиртовым раствором хлорного железа, диазотированной сульфаниловой кислотой). Отрицательная реакция гликозида с азотнокислым цирконием в присутствии лимонной кислоты и положительная с агликоном дает возможность предположить о замещении водорода гидроксильной

группы в 3-м положении 2 фенил-бензопирона углеводным компонентом. Для подтверждения этого были проведены спектральные исследования в УФ области, которые показали наличие максимумов поглощения при 256 и 365 *mμ*.

При кислотном гидролизе получен агликон с температурой плавления 311—312,5°. Ацетильное производное плавится при 195—197°, метильное—при 149—151°. Продукты щелочного расщепления исследовались хроматографически и были идентифицированы с флороглюцином и протокатеховой кислотой. На основании полученных данных сделано заключение об идентичности агликона вещества I с кверцетином, что подтверждается результатами сравнительной хроматографии на бумаге.

Кислотным гидролизом и последующим хроматографическим исследованием полученных продуктов установлено, что углеводным компонентом является глюкоза и рамноза.

Для установления конфигурации гликозидной связи проводился ферментативный гидролиз рамнодиастазой, специфическим ферментом на 1,6—β, β — гликозидную связь в 3-м положении. Положительные результаты свидетельствуют о том, что исследуемая биоза является рутинозой. Это подтверждено сравнительным хроматографическим исследованием в присутствии стандартного образца рутинозы.

На основании полученных данных было сделано предположение об идентичности вещества I с рутинном, что было показано хроматографическими исследованиями в присутствии стандартного образца рутина. Сравнение ИК-спектров вещества I и рутина подтверждает их идентичность.

Вещество 2—C₃₀H₂₆O₁₂, т. пл. 265—267°. $[\alpha]_D^{20} = -100^\circ$ (C, I, O; пиридин), представляет собой флавоноидный гликозид. Для определения его природы и положения в нем свободных гидроксильных групп проводились исследования в УФ области спектра с применением комплексообразующих и ионизирующих реагентов.

На основании полученных данных установлено, что вещество 2 по своей спектральной характеристике близко к флавоноидному гликозиду тернифлорину, что видно из таблицы 2.

**Сравнительная спектральная характеристика вещества
2 и тернифлорина**

Таблица 2

Среда	Полосы	Исследуемый гликозид		Тернифлорин	
		$\lambda_{max},$ $m\mu$	$\Delta\lambda, m\mu$	$\lambda_{max},$ $m\mu$	$\Delta\lambda, m\mu$
2 · 10 ⁻⁵ молярный раствор в абсо- лютном этаноле	I	320	—	321	—
	II	270	—	270	—
То же + ацетат натрия	I	320	0	—	—
	II	270	0	—	—
То же + этилат натрия	I	380	60	398	77
	II	270	0	270	0
То же + хлорис- тый алюминий	I	380	60	380	59
	II	280	10	281	11

Из таблицы 2 следует, что в полученном гликозиде имеются свободные гидроксильные группы в 5 положении (батохромный сдвиг длинноволновой полосы на 60 $m\mu$ под влиянием хлористого алюминия); в 4'—положении (батохромный сдвиг длинноволновой полосы на 60 $m\mu$ под влиянием этилата натрия). Отсутствие сдвига максимумов поглощения под влиянием ацетата натрия указывает на замещение гидроксильной группы в 7 положении.

ИК-спектр вещества 2 наряду с частотами, характерными для карбонильной группы γ — пиронового кольца (1656 cm^{-1}), фенольных гидроксенов (3400, 3340 cm^{-1}), и сопряженных двойных связей (1600, 1500, 830 cm^{-1}), имеет частоту поглощения при 1688 cm^{-1} , что характеризует наличие в молекуле исследуемого вещества сложной эфирной группировки. Это побудило нас провести исследование на наличие в молекуле исследуемого флавоноида кислотного заместителя. С этой целью проводился кислотный гидролиз с последующим изучением полученных продуктов. В результате гидролиза получен агликон (вещество А) с температурой плавления 345—348°, ацетильное

производное которого плавится при 180—182°. При щелочном расщеплении с последующей хроматографией полученных продуктов установлено наличие флороглюцина и п-оксибензойной кислоты, что дало возможность предположить идентичность агликона вещества 2 с апигенином. Для подтверждения полученных результатов проводилось хроматографическое исследование и смешанная проба плавления. Углеводный компонент вещества 2 идентифицирован с D — глюкозой.

