

П.Б. Лубсандоржиева

КАЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФЕНОЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В АДАПТОГЕННОМ СРЕДСТВЕ

Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (Улан-Удэ)

Хроматографическим методом на тонком слое силикагеля в соответствующих подвижных фазах идентифицированы основные фенольные соединения компонентов адаптогенного средства Адаптофит, что позволяет подтвердить присутствие в его составе травы *Polygonum aviculare* L. (гиперозид), листьев черных *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch. (рутин, галловая кислота), соцветий *Calendula officinalis* L. (нарциссин), плодов *Punica granatum* L. (галловая кислота, галлотаннин).

Ключевые слова: Адаптофит, фенольные соединения

THE QUALITATIVE CHARACTERISTIC OF PHENOLIC SUBSTANCES IN ADAPTOGENIC REMEDY

P.B. Lubsandorzhieva

Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude

The basic phenolic compounds of components of the adaptogenic remedy Adaptophyte were identified by using thin layer chromatographic method with corresponding mobile phases that allow to confirm presence herb of *Polygonum aviculare* L. (hyperoside), leaves black of *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch. (rutin, gallic acid), inflorescences of *Calendula officinalis* L. (narcissin), fruits of *Punica granatum* L. (gallic acid, gallotannin) in its composition.

Key words: Adaptophyte, phenolic compounds

При разработке нормативно-технической документации на новое средство (или БАД) ставится задача предусмотреть оценку его качества по количественному содержанию действующих веществ, подтвердить присутствие того или иного растительного компонента в составе средства физико-химическими методами. Ранее был изучен компонентный состав эфирного масла адаптогенного средства Адаптофит, в состав которого входят эфиромасличные виды: корневища и корни *Inula helenium* L., *Rhaponticum carthamoides* (Willd) DC., *Althaea officinalis* L., *Acorus calamus* L., *Zingiber officinale* Roscoe, плоды *Elettaria cardamomum* Maton., *Myristica fragrans* Houtt., *Piper longum* L., *Juniperus communis* L., кора *Cinnamomum cassia*, и определены индикаторные вещества в составе ЭМ для подтверждения присутствия компонента в средстве.

Цель данной работы — определение качественного состава фенольных соединений хроматографическим методом в Адаптофите и его компонентах, не содержащих эфирные масла: в траве *Polygonum aviculare* L., листьях черных *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch., соцветиях *Calendula officinalis* L., плодах *Punica granatum* L., хитозане.

МЕТОДИКА

Фармакопейные виды сырья, хитозан приобретены в аптечной сети, пряности, плоды *P. granatum* — в торговой сети, листья *B. crassifolia* собраны в Прибайкальском районе Бурятии в осенний период 2009—2010 гг. Из исходной смеси последовательной экстракцией получены 3,35 % гексановой фракции, 19,9 % спиртовой (96% этанол), 30,35 % спиртовой (40 % этанол), 23,15 % водной фракции.

Соотношение неполярных, среднеполярных и гидрофильных экстрактивных веществ в Адаптофите примерно одинаково (1 : 1,3 : 1). Для анализов использованы водно-спиртовые извлечения из *C. officinalis*, *B. crassifolia*, *P. granatum*, *P. aviculare*.

Для хроматографии на тонком слое силикагеля использованы системы растворителей: этилацетат — муравьиная кислота, уксусная кислота — вода (100:11:11:26) (I), хлороформ — этилацетат-уксусная кислота (50:50:1) (II), бутанол — вода — этанол 95% — уксусная кислота (34 : 24 : 20 : 5) (III). На линию старта пластинки с силикагелем микропипеткой наносят около 0,05 мл извлечения, рядом наносят такие же объемы растворов достоверных образцов отдельных веществ, хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 12—15 см, пластинку вынимают, сушат на воздухе, просматривают в УФ свете, опрыскивают проявляющим реактивом: 3% раствор алюминия хлористого (для обнаружения флавоноидов), 1% ванилин в концентрированной кислоте серной (для галлотаннинов), 1% раствор нингидрина в 96% спирте этиловом (для аминокислот, хитозана).

