

ИЗУЧЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ТРАВЫ И ШРОТА ПОЛЫНИ ГОРЬКОЙ

А.П. Северин, Л.Е. Сипливая, В.Я. Яцюк

ГБОУ ВПО Курский государственный медицинский университет (г. Курск)

The study of phenolic compounds of herb and schrot of wormwood

A.P. Severin, L.E. Siplivaya, V.Ya. Yatsuk

Kursk State medical university (Kursk, Russia)

РЕЗЮМЕ

Методом ВЭЖХ проведен анализ качественного содержания и количественного соотношения фенольных соединений травы и шрота полыни горькой. В спирто-водной фракции травы полыни горькой найдено 20 веществ, из них идентифицировано 15. В спирто-водном извлечении шрота полыни горькой найдено 13 веществ, из них идентифицировано 9 соединений.

По данным дифференциальной спектрофотометрии количественное содержание суммы флавоноидов в сырье в пересчете на рутин составило 0,44 % и 0,14 % для травы и шрота полыни горькой соответственно.

Ключевые слова: трава полыни горькой, шрот полыни горькой, ВЭЖХ, фенольные соединения, спектрофотометрия, флавоноиды.

RESUME

Analysis of quantity and quality portions of phenolic components of herb and schrot of wormwood was done using HPLC method. The water-spirit fraction of herb contains 20 substances, 15 of them were identified. The water-spirit extract of schrot contains 13 substances and 9 of them were identified.

According to differential spectrophotometry data quantitative content of flavonoids in the raw material in terms of rutin was 0,44 % and 0,14 % for the herb and schrot wormwood respectively.

Keywords: wormwood, wormwood schrot, HPLC, phenolic components, spectrophotometry, flavonoids.

ВВЕДЕНИЕ

Расширение ассортимента отечественных фармацевтических препаратов – одна из актуальных проблем современной медицины. На наш взгляд, помимо внедрения новых, не применяемых в официальной медицине растений, рациональным решением этой проблемы может являться ресурсосберегающее использование отходов промышленной обработки лекарственного растительного сырья.

В связи с этим, целью данной работы явилось сравнительное исследование компонентов полифенольной фракции надземной части полыни горькой и ее шрота, оставшегося после получения настойки полыни горькой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ соединений полифенольной фракции проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе фирмы «GILSTON»,

модель 305 (Франция), инжектор ручной, модель RHEODYNE 7125 USA, с последующей компьютерной обработкой результатов исследования с помощью программы «Multichrom for Windows». В качестве неподвижной фазы был использован сорбент Kromasil C 18, размер частиц 5 микрон, металлическая колонка 4,6×250 мм. Подвижная фаза – смесь метанол – вода – фосфорная кислота (конц.) в соотношении 40:60:0,5. Анализ проводили при комнатной температуре в течение 70 мин. Скорость подачи элюента 0,8 мл/мин. Детектирование веществ осуществляли с помощью УФ-детектора «GILSTON» UV/VIS, модель 151, при длине волны 254 нм.

Для исследования, траву и шрот измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм (ГОСТ 214-83). В колбы вместимостью 200,0 мл помещали навески травы и шрота полыни горькой (10,0 г), прибавляли по 60 мл 70 % спирта этилового,

присоединяли к обратным холодильникам и нагревали на кипящей водяной бане в течение 1 часа с момента закипания спирто-водной смеси в колбах. После охлаждения, смеси фильтровали через бумажные фильтры в мерные колбы объемом 100,0 мл и доводили объемы экстрактов 70 % спиртом этиловым до метки (исследуемые растворы).