Наряду с апигенином и D — глюкозой в продуктах кислотного гидролиза обнаружено другое соединение (вещество Б), дающее на хроматограммах после проявления его щелочью фиолетовое окрашивание и красное — после проявления диазотированной сульфаниловой кислотой. По хроматографическому поведению (флуоресценция и величина Rf) вещество Б идентифицировано с п-кумаровой кислотой.

Таким образом, продуктами кислотного гидролиза вещества 2 являются апигенин, D — глюкоза и п-кумаровая кислота.

Для установления места присоединения п-кумаровой кислоты в молекуле исследуемого флавоноида проводился щелочной гидролиз с последующим изучением полученных продуктов. В результате чего установлено, что при щелочном гидролизе происходит отщепление п-кумаровой кислоты (вещество Б) и образование нового соединения (вещество В), которое было выделено из продуктов гидролиза препаративной хроматографией на бумаге. По температуре плавления и хроматографическому поведению вещество В идентифицировано с 7-β-D-апигенин-глюкопиранозидом (космосином).

Данные спектрального анализа и легкость отщепления п-кумаровой кислоты дают возможность предположить, что последняя связана с апигенином в 4' положении. Кроме того, значительный гипсохромный сдвиг максимума длинноволновой полосы с 341 $m\mu$ в космосине до 320 $m\mu$ в исследуемом флавоноиде, можно только объяснить ацилированием 4'-оксигруппы. Однако, при изучении спектра исследуемого флавоноида в УФ-области в присутствии этилата натрия наблюдается bathochромный сдвиг на 60 $m\mu$, указывающий на наличие свободной 4'-оксигруппы. Это противоречие может быть объяснено

нонизацией 4-оксигруппы в п-кумароильном заместителе или частичным его отщеплением в щелочной среде.

Следовательно, п-кумаровая кислота связана с гидроксильной группой в 4'-положении эфирной связью.

Для выяснения связи углеводного компонента с агликоном проводился ферментативный гидролиз *Aspergillus oryzae*, специфическим ферментом на β -гликозидную связь. В результате чего были получены D — глюкоза и новый продукт (вещество Г), флуоресцирующий на хроматограммах голубовато-зеленым светом.

Полученные данные показывают, что глюкоза находится в пиранозной форме и связана с агликоном β -гликозидной связью. Кроме того, легкое отщепление D — глюкозы указывает на то, что углеводный компонент не ацилирован.

При установлении строения вещества Г проводилось препаративное хроматографическое выделение его из продуктов ферментативного гидролиза с последующим омылением 1% водным раствором едкого кали. Продукты омыления анализировали хроматографией на бумаге. Данные исследования показали, что вещество Г расщепляется до апигенина и п-кумаровой кислоты.

Для установления последовательности отщепления углеводного и кислотного компонентов проводили ферментативный гидролиз вещества 2 ферментами улитки, который показал, что в первые пять часов происходит отщепление п-кумаровой кислоты, а затем — D — глюкозы.

Результаты хроматографического исследования вещества 2 и продуктов его превращений приведены в таблице 3.

Таким образом, на основании данных химических, хроматографических и спектральных исследований, а также физико-химических свойств продуктов кислотного, щелочного, ферментативного гидролизом, вещество 2 охарактеризовано как 4'-O-п-кумаронил-апигенин-7- β -D — гликопиранозид.

В доступной литературе описания подобного гликозида мы не встретили, поэтому выделенный нами впервые гликозид апигенина и назван **квинквелозидом**. Химические превращения квинквелозида представлены схемой.

