

# ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИФЕНОЛЬНОГО СОСТАВА СЕРПУХИ КРАСИЛЬНОЙ (*Serratula tinctoria* L.)

В.Я. Яцюк, Л.Е. Сипливая, Г.В. Сипливый, А.В. Кукурека

ГБОУ ВПО Курский государственный медицинский университет Минздрава России (г. Курск)

## Research of the saw-wort (*Serratula tinctoria* L.) polyphenol composition

V.Ya. Yacuk, L.E. Siplivaya, G.V. Sipliviy, A.V. Kukureka

ГБОУ ВПО Курский государственный медицинский университет Минздрава России (Kursk, Russia)

### РЕЗЮМЕ

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и тонкослойной хроматографии (ТСХ) в спиртовом извлечении травы *Serratula tinctoria* L. установлено наличие 22 веществ полифенольной природы. С помощью методики дифференциальной спектрофотометрии определено количественное содержание суммы флавоноидов в траве серпухи красильной  $3,12 \pm 0,05$  %.

**Ключевые слова:** *Serratula tinctoria* L., фенольные соединения, ВЭЖХ, ТСХ, спектрофотометрия.

### RESUME

In the alcoholic extract of *Serratula tinctoria* L. herb presence of 22 substances of polyphenolic nature with help of high-performance liquid chromatography (HPLC) and thin layer chromatography (TLC) has been established. Quantitative content of total flavonoids in the *Serratula tinctoria* L. herb 3,12  $\pm$  0,05 % using a technique of differential spectrophotometry has been determined.

**Keywords:** *Serratula tinctoria* L., phenolic compounds, HPLC, TLC, spectrophotometry.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время уделяется большое внимание вопросу внедрения в медицинскую практику лекарственных веществ растительного происхождения. Это связано, с одной стороны, с широким спектром терапевтического действия биологических комплексов, входящих в состав лекарственных растений, с другой стороны, с небольшими побочными эффектами. Поэтому поиск новых источников сырья является актуальной задачей отечественной фармации.

Данная работа является продолжением ранее начатых исследований химического состава серпухи красильной, широко представленной во флоре Центрально-Черноземного региона [6, 8].

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объекта изучения использовали надземные органы *Serratula tinctoria* L., собранные в фазу вегетации: «конец цветения – начало плодоношения» на территории

Курской и Белгородской областей. Собранное сырье подвергали воздушной сушке в естественных условиях при температуре 25 °С, без доступа прямых солнечных лучей.

Для исследования полифенольных соединений методом экстракции 70 % спиртом этиловым при нагревании в течение 60 минут в процессе фракционирования природных соединений из шрота, оставшегося после изолирования суммы липофильных соединений получали спирто-водную фракцию. Химический состав спирто-водной фракции исследовали, используя качественные реакции на группы изучаемых биологически активных веществ, ТСХ в различных системах растворителей, спектрофотометрию, ВЭЖХ.

Для установления флавоноидного состава использовали метод восходящей тонкослойной хроматографии на пластинках «Sorbfil». В качестве подвижной фазы использовали системы растворителей: н-бутанол – кислота ледяная уксусная – вода (4:1:2), 15% кислота уксусная. Хроматографический анализ кумаринов в тонком слое проводили с исполь-

зованием в качестве систем растворителей: хлороформ – бензол (1:2), этилацетат – бензол (1:2), фенолкарбоновых кислот: хлороформ – этилацетат – муравьиная кислота (5:4:1), хлороформ – метанол – вода (61:32:7). Идентификацию пятен проводили в УФ-свете до и после обработки хроматограмм хромогенными реактивами [2, 7].

Для количественного определения флавоноидных соединений, имеющих собственное поглощение в УФ и видимой области спектра, содержащихся в исследуемых образцах, использовали спектрофотометрический метод анализа, как не требующий больших навесок сырья, отличающийся достаточно высокой точностью и широко применяющийся для анализа БАВ. Для определения содержания суммы флавоноидов в сырье серпухи красильной была изучена зависимость полноты экстракции от следующих технологических факторов: измельченность сырья, кратность экстракции, временной режим экстракции, вид экстрагента, гидромодуль [1, 4, 5].

Определение химического состава спиртоводной фракции проводили также с помощью ВЭЖХ на высокоэффективном жидкостном хроматографе фирмы «Gilston» (инжектор ручной, модель «Rheodyne» 7125 USA) с последующей компьютерной обработкой результатов исследования с помощью программы «Мультихром» для «Windows». В качестве неподвижной фазы была использована металлическая колонка размером 4,6 x 250 мм Kromasil C 18, размер частиц 5 микрон. В качестве подвижной фазы использовали систему растворителей метанол – вода – фосфорная кислота концентрированная, в соотношении 400:600:5. Анализ проводили при комнатной температуре. Скорость подачи элюента 0,8 мл/мин. Продолжительность анализа 70 мин. Детектирование проводилось с помощью УФ-детектора «Gilston» UV/VIS, при длине волны 254 нм [3].

Сырье в процессе пробоподготовки измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм. В колбы вместимостью 200,0 мл помещали по 7,0 г сырья, прибавляли по 60 мл 70 % спирта этилового, присоединяли к обратным холодильникам и нагревали на кипящей водяной бане в течение 60 минут с момента закипания спирто-водной смеси в колбах. После охлаждения полученные смеси фильтровали через бумажные фильтры в мерные колбы объемом 100,0 мл и доводили 70 % спиртом этиловым до метки (исследуемые растворы).

