

**ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ОСНОВНЫХ  
КОМПОНЕНТОВ ВОДНОСПИРТОВЫХ ЭКСТРАКТОВ  
РАСТЕНИЙ РОДА *FILIPENDULA* MILL.**

А.В. Башилов, Е.В. Спиридович, В.П. Курченко<sup>1</sup>, Т.М. Власова<sup>1</sup>, Г.Г. Сенькевич<sup>1</sup>

*Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

*1 – Белорусский Государственный Университет, Минск, Республика Беларусь*

**Введение.** Лекарственные растения, как свидетельствуют результаты многочисленных исследований отечественных и зарубежных ученых, обладают определенными лечебными свойствами и входят в арсенал медикаментозных средств используемых в современной врачебной практике. Несмотря на появление в распоряжении современного врача синтетических препаратов интерес к лекарственным растениям не снизился.

Мягкость действия растительных препаратов, отсутствие токсических проявлений при их применении, позволяет предполагать их существенную значимость в профилактике различных заболеваний. Несомненным достоинством лекарственного растительного сырья, является так же разнообразие биологически активных веществ, которые способны обеспечить поливалентность фармакологических эффектов.

Основными критериями для отбора растительного сырья в качестве источника биологически активных соединений являются: высокое содержание действующих веществ, не токсичность для человека, доступность сырья в природе или несложная технология его культивирования. К таким растениям можно отнести лабазник вязолистный (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.) и лабазник шестилепестный (*Filipendula hexapetala* Gilib.).

Лабазник вязолистный и лабазник шестилепестный лекарственные растения, относящиеся к роду лабазник или таволга (*Filipendula* Mill.) семейства розоцветные (*Rosaceae*). Ранними исследованиями было показано, что растения отличаются высоким содержанием салицилатов и танинов. Клиническое исследование спиртовых, водных и сухих экстрактов, выявило наличие мощной противовоспалительной активности [1].

Широкий спектр фармакологического действия фитопрепаратов представителей рода *Filipendula* Mill. обусловлен комплексом физиологически активных соединений. Исследование компонентного состава биологически активных соединений остаётся в настоящее время одной из главных задач биохимии и фармакогнозии представленных видов. Поставленная задача может быть эффективно решена с использованием газохроматографического анализа с масс-селективным детектором (ГХ-МС) и метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), позволяющих провести комплексный анализ компонентного состава водноспиртовых экстрактов растений рода *Filipendula* Mill.

**Методы исследования.** Объектами исследования были водноспиртовые экстракты соцветий, листьев и подземной части (корни и корневища) *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. и *Filipendula hexapetala* Gilib.

Аналитическую пробу растительного сырья измельчали до размера частиц диаметром 1 мм, навеску сухого растительного материала в 1 г помещали в колбу со шлифом вместимостью 150 мл, прибавляли 30 мл 90% спирта, содержащего 1% концентрированной хлористоводородной кислоты. После чего колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Полученный экстракт охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. Экстракцию повторяли еще раз указанным выше способом, затем еще 1 раз 90% спиртом в течение 30 мин. Извлечения фильтровали через тот же фильтр в ту же мерную колбу. Затем промывали фильтр 90% спиртом и доводили объем фильтрата 90%-ым спиртом до метки [2].

Газохроматографический анализ проводили на хроматографе «Agilent 6850» (США), с масс-селективным детектором «Agilent 5975». Непосредственно перед анализом экстракты концентрировали в 4 раза на роторном испарителе. В качестве подвижной фазы использовали инертный газ – гелий. Для получения воспроизводимых результатов скорость потока газа поддерживалась на стационарном уровне и составила 1 мл/мин. Для разделения использовали капиллярную колонку длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм с неподвижной фазой HP-5MS (5% дифенил и 95% диметилполисилоксан), толщиной 0,25 мкм. Программирование изменения температуры: 50°C – 1 мин, подъем до 280°C со скоростью 5°C/мин. Объем пробы – 1 мкл, ввод пробы – без сброса, температура испарителя – 250°C. Идентификация соединений осуществлялась в ручную, сравнением масс-спектров соединений с библиотечными (WileyC). Количественные данные по содержанию компонентов получены исходя их площадей пиков на хроматограмме по

полному ионному току, приведены в нормировочных процентах от суммы площадей всех зарегистрированных пиков, без учета коэффициентов чувствительности [3].

