

Н.С.БУРДА, аспірант, І.О.ЖУРАВЕЛЬ, канд. фармац. наук, доцент, В.С.КИСЛИЧЕНКО, д-р фармац. наук, В.Б.ДЄМЬОХІН, директор ТОВ «Дослідний завод «ГНЦЛС»,

Національний фармацевтичний університет,  
ТОВ «Дослідний завод «ГНЦЛС»

## ВИДІЛЕННЯ ТА ВСТАНОВЛЕННЯ СТРУКТУРИ 4'-ГЛІКОЗИДІВ КВЕРЦЕТИНУ З ТРАВИ ГАДЮЧНИКА В'ЯЗОЛИСТОГО (*FILIPENDULA ULMARIA (L.) MAXIM.*)

**Ключові слова:** гадючник, хроматографія, флавоноїди, УФ-, ІЧ-, ЯМР- спектри

Вивчення хімічного складу лікарської рослинної сировини – це головний етап пошуку і розробки нових ефективних препаратів природного походження. Однією з перспективних рослин для створення препаратів з протизапальною, антимікробною та антиоксидантною дією є гадючник в'язолистий (*Filipendula ulmaria (L.) Maxim.*) родини розові (*Rosaceae*).

Хімічний склад цієї рослини представлено флавоноїдами (кверцетин, кемпферол, рутин, гіперозид, спіреозид), дубильними речовинами, фенолкарбоновими кислотами (саліцилова, анісова, елагова, галова), ефірною олією [3, 9]. Зокрема, в розвитку антиоксидантної дії беруть участь флавоноїди та фенолкарбонові кислоти [2, 4, 6, 8].

У 2008 р. російські вчені вперше з трави гадючника в'язолистого виділили речовину 4'-О-β-D-галактопіранозид кверцетину, або філімарин [1, 7]. Крім того, за даними літератури, в траві *Filipendula ulmaria (L.) Maxim.* міститься 4'-О-β-D-глюкопіранозид кверцетину, або спіреозид. Ці сполуки мають високу антиоксидантну активність, що перевищує дію дигідрокверцетину та аскорбінової кислоти [5, 10].

Метою нашої роботи було виявлення наявності, виділення та встановлення структури філімарину та спіреозиду в траві гадючника в'язолистого з вітчизняних зразків сировини.

### Матеріали та методи дослідження

Об'єктом дослідження були зразки трави гадючника в'язолистого, зібрані в період цвітіння у 2009–2010 р. і надані ТОВ «ДЗ «ГНЦЛС» для проведення досліджень.

Для виділення філімарину та спіреозиду використовували метод мацерації лікарської рослинної сировини та колонкову хроматографію на поліамідному сорбенті.

Для підтвердження хімічної будови виділених сполук застосовували хімічні реакції, кислотний гідроліз, хроматографію на папері та в тонкому шарі сорбенту, ІЧ-, ЯМР- спектроскопію, а також визначали показник температури плавлення [7].

### Результати дослідження та їх обговорення

Для виділення речовин 1,0 кг повітряно-сухої подрібненої до розмірів часток 2,5–3 мм трави гадючника в'язолистого завантажували в реактор і екстрагували 70% спиртом етиловим у співвідношенні сировина–екстрагент 1:10 методом мацерації (настоюванням при кімнатній температурі) 3 рази протягом 24 год [3, 8]. Водно-спиртові витяжки об'єднували, випарювали під вакуумом у вакуум-циркуляційному апараті при розрідженні 690 мм рт. ст. до водного залишку. Екстракти упарювали до 1/2 початкового об'єму, відстоювали та відділяли смолоподібний осад від рідини. Отриманий надосадовий водний залишок послідовно екстрагували хлороформом та етилацетатом. Етилацетатну фракцію наносили на колонку з поліамідним сорбентом та елюювали сумішшю води та етанолу зі збільшенням концентрації останнього. Хід розділення контролювали в УФ-світлі та хроматографією на папері в системах розчинників бутанол–кислота оцтова–вода (4:1:2) і 15 % кислота оцтова. Ідентичні фракції об'єднували, упарювали і сухі залишки кристалізували із водного етанолу при кімнатній температурі. Таким чином були виділені речовина 1 та речовина 2, структуру яких вивчали фізико-хімічними та спектральними методами. Відсутність забарвлення шару октанолу в реакції за Бріантом виділених сполук дала змогу віднести їх до глікозидів. Глікозидна природа речовин була підтверджена кислотним гідролізом, який проводили 5 % кислотою сульфатною при температурі 100 °С [11]. Для визначення аглікону застосовували УФ-спектральний аналіз та ЯМР-спектроскопію. Агліконом даних сполук був кверцетин. У продуктах кислотного гідролізу речовини 1 методом паперової хроматографії у системах розчинників ацетон–бутанол–

вода (7:2:1) та фенол–вода (95:5) виявили галактозу, а речовини 2 – глюкозу.

