

УДК 615.322

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЭКСТРАКТАХ ИЗ ЦВЕТКОВ И ЛИСТЬЕВ ЗОЛОТАРНИКА КАНАДСКОГО И ЗОЛОТАРНИКА КАРЛИКОВОГО (*SOLIDAGO CANADENSIS* L. И *SOLIDAGO NANA* NITT.)

И.Н. Аверцева¹, Ф.Ш. Сулейманова¹, О.В. Нестерова¹, В.Ю. Решетняк¹,
В.Н. Матвеевко^{2*}, П.А. Жуков¹

(¹ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России; ² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова; *e-mail: 13121946VNM@gmail.com)

Приведены результаты качественного и количественного определения полифенольных соединений, в частности флавоновых гликозидов и флавоновых агликонов, в спирто-водных извлечениях из травы, цветков и листьев золотарника канадского и спирто-водных извлечениях из цветков и листьев золотарника карликового методами тонкослойной хроматографии (ТСХ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Ключевые слова: флавоноиды, полифенольные соединения, количественное определение, ТСХ, ВЭЖХ, золотарник канадский, *Solidago canadensis* L., золотарник карликовый, *Solidago nana* Nitt.

Золотарник канадский (*Solidago canadensis* L.) – лекарственное растение семейства Астровых (*Asteraceae*), широко распространенное в Европе, Южной Америке и Азии. Лекарственные препараты, содержащие сырье золотарника или его спирто-водные экстракты, оказывают противовоспалительное, анальгетическое, цитостатическое действие и используются для лечения и профилактики воспалительных заболеваний [1].

По литературным данным, основные биологически активные вещества травы и листьев золотарника канадского – полифенольные соединения (флавоноиды, изофлавоноиды и фенолкарбоновые кислоты), обеспечивающие антиоксидантное, противовоспалительное и антимикробное действие [2]. Для стандартизации лекарственного растительного сырья используется комплекс современных высокочувствительных физико-химических методов анализа, прежде всего методы ВЭЖХ, ТСХ и капиллярного электрофореза, позволяющие провести разделение и идентификацию, а также определить количественное содержание полифенольных соединений в лекарственном растительном сырье [3–5].

Трава золотарника канадского содержит кемпферол, кверцетин, изорамнетин, астрагалин, рутин, изорамнетин-3-О-рутинозид, кемпферол-3-О-глюкорамнозид, кверцетин-3-О-глюкопиранозид и др. [6].

Методом ВЭЖХ в спиртовых и водных экстрактах травы золотарника канадского идентифицированы полифенольные соединения: хлорогеновая кислота, рутин, кверцетин и изокверцетин, кверцетрин, гиперозид и афзелин [7, 8]. Литературные данные по определению полифенольных соединений в сырье и экстрактах золотарника карликового отсутствуют.

Объекты и методы исследования

Сравнительный анализ флавоноидов (в том числе гликозидов и агликонов) проводили в целях обоснования оптимального выбора исходного сырья для приготовления жидких экстрактов с последующим их использованием в лекарственной форме (стоматологические пленки).

Объектами исследования служили образцы травы золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.), цветки и листья золотарника канадского, а также цветки и листья золотарника карликового (*Solidago nana* Nitt.).

В качестве предварительного был проведен хроматографический анализ травы золотарника канадского методом тонкослойной хроматографии (ТСХ).

Для исследования полифенольных соединений травы золотарника канадского методом ТСХ были выбраны пластины с закрепленным слоем силикагеля «Kromafil» («Merck») размером 20×10 см, с размером частиц 5–17 мкм.

Разделение веществ фенольной природы чаще всего осуществляют кислыми смесями растворителей. В данной работе использовали хроматографическую систему, состоящую из этилацетата, уксусной кислоты и воды в соотношении 7,5:1,5:1,5. Смеси растворителей помещали в стеклянные камеры для хроматографирования и насыщали их в течение 24 ч.