ВЭЖХ-анализ проводили на хроматографе «Agilent 1100» (США) с диодноматричным детектором. Исследование проводилось на обращеннофазовой колонке «С-18» фирмы «Диасфер» (Россия) (250x4 мм) с размером частиц 5 мкм, объем инъекции – 20 мкл. Хроматографию проводили в градиенте вода-ацетонитрил-метанол по методу Н.М. Merken [4]. Регистрация разделяемых веществ осуществлялась при двух длинах волн 270 нм и 325 нм. Идентификацию компонентов осуществляли спектрально в диапазоне волн 220-500 нм. Для проведения анализа осуществляли пробоподготовку образцов, полученные гидролизаты (бн. HCl, время гидролиза 2 часа) экстрагировали этилацетатом, центрифугировали и фильтровали через мембранные фильтры с диаметром пор 0,45 мкм.

**Результаты и обсуждение.** Использование ГХ-МС позволяет эффективно разделить и идентифицировать летучие и термостабильные компоненты водноспиртовых экстрактов лекарственных растений. В связи с этим проанализирован состав полученных экстрактов. На рисунке 1 приведена типичная газовая хроматограмма экстрактивных веществ растений рода *Filipendula* Mill., на примере водноспиртового экстракта соцветий *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.

Сигнал детектора,

пирогалло

2,1,3-бензотиодиазо

бис-2-этилгексильный  
эфир 1,2-бензендиовой

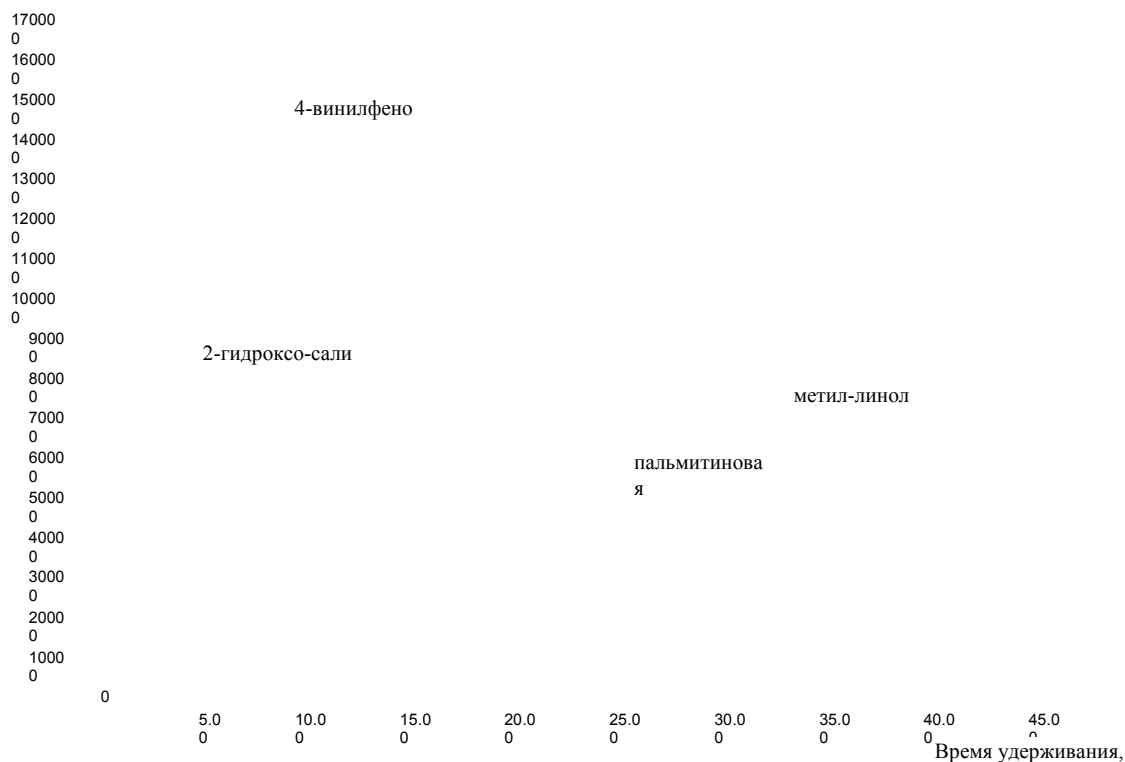


Рисунок 1. ГХ-МС водноспиртового экстракта соцветий *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.

Общей тенденцией является обнаружение во всех образцах оксипроизводных ароматических соединений. При этом в образцах идентифицируется больше эфиров, альдегидов и кетонов. В таблице 1 представлены результаты ГХ-МС анализа компонентного состава подземной части, соцветий и листьев *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. и *Filipendula hexapetala* Gilib.