Хроматографування речовини 1 проводили висхідним способом на пластинках «Sorbfil» у системі розчинників хлороформ–спирт етиловий (6:3) [9]. Хроматографування речовини 2 проводили на пластинках «Sorbfil» у системі розчинників етилацетат–кислота мурашина–вода (80:10:10) та папері «Filtrak» № 12 в 30% оцтовій кислоті [10]. Виділені речовини виявляли за флуоресценцією в УФ-світлі, забарвленням після обробки 5 % спиртовим розчином  $AlCl_3$ , ванілін-фосфорним реактивом, діазореактивом, а також величиною  $R_f$  [2, 3, 7].

Речовина 1 – жовтий дрібнокристалічний порошок з  $T_{пл}$  217–218 °С (з етанолу);  $[\alpha]_D^{20}$  – 56,60° (С 0,53; етанол);  $\lambda_{max}$  – 254, 364 нм.

ІЧ-спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$  (KBr): 3382 (ОН), 2928, 2900 ( $CH_2$ ), 1659 (СО), 1513, 1558, 1610 (бензольне кільце), 1009, 1040, 1088 (піранозне кільце вуглевода), 997 (β-глікозидний зв'язок).

Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м.д. (J, Гц): 6.20 (H-6, д, 2.0), 6.45 (H-8, д, 2.0), 7.26 (H-5', д, 9.0), 7.62 (H-6', дд, 9.0, 2.0), 7.70 (H-2', д, 2.0). Спектр ЯМР  $^{13}C$ ,  $\delta$ , м.д.: 146.82 с (С-2), 136.45 с (С-3), 170.10 с (С-4), 160.76 с (С-5), 98.31 д (С-6), 164.10 с (С-7), 93.57 д (С-8), 156.28 с (С-9), 103.15 с (С-10), 125.13 с (С-1'), 115.97 д (С-2'), 145.95 с (С-3'), 146.37 с (С-4'), 115.18 д (С-5'), 119.58 д (С-6'); вуглеводна частина: 101.78, 75.88, 73.20, 71.23, 67.96, 60.73.

В УФ-світлі сполука 1 мала темно-жовту флуоресценцію, після обробки хроматограми 5% спиртовим розчином  $AlCl_3$ , проявлялася у вигляді жовтої плями з величиною  $R_f$  0,40.

Речовина 2 – світло-жовтий дрібнокристалічний порошок з  $T_{пл}$  228–230 °С (хлороформ–метанол–бутанол–вода (10:10:1:6) з верхньої фази); УФ-спектр (етанол)  $\lambda_{max}$  256, (266), 366 нм.

ІЧ-спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$  (KBr): 3354, 3523 (ОН), 1656 (СО), 1507, 1517, 1558, 1599, 1618 (бензольне кільце), 1011, 1022, 1047, 1090, 1138 (піранозне кільце вуглевода).

Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м.д. (J, Гц): 6.20 (H-6, д, 2.0), 6.45 (H-8, д, 2.0), 7.26 (H-5', д, 9.0), 7.62 (H-6', дд, 9.0, 2.0), 7.70 (H-2', д, 2.0). Спектр ЯМР  $^{13}C$ ,  $\delta$ , м.д.: 146.82 с (С-2), 136.45 с (С-3), 170.10 с (С-4), 160.76 с (С-5), 98.31 д (С-6), 164.10 с (С-7), 93.57 д (С-8), 156.28 с (С-9), 103.15 с (С-10), 125.13 с (С-1'), 115.97 д (С-2'), 145.95 с (С-3'), 146.37 с (С-4'), 115.18 д (С-5'), 119.58 д (С-6'); вуглеводна частина: 101.4, 77.5, 78.6, 74.3, 70.3, 61.3.

Місце приєднання глюкози та галактози у сполуках – С-4' положення. Це підтверджувалося незмінністю положення сигналів для атомів С-5 та С-7 у спектрі ЯМР  $^{13}C$ , порівнюючи зі спектром ЯМР  $^{13}C$  кверцетину, також спостерігався виражений орто-ефект на сигналі атома Н-5' та незмінність положення сигналу Н-2' в порівнянні зі спектром кверцетину у спектрі ПМР.

Речовина 2 в УФ-світлі мала жовту флуоресценцію, після обробки хроматограми 5% спиртовим розчином  $AlCl_3$  проявлялася у вигляді жовто-зеленої плями, після обробки діазореактивом – жовта пляма, ванілін-фосфорним реактивом – лимонно-жовте забарвлення плями. Величина  $R_f$  у системі розчинників етилацетат–кислота мурашина–вода (80:10:10) становила 0,50 та в 30% кислоті оцтовій – 0,34.

Заотриманими даними виділену речовину 1 ідентифікували як 3,5,7,3'-тетрагідроксифлавоно-4'-О-β-D-галактопіранозид або філімарин; речовину 2 – як 3,5,7,3'-тетрагідроксифлавоно-4'-О-β-D-глюкопіранозид або спіреозид.