Параллельно готовили серию 0,05 % растворов стандартных образцов (ГСО) в 70 % спирте этиловом: рутина, кверцетина, лютеолина, лютеолин-7-гликозида, гесперидина, апигенина, гиперозида, дигидрокверцетина, кемпферола, витексина, изовитексина, нарингенина, байкалина, изорамнетина, галловой, кофейной, хлорогеновой, цикориевой, коричной, феруловой, эллаговой, о-кумаровой кислот, умбеллиферона, эскулетина, кумарина, метоксикумарина, эпигаллокатехина галлата, эпикатехина. По 50 мкл исследуемых растворов и ГСО вводили в хроматограф и хроматографировали по выше приведенной методике [2, 4]. Количественное соотношение веществ полифенольной природы в изучаемых извлечениях установлено методом нормирования по площадям хроматографических пиков [3].

Количественное определение суммы флавоноидов в спирто-водном извлечении травы полыни горькой и ее шрота проводили спектрофотометрическим методом [1, 5]. Основой методики анализа нами выбрана реакция взаимодействия комплекса флавоноидов с хлоридом алюминия в среде 70 % спирта. Концентрация флавоноидных соединений определялась в пересчете на ГСО рутин.

Содержание суммы флавоноидов в траве и шроте полыни горькой в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D \times m_0 \times V_{k1} \times V_{k2} \times V_{n0} \times 100 \times 100}{D_0 \times m \times V_{k3} \times V_{k4} \times V_n \times (100 - W)}$$

где D – оптическая плотность исследуемого раствора; D₀ – оптическая плотность ГСО рутин; m – масса навески сырья в граммах; m₀ – масса навески ГСО рутин в граммах; W – потеря в

Таблица 1

Результаты исследования фенольных соединений методом ВЭЖХ в траве полыни горькой

№	Время удерживания, сек	Количественное соотношение, %	Наименование вещества
1	176,46	4,80	Таннин
2	189,24	12,26	Галловая кислота
3	217,08	1,96	Неидентифиц
4	228,30	3,60	Неидентифиц
5	244,20	7,63	Эпигаллокатехин галлат
6	307,80	17,20	Хлорогеновая кислота
7	399,78	6,24	Кофейная кислота
8	479,10	6,32	Феруловая кислота
9	536,52	1,82	Дигидрокумарин
10	572,94	3,08	Неохлорогеновая кислота
11	680,40	4,60	Эпикатехин
12	882,60	6,18	Гесперидин
13	961,20	4,12	Гиперозид
14	1084,20	2,59	Рутин
15	1217,40	1,95	Неидентифиц
16	1417,80	5,57	Коричная кислота
17	1840,20	4,73	О-метоксикумарин
18	2103,60	0,97	Неидентифиц
19	2430,60	2,04	Катехин
20	2707,20	2,36	Неидентифиц

Таблица 2

Результаты исследования фенольных соединений методом ВЭЖХ в шроте полыни горькой

№	Время удерживания, сек	Количественное соотношение, %	Наименование вещества
1	190,80	22,54	Галловая кислота
2	202,90	30,11	Неидентифиц
3	310,50	10,12	Хлорогеновая кислота
4	384,20	4,90	Кофейная кислота
5	424,50	3,42	Неидентифиц
6	475,90	6,51	Феруловая кислота
7	579,60	10,87	Неохлорогеновая кислота
8	887,10	3,45	Гесперидин
9	1076,00	2,42	Рутин
10	1245,00	1,70	Неидентифиц
11	1366,00	0,87	Неидентифиц
12	1403,00	2,64	Коричная кислота
13	1813,00	0,45	О-метоксикумарин

массе при высушивании в процентах; V_{k1} – объем экстрагента для извлечения флавоноидов из сырья; V_{k2} – объем колбы для разведения экстракта; V_{k3} – объем колбы для 1-го разведения ГСО рутин; V_{k4} – объем колбы для 2-го разведения ГСО рутин; V_n – объем пипетки (объем экстракта из травы и шрота полыни горькой взятый для разведения); V_{n0} – объем пипетки (объем раствора ГСО рутин взятый для разведения).