Таблица 1. Компонентный состав экстрактов корней, листьев и соцветий *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. и *Filipendula hexapetala* Gilib. по данным ГХ-МС

№	Компонент	<i>Filipendula ulmaria</i> (L.) Maxim.			<i>Filipendula hexapetala</i> Gilib.		
		подземная часть	листья	соцветия	подземная часть	листья	соцветия
1.	изобутилальдегид	—	—	0,13	—	—	0,15
2.	3-метилбутаналь	—	—	0,04	—	—	0,06
3.	2-метилбутаналь	—	—	0,16	—	—	0,15
4.	акриловая кислота	—	0,51	0,06	0,53	0,77	0,09
5.	1-метилпиррол	—	0,13	—	—	0,16	—

6.	этилпиразин	0,05	—	—	0,19	—	—
7.	фурфурол	—	—	0,13	—	0,12	0,12
8.	2-фуранметанол	—	—	—	0,39	0,23	—
9.	4-циклопентен-1,3-дион	—	—	0,09	1,46	—	0,07
10.	2-фуранон	—	—	—	8,52	—	—
11.	2-гидроксициклопент-2-ен-1-он	—	—	0,15	—	0,17	0,15
12.	бензилметанол	—	—	—	—	0,28	—
13.	2-гидрокси-салицилальдегид	—	—	1,68	—	—	1,24
14.	бензилацетальдегид	—	0,24	—	—	0,18	—
15.	бензилэтанол	—	—	0,14	—	—	0,11
16.	N-метил-N-нитрозо-2-пропанамин	—	0,31	—	—	0,36	—
17.	2,3-дигидро-3,5-дигидрокси-6-метил-4-пиранин-4-он	1,40	1,28	1,22	2,56	2,40	1,11
18.	бензойная кислота	—	0,10	0,25	—	0,08	0,31
19.	метилсалицилат	4,62	0,87	2,60	—	0,52	1,15
20.	пирокатехин	—	—	—	—	—	—
21.	4-винилфенол	—	1,48	3,27	—	2,11	2,44
22.	2-фуранкарбоксальдегид	2,11	0,21	0,43	—	0,43	0,30
23.	4-метокси-бензальдегид	—	—	0,35	—	—	0,47
24.	p-метоксибензиловый спирт	—	—	0,59	—	—	0,58
25.	салициловая кислота	—	1,22	1,34	—	1,34	2,27
26.	4-винил-2-метоксифенол	—	0,53	0,31	—	0,86	0,29
27.	пирогаллол	4,08	12,45	35,74	—	7,30	36,14
28.	4-метоксибензойная кислота	—	—	0,86	—	—	0,81
29.	2,1,3-бензилтиодиазол	—	2,23	4,48	—	6,68	3,85
30.	1,4-нафталиндиол	1,10	—	—	—	—	—