Вещество 3 на хроматограммах обнаруживается по темной флуоресценции в УФ свете, что дает возможность

Результаты хроматографического исследования
вещества 2 и продуктов его превращений

Таблица 3

Анализируе- мые продукты	условные обозначе- ния	Значения Rf в системах*			Окраска пятен с	
		I	II	III	раствором едкого калия**	диазотири- ванной сульфанило- вой кислотой
1	2	3	4	5	6	7
Вещество	2	0,08	0,47	0,44	голубоватое	красное
Продукты ки- слотного гидролиза	А	0,05	0,45	0,92	желтое	красное
Агигенин	Б	0,58	0,79	0,80	фиолетовое	красное
п-кумаровая кислота	А	0,05	0,45	0,92	желтое	красное
Продукты щелочного гидролиза	Б	0,58	0,78	0,79	фиолетовое	красное
Космосин	В	0,26	0,64	0,10	фиолетовое	красное
Продукты фер- ментативного гидролиза ве- щества В пре- паратом из гри- ба Aspergillus oryzae	В	0,26	0,64	0,10	желтое	красное
Продукты фер- ментативного гидролиза ве- щества 2 пре- паратом гриба Aspergillus oryzae	А	0,05	0,45	0,92	желтое	красное
Продукты щелоч- ного гидролиза вещества В	Г	0,12	0,49	0,23	голубовато- зеленое	красное
Продукты кис- лотного гидро- лиза вещества В	А	0,05	0,45	0,92	желтое	красное
Продукты щелоч- ного гидролиза вещества Г	Б	0,58	0,79	0,80	фиолетовое	красное
Продукты кис- лотного гидро- лиза вещества В	А	0,05	0,45	0,92	желтое	красное

1	2	3	4	5	6	7
Продукты гидролиза вещества 2 ферментами улитки	Б	0,58	0,79	0,80	фиолетовое	красное
	В	0,26	0,64	0,10	желтое	красное

*) I—15% р-р уксусной кислоты, II—40% р-р уксусной кислоты, III—этилацетат-бензол-уксусная кислота-формамид (73,5:24,5:2:до насыщения).

***) в УФ свете.

предположить флавоноловую природу выделенного соединения. При кислотном гидролизе получен агликон, который по температуре плавления, хроматографическому поведению, а также по температуре плавления ацетильного производного охарактеризован как кверцетин.

Углеводный компонент по данным хроматографического исследования и по температуре плавления полученного озазона был идентифицирован с D -глюкозой.

Для доказательства места присоединения сахара в молекуле исследуемого вещества была использована качественная реакция с солями циркония в присутствии лимонной кислоты. При этом был получен отрицательный результат с гликозидом и положительный— с агликоном. Это дает основание предположить, что углеводный заместитель в исследуемом гликозиде находится в 3-м положении. Для подтверждения места присоединения углеводного компонента проводились спектральные исследования вещества 3 и его агликона в УФ-области как в нейтральном растворе, так и в присутствии комплексообразующих и ионизирующих реагентов. Результаты приведены в таблице 4.

Как видно из данных таблицы 4, в гликозиде обнаруживаются свободные гидроксильные группы в 7 положении (батохромное смещение максимума длинноволновой полосы на 13 $m\mu$ под воздействием ацетата натрия) и в 5 положении (батохромное смещение максимума длинноволновой полосы на 55 $m\mu$ под воздействием азотнокислого циркония, которое полностью устранялось при добавлении лимонной кислоты).

В агликоне установлено наличие свободных гидрок-

Спектральная характеристика вещества 3 и его агликона

Таблица 4

Среда	Полосы	Гликозид		Агликон	
		$\lambda_{max},$ $m\mu$	$\Delta\lambda, m\mu$	$\lambda_{max},$ $m\mu$	$\Delta\lambda, m\mu$
2.10 ⁻⁵ молярный раствор в этаноле	I	355	—	375	—
	II	255	—	255	—
То же + ацетат натрия	I	368	13	389	14
	II	270	15	267	12
То же + азотно- кислый цирконил	I	410	55	465	90
	II	270	15	275	20
То же + азотно- кислый цирконил и лимонная кислота	I	355	0	430	55
	II	255	0	255	0

сильных групп в 7 положении (батохромное смещение максимума длинноволновой полосы на 14 $m\mu$ под воздействием ацетата натрия); в 5 и 3 положениях (батохромное смещение максимума длинноволновой полосы на 90 $m\mu$ под воздействием азотнокислого цирконила и на 55 $m\mu$ под влиянием азотнокислого цирконила и лимонной кислоты).