Для проведения исследования траву золотарника канадского (около 1 г) кипятили в 50 мл раствора 70%-го этанола на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин, затем охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через бумажный фильтр, количественно переносили в мерную колбу объемом 50 мл и доводили раствор до метки 70%-м этанолом (исследуемый раствор).

Параллельно готовили 0,05%-е растворы гиперицина, хлорогеновой кислоты, рутина, кверцетина, кофейной кислоты и лютеолина в 70%-м этаноле (растворы сравнения).

На пластины наносили по 10 мкл исследуемых растворов и по 5 мкл растворов сравнения, выдерживая их до полного высыхания нанесенных веществ. Пластины с нанесенными пробами помещали в камеры с системами растворителей и хроматографировали восходящим методом.

Пластины высушивали в вытяжном шкафу до полного испарения растворителей. Хроматограммы осматривали в видимом и ультрафиолетовом свете при длине волны 254 нм без дополнительной обработки реактивами.

Анализ содержания флавоноидов в цветках и листьях исследуемых видов растительного сырья проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Пробоподготовка

Образцы сырья массой по 0,5 г измельчали и помещали в круглодонную колбу с обратным холодильником, добавляли 50 мл 50%-го этанола и нагревали на водяной бане в течение 30 мин. Раствор количественно переносили в мерную колбу объемом 50 мл и доводили до метки 50%-м этанолом. Затем колбу помещали на 5 мин в ультразвуковую баню. Полученные растворы (объем каждого составлял 1 мл) центрифугировали при 14 000 об/мин в течение 10 мин. Надосадочную жидкость переносили в виалу для хроматографического анализа и проводили хроматографирование аликвоты (20 мкл) полученного раствора.

Для определения агликонов в цветках и листьях золотарника канадского и золотарника карликового образцы массой 0,5 г измельчали и помещали в круглодонную колбу с обратным холодильником, добавляли 50 мл смеси метанол : вода : соляная кислота (60:20:8) и нагревали на водяной бане с обратным холодильником в течение 1,5 ч. Раствор количественно переносили в мерную колбу объемом 50 мл и доводили до метки смесью метанол : вода : соляная кислота (60:20:8). Последующие процедуры были аналогичны описанным выше.

Т а б л и ц а 1

Результаты исследования полифенольных соединений спирто-водного извлечения золотарника канадского методом ТСХ в системе этилацетат : уксусная кислота : вода (7,5:1,5:1,5)

| Исследуемый раствор | R_f^* | Идентифицировано |
|--|---------|----------------------|
| Спирто-водное извлечение из травы золотарника канадского | 0,48 | гиперозид |
| | 0,25 | хлорогеновая кислота |
| | 0,28 | рутин |
| | 0,90 | кверцетин |
| Трава золотарника канадского | 0,48 | гиперозид |
| | 0,25 | хлорогеновая кислота |
| | 0,28 | рутин |
| | 0,90 | кверцетин |