3 1	1-нафтол	0,62	—	—	—	—	—
3 2	метил- $\alpha$ -D-рибопиранозид	—	—	2,51	—	6,60	3,44
3 3	4-(3-гидроксо-1-пропенил)-2-метокси-фенол	—	0,24	—	—	0,27	—
3 4	п-кумаровая кислота	—	—	0,40	—	—	0,27
3 5	2,7-нафталиндиол	0,44	—	—	—	—	—
3 6	неофитодиен	—	4,03	—	—	—	—
3 7	2-пентадеканон	—	—	0,21	—	—	0,17
3 8	пальмитиновая кислота	2,05	1,36	1,22	0,75	1,54	1,53
3 9	дибутиловый эфир 1,2-бензилдикарбоновой кислоты	1,35	1,28	0,74	2,18	0,82	0,88
4 0	фитол	—	2,08	—	—	0,80	—
4 1	линолевая кислота	—	0,47	0,68	0,87	0,72	0,77
4 2	метиллиноленат	—	2,89	2,35	—	4,85	2,41
4 3	N-фенил-1-нафталинамин	0,68	0,56	0,54	—	0,36	0,49
4 4	бис-2-этилгексилловый эфир 1,2-бензилдикарбоновой кислоты	27,28	22,76	12,41	28,97	14,45	10,78
4 5	этиллинолеат	—	—	0,21	—	0,84	0,20

Примечание – Количественные данные по содержанию компонентов приведены в нормировочных процентах от суммы площадей всех зарегистрированных пиков, без учета коэффициентов чувствительности; “—” – отсутствие компонента в экстракте.

Из представленных данных видно, что экстракты изученных видов близки по химическому составу. Так в экстрактах соцветий для двух видов рода *Filipendula* Mill., газохроматографически идентифицирован 31 компонент. Главным, из которых является пирогаллол, максимум содержания которого зарегистрирован для экстракта соцветий *Filipendula hexapetala* Gilib. Содержание метилсалицилата, как основного действующего вещества лекарственных препаратов лабазников, составило для экстрактивных веществ соцветий 2,60 и 1,15 (в пересчете на нормировочные проценты) соответственно для лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного.

В экстрактивных веществах листьев, представленных видов, найдено 22 компонента у *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. и 27 компонентов у *Filipendula hexapetala* Gilib. Следует так же отметить отсутствие у лабазника вязолистного таких соединений как: фурфурол, 2-фуранметанол, 2-гидроксициклопент-2-ен-1-он, бензенметанол и метил- $\alpha$ -D-рибопиранозид по сравнению с лабазником шестилепестным. Количественное содержание основных компонентов для двух экстрактов сходно.

ГХ-МС анализ экстрактивных веществ полученных из подземных органов представителей рода *Filipendula* Mill., показал наименьший компонентный состав из всех изученных образцов. В водноспиртовом экстракте лабазника вязолистного идентифицировано 12 веществ, а у лабазника шестилепестного 10. При этом степень различия в качественном составе для подземных органов выше по сравнению с надземной частью растений.

Использование ВЭЖХ позволяет эффективно разделить и идентифицировать нелетучие и термолабильные компоненты водноспиртовых экстрактов лекарственных растений, которые невозможно идентифицировать методом ГХ-МС. В связи с этим проанализирован состав экстрактов *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. и *Filipendula hexapetala* Gilib. с помощью ВЭЖХ. Предварительно перед анализом все экстракты подвергли двух часовому гидролизу с бн. соляной кислотой. На рисунке 2 приведена типичная ВЭЖХ кислотных гидролизатов экстрактов растений рода *Filipendula* Mill., на примере водноспиртового экстракта соцветий *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.

Установлено повышение содержания флавоноидов в гидролизатах экстрактов изученных видов, по сравнению с аналогичными, которые не подвергались кислотному гидролизу. Такое повышение можно объяснить тем, что указанные соединения, по-видимому, являются агликоновой частью гликозидов, освобожденной в результате гидролиза. ВЭЖХ были идентифицированы два флавоноида: акацетин и кверцетин (таблица 2). При этом в гидролизатах экстрактов из подземной части изученных видов не