Таким образом, спектральные исследования подтверждают предположение о том, что D — глюкоза присоединяется к кверцетину в 3-м положении.

В результате проведенных исследований установлено, что вещество 3 является кверцетин-3- β -D-глюкопиранозидом (изокверцитрином).

Третья глава посвящена выделению и химическому изучению алкалоидов. Первоначально были выяснены условия, при которых алкалоиды выделяются из сырья в максимальных количествах. Установлено, что лучшим методом для выделения суммы алкалоидов из травы пустырника пятилопастного является извлечение их 95° этанолом с последующей очисткой на окиси алюминия. Сумма алкалоидов, полученная различными методами, исследовалась хроматографически в присутствии «свидетелей» — хо-

лина и стахидрина, которые наиболее часто встречаются в растениях семейства губоцветных и обнаружены в пустырнике обыкновенном. Исследование проводилось в следующих системах растворителей: н-бутанол—уксусная кислота—вода (4:1:5) (система I); н-бутанол, насыщенный 5% раствором хлористоводородной кислоты (система II) на бумаге Ленинградской фабрики «Чистые соли» марки «Б» при температуре 18°. В качестве проявителя был использован видоизмененный реактив Драгендорфа. Результаты исследования приведены в таблице 5.

Как видно из данных таблицы 5, этанолом извлекаются четыре азотистых основания, одно из которых по величине R_f соответствует стахидрину, а другое—холину. Смесь дихлорэтана и этанола (4:1) были экстрагированы те же вещества, кроме холина. В сумме алкалоидов, полученной по методу ВИЛАРА, обнаруживается только одно вещество. Наиболее интенсивно окрашено пятно, соответствующее по значению R_f стахидрину, менее окрашено пятно, соответствующее по значению R_f холину. Остальные два пятна были окрашены слабо, что указывает на незначительное их содержание в исследуемых суммах.

Поскольку вещество с R_f 0,49 (система I) и 0,21 (система II) содержится по данным хроматограмм в наибольшем количестве, мы исследовали его, используя для выделения методику Н. Ф. Проскурниной и Л. М. Уткина, основанную на осаждении органических оснований кремневольфрамовой кислотой с последующим разложением соли гидратом окиси бария. Стадия очистки нами изменена с использованием адсорбционной хроматографии на окиси алюминия.

В результате проведенных исследований из надземной части травы пустырника пятилопастного выделено вещество основного характера — $C_7H_{13}NO_2$, — которое по своим физико-химическим свойствам: элементарному составу, температуре плавления, хроматографическому поведению, а также по температуре плавления солей — хлоргидрата, пикрата, рейнквата оказалось идентичным стахидрину. Идентичность выделенного основания со стахидрином была также подтверждена смешанной пробой плавления с достоверным образцом стахидрина.

Четвертая глава посвящена изучению динамики накопления некоторых физиологически активных веществ в

Бумажно-хроматографическое изучение органических оснований, выделенных различными методами из травы пустырника пятилопастного (значение Rf)

Таблица 5

Система растворителей	Методы получения суммы оснований				„Свидетели“	
	извлечение хлороформом из аммиачной среды	извлечение смесью дихлорэтан и этанола (4:1)	спиртовое извлечение		стахидрин	холин
			водная фракция	хлороформная фракция		
и-бутанол — уксусная кислота — вода (4:1:5)	0,87	0,49 0,71 0,87	0,49 0,37		0,49	0,37
Бутанол, насыщенный 5% соляной кислотой	0,93	0,21 0,67 0,84	0,10 0,21	0,71 0,87 0,84 0,93	0,21	0,10

траве пустырника пятилопастного, отображающая итоги 3-х летних наблюдений.

В основу изучения этого вопроса было положено количественное определение флавоноидов, алкалоидов, гликозидов, дубильных веществ, аскорбиновой кислоты в надземной части растения, собранного в разные фазы развития — прикорневой розетки, полного цветения, массового плодоношения и конца вегетации.