Для определения свободных аминокислот (АМК) и идентификации хитозана в Адаптофите апробирована методика анализа аминокислот по реакции с нингидрином [3]. 1,0 г (точная навеска) Адаптофита экстрагировали 50 мл воды дистиллированной (4-кратная экстракция) при 90 °С в течение 30 мин. В водном извлечении определяли содержание свободных АМК по реакции с нингидрином. Высушенный шрот экстрагировали при комнатной температуре 25 мл 2% кислоты уксусной (для растворения хитозана). К 0,5 мл извлечения

(2% кислота уксусная) добавили 5,0 мл буфера фосфатного (рН 6,4), 0,5 мл 1% р-ра нингидрина, в течение 60 мин раствор нагревали на кипящей водяной бане.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Основные биологически активные вещества *C. officinalis* (кроме тритерпеновых соединений, эфирного масла) — флавоноиды представлены производными кверцетина, изорамнетина [4], доминирующим веществом является нарциссин [6]. Гиперозид является доминирующим флавоноидным веществом для *P. aviculare* [1], рутин — для *B. crassifolia* [5].

В табл. 1 приведены данные хроматографического обнаружения основных фенольных соединений Адаптофита и его компонентов. При хроматографировании извлечения Адаптофита в подвижной фазе I, кроме идентифицированных с достоверными образцами флавоноидов, обнаружены вещества с R_f 0,10 (желтое окрашивание), 0,75 (синее окрашивание); у извлечения *B. crassifolia*, кроме рутина с R_f 0,35, одно пятно с R_f 0,78 (коричневое окрашивание); у извлечения *P. aviculare*, кроме гиперозида с R_f 0,55, 2 вещества с R_f 0,75 (синее) и R_f 0,80 (коричневое окрашивание); у извлечения *C. officinalis*, кроме нарциссина, 4 вещества с R_f 0,10 (желтое окрашивание), 0,35 (желтое окрашивание), 0,60 (желтое окрашивание) и 0,78 (синее окрашивание).

Галловая кислота — как индикаторное вещество для подтверждения присутствия в Адаптофи-

те листьев *B. crassifolia* [5], плодов *P. granatum* [7] при совместном хроматографировании (ТСХ, II) извлечений из Адаптофита и его отдельных компонентов (*B. crassifolia*, *P. granatum*) проявляется на уровне стандартного образца с R_f - 0,15-0,20, при этом коричневая окраска после проявления 1% раствором ванилина в концентрированной кислоте серной меняется от пурпурной до светло-фиолетовой.

Для определения свободных аминокислот и идентификации хитозана в Адаптофите апробирована методика анализа аминокислот по реакции с нингидрином. В водном извлечении Адаптофита содержание свободных аминокислот составляет 0,14 — 0,31 % в пересчете на глутаминовую кислоту (табл. 2).

Хитозан является аминополисахаридом, нерастворим в воде, спирте, его структурное звено — глюкозамин в свободном виде не встречается. Для идентификации хитозана в составе многокомпонентного средства сталкиваются с проблемой присутствия в исследуемом средстве аминокислот [2], поэтому для их удаления Адаптофит экстрагировали горячей водой, как указано выше. Цветная реакция извлечения Адаптофита в 2% кислоте уксусной с нингидрином не стабильна, быстро исчезает, поэтому необходим подбор условий проведения реакции растворенного хитозана с нингидрином (табл. 2).

