

© Коллектив авторов, 2009

Е. А. Краснов¹, В. А. Ралдугин², Е. Ю. Авдеева¹

ВЫДЕЛЕНИЕ И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ФИЛИМАРИНА — НОВОГО ФЛАВОНОЛЬНОГО ГЛИКОЗИДА ИЗ *FILIPENDULA ULMARIA*

¹ Сибирский государственный медицинский университет, 634050, Томск, Россия; E-mail: krasnov.37@mail.ru;

² Новосибирский институт органической химии им. Н. Н. Ворожцова СО РАН, Новосибирск, Россия

Из лабазника вязолистного методом колоночной хроматографии на полиамиде и силикагеле выделен новый гликозид кверцетина, названный филимарином, структура которого на основании химических и спектральных данных установлена как кверцетин-4'-0-β-D-галактопиранозид. Методом катодной вольтамперометрии показана высокая антиоксидантная активность филимарина, не уступающая природным антиоксидантам дигидрокверцитину и аскорбиновой кислоте.

Ключевые слова: *Filipendula ulmaria*, флавоноиды, филимарин, антиоксидантная активность.

Как сообщалось ранее [1], при исследовании химического состава экстракта надземной части лабазника вязолистного *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. выделена однородная кристаллическая смесь, состоящая из 2 гликозидов кверцетина — изокверцитрина (1) и кверцетин-4'-галактопиранозид (2).

В настоящей статье описывается разделение выше-названной смеси и приводятся физико-химические характеристики ранее неизвестного кверцетин-4'-0-β-D-галактопиранозид (2), названного филимарином. Учитывая, что антиоксидантные свойства полифенолов обуславливают различные виды фармакологической активности [2], была изучена активность нового флавонольного гликозида. Известно, что нарушение физиологического равновесия между образованием и уничтожением свободных радикалов в клетке является причиной возникновения многих заболеваний [3].

Экспериментальная часть

ИК-спектр записывали на приборе Vector 22 (“Bruker”, Германия) в KBr (200:1). УФ-спектры сняты на спектрофотометре Perkin Elmer — 412 (США) в концентрации $2 \cdot 10^{-3}$ % в CH₃OH. Спектры ЯМР регистрировали на спектрометре “Bruker DRX-500” (Германия) с рабочей частотой 500,13 МГц (¹H) и 125,76 МГц (¹³C), используя в качестве стандарта Si(CH₃)₄; растворитель — ДМСО-d₆. Угол оптического вращения измеряли на поляриметре “Polar-2L” (Япония). Температура плавления определена на приборе ПТП (ПО “Химлабораторприбор”, Россия).

Надземную часть лабазника вязолистного *Filipendula ulmaria* собирали в июле 2005 – 2006 гг. в фазе цветения в районах Томской области, сушили воздушно-теневым способом и измельчали до размера частиц 5 – 7 мм. Измельченную надземную часть растения

(0,6 кг) экстрагировали 70 % водным этанолом (трижды по 4,8 л) на водяной бане при температуре кипения растворителя. Объединенные экстракты фильтровали и концентрировали под вакуумом до водного остатка, который последовательно обрабатывали в делительной воронке хлороформом (0,2 л · 4) и этилацетатом (0,2 л · 4). Извлечения высушивали безводным Na₂SO₄ и растворители удаляли под вакуумом. В результате получили 0,42 г (0,07 %) хлороформной и 40,8 г (6,8 %) этилацетатной фракции. Последнюю разделяли на колонке с полиамидом с последующей рехроматографией на силикагеле, элюируя системой растворителей хлороформ — метанол с постепенным повышением градиента последнего. При элюировании хлороформом с содержанием 15 % метанола выделили 2,3 г кристаллического порошка 2 гликозидов кверцетина в соотношении 7:5, который перекристаллизовали из смеси метанол — хлороформ.

Помещали на колонку с полиамидом 0,35 г полученной смеси флавоногликозидов (соотношение 1:10). Элюировали вначале водой, а затем водно-этанольными смесями с градиентным увеличением содержания этанола.

При элюировании 15 % этанолом получен желтый кристаллический порошок (выход 0,027 г, т. пл. 224 – 225 °С из 50 % этанола, λ_{max}, нм: 257, 359). На БХ дает 1 пятно вещества с R_f 0,56 (30 % AcOH), которое соответствует изокверцитрину (1). Согласно литературным данным [4, 5] т. пл. изокверцитрина 224 – 226 °С (метанол — вода, 1:1), λ_{max}, нм: 256, 359, поэтому на основании физических констант вещество 1 идентифицировано как 3-0-β-D-глюкопиранозид 5,7,3',4'-тетрагидроксифлавонол или изокверцитрин. В результате дальнейшего элюирования 60 % водным этанолом выделили вещество 2 (выход 0,096 г, т. пл. 218 – 219 °С из этанола). При хроматографировании в

аналогичных условиях **2** дает 1 пятно с R_f 0,27, $[\alpha]_D^{20} - 56,60^\circ$ (с 0,53, этанол). УФ-спектр, λ_{max} , нм: 254, 364. ИК-спектр, ν_{max} , cm^{-1} (KBr): 3382 (ОН), 2928, 2900 (CH₂), 1659 (СО), 1513, 1558, 1610 (бенз. кольцо), 1009, 1040, 1088 (пираноид. кольцо углевода), 997 (β-гликозид. связь). Спектр ЯМР ¹H, δ, 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 ¹³C, δ, м.д.: 146,82 с (C-2), 136,45 с (C-3), 170,10 с (C-4), 160,76 с (C-5), 98,31 д (C-6), 164,10 с (C-7), 93,57 д (C-8), 156,28 с (C-9), 103,15 с (C-10), 125,13 с (C-1'), 115,97 д (C-2'), 145,95 с (C-3'), 146,37 с (C-4'), 115,18 д (C-5'), 119,58 д (C-6'); углеводная часть: 101,78, 75,88, 73,20, 71,23, 67,96, 60,73.