Результаты количественного определения указанных веществ были подвергнуты статистической обработке. С этой целью определяли среднее арифметическое (\bar{x}), среднюю квадратическую ошибку (σ), среднее квадратическое отклонение ($\sigma\bar{x}$), величину надежного интервала (I_p) и границу истинного значения полученных результатов.

Все результаты количественного определения действующих веществ в траве пустырника пятилопастного при-

**Результаты изучения динамики накопления флавоноидов,
новой кислоты в траве пустырника**

№ п-п	Фазы развития растения	Дата сбора	Содержание действующих флавоноиды	
			ФЭК— метод	
			ФЭК— метод	весовой метод
1.	Фаза прикорневой розетки	28-IV-63	0,244±0,008	0,226±0,010
		3-V-64	0,353±0,020	0,300±0,055
		29-IV-65	0,280±0,013	0,276±0,033
2.	Фаза полного цветения	11-VI-63	0,340±0,052	0,378±0,042
		20-VI-64	0,535±0,005	0,463±0,015
		28-VI-65	0,576±0,018	0,439±0,026
3.	Фаза массового плодоношения	29-VII-63	0,150±0,013	0,169±0,011
		4-VIII-64	0,218±0,010	0,162±0,050
		6-VIII-65	0,146±0,020	0,174±0,010
4.	Фаза конца вегетации	25-XI-63	0,080±0,003	0,082±0,014
		20-XI-64	0,125±0,006	0,146±0,045
		15-XI-65	0,085±0,015	0,081±0,023

алкалоидов, гликозидов, дубильных веществ и аскорбино-
 пятилопастного (1963—1965 гг.)

Таблица 6

веществ в ‰			
алкалоиды	гликозиды	дубильные вещества	аскорбиновая кислота в мг ‰
0,032±0,007	0,304±0,025	3,16±0,82	318,3± 7,76
0,055±0,006	0,308±0,010	1,52±0,20	297,2±12,97
0,020±0,003	0,184±0,005	2,80±0,23	334,7±32,20
0,124±0,018	0,553±0,095	5,11±0,14	432,5±14,40
0,113±0,008	0,458±0,020	4,45±0,24	484,1±11,96
0,134±0,004	0,364±0,030	5,40±0,28	460,3± 9,78
0,032±0,006	0,142±0,041	2,80±0,28	212,5±16,00
0,021±0,004	0,164±0,007	3,31±0,24	117,1± 7,73
0,032±0,003	0,081±0,009	2,49±0,23	202,8± 2,78
0,036±0,005	0,053±0,008	2,33±0,10	152,2±10,98
0,043±0,006	0,090±0,019	1,47±0,11	160,0± 8,50
0,037±0,003	0,107±0,009	1,93±0,08	136,9±13,64

ведены в процентах, за исключением аскорбиновой кислоты, содержание которой дано в мг%. Результаты исследования даны в пересчете на вес абсолютно сухого сырья.

Флавоноиды определяли общепринятым весовым методом, основанным на извлечении их из сырья 70° этанолом, затем этилацетатом с последующим осаждением этиловым эфиром. Наряду с этим было проведено количественное определение флавоноидов фотоэлектрориметрическим методом с использованием реакции азосочетания флавоноидов с диазотированной сульфаниловой кислотой. Алкалоиды определяли по методу ВИЛАРА, а гликозиды сердечной группы — общезвестным методом по Ермакову. Содержание дубильных веществ устанавливалось объемным методом, принятым Государственной фармакопеей IX-го издания. Аскорбиновую кислоту определяли арбитражным методом, основанным на реакции окисления аскорбиновой кислоты 2,6 дихлорфенолиндифенолом.

Данные количественного определения флавоноидов, алкалоидов, гликозидов, дубильных веществ, аскорбиновой кислоты приведены в таблице 6.

Как следует из таблицы 6, максимальное содержание исследуемых веществ было установлено в фазе полного цветения растения.

