

УДК 615.322.074:582.929.4

ИССЛЕДОВАНИЕ ТРИТЕРПЕНОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ ИССОПА ЛЕКАРСТВЕННОГО, КУЛЬТИВИРУЕМОГО В УСЛОВИЯХ СТАВРОПОЛЬСКОГО КРАЯ

Никитина А.С., Попова О.И.

ГБОУ ВПО «Пятигорская ГФА Минздравсоцразвития России»,
Пятигорск, e-mail: lina_nikitina@mail.ru

В статье изложены результаты изучения тритерпеновых соединений травы иссопа лекарственного, культивируемого в условиях Ставропольского края. Хроматографические исследования спиртовых и хлороформных извлечений из травы иссопа лекарственного показали наличие двух соединений тритерпеновой природы – урсоловой и олеаноловой кислот. Наилучшее разделение тритерпеноидов происходило в системе петролейный эфир – хлороформ – кислота уксусная (10:4:0,4). Определение содержания тритерпеновых соединений проводили спектрофотометрическим методом, основанным на реакции с кислотой серной концентрированной, с последующим измерением оптической плотности. Спектры поглощения продуктов взаимодействия концентрированной кислоты серной и тритерпеноидов идентифицировали по характерному максимуму при 310 нм. Содержание тритерпеновых кислот в траве иссопа лекарственного составляет $0,98 \pm 0,002\%$.

Ключевые слова: иссоп лекарственный, тритерпеновые соединения, урсоловая кислота, олеаноловая кислота, хроматография, спектрофотометрия

INVESTIGATION OF TRITERPENE COMPOUNDS OF HYSSOPUS OFFICINALIS L. CULTIVATED IN STAVROPOL REGION

Nikitina A.S., Popova O.I.

Pyatigorsk state pharmaceutical academy, Pyatigorsk, e-mail: lina_nikitina@mail.ru

The article presents the results of a study of triterpene compounds of *Hyssopus officinalis* L., cultivated in conditions of the Stavropol Territory. Chromatographic studies of alcohol and chloroform extracts of herbs *Hyssopus officinalis* L., showed the presence of two compounds triterpene structure- ursolic and oleanolic acids. The best separation of triterpenoids occurred in the system of petroleum ether – chloroform – acetic acid (10:4:0,4). Determination of triterpene compounds was carried out spectrophotometrically, based on the reaction with sulfuric acid concentrated, followed by measurement of optical density. The absorption spectra of reaction products of concentrated sulfuric acid and triterpenoids identified by a characteristic peak at 310 nm. The content of triterpene acids in *Hyssopus officinalis* L., was $0,98 \pm 0,002\%$.

Keywords: *Hyssopus officinalis* L., triterpene compounds, ursolic acid, oleanolic acid, chromatography, spectrophotometry

Лекарственные препараты на основе растительного сырья в настоящее время успешно применяются при лечении большинства заболеваний, так как они обладают рядом преимуществ перед синтетическими лекарственными средствами – широкий выбор терапевтических активных природных соединений в лекарственных растениях, возможность их комбинированного использования, меньшая частота побочных эффектов и противопоказаний. Особый интерес представляют эфирно-масличные растения семейства яснотковые. Они содержат комплекс биологически активных веществ – эфирные масла, иридоиды, тритерпеноиды, полисахариды, фенольные соединения и другие. Многие виды семейства яснотковые накапливают значительное количество тритерпеноидов, которые близки структурно и генетически к стероидам. Особый интерес представляют пентациклические тритерпеновые кислоты – урсоловая и олеаноловая. В сырье некоторых видов иссопа обнаружены урсоловая и олеаноловая кислоты [2]. Урсоловая и олеаноловая кислоты

проявляют гепатопротекторную и противовирусную активность (вирус ВИЧ, Эпштейн-Барра, гриппа А и Б), ингибируют рост опухолей. Урсоловая кислота обладает противовоспалительным свойством. По данным испанских ученых она действует не по стероидному механизму и, таким образом, не влияет на водно-солевой обмен подобно глюкокортикоидам и производным глициретовой кислоты [6]. Большинство эфирно-масличных растений семейства яснотковые в настоящее время применяются в качестве отхаркивающих, противовоспалительных, ранозаживляющих и седативных средств. Несмотря на это, многие виды растений семейства яснотковые недостаточно изучены в химическом отношении и имеют ограниченные сведения по фармакологической активности [2, 5].

Целью настоящих исследований явилось изучение качественного состава тритерпеновых соединений иссопа лекарственного и определение количественного содержания тритерпеновых кислот в сырье исследуемого вида.

Объектом исследований являлся иссоп лекарственный (*Hyssopus officinalis* L.) – культивируемое многолетнее растение, полукустарник с деревянистым стержневым корнем одревесневшими у основания стеблями, высотой 30–80 см. Ввиду того, что растение на территории Северо-Кавказского региона не произрастает, на экспериментальных участках лаборатории лекарственных растений Ставропольского НИИ сельского хозяйства (СНИИСХ) на протяжении пяти лет проводятся исследования по культивированию нескольких ботанических форм иссопа лекарственного (розовая, синяя и белая окраска венчика). Сырье заготавливалось в течение 2004–2006 гг. Для изучения динамики накопления основных групп биологически активных веществ траву иссопа лекарственного заготавливали в различные фазы вегетации растения – бутонизации, массового цветения и плодоношения.

Хлороформные и спиртовые извлечения из сырья иссопа лекарственного показали

положительную качественную реакцию Либермана-Бурхарда на тритерпеновую систему ядер. Положительной была также реакция Лафона (табл. 1).

Исследование хлороформных и спиртовых извлечений проводили методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Silufol» и «Sorbfil» в различных системах растворителей: гексан – этилацетат (2:1), хлороформ – этилацетат (9:1), петролейный эфир – хлороформ – кислота уксусная (10:4:0,4). Хроматографирование хлороформных и спиртовых извлечений проводили со стандартами – урсоловой и олеаноловой кислотами.

После хроматографирования влажные пластинки опрыскивали 20%-м раствором кислоты серной, затем нагревали в сушильном шкафу в течение 8–10 минут при температуре 110 °С. Зоны адсорбции веществ тритерпеновой природы и свидетелей окрашивались в розово-вишневый цвет, переходящий в голубой [1, 4].

Таблица 1

Результаты хроматографического исследования хлороформных и спиртовых извлечений травы иссопа лекарственного

Исследуемое извлечение	Значения R_f зон адсорбции в различных системах растворителей					
	гексан–этилацетат (2:1)		хлороформ–этилацетат (9:1)		петролейный эфир–хлороформ–кислота уксусная (10:4:0,4)	
	Sorbfil	Silufol	Sorbfil	Silufol	Sorbfil	Silufol
Хлороформное	0,50	0,41	0,27	0,30	0,20 0,26	0,16
спирт этиловый 70 %	----		0,27	----	0,20	0,14
Олеаноловая кислота	0,43	0,44	0,32	0,31	0,27	0,16
Урсоловая кислота	0,45	0,40	0,27	0,27	0,23	0,13

Эксперименты показали, что в хлороформных и 70%-х спиртовых извлечениях, полученных из травы иссопа лекарственного, присутствуют олеаноловая и урсоловая кислоты. Наилучшее разделение тритерпеноидов происходило в системе петролейный эфир – хлороформ – кислота уксусная (10:4:0,4).

Определение содержания тритерпеновых соединений проводили спектрофотометрическим методом, основанным на реакции с кислотой серной концентрированной, с последующим измерением оптической плотности [3, 4]. Сырье предварительно измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1,0 г измельченного сырья (точная навеска) помещали в колбу вместимостью 250 мл, прибавляли 100 мл спирта этилового 40%, присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 60 минут. После охлаждения до комнатной температуры спиртовое извлечение аккуратно сливали.

Сырье в колбе заливали 50 мл хлороформа, нагревали на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 60 минут, затем охлаждали. Хлороформное извлечение фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл, а извлечение хлороформом повторяли, собирая фильтрат в ту же мерную колбу. Доводили хлороформом до метки, перемешивали.

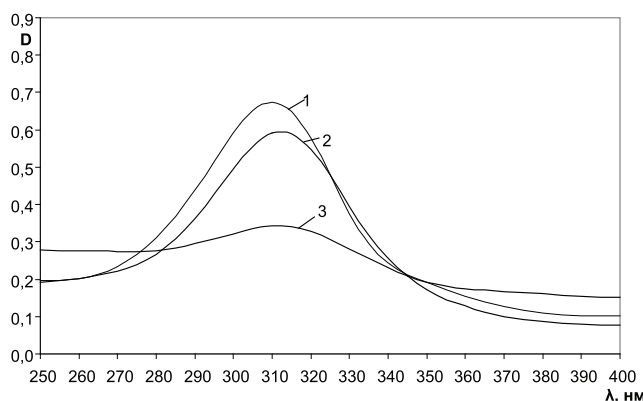
10 мл хлороформного извлечения упаривали до сухого остатка, растворяли в 10 мл кислоты серной концентрированной (точно измеренный объем), периодически взбалтывая. Полученный раствор термостатировали при 70 °С в течение 60 минут. После охлаждения 1 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводили до метки кислотой серной концентрированной.

Стандартный раствор урсоловой кислоты готовили по следующей методике. Около 0,004 г (точная навеска) урсоловой кислоты растворяли в 10 мл (точный объем) кислоты

серной концентрированной, периодически взбалтывая. Полученный раствор термостатировали при 70 °С в течение 60 минут, 1 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводили до метки тем же растворителем. Максимум оптической плотности полученного раствора измеряли на спектрофотометре СФ-56 в кюветках с толщиной поглощающего слоя 10 мм при длине волны 310 нм. Расчёт содержания суммы тритерпеновых кислот (X, %) в пересчёте на урсоловую кислоту проводили по формуле:

$$X = \frac{D_x \cdot a_{ст} \cdot 100 \cdot 100}{D_{ст} \cdot a_x \cdot 10},$$

где D_x – оптическая плотность испытуемого раствора; $D_{ст}$ – оптическая плотность стандартного раствора урсоловой кислоты; a_x – масса сырья, г; $a_{ст}$ – масса урсоловой кислоты, г



УФ-спектры стандартного раствора урсоловой (1) и олеаноловой (2) кислот и извлечения иссопа лекарственного (3)

Таблица 2

Содержание тритерпеновых кислот в траве иссопа лекарственного ($n = 6$)

Исследуемое растение	Значения оптической плотности	Содержание тритерпеновых кислот, %	Метрологические характеристики
Иссоп лекарственный	0,3424	1,000	$\bar{X} = 0,98;$ $S = 0,0038$ $S_{\bar{X}} = 0,009;$ $\Delta X = 0,002;$ $\varepsilon = \pm 2,27\%$
	0,3378	0,987	
	0,3419	0,999	
	0,3315	0,968	
	0,3225	0,942	
	0,3393	0,991	

Список литературы

- Евтушенко Н.С. Исследование хроматографического поведения моно- и бициклических терпеноидов с целью выбора оптимальных условий хроматографирования препаратов их содержащих / Н.С. Евтушенко, В.Л. Багирова, А.М. Шлянкевич // Современные методы анализа фармацевтических препаратов: сб. науч. тр. ВНИИФ. – М., 1988. – Т. 26. – С. 76–81.
- Зотов Е.П. Тритерпеноиды и стероиды *Hissopus seravshnicus* и *Hissopus ferganensis* / Е.П. Зотов, Р.Л. Хазанович // Хим.-фармац. журн. – 1975. – №2. – С. 259–260.
- Починок Л.Н. Методы биохимического анализа растений. – Киев, 1976. – 534 с.
- Сур С.В. Методы выделения, идентификации и определения терпеновых соединений // Хим.-фармац. журн. – 1990. – №5 – С. 45–50.

Спектры поглощения продуктов взаимодействия концентрированной кислоты серной и тритерпеноидов идентифицировали по характерному максимуму при 310 нм (рисунок).

Параллельно измеряли оптическую плотность стандартного раствора урсоловой кислоты. В качестве раствора сравнения использовали кислоту серную концентрированную. Результаты измерений статистически обработаны.

Содержание тритерпеновых кислот в траве иссопа лекарственного составляет $0,98 \pm 0,002\%$.

Установлено присутствие олеаноловой и урсоловой кислот в траве иссопа лекарственного, культивируемого в Ставропольском крае. Определено количественное содержание тритерпеновых кислот в пересчёте на урсоловую кислоту в траве иссопа лекарственного – $0,98 \pm 0,002\%$.

5. Тритерпеноиды родов сем. Lamiaceae флоры России: обзор разнообразия; состав у *D. multicolor* Kom / А.Д. Зорина [и др.] // Раст. ресурсы. – 2002. – №3. – С. 60–65.

6. Чагоян А.А. Противоопухолевая активность некоторых видов сем. Lamiaceae / А.А. Чагоян, Г.Б. Оганесян // Раст. ресурсы. – 1996. – Т.32, Вып.4. – С. 59–63.

Рецензент –

Молчанов Г.И., д.фарм.н., профессор, кафедры социально-гуманитарных наук Пятигорского филиала ГОУ ВПО Северо-Кавказского ГТУ, г. Пятигорск.

Работа поступила в редакцию 10.10.2011.