Таблица 3

Условия получения экстрактов травы и шрота полыни горькой

Полынь горькая	Кратность экстракции	Степень измельчения, мм	Вид экстрагента	Температура, °С	Гидромуль	Время экстракции, мин
Трава	1	1,0	70 % этанол	100	1:50	30
Шрот	1	1,0	70 % этанол	100	1:10	60

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На основании анализа полифенольных соединений травы и шрота полыни горькой методом ВЭЖХ установлено, что спирто-водная фракция изучаемых видов сырья содержит от 13 (шрот) до 20 (трава) веществ (флавоноидных соединений, кумаринов и фенолкарбоновых кислот) (табл. 1, 2).

Как видно из данных таблиц 1 и 2, полифенольные фракции изучаемых видов сырья отличаются по качественному составу. Состав полифенольной фракции травы полыни горькой разнообразней шрота полыни горькой. В траве полыни горькой установлено наличие, отсутствующих или находящихся в минимальных количествах в шроте танина, эпигаллокатехина галлата, эпикатехина, катехина, дигидрокумарина и гиперозида. В шроте и траве полыни горькой из фенолкарбоновых кислот преобладают галловая и хлорогеновая, а из флавоноидов – гесперидин и рутин.

Исходя из основного критерия – максимальное содержание суммы флавоноидов в сырье и шроте в пересчете на рутин, были подобраны оптимальные технологические параметры экстракции (вид экстрагента, его концентрация, гидромуль, степень измельчения сырья, время и температура экстракции) (табл. 3).

При изучении оптимальных условий фотометрической реакции установлено, что максимальная оптическая плотность достигается при использовании 2 мл 2 % раствора хлорида алюминия в 70 % этаноле. Устойчивое окрашивание растворов экстрактов с хлоридом алюминия наступает через 30 мин. и сохраняется в течение 60 мин., что достаточно для проведения анализа.

По данным спектрофотометрического анализа количественное содержание суммы флавоноидов в сырье в пересчете на рутин составило 0,44 % и 0,14 % для травы и шрота полыни горькой соответственно. На основании проведенных исследований, разработана спектрофотометрическая методика количественного определения флавоноидов в траве и шроте

полыни горькой. Предложенная методика воспроизводима, доступна и экспрессна.

Проанализировав в сравнении состав и количественное содержание флавоноидов спирто-водной фракции шрота полыни горькой и травы полыни горькой, можно сделать вывод, о достаточном извлечении флавоноидных соединений из травы полыни горькой при производстве из нее настойки. Следовательно, дальнейшее изучение шрота при разработке комплексного использования сырья, является актуальной задачей для других классов биологически активных соединений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Губанова Е.А. Количественное определение флавоноидов в траве шалфея мускатного // Фармация из века в век: сб. тр. СПХФА. СПб, 2008. Ч. III. С. 20–24.
2. Губанова Е.А., Попова О.И. Фенольные соединения некоторых видов рода *Salvia* (Lamiaceae) флоры России и их биологическая активность // Растительные ресурсы. 2009. Т. 45, вып. 3. С. 137–160.
3. Стыскин, Е.Л. Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография [Текст] / Е.Л. Стыскин, Л.Б. Ициксон, Е.В. Брауде. – Москва, 1986. – 204 с.
4. Томашевская О.Ю., Даргаева Т.Д., Сокольская Т.А. Изучение качественного состава и определение содержания фенольных соединений в корневищах иглицы шиповатой (*Ruscus aculeatus* L.) // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2009. №2. С. 42–44.
5. Шимко, О.М. Количественное определение флавоноидов в траве лапчатки белой / О.М. Шимко, О.М. Хишова // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации. Материалы 64-ой юбилейной научной сессии университета, посвященной 75-летию его образования. Витебск, 2009 – С. 110–112.

Адрес автора

Северин А.П.

Кафедра общей и биоорганической химии
ГБОУ ВПО Курский государственный медицинский университет (г. Курск)
imbol18@rambler.ru