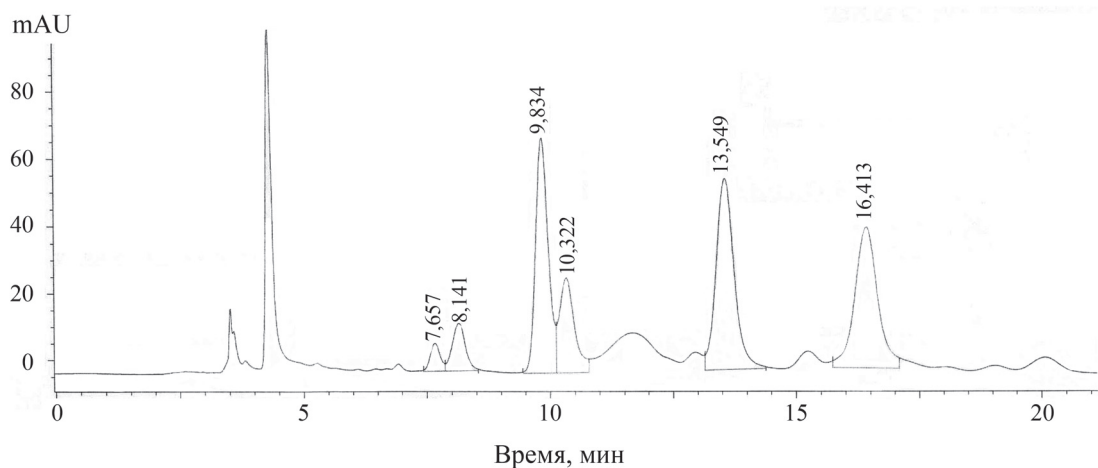


Рис. 1. Хроматограмма гликозидов цветков золотарника канадского

Т а б л и ц а 2

Определение флавоновых гликозидов методом ВЭЖХ

| Флавоноид | Содержание в сырье, мг/г | | | |
|---------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| | цветки золотарника канадского | цветки золотарника карликового | листья золотарника канадского | листья золотарника карликового |
| Рутин | 6,87±0,30 | 8,34±0,50 | 1,93±0,10 | 7,79±0,40 |
| Гиперозид | 2,32±0,10 | 0,11±0,01 | 8,39±0,60 | 0,23±0,006 |
| Изокверцитрин | 3,53±0,20 | 0,96±0,09 | 3,32±0,20 | 0,42±0,008 |
| Астрагалин | 0,72±0,06 | 1,25±0,09 | не обнаружено | 0,56±0,01 |
| Кверцитрин | 7,73±0,40 | 2,04±0,10 | 8,85±0,50 | 1,86±0,09 |

Т а б л и ц а 3

Определение флавоновых агликонов методом ВЭЖХ

| Флавоноид | Содержание в сырье, мг/г | | | |
|-------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| | цветки золотарника канадского | цветки золотарника карликового | листья золотарника канадского | листья золотарника карликового |
| Кверцетин | 39,56±1,10 | 9,04±0,50 | 27,53±0,80 | 9,15±0,50 |
| Кемпферол | 1,71±0,08 | 4,83±0,30 | 2,65±0,10 | 2,60±0,10 |
| Изорафнетин | 0,61±0,08 | 1,83±0,09 | 1,14±0,08 | 2,62±0,10 |