Нерастворенный хитозан имеет стабильную синюю окраску с раствором нингидрина, и этот признак можно использовать для обнаружения

Таблица 1
Хроматографическое обнаружение фенольных соединений в Адаптофите и его компонентах

Наименование вещества	Подвижная фаза	R_f	Диагностирующий реактив	Окрашивание пятна после проявления	Обнаружение вещества в извлечении
рутин	I	0,35	3% раствор алюминия хлористого	желтое (УФ)	Адаптофит, <i>B. crassifolia</i>
нарциссин	I	0,3	то же	желтое (УФ)	Адаптофит, <i>C. officinalis</i>
гиперозид	I	0,55	то же	желтое (УФ)	Адаптофит, <i>P. aviculare</i>
галловая кислота	II	0,15	1% ванилин в концентрированной кислоте серной	светло-фиолетовое (видимый свет)	Адаптофит, <i>P. granatum</i> , <i>B. crassifolia</i>
галлотаннин	II	0,10	то же	фиолетовое (видимый свет)	Адаптофит, <i>P. granatum</i> , <i>B. crassifolia</i>

Примечание: I — этилацетат — муравьиная кислота, уксусная кислота — вода (100 : 11 : 11 : 26), II — хлороформ — этилацетат — уксусная кислота (50 : 50 : 1).

Таблица 2
Условия проведения реакции растворов Адаптофита с нингидрином

Наименование	Добавление буфера	Окрашивание после проявления 1 % р-ром нингидрина	свободные аминокислоты, %
Адаптофит	—	стабильное синее	0,31
Адаптофит	фосфатный буфер (рН 6,4)	нестабильное синее	0,14
Адаптофит	0,25% р-р карбоната натрия	нестабильное синее	0,18
Хитозан в 2% кислоте уксусной	фосфатный буфер (рН 6,4)	отсутствует	—
Хитозан	фосфатный буфер (рН 6,4)	нестабильное синее	—
Хитозан (нерастворенный)	—	стабильное синее окрашивание	—
Глюкозамина сульфат	—	стабильное синее	—

хитозана в сухой смеси Адаптофита при микроскопическом исследовании. При хроматографировании на силикагеле (ТСХ, III) растворов хитозана и Адаптофита в 2% уксусной кислоте и воде, хитозан проявляется сине-голубым, быстро исчезающим цветом, в Адаптофите пятно хитозана не проявляется, аминокислоты проявляются сплошной линией синего цвета с R_f от 0,12 до 0,5.

Таким образом, хроматографическим методом на тонком слое силикагеля в соответствующих подвижных фазах идентифицированы основные фенольные соединения компонентов адаптогенного средства Адаптофит: гиперозид (трава *Polygonum aviculare* L.), рутин, галловая кислота (листья черные *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch.), нарциссин (соцветия *Calendula officinalis* L.), галловая кислота, галлотаннин (плоды *Punica granatum* L.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Высочина Г.И. Содержание суммы и некоторых основных флавоноидов в надземной части *Polygonum aviculare* L. // Растит. ресурсы. — 1998. — Т. 34, Вып. 4. — С. 47–55.

2. Ежова Е.А. Обоснование и разработка технологии пищевого хитозана и препаратов на его основе: автореф. дис. ... к.т.н. — М., 2005. — 24 с.

3. Использование нингидриновой реакции для количественного определения α -аминокислот в различных объектах: метод. рек. — Волгоград, 2007. — 106 с.

4. Комисаренко Н.Ф., Чернобай В.Т., Деркач А.И. Флавоноиды соцветий *Calendula officinalis* // Химия природных соединений. — 1988. — № 6. — С. 795–800.

5. Лубсандоржиева П.Б. Бадан толстолистный. Серия. Лекарственные растения тибетской медицины. — Улан-Удэ: изд-во БНЦ СО РАН, 2003. — 90 с.

6. Шарова О.В., Куркин В.А. Флавоноиды цветков календулы лекарственной // Химия растительного сырья. — 2007. — № 1. — С. 65–68.

7. Lansky E.P., Newman R.A. Punica granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer // J. of Ethnopharmacology. — 2007. — Vol. 109. — P. 177–206.

Сведения об авторе

Лубсандоржиева Пунцык-Нима Базыровна – старший научный сотрудник лаборатории медико-биологических исследований ИОЭБ СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; тел.: 8 (3012) 433034; e-mail: bpunsic@mail.ru)