Для фармакологических исследований были приготовлены очищенные суммарные препараты флавоноидов и алкалоидов. В результате исследований, проведенных на кафедре фармакологии Днепропетровского медицинского института под руководством профессора Г. Е. Батрак установлено, что сумма флавоноидов обладает выраженным гипотензивным действием, а 1% водный раствор суммы алкалоидов в виде хлористоводородных солей — седативным. Результаты фармакологического изучения препаратов из пустырника пятилопастного даны в приложении диссертации.

В Ы В О Д Ы

1. Предварительными исследованиями в траве пустырника пятилопастного *Leonurus quinquelobatus Gilib*

установлено наличие алкалоидов, флавоноидов, гликозидоподобных веществ, дубильных веществ, аскорбиновой кислоты, сапонинов.

2. Разработан метод выделения очищенной суммы флавоноидов из травы пустырника пятилопастного.

3. Распределительной хроматографией на бумаге обнаружено шесть веществ флавоноидной природы.

4. Методом адсорбционной хроматографии на полиамиде выделено три флавоноида. Проведено химическое и спектральное исследование этих соединений и установлено:

а) вещество 1 представляет собой кверцетин-3- β -D-глюкопиранозил-6- β -L-рамнопиранозид (рутин);

б) вещество 2 охарактеризовано как 4'-O-п-кумаронлапигенин-7- β -D-глюкопиранозид, выделенный впервые и названный нами **квинквелозидом**;

в) вещество 3 представляет собой кверцетин-3- β -D-глюкопиранозид (изокверцитрин).

5. Методом хроматографии на бумаге в траве пустырника пятилопастного обнаружено четыре вещества основного характера, одно из которых по величине **Rf** соответствует стахидрину, а другое — четвертичному аммониевому основанию — холину.

6. Выделено из травы пустырника пятилопастного вещество основного характера, которое на основании химических и спектральных исследований охарактеризовано как стахидрин.

7. Проведено изучение динамики накопления флавоноидов, алкалоидов, гликозидоподобных веществ, дубильных веществ, аскорбиновой кислоты в различные фазы развития растения на протяжении 3-х лет.

8. Установлено, что максимальное количество действующих веществ содержится в период полного цветения, в связи с чем траву пустырника пятилопастного в степной зоне Украины целесообразно заготавливать в период полного цветения (июнь месяц).

9. Для фармакологических исследований приготовлены следующие два препарата:

а) препарат, содержащий сумму флавоноидов, очищенную на полиамиде;

б) 1% водный раствор суммы алкалоидов в виде хлористоводородных солей.

10. Фармакологическими исследованиями установлено, что препарат, содержащий сумму флавоноидов, вызывает значительное снижение артериального давления, существенно не влияя на другие изучаемые функции. Препарат, содержащий сумму алкалоидов в виде хлористоводородных солей, оказывает седативный эффект.

По диссертации опубликованы следующие работы:

1. В. В. Петренко і Н. В. Курінна. Фітохімічна характеристика і динаміка нагромадження діючих речовин в траві кропиви пятилопатевої. Тези доповідей конференції, посвяченій 25-річчю воз'єднання Рад України. Тернопіль, 1964.

2. В. В. Петренко. Виділення суми флавоноїдів з трави собачої кропиви пятилопатевої і хроматографічне розділення їх. Фармацевтичний журнал, 3, 72, 1964.

3. В. В. Петренко, Н. В. Курінна. До питання про нагромадження діючих речовин в траві собачої кропиви пятилопатевої. Фармацевтичний журнал, 5, 67, 1964.

4. В. В. Петренко, Н. В. Курінна. Хімічне вивчення флавоноїдів кропиви собачої пятилопатевої. Фармацевтичний журнал, 5, 51, 1965.

5. В. В. Петренко. Квинквелозид—новий флавоноїдний глікозид **Leonuris quinquelovatus Gilib.** Хімія природних сполучень, 6, 414, 1965.

6. В. В. Петренко, Н. В. Курінна. Вивчення алкалоїдного складу трави собачої кропиви пятилопатевої. Фармацевтичний журнал, 6, 36, 1966.

Результаты работы докладывались на межобластной научной конференции (Тернополь, 1964), на научных конференциях Запорожского фармацевтического института (1963—1966 гг.).