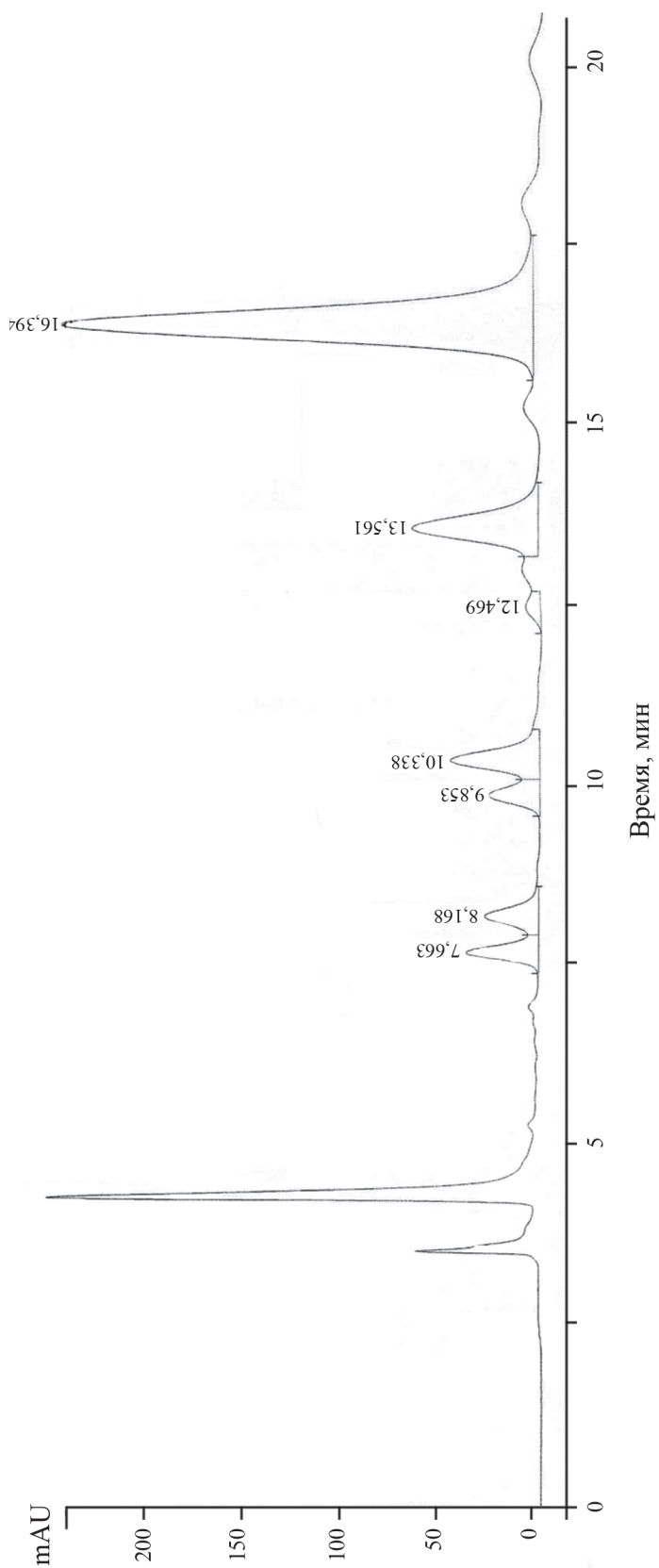


Рис. 2. Хромоаграма гликозидов листьев золегарника канадского

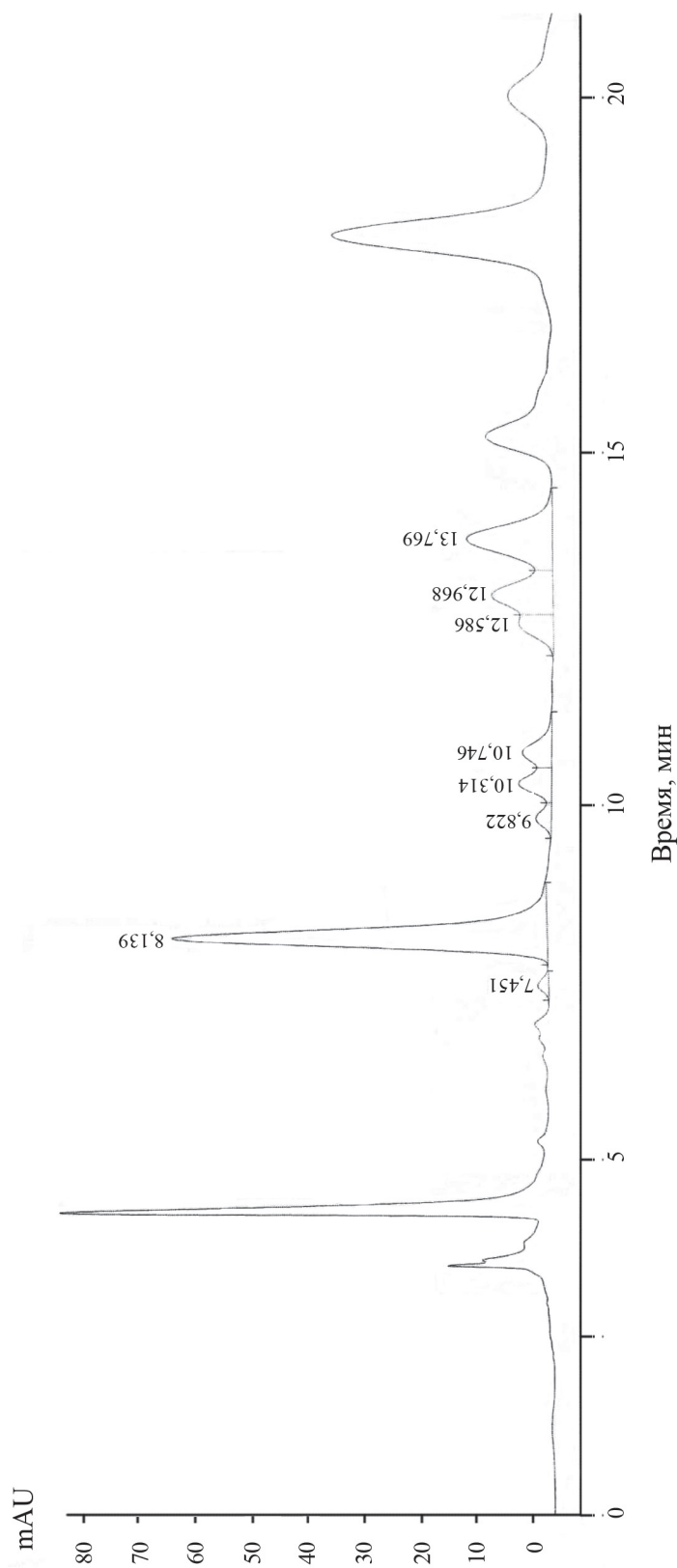


Рис. 3. Хромотограмма гликозидов цветков золотарника карликового

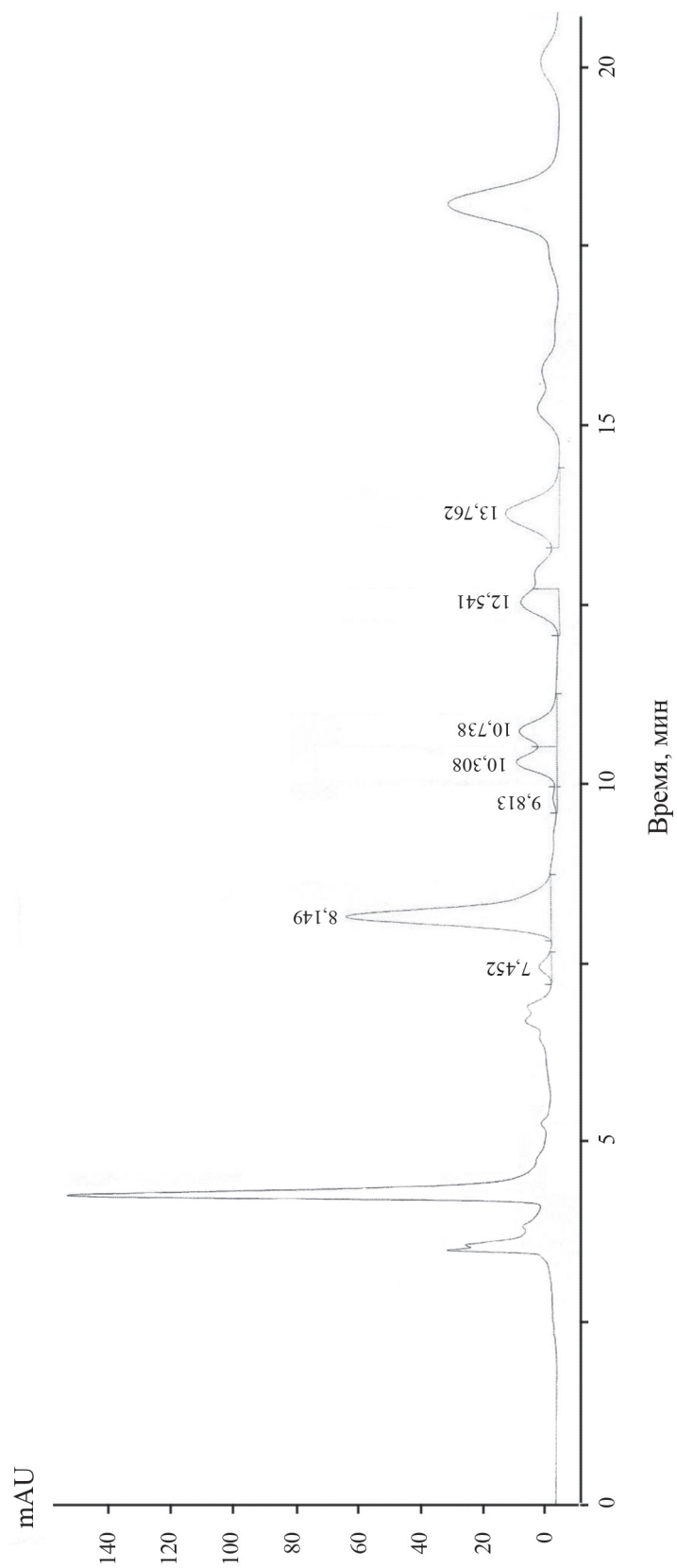


Рис. 4. Хроматограмма гликозидов листьев золотарника карликового

Условия хроматографического анализа

Хроматографическая колонка 250×4,6 Phenomenex Luna 5 мкм C18(2); сорбент – октадецилсиликагель (5 мкм); скорость подачи подвижной фазы 1,0 см³/мин; УФ-детектирование, $\lambda = 365$ нм. Объем вводимой пробы 20 мм³. Элюент – 68% трихлоруксусной кислоты (рН 2,5) и 32% ацетонитрила.

Обсуждение результатов

Анализ полученных методом ТСХ хроматограмм экстрактов травы золотарника канадского и растворов сравнения – растворов стандартных образцов (PCO) гиперозида, хлорогеновой кислоты, рутина, кверцетина, кофейной кислоты и лютеолина показал, что в спирто-водном извлечении травы золотарника канадского присутствуют полифенольные соединения, по значению R_f соответствующие