

УДК 615.322:582.665.11:547.587.5

**ПОЛИФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ГОРЦА (РЕЙНОУТРИИ)  
САХАЛИНСКОГО****Иванов В.В., Денисенко О.Н.***Пятигорский медико-фармацевтический институт, филиал ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет МЗ РФ», Пятигорск, e-mail: xakep\_ne@rambler.ru*

Впервые был определен качественный состав и количественное содержание полифенольных соединений горца (рейноутрии) сахалинского, интродуцированного в условиях Кавказских Минеральных Вод с помощью химических и инструментальных методов. Горец (рейноутрия) сахалинский содержит значимое количество полифенольных соединений, которые могут определять антиоксидантную активность данного растения. Установлены наиболее информативные и технологичные методы определения полифенольных соединений в траве горца (рейноутрии) сахалинского. Идентифицированы такие полифенольные соединения, как рутин, дигидрокверцетин, цикориевая кислота, феруловая кислота, кофейная кислота, неохлорогеновая кислота, наличие которых в исследуемом растении позволяет предполагать возможность использования его после соответствующих фармакологических и клинических исследований для профилактики и лечения таких заболеваний, как атеросклероз, болезнь Альцгеймера, сахарный диабет 2 типа и другие.

**Ключевые слова:** горец (рейноутрия) сахалинский, полифенольные соединения**POLYPHENOL COMPOUND OF POLYGONUM (REYNOUTRIA) SACHALINENSE****Ivanov V.V., Denisenko O.N.***Pyatigorsk medical pharmaceutical institute, Pyatigorsk, e-mail: xakep\_ne@rambler.ru*

For the first time by means of chemical methods and standard operating procedures in the natural conditions of Caucasian Mineralnye Vody the qualitative composition and assay content of polyphenol compound of Polygonum (Reynoutria) sachalinense introduced was identified. Polygonum (reynoutria) sachalinense contains a significant quantity of polyphenol compound that can determine antioxidant activity of the given plant. The most informative methods and manufacturing methods of polyphenol compound identification of Polygonum (reynoutria) sachalinense were established. Such compounds as rutin, dihydroquercetin, chicory acid, ferulic acid, caffeic acid and neochlorogenic acid were identified which gives indication to suppose that this plant can be used (after certain pharmacological and clinical testing) for prevention and treatment such diseases as atherosclerosis, Alzheimer disease, type 2 diabetes mellitus and others.

**Keywords:** Polygonum (Reynoutria) sachalinense, polyphenol compound

В настоящее время сформированы представления о том, что нарушение баланса прооксидантных и антиоксидантных факторов, приводит к повышенной продукции свободных радикалов и развитию оксидантного стресса, а также являются универсальным молекулярным механизмом развития различных заболеваний сердечно-сосудистой, нервной, эндокринной и иммунной систем [4, 5, 8]. Оксидантный стресс является одной из причин самых распространенных заболеваний, таких как атеросклероз, гипертоническая болезнь, болезнь Альцгеймера, сахарный диабет 2 типа, болезнь Паркинсона, а также быстрого старения организма. Однако он же является и защитным механизмом, с помощью которого иммунная система борется с различными патогенами. Это является тонкой гранью между полезным свойством оксидативного стресса и его пагубным воздействием на организм [3]. Антиоксидантная система состоит из внутренних антиоксидантов и получаемых извне. Основными внутренними антиоксидантами являются ферменты: супероксиддисмутаза, каталаза и пероксидаза (глутатионпероксидаза). Но этого часто оказывается недостаточно для полноценной за-

щиты организма от действия свободных радикалов, поэтому по сей день продолжается поиск источников биологически активных веществ, обладающих антиоксидантными свойствами. Одним из предпочтительных источников поиска таких БАВ являются растительные объекты. Фенольные соединения, содержащиеся во многих растениях, обладают сильными антиоксидантными свойствами. Одним из перспективных растительных объектов, содержащих полифенольные соединения является горец (рейноутрия) сахалинский.

Горец (рейноутрия) сахалинский (*Polygonum sachalinense* – *Reynoutria sachalinensis* (F.Schmidt) Nakai) многолетнее травянистое растение, достигающее высоты 3 м. Подземные органы представлены ползучим корневищем с тонкими шнуровидными придаточными корнями, от которого отходят многочисленные прямые, полые, прочные стебли, зеленого или бурого цвета. Листья яйцевидно-сердцевидные, широкоовальные или овально-продолговатые, на коротких черешках, длиной до 20 см. Цветки мелкие, многочисленные, беловато-кремовые, собранные в короткие пазушные метельчатые соцветия. Околоцветник во-

ронковидный, при плодах сильно разрастающийся и скрывающийся плод. Плод – трёхгранный темно-бурый блестящий орешек. Цветет этот вид в июле-сентябре [1].

**Материалы и методы исследования**

Качественное и количественное определение полифенольных соединений проводили методами бумажной хроматографии, тонкослойной хроматографии, спектрофотометрии и ВЭЖХ.

Наличие флавоноидных соединений определяли в этилацетатных фракциях и водных извлечениях из исследуемых объектов с помощью качественных реакций [6]: одной из общепринятых методик определения флавоноидов является цианидиновая проба, основанная на восстановлении флавоноидов в кислой среде с образованием окрашенных продуктов. Реакция заключается в следующем: к 2 мл извлечения добавляли 5–7 капель концентрированной хлористо-водородной кислоты и 10–15 мг металлического цинка, нагревали

на водяной бане в течение 2–3 мин до появления розовой окраски. Цианидиновая реакция по Брианту позволяет определить агликоновую или гликозидную природу исследуемого вещества. К окрашенному продукту цианидиновой реакции добавляли 1/3 часть бутанола по объему, разбавляли водой и встряхивали. При этом по окраске гликозиды обнаруживались в воде, а агликоны – в слое органического растворителя.

Следующим этапом работы было определение полифенольных соединений в этилацетатной фракции водно-спиртового экстракта из смеси листьев и цветков методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках «Sorbfil», «Silufol». Наилучшее разделение полифенольных соединений наблюдалось в системах «хлороформ – спирт метиловый (8:2), хлороформ – спирт этиловый (9:1), этилацетат – кислота уксусная – вода (5:1:1)» Детектирование зон флавоноидов проводили как по собственной флюоресценции веществ в УФ-свете, так и с помощью проявителей: 5% спиртовый раствор алюминия хлорида и в парах аммиака [2, 7]. Результаты представлены в табл. 1, 2.

**Таблица 1**

Фенольные соединения горца (рейноутрии) сахалинского, определенные методом бумажной хроматографии, в различных системах растворителей

Свидетель	БХ			Проявители	
	Значения Rf				
	Кислота уксусная 2 %-я	Кислота уксусная 15 %-я	БУВ (4:1:2)	УФ-свет	УФ + пары аммония гидроксида
Рутин	–	0,61	0,38	Желтая	Желтая
Кофейная кислота	0,65	0,48	0,81	Синяя	Ярко-голубая
Феруловая кислота	0,3	0,53	0,87	Синяя	Зелено-голубая
Неохлорогеновая кислота	0,5	0,64	0,6	Голубая	Желто-зеленая

**Таблица 2**

Фенольные соединения горца (рейноутрии) сахалинского, определенные методом ТСХ, в различных системах растворителей

Свидетель	ТСХ			Проявители (окраска)	
	Значения Rf				
	Хлороформ – спирт метиловый (8:2)	Хлороформ – спирт этиловый (9:1)	Этилацетат – кислота уксусная – вода (5:1:1)	УФ-свет	УФ + пары аммония гидроксида
Рутин	0,64	0,23	0,29	ж	ж
Кофейная кислота	0,93	0,29	–	синяя	ярко-голубая
Феруловая кислота	0,17	0,48		синяя	зелено-голубая

Анализ с помощью ВЭЖХ для определения качественного и количественного состава полифенольных соединений 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 «Мультихром» для Windows.

В качестве неподвижной фазы была использована металлическая колонка размером 4,6×250 мм KROMASIL C18, размер частиц 5 микрон. В качестве подвижной фазы использовали: метанол-вода-кислота фосфорная концентрированная-тетрагидрофуран, в соотношении 370:570:5:60. Анализ проводили при

комнатной температуре. Скорость подачи элюента 0,8 мл/мин. Продолжительность анализа 60 мин.

Для исследования сырьё измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм по (ГОСТ 214-83). Около 10,0 г (точная навеска) лекарственного сырья помещали в колбу вместимостью 250 мл, прибавляли по 70 мл спирта этилового 70%, присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 1 часа с момента закипания спиртоводной смеси в колбе. После охлаждения смесь фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу объёмом 100 мл и доводили спиртом этиловым 70% до метки (раствор А). 7 мл раствора А помещали в мерную колбу

вместимостью 25 мл и доводили тем же растворителем до метки, затем перемешивали (исследуемый раствор). Параллельно готовили серию 0,05% растворов сравнения в 70% спирте этиловом референтных веществ: рутина, кверцетина, лютеолина, лютеолин-7-гликозида, кемпферола, кумарина, гиперозида, гесперидина, апи-генина, галловой кислоты, кофейной кислоты, хлоро-

геновой кислоты, неохлорогеновой кислоты, коричной кислоты, цикориевой кислоты, феруловой кислоты, танина, эпикатехина, катехина, нарингенина, дикумарина, дигидрокверцетина. По 20 мкл исследуемых растворов и растворов референтных веществ вводили в хроматограф и хроматографировали в вышеприведенных условиях. Результаты представлены в табл. 3.

Таблица 3

Полифенольные соединения горца (рейноутрии) сахалинского, обнаруженные методом ВЭЖХ

№ п/п	Время, мин	Высота, mV	Площадь, mV·с	Концентрация, %	Название
1	3,751	79,50	785,72	3,24	Танин
2	4,032	178,55	2035,97	8,39	Галловая кислота
3	5,081	34,30	845,30	3,48	Катехин
4	6,507	18,66	437,47	1,80	Цикориевая кислота
5	7,033	14,79	376,13	1,55	Кофейная кислота
6	9,321	9,31	260,37	1,07	Неохлорогеновая кислота
7	11,47	9,80	290,50	1,20	Феруловая кислота
8	13,83	1,54	50,65	0,21	Эпикатехин
9	18,78	1,13	41,33	0,17	Рутин
10	28,72	39,84	1768,70	7,29	Дигидрокверцетин

Результаты исследований и их обсуждение

Таким образом, с помощью БХ и ТСХ были идентифицированы: рутин, кофейная кислота, феруловая кислота и неохлорогеновая кислота.

Методом внутренней нормализации определили среди идентифицированных веществ преобладающие: галловая кислота (8,39%), дигидрокверцетин (7,29%), катехин (3,48%), кофейная (1,15%) и цикориевая (1,8%) кислоты.

Анализ результатов изучения качественного состава полифенольных соединений свидетельствует о том, что наиболее информативным и технологичным методом для определения этого класса природных соединений рейноутрии сахалинской является метод высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Заключение

Таким образом, горец (рейноутрия) сахалинский накапливает в себе ценные биологически активные вещества фенольной природы в значимых количествах, что позволяет рекомендовать этот вид для дальнейших исследований с целью внедрения в медицинскую и фармацевтическую практику.

Список литературы

1. Иванов В.В. Предварительное фитохимическое исследование травы рейноутрии сахалинской (*Reynoutria sachalinense*) // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск, 2009. – Вып. 64. – С. 54–55.
2. Ищенко З.В. Флавоноидный состав надземной части морозника абхазского (*Helleborus abchazicus*) и морозника кавказского (*Helleborus caucasicus* A.Br.) / З.В. Ищенко, М.И. Кодониди, О.Н. Денисенко // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск, 2011. – Вып. 66. – С. 103–104.
3. Система антиоксидантной защиты организма и старение / А.А. Подколзин, А.Г. Мегреладзе, В.И. Донцов, С.Д. Арутюнов, О.М. Мрикаева, Е.А. Жукова // Профилактика старения. – 2000. – № 3. – Библ. 164 назв.
4. Свищенко Е.П., Коваленко В.Н. Гипертоническая болезнь. Вторичные гипертензии. – Киев, 2002. – 204 с.
5. Топчий И.И., Горбач Т.В., Бондарь Т.Н. Взаимосвязь изменений антиоксидантной системы и метаболизма оксида азота у больных хронической болезнью почек с артериальной гипертензией // Серце і судини. – № 1. – С. 89–94.
6. Химический анализ лекарственных растений: учеб. пособие для фарм. вузов / под ред. Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронович – М.: Высш. шк., 1983. – 176 с.
7. Чернова Е.В. Фенольные соединения энотеры двулетней / Е.В. Чернова, С.Г. Юнусова, О.Н. Денисенко // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск, 2009. – Вып. 64. – С. 122–123.
8. Kaneto H., Katakami N., Matsuhisa M., Matsuoka T.A. (2010) // Role of reactive oxygen species in the progression of type 2 diabetes and atherosclerosis: Mediators Inflamm. – 2010.

**References**

1. Ivanov V.V. Predvaritel'noe fitohimicheskoe issledovanie travy reynoutrii sahalinskoj (Reynoutria sachalinense) // Razrabotka, issledovanie i marketing novoj farmacevticheskoj produkcii: sb. nauch. tr. Pjatigorsk, 2009. Vyp. 64. pp. 54–55.

2. Ishhenko, Z.V. Flavonoidnyj sostav nadzemnoj chasti moroznika abhazskogo (Helleborus abchazicus) i moroznika kavkazskogo (Helleborus caucasicus A.Br.) / Z.V. Ishhenko, M.I. Kodonidi, O.N. Denisenko / Razrabotka, issledovanie i marketing novoj farmacevticheskoj produkcii: sb. nauch. tr. Pjatigorsk, 2011. Vyp. 66. pp. 103–104.

3. Podkolzin A.A.. Sistema antioksidantnoj zashhity organizma i starenie / A.A. Podkolzin, A.G. Megreladze, V.I. Doncov, S.D. Arutjunov, O.M. Mrikaeva, E.A. Zhukova // Profilaktika starenija 2000. no. 3. Bibl. 164 nazv.

4. Svishhenko E.P., Kovalenko V.N. Gipertonicheskaja bolezn'. Vtorichnye gipertenzii. K., 2002. 204 p.

5. Topchij I.I., Gorbach T.V., Bondar' T.N. Vzaimosvjaz' izmenenij antioksidantnoj sistemy i metabolizma oksida azota u bol'nyh hronicheskoy bolezn'ju pochek s arterial'noj gipertenziej // Serce i sudini. no. 1. pp. 89–94.

6. Himicheskij analiz lekarstvennyh rastenij: Ucheb. Posobie dlja farm. vuzov/ pod red. N.I. Grinkevich, L.N. Safronovich M:Vyssh. Shk., 1983. 176s.

7. Chernova, E.V. Fenol'nye soedinenija jenotery dvuletnej / E.V. Chernova, S.G. Junusova, O.N. Denisenko // Razrabotka, issledovanie i marketing novoj farmacevticheskoj produkcii: sb. nauch. tr. Pjatigorsk, 2009. Vyp. 64. pp. 122–123.

8. Kaneto H., Katakami N., Matsuhisa M., Matsuoka T.A. (2010). «Role of reactive oxygen species in the progression of type 2 diabetes and atherosclerosis». Mediators Inflamm. 2010.

**Рецензенты:**

Андреева И.Н., д.фарм.н., профессор кафедры УЭФ последипломного образования, Пятигорский медико-фармацевтический институт, филиал ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» МЗ РФ, г. Пятигорск;

Кодониди И.П., д.фарм.н., старший преподаватель кафедры органической химии, Пятигорский медико-фармацевтический институт, филиал ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» МЗ РФ, г. Ессентуки.

Работа поступила в редакцию 07.08.2013.