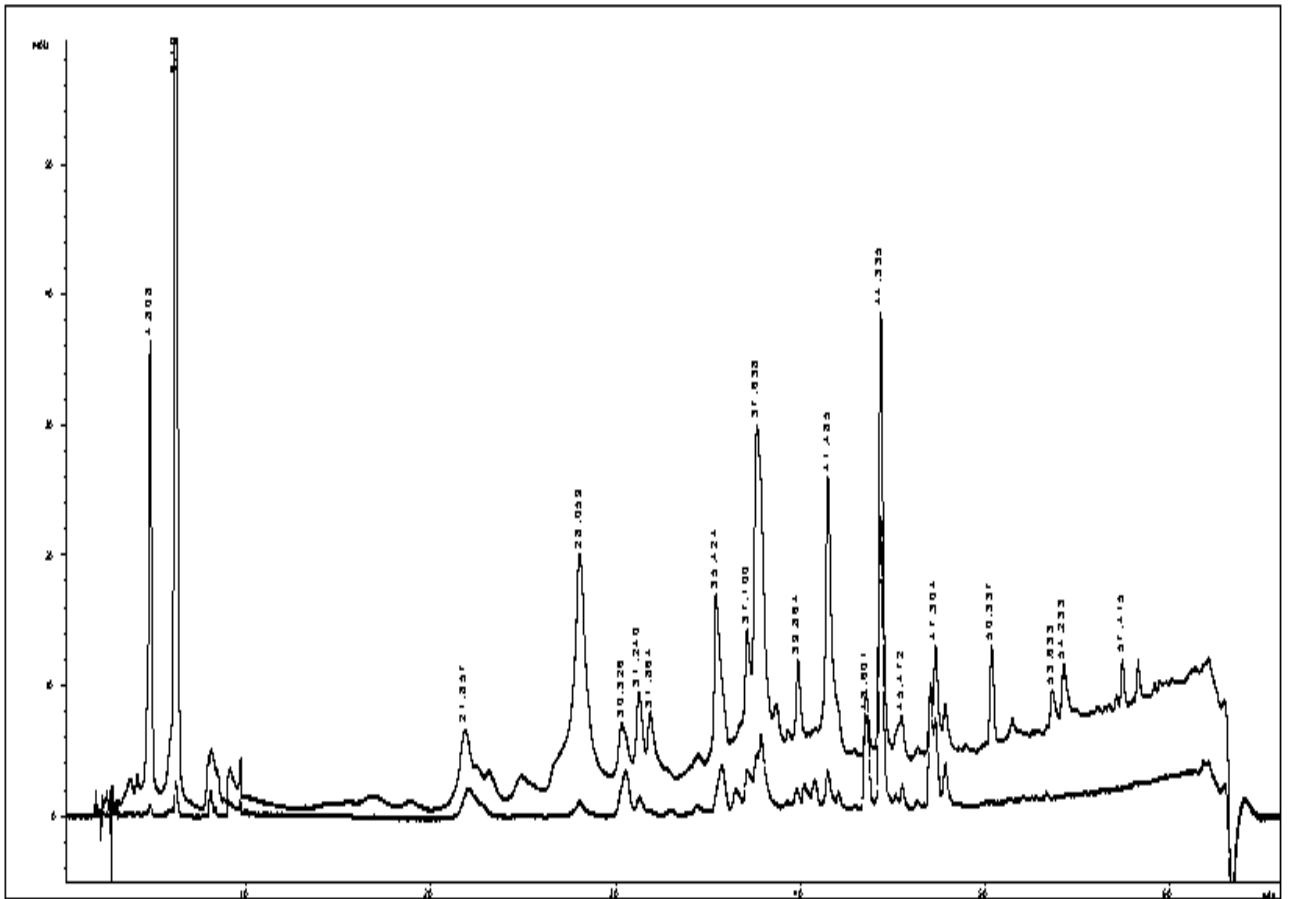


Рисунок 2. ВЭЖХ кислотного гидролизата водноспиртового экстракта соцветий *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.

Таблица 2. Компонентный состав кислотных гидролизатов водноспиртовых экстрактов корней, листьев и соцветий лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного по данным ВЭЖХ

№	Вещество	<i>Filipendula ulmaria</i> (L.)	<i>Filipendula hexapetala</i> Gilib.
		Maxim.	