гиперозиду ($R_f = 0,48$), хлорогеновой кислоте ($R_f = 0,25$), рутину ($R_f = 0,28$) и кверцетину ($R_f = 0,90$) (табл. 1). Зоны хроматограмм со значением R_f , равными приблизительно 0,01; 0,59; 0,66 и 0,70 не идентифицировали. Не обнаружены зоны хроматограмм, соответствующие PCO кофейной кислоты и лютеолина.

Поскольку изучалось распределение полифенольных соединений в разных частях травы (цветки и листья) и в разных видах (золотарник канадский и золотарник карликовый), нами была проведена количественная оценка содержания флавоноидов (гликозидов и их агликонов) в перечисленных объектах.

Результаты ВЭЖХ (рис. 1–4) подтверждают наличие рутина, гиперозида, кверцетина, ранее определенных методом ТСХ. Кроме того, обнаружены дополнительно астрагалин, кверцитрин и изокверцитрин (табл. 2), кемпферол и изорамнетин (табл. 3).

Основной флавоноид как в цветках, так и в листьях золотарника карликового – рутин. Основной

флавоноид листьев золотарника канадского – гиперозид. Содержание гиперозида в листьях золотарника канадского значительно превышает содержание данного флавоноида в цветках и листьях золотарника карликового. Такая же картина наблюдается и для кверцитрина, что подтверждается анализом агликонов соответствующих гликозидов, например рутина и гиперозида, для цветков золотарника канадского и листьев золотарника канадского, имеющих трех- или даже пятикратное превышение содержания соответствующего агликона по сравнению с цветками и листьями золотарника карликового. После гидролиза содержание кверцетина в цветках и листьях золотарника карликового практически не увеличивается. Это можно объяснить его высоким исходным содержанием в виде гликозида (рутин).

Высокое содержание кверцетина и кемпферола можно объяснить их присутствием в виде агликонов в цветках и листьях золотарника канадского до гидролиза. Также отмечено повышенное содержание кверцитрина в цветках и листьях золотарника канадского по сравнению с содержанием этого гликозида в цветках и листьях золотарника карликового и по сравнению с другими гликозидами.

Таким образом, сравнительное изучение содержания гликозидов и агликонов показало повышенное содержание антиоксидантных компонентов в цветках и листьях золотарника канадского по сравнению с золотарником карликовым. На основании полученных результатов можно рекомендовать в качестве исходного сырья для приготовления стоматологических пленок траву золотарника канадского.

Исследование выполнено в рамках бюджетного финансирования ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России и МГУ имени М.В. Ломоносова, химический факультет.

Конфликта интересов нет.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Федотова В.В., Челомбитько В.А. // Научные ведомости. 2012. № 16 (135). Вып. 19. С. 136.
2. Сулейманова Ф.Ш., Нестерова О.В., Матюшин А.А. // Здоровье и образование в XXI веке. 2016. № 4. Т. 19. С. 142.
3. Саушкина А.С. и др. // Сорбционные и хроматографические процессы. 2001. Т. 1. вып. 5. С. 902.
4. Мальцева А.А. и др. // Фармация. 2013. № 1. С. 13.
5. Deng Y et al. // Industrial Crops and Products. 2015. Vol. 74. P. 803.
6. Кузьменко А.Н. и др. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2019. Т. 60. № 1. С. 49.
7. Apati P., Szentmihalyi K., Kristo Sz.T., Papp I., Vinkler P., Szoke E., Kery A. // J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2003. Vol. 32. P. 1045.
8. Apati P., Szentmihalyi K., Balazs A., Baumann D., Hamburger M., Kristo T.Sz., Szöke E., Kery A. // Chromatographia Supp. 2002. Vol. 56. P. 65.

Поступила в редакцию 10.01.2019
Получена после доработки 12.02.2019
Принята к публикации 14.02.2019

**STUDY OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS IN EXTRACTS
FROM FLOWERS AND LEAVES OF CANADIAN GOLDENROD
AND GOLDENROD DWARF (*SOLIDAGO CANADENSIS* L.
AND *SOLIDAGO NANA* NITT.)**

**I.N. Avertseva¹, F.Sh. Suleymanova¹, O.V. Nesterova¹, V.Y. Reshetnyak¹,
V.N. Matveenko^{2*}, P.A. Zhukov¹**

(¹*I.M. Sechenov First Moscow State Medicine University*; ²*M.V. Lomonosov Moscow State University*; **e-mail: 13121946VNM@gmail.com*)

The study presents the results of qualitative and quantitative determination of polyphenolic compounds, in particular flavone glycosides and flavone aglycons, in alcohol-water extracts from herb, flowers and leaves of Canadian goldenrod and alcohol-water extracts from flowers and leaves of dwarf goldenrod using thin-layer chromatography (TLC) and high performance liquid chromatography (HPLC).

Key words: flavonoids, polyphenolic compounds, quantitative determination, TLC, HPLC, Canadian goldenrod, *Solidago canadensis* L., dwarf goldenrod, *Solidago nana* Nitt.

Сведения об авторах: *Аверцева Ирина Николаевна* – доцент кафедры химии Института фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, канд. хим. наук (avertseva.irm@yandex.ru); *Сулейманова Фидан Ширин кызы* – ассистент кафедры химии Института фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (suleymanovafidan5@gmail.com); *Нестерова Ольга Владимировна* – зав. кафедрой кафедры химии Института фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, докт. фарм. наук (olganesterova9297@mail.com); *Решетняк Владимир Юрьевич* – профессор кафедры химии Института фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, докт. фарм. наук (vasvaska@bk.ru); *Матвеенко Владимир Николаевич* – профессор кафедры коллоидной химии МГУ им. М.В. Ломоносова, докт. хим. наук (13121946VNM@gmail.com); *Жуков Павел Андреевич* – студент Института фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. Сеченова Минздрава России (radioactivus@yandex.ru).