Параллельно готовили серию 0,05 % растворов стандартных образцов (ГСО) в 70 % спирте этиловом: рутина, танина, кверцетина, лютеолина, лютеолин-7-гликозида, гисперидина, апигенина, гиперозида, дигидрокверцетина, кемпферола, витексина, изовитексина, нарингенина, байкалина, изорамнетина, галловой, кофейной, хлогеновой, цикориевой, коричной, феруловой, эллаговой, о-кумаровой кислот, умбеллиферона, эскулетина, кумарина, 3-метоксикумарина, эпигаллокатехина галлата, эпикатехина. По 50 мкл исследуемого раствора и ГСО вводили в хроматограф и хроматографировали по вышеприведенной методике.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате хроматографического анализа (ТСХ) установлено, что трава серпухи красильной содержит не менее 4 веществ, производных 2-фенил-бензо-γ-пирона, включая рутин, 2 вещества производных 5,6-бензо-α-пирона, в том числе идентифицированы – кумарин и дигидрокумарин, обнаружено также не менее 3-х фенолкарбоновых кислот, одно вещество идентифицировано как хлорогеновая кислота.

Проведенные исследования по выбору оптимальных условий экстракции свидетельствуют, что максимальное извлечение суммы флавоноидов из травы серпухи красильной достигается при двукратной экстракции по 30 минут 70 % спиртом этиловым сырья размером частиц 1 мм, при гидромодуле 1:40. Количественное содержание суммы флавоноидов в сырье серпухи красильной находится в интервале от 3,07 до 3,17 %. Для доказательства воспроизводимости методики проведена метрологическая характеристика пятикратного определения содержания суммы флавоноидов в сырье серпухи красильной. Относительная ошибка единичного определения с доверительной вероятностью 95 % не превышает 5 %, что свидетельствует об удовлетворительной воспроизводимости методики.

Данные, полученные с использованием ВЭЖХ, свидетельствуют о содержании в траве серпухи красильной 22 фенольных соединений: производных 2-фенил-бензо-γ-пирона (флавоноиды), бензо-α-пирона (кумарины), а также фенолкарбоновых кислот, из которых идентифицировано 14 (табл. 1).

Количественное соотношение веществ по-

Таблица 1

## Идентифицированные полифенольные соединения спирто-водной фракции травы серпухи красильной

№ п/п	Время удерживания	Идентифицированные вещества	Количественное соотношение, %
1	186,8	танин	22,57
2	188,7	галловая кислота	8,23
3	299,0	цикориевая кислота	8,51
4	384,2	кофейная кислота	5,02
5	889,0	гесперидин	4,82
6	451,0	феруловая кислота	4,02
7	550,9	дигидрокумарин	3,02
8	620,1	кумарин	2,68
9	805,5	лютеолин-7-гликозид	7,66
10	977,5	гиперозид	11,25
11	1094,3	рутин	4,25
12	1200,1	дигидрокверцетин	5,03
13	1205,7	витексин	5,16
14	2917,5	кверцетин	3,06

лифенольной природы в изучаемых извлечениях установлено методом нормирования по площадям хроматографических пиков. На основании данных, представленных в табл. 1, из идентифицированных в траве серпухи красильной производных 2-фенил-бензо-γ-пирона преобладают гиперозид и лютеин-7-гликозид, из фенолкарбоновых кислот – хлорогеновая и цикориевая, в значительном количестве представлен танин.

В результате проведенных исследований установлено, что химический состав спирто-водной фракции *Serratula tinctoria* L. представлен широким спектром биологически активных полифенольных соединений, определяющих актуальность дальнейшего их изучения.

## ВЫВОДЫ

1. Серпуха красильная содержит широкий спектр биологически активных соединений, не менее 22 веществ полифенольной природы.
2. Полифенолы серпухи красильной представлены флавоноидами, кумаринами, фенолкарбоновыми кислотами.
3. Количественное содержание суммы производных 2-фенил-бензо-γ-пирона – 3,12 ± 0,05 %.

## 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 *Salvia* (Lamiaceae) флоры России и их

биологическая активность // Растительные ресурсы. – 2009. – Т. 45, вып. 3. – С.137–160.

3. Ботов А.Ю., Яцок В.Я., Сипливый Г.В., Сипливая Л.Е. Исследование фенольных соединений мелколепестника канадского (*Erigeron Canadensis* L.) // Традиционная медицина. – 2012. – №3(30). – С.48–53.

4. Годун Л.Ю., Киселева Т.Л., Чаузова А.В., Горошко О.А., Прохоренко О.А. Разработка методик количественного определения суммы флавоноидов в сырье *Artemisia vulgaris* L. – полыни обыкновенной, применяемой в традиционной медицине России и Китая // II Российский фитотерапевтический съезд. Сборник научных трудов. – Москва, 2010. – С.184–187.

5. Костенникова З.Ф., Попова Г.А., Дамбрауские Р. Количественное определение флавоноидов в настойке календулы методом УФ-спектрофотометрии // Фармация. – 1984. – №6. – С.33–35.

6. Полуянов А.В., Прудников Н.А. Сосудистые растения Курской области: учебное пособие. – Курск: КГУ, 2005. – С. 67.

7. 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.

8. Яцок В.Я., Сипливая Л.Е., Сипливый Г.В., Кукурека А.В. Перспективы использования серпухи венценовой (*Serratula tinctoria* L.) как сырья для получения растительных препаратов // Традиционная медицина. – 2014. – №3(38). – С.18–22.

## Адрес автора

Д.б.н., проф. Сипливая Л.Е., зав. кафедрой фармацевтической, токсикологической и аналитической химии.

farmchim@rambler.ru