При кислотном гидролизе вещества **2** с 5 % раствором H₂SO₄ (100 °С, 2 ч) выделили вещество, идентифицированное по т. пл. (310 – 312 °С) и сравнительной хроматографией со стандартным образцом как 3,5,7,3',4'-пентагидроксифлавонон (кверцетин). Фильтрат нейтрализовали раствором Ва(ОН)₂ и после концентрирования исследовали на содержание углеводов на пластинках "Sorbfil" в системе растворителей этилацетат — метанол — уксусная кислота — вода (60:15:15:10). После обработки 0,5 % раствором тимола в конц. H₂SO₄ обнаружили 1 пятно вещества с R_f 0,18, отождествленное с D-галактозой.

Для оценки антиоксидантной активности (АОА) филимарина использовали метод катодной вольтамперометрии, основанный на реакции электровосстановления кислорода (ЭВ O₂). При этом осуществляли съемку вольтамперограмм катодного восстановления кислорода с помощью вольтамперометрического анализатора ТА-2 ("Техноаналит", Томск). Электрохимическая ячейка представляла собой стаканчик с раствором фоновой электролита, с опущенными в него индикаторным электродом, электродом сравнения и вспомогательным электродом. В качестве фоновой электролита использовали фосфорный буфер с рН 6,86. Для анализа брали 10 мг образца, растворяли в 1 мл 95 % этанола и объем аликвоты (0,1 мл) вносили в ячейку. Перемешивание растворов осуществляли с помощью вибрации электродов [6]. Для сравнения ис-

Антиоксидантная активность филимарина

Образец	Кинетический критерий, мкмоль/л · мин
1. Экстракт лабазника вязолистного на 70 % этаноле	0,637 ± 0,003
2. Филимарин (кверцетин-4'-0-β-D-галактопиранозид)	1,215 ± 0,082
3. Аскорбиновая кислота	1,150 ± 0,053
4. Дигидрокверцетин	0,650 ± 0,040

пользовали стандартные антиоксиданты — аскорбиновую кислоту и дигидрокверцетин.

Как видно из таблицы, по силе АОА филимарин значительно превосходит нативный экстракт из наземной части лабазника вязолистного и близок к наиболее активному природному антиоксиданту — аскорбиновой кислоте.

Принимая во внимание значительное содержание флавоноидов в экстракте наземной части лабазника, большая часть которых представлена филимарином, можно предположить, что последний является носителем фармакологической активности экстракта, в частности, гепатопротекторной [7, 8].

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. А. Краснов, В. А. Ралдугин, И. В. Шилова, Е. Ю. Авдеева, *Химия природ. соедин.*, № 2, 122 – 124 (2006).
2. В. А. Рогинский, *Фенольные соединения и их антиоксидантные свойства*, Химия, Москва (1986).
3. Т. В. Ганенко, С. А. Медведева, *Растит. ресурсы*, вып. 1, 91 – 96 (2006).
4. Е. А. Краснов, Т. Г. Хоружая, *Химия природ. соедин.*, № 3, 400 – 401 (1974).
5. J. V. Harborne, *Comparative biochemistry of the flavonoids*, Academic press, London, N. Y. (1967).
6. И. В. Шилова, Е. А. Краснов, Е. И. Короткова и др., *Хим.-фарм. журн.*, № 12, 22 – 24 (2006).
7. А. В. Горбачева, С. Г. Аксиненко, В. Г. Пашинский, *Лабазник вязолистный в фитотерапии воспалительных процессов*, Томск (2005).
8. И. В. Шилова, Т. В. Жаворонок, Н. И. Сулов и др., *Бюл. экперим. биол. и мед.*, № 8, 181 – 184 (2006).

Поступила 02.06.08

FILIMARIN: A NEW FLAVONOL GLYCOSIDE FROM *FILIPENDULA ULMARIA* AND ITS ANTIOXIDANT ACTIVITY

E. A. Krasnov^{1*}, V. A. Raldugin², and E. Yu. Avdeeva¹

¹ Siberian State Medical University, Tomsk, 634050, Russia

² Vorozhtsov Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, prosp. Akad. Lavrent'eva 9, Novosibirsk, 630090 Russia

* e-mail: krasnov.37@mail.ru;

A new quercetin glycoside named filimarin was isolated from the herbs of honeysweet (*Filipendula ulmaria* L. Maxim.) by column chromatography on polyamide and silica gel. Based on the chemical and spectral data, the structure of filimarin is identified as quercetin-4'-O-β-D-galactopyranoside. The results of voltammetric measurements showed that filimarin possesses pronounced antioxidant activity, which is comparable with that of dihydroquercetin and ascorbic acid.

Key words: *Filipendula ulmaria*, flavonoids, filimarin, antioxidant activity