		подземная часть	листья	соцветия	подземная часть	листья	соцветия
1.	Акацетин	—	—	—	—	1,70	1,08
2.	Кверцетин	—	4,96	11,44	—	3,63	12,37

Примечание – Количественные данные по содержанию компонентов приведены в мг/мл; “—” – отсутствие компонента в экстракте.

идентифицировано наличие акацетина и кверцетина. В листьях и соцветиях *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. не установлено наличие акацетина.

**Выводы.** В результате проведенной работы с помощью метода ГХ-МС идентифицировано 45 компонентов в водноспиртовых экстрактах соцветий, листьев и подземных органов (корни и корневища) *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. и *Filipendula hexapetala* Gilib. Получены данные по их относительному содержанию в пересчете на нормировочные проценты. Установлена корреляция между содержанием биологически активных соединений в экстрактах для двух видов лекарственных растений.

ВЭЖХ анализ показал наличие флавоноидов (кверцетин и акацетин) в гидролизатах изученных экстрактов, по сравнению с экстрактами неподвергнутых гидролизу, на основании чего можно предположить, что указанные соединения, по-видимому, являются агликоновой частью гликозидов, освобожденной в результате гидролиза. Получены данные по количественному содержанию флавоноидов в экстрактах.

На основании данных методов ГХ-МС и ВЭЖХ можно рекомендовать использовать в качестве лекарственного растительного сырья *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. и *Filipendula hexapetala* Gilib. соцветия и листья, так как именно данное растительное сырье отличается высоким содержанием биологически активных соединений.

С учетом характера проявляемой экстрактами изученных видов фармакологической активности следует предположить, что ответственны за это не только флавоноиды, но и салицилаты, высшие карбоновые кислоты, сложные эфиры и альдегиды.

Полученные результаты могут быть использованы для создания хроматографической базы данных с целью идентификации, стандартизации и установления подлинности воздушно-сухого растительного сырья лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного и фитопрепаратов на их основе.

## Литература.

1. Башилов, А.В. Биологическая и фармакологическая характеристика лабазника вязолистного (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.) и лабазника шестилепестного (*Filipendula hexapetala* Gilib.), обладающих выраженным противовоспалительным действием / А.В. Башилов, В.Н. Решетников // Материалы международной научно-практической конференции (Нарочанские чтения), Минск-Нарочь, 27-30 сентября 2006 г. / Центральный ботанический сад НАН Беларуси; редкол.: В.Н. Решетников [и др.]. – Минск, 2006. – С. 4 – 12.
2. Косман, В.М. Количественное экстракционно-спектрофотометрическое определение суммарного содержания гидроксикоричных кислот в присутствии флавоноидов в экстрактивных веществах некоторых лекарственных растений / В.М. Косман, И.Г. Зенкевич // Растительные ресурсы. – 2001. – Т. 37, вып. 4. – С. 123–129.
3. Отто, М. Современные методы аналитической химии / М. Отто. – М.: Техносфера, 2004. – С. 24–46.
4. Merken H.M. Liquid chromatographic method for the separation and quantification of prominent flavonoid aglycones / H.M. Merken, G.R. Beecher // Journal of chromatography. – 2000. – № 897. – P. 177–184.

**CHROMATOGRAPHIC SEPARATION AND IDENTIFICATION OF SOME COMPONENT HYDROALCOHOLIC EXTRACTS OF PLANTS OF SORT *FILIPENDULA* MILL.**

A.V. Bashilov, E.V. Spiridovich, V.P. Kurchenko<sup>1</sup>, T.M. Vlasova<sup>1</sup>, G.G. Senkevich<sup>1</sup>

*Central Botanical Garden, Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*  
*1 – Belarusian State University, Minsk, Belarus*

The GC-MS and HPLC analysis of extracts of roots, flowers and leaves of *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. and *Filipendula hexapetala* Gilib. is made. Correlation of the maintenance of biologically active connections at two sorts of *Filipendula* Mill. is established. On the basis of what it is the most expedient to make preparation of vegetative medicinal raw material as flowers and leaves.