## В и с н о в к и

За допомогою колонкової адсорбційної хроматографії на поліамідному сорбенті нами були виділені з трави гадючника в'язолистого 3,5,7,3'-тетрагідроксифлавоно-4'-О-β-D-галактопіранозид (філімарин) та 3,5,7,3'-тетрагідроксифлавоно-4'-О-β-D-глюкопіранозид (спіреозид). Структуру цих речовин було доведено за допомогою хімічних реакцій, кислотного гідролізу, ІЧ-, ЯМР- спектроскопії, а також показником температури плавлення.

Таким чином, на підставі проведених фізико-хімічних досліджень було встановлено наявність філімарину та спіреозиду в траві гадючника в'язолистого, що поширений на території України.

1. Авдеева Е.Ю., Краснов Е.А., Шилова И.В. // Химия растительного сырья. – 2008. – № 3. – С. 34–37.

2. Авдеева Е.Ю., Шилова И.В., Краснов Е.А., Ралдугин В.А. // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: тез. докл. Всеросс. науч. конф. – Барнаул, 2007. – С. 334–336.

3. Авдеева Е.Ю., Краснов Е.А., Ралдугин В.А., Шилова И.В. // Химия природных соединений. – 2006. – № 2. – С. 122–124.

4. Барабой В.А. Биоантиоксиданты. – К., Книга плюс, 2006. – 462 с.

5. Бурда Н.С., Журавель І.О., Кисличенко В.С. // Молодь – медицині майбутнього : тези доп. Між-

нар. наук. конф. студентів та молодих вчених, присвячена 200-річчю з дня народження М.І.Пирогова (22–23 квітня 2010 р.). – Одеса : Одес. держ. мед. ун-т, 2010. – С. 81.

6. *Запорожтов М.Н.* Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. – М.: Наука, 1993. – 190 с.

7. *Кемертелидзе Э.П., Георгиевский В.П.* Физико-химические методы анализа некоторых биологически активных веществ растительного происхождения. – Тбилиси: Мецниереба, 1976. – 222 с.

8. *Краснов Е.А., Ралдугин В.А., Авдеева Е.Ю.* // Химико-фармацевтический журнал. – 2009. – Т. 43., № 11. – С. 24–25.

9. Растительные ресурсы СРСР. Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства Hydrangeaceae – Haloragaceae / Отв. ред. *П.Д.Соколов*. – Ленинград. Издательство «Наука» Ленинградское отделение, 1987. – 328 с.

10. *Шилова И.В., Семенов А.А., Суслов Н.И. и др.* // Химико-фармацевтический журнал. – 2009. – Т. 43, № 4. – С. 7–11.

11. *Hörhammer L., Hänsel R.* // Arch. Pharm. – 1954. – № 287. – С. 37.

Надійшла до редакції 03.11.2010.

*Н.Е.Бурда, И.А.Журавель, В.С.Кисличенко, В.Б.Демехин*

#### ВЫДЕЛЕНИЕ И УСТАНОВЛЕНИЕ СТРУКТУРЫ 4'- ГЛИКОЗИДОВ КВЕРЦЕТИНА ИЗ ТРАВЫ ЛАБАЗНИКА ВЯЗОЛИСТНОГО (*FILIPENDULA ULMARIA (L.) MAXIM.*)

**Ключевые слова:** лабазник, хроматография, флавоноиды, ИК-, УФ- ЯМР-спектры

При помощи колоночной адсорбционной хроматографии на полиамидном сорбенте были выделены 3,5,7,3'-тетрагидроксифлавонон-4'-О-β-D-галактопиранозид и 3,5,7,3'-тетрагидроксифлавонон-4'-О-β-D-глюкопиранозид. Для подтверждения химического строения выделенных веществ применяли химические реакции, кислотный гидролиз, бумажную и тонкослойную хроматографию, ИК-, ЯМР- спектроскопию, а также показатель температуры плавления.

*N.Ye.Burda, I.O.Zhuravel, V.S.Kyslychenko, V.B.Demiokhin*

#### ISOLATION AND ESTABLISHMENT OF THE STRUCTURE OF 4'-GLYCOSIDES QUERCETIN WITH *FILIPENDULA ULMARIA (L.) MAXIM.* HERB

**Key words:** Meadowsweet, chromatographic method, flavonoids, IR-, UV- NMR- spectra

#### S U M M A R Y

Using column adsorption chromatography on polyamide sorbent were isolated 3, 5, 7, 3'-tetrahydroxyflavon-4'-O-β-D-galactopyranoside and

3,5,7,3'-tetrahydroxyflavon-4'-O-β-D-glucopyranoside. For confirmation chemical structure of substances used chemical reactions, acid hydrolysis, TLC, PC, IR and NMR spectroscopy, and indicator melting temperature.