

УДК 615.322:582.746.66:547.972.061:543

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ВЭЖХ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЛИСТЬЕВ СКУМПИИ КОЖЕВЕННОЙ (COTINUS COGGYGRIA SCOP.)

Гриценко А.И., Сенченко С.П., Попова О.И.

*Пятигорский медико-фармацевтический институт, филиал, ГБОУ ВПО ВолгГМУ
Минздрава России, Пятигорск, e-mail: art.gritsenko@gmail.com*

В настоящей статье обсуждаются результаты исследования фенольных соединений листьев скумпии кожевенной (*Cotinus coggygia* Scop.) методом ВЭЖХ. Высушенные образцы сырья были заготовлены в 2013 году в фазу цветения растения на юго-восточном склоне горы Машук в городе Пятигорске Ставропольского края. Исследование проведено в двух условиях: без гидролиза сырья и после кислотного гидролиза. Определено содержание 5 фенольных соединений, среди которых доминирующими являются гиперозид, рутин и феруловая кислота, а также кверцетин и кемпферол в незначительных количествах. В извлечении, полученном после проведения кислотного гидролиза, установлено значительное повышение содержания кверцетина и кемпферола, что свидетельствует о значительном содержании в сырье их производных (гликозиды, сложные эфиры). Использование указанного подхода может быть использовано для оценки качества сырья скумпии кожевенной.

Ключевые слова: скумпия кожевенная, ВЭЖХ, фенольные соединения

USE OF THE HPLC-METHOD FOR STUDYING OF PHENOLIC COMPOUNDS OF LEAVES OF A SKUMPIYA TANNING (COTINUS COGGYGRIA SCOP.)

Gritsenko A.I., Senchenko S.P., Popova O.I.

Pyatigorsk Medical-Pharmaceutical Institute, branch GBOU VPO «Volograd State Medical University», Pyatigorsk, e-mail: art.gritsenko@gmail.com

This article discusses the results of research of phenolic compounds of leaves of a skumpiya tanning (*Cotinus coggygia* Scop.) by HPLS-method. The dried up samples of raw materials were prepared in 2013 in a phase of blossoming of a plant on a southeast slope of the mountain Mashuk in Pyatigorsk of Stavropol Area. Research is conducted in two conditions: without hydrolysis of raw materials and after acid hydrolysis. The content of 5 phenolic connections among which are dominating hyperosid, rutin and ferulic acid, and also quercetin and kempferol in insignificant quantities is defined. In the extraction received after carrying out acid hydrolysis substantial increase of the maintenance of quercetin and kempferol that testifies to the considerable contents in raw materials of their derivatives (glycosides, esters) is established. Use of the specified approach can be used for an assessment of quality of raw materials of a skumpiya tanning.

Keywords: skumpiya tanning, HPLS, phenolic compounds

Скумпия кожевенная (*Cotinus coggygia* Scop.) представляет собой ветвистый кустарник или деревце семейства Сумаховые (Anacardiaceae). Произрастает от юга Западной Европы до Китая и Гималаев. На территории России встречается в нижнем течении Дона и повсеместно на территории Северного Кавказа, преимущественно на сухих каменистых склонах, в лесах и зарослях кустарников [4].

Листья скумпии кожевенной являлись сырьём для промышленного получения танина. Наряду с дубильными веществами в сырье скумпии содержится значительное количество флавоноидов, содержание которых в сумме превышает 1%. Основными компонентами данной группы биологически активных веществ (БАВ) являются мирицетин, кверцетин и кемпферол [2]. На основе содержания в сырье суммы флавоноидных агликонов была разработана фармацевтическая субстанция «флакумин»,

обладающая желчегонным и спазмолитическим действием [1]. Препараты из сырья растения издавна применяются в народной медицине при заболеваниях кишечника, печени и желчевыводящих путей, при кожных заболеваниях и дерматомикозах и др. Экспериментально установлено, что экстракты из листьев обладают антиоксидантными свойствами [6].

Основным сепарационным методом анализа фенольных соединений в растительных объектах является высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Следует также отметить, что данный метод требует наличия большого количества стандартных образцов, особенно в условии отсутствия в сырье одного-двух характеристических компонентов. Учитывая, что в основном фенольные соединения представлены в сырье в виде гликозидов и сложных эфиров небольшого числа агликонов флавоноидов, то одним из решений

данной проблемы может служить гидролиз указанных структур до характерного агликона и определение последнего с использованием ВЭЖХ. Это также важно для оценки качества лекарственного растительного сырья, так как качественный и количественный состав гликозидов может быть очень переменчивым в зависимости от места сбора и года заготовки.

Цель исследования – изучение возможности использования ВЭЖХ для анализа фенольных соединений листьев скумпии кожевенной.

Материал и методы исследования

Объектом исследования служили высушенные образцы сырья листьев скумпии кожевенной, заготовленные в 2013 году в фазу цветения растения на юго-восточном склоне горы Машук в городе Пятигорске Ставропольского края.

В работе были использованы стандартные образцы (СО) рутина (CAS 153-18-4), кверцетина (CAS 117-39-5), кемпферола (CAS 520-18-3), гиперозида (CAS 482-36-0), и феруловой кислоты (CAS 1135-24-6) с чистотой более 95% (производитель – Sigma-Aldrich).

На первом этапе работы необходимо было установить наличие изучаемых фенольных соединений в извлечении из листьев скумпии кожевенной. Для этого около 2 г сырья (точная навеска), измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм, помещали в плоскодонную колбу со шлифом вместимостью 100 мл, заливали 50 мл 70% спирта этилового и нагревали с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 1 ч с момента закипания спиртовой смеси в колбе. Полученное извлечение охлаждали до комнатной температуры и фильтровали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объем тем же растворителем до метки и перемешивали. Перед вводом в хроматограф извлечение фильтровали через фильтр с диаметром пор 0,25 мкм. Параллельно готовили серию растворов стандартных образцов (СО) рутина, кверцетина, кемпферола, гиперозида и феруловой кислоты в 70% спирте этиловом.

По 20 мкл извлечения и модельной смеси растворов СО вводили в хроматографическую систему «Стайер» (Аквилон, Россия – США – Чехия), снабженную колонкой «Luna C18» 150×4,6 мм (Phenomenex, США) с размером зерен 5 мкм. Элюирование осуществляли в градиентном режиме. Элю-

энт А – ацетонитрил («Вектон», Россия, ОСЧ 2), элюэнт В – 2% раствор кислоты муравьиной («Вектон», Россия, 99%). Содержание ацетонитрила изменялось от 20 до 60% за 40 мин, при расходе элюэнта 1 мл/мин. Детектирование проводили при длине волны 365 нм на УФ-детекторе [3, 5].

Далее необходимо было установить содержание в сырье идентифицированных фенольных соединений. Расчет проводили по площадям пиков соответствующих веществ, полученных при анализе извлечения из скумпии кожевенной и при анализе растворов их стандартных образцов.

Следующим этапом исследования было проведение кислотного гидролиза гликозидов и сложных эфиров флавоноидов. Для этого около 2 г (точная навеска) сырья помещали в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляли 94 мл спирта этилового 70% и 6 мл концентрированной хлористоводородной кислоты («Вектон», Россия, ОСЧ 20-4). Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 3 часов. Затем колбу охлаждали до комнатной температуры и фильтровали в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводили объем до метки 70% спиртом. Далее проводили ВЭЖХ-анализ согласно вышеизложенной методике.

Результаты исследования и их обсуждение

В извлечении без проведения гидролиза идентифицировано 5 фенольных соединений: оксикоричные кислоты – феруловая кислота; гликозиды флавоноидов – рутин, гиперозид; агликаны флавоноидов – кверцетин и кемпферол (рис. 1). В извлечении после кислотного гидролиза обнаружено только два исследуемых вещества: агликаны флавоноидов кверцетин и кемпферол (рис. 2).

Проведенная количественная оценка фенольных соединений до и после гидролиза (таблица) свидетельствует, что изучаемое сырье содержит флавоноиды в основном в виде гликозидов (гиперозид, рутин и другие). Данный факт подтверждается также значительным увеличением содержания кверцетина и кемпферола после проведения процедуры гидролиза. Практически полное разрушение феруловой кислоты после гидролиза, возможно, связано с жесткими условиями его проведения.

Результаты анализа фенольных соединений листьев скумпии кожевенной методом ВЭЖХ

Вещество	Содержание, %	
	До гидролиза	После гидролиза
Рутин	0,076 ± 0,004	–
Гиперозид	0,36 ± 0,02	–
Феруловая кислота	0,75 ± 0,04	–
Кверцетин	0,0130 ± 0,0007	1,44 ± 0,07
Кемпферол	0,000110 ± 0,000006	0,0150 ± 0,0008

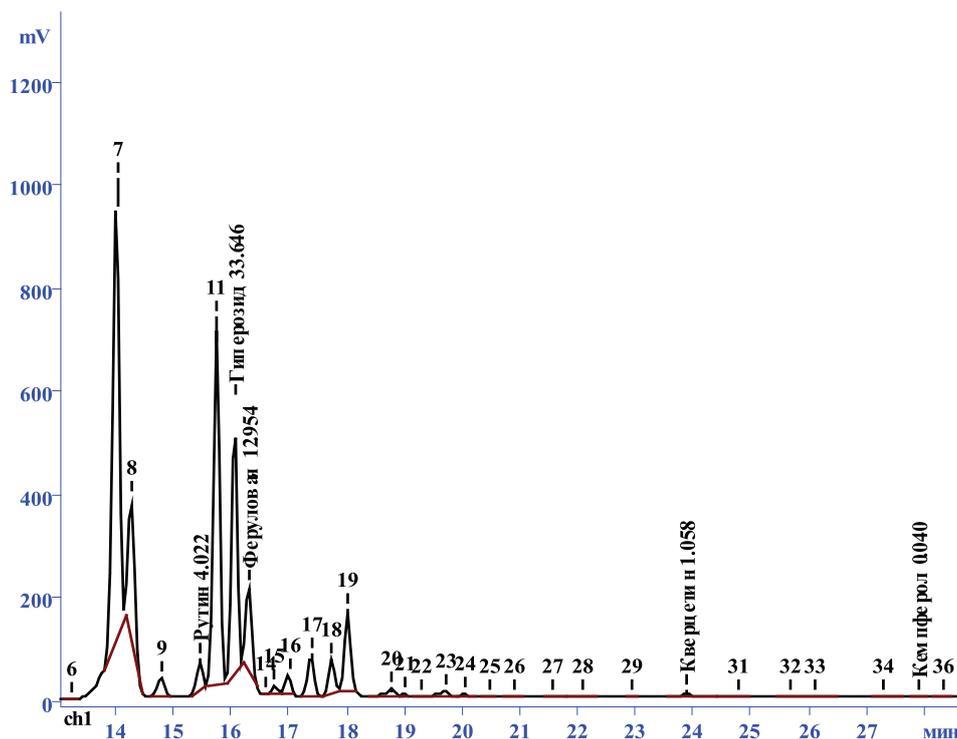


Рис. 1. ВЭЖХ – хроматограмма фенольных соединений листьев скумпии кожевенной из извлечения, полученного без гидролиза

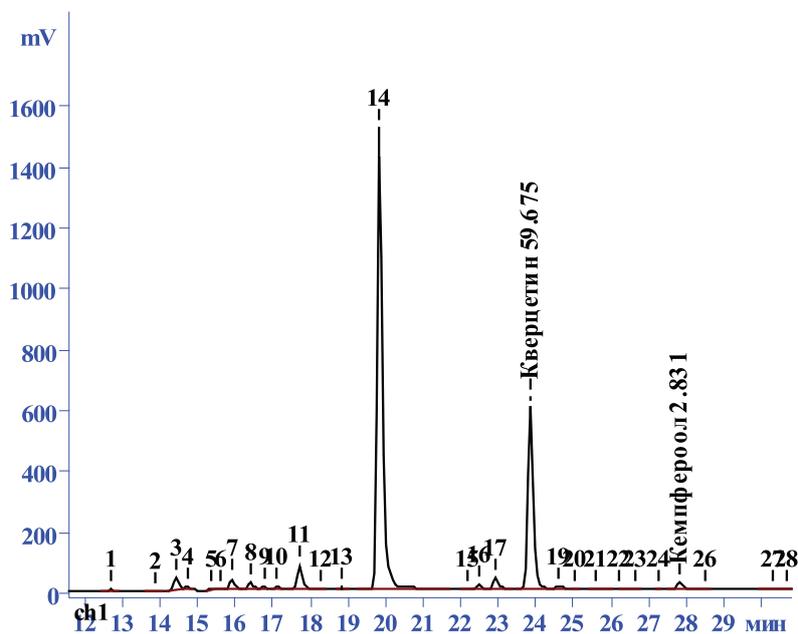


Рис. 2. ВЭЖХ – хроматограмма фенольных соединений листьев скумпии кожевенной из извлечения, полученного после кислотного гидролиза

Выводы

С использованием метода ВЭЖХ идентифицирован ряд фенольных соединений листьев скумпии кожевенной. Преоблада-

ющими веществами в извлечении являются гиперозид и феруловая кислота, а также обнаружены кверцетин и кемпферол в незначительных количествах.

В извлечении, полученном после проведения кислотного гидролиза, установлено значительное повышение содержания кверцетина и кемпферола, что свидетельствует о значительном содержании в сырье их производных (гликозиды, сложные эфиры). Использование указанного подхода может быть использовано для оценки качества сырья скумпии кожевенной.

Список литературы

1. ВФС 42-1059-80 (1980).
2. Гриценко А.И., Попова О.И. Содержание флавоноидов в листьях скумпии кожевенной // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов. – Пятигорск, 2013. – № 68. – С. 41–43.
3. Попова О.И., Леонова В.Н., Савенко И.А.. Исследование фенольных соединений листьев форзиции промежуточной (*Forsythia intermedia* Zabel.) // Хим. раст. сырья. – 2012. – № 2. – С. 199–201.
4. Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР) // Мир и семья. – СПб., 1995. – С. 19.
5. Чумакова В.В., Попова О.И. Изучение фенольных соединений травы лопанта анисового // Фармация. – 2011. – № 3. – С. 20–22.
6. Nićiforović N., Mihailović V., Mašković P. et al. Antioxidant activity of selected plant species; potential new sources of natural antioxidants // *Food Chem Toxicol.*, 48(11), 3125–3130 (2010).

References

1. VFS 42-1059-80 (1980).
2. Gricenko A.I., Popova O.I. Soderzhanie flavonoidov v listjah skumpii kozhevennoj // *Razrabotka, issledovanie i marketing novoj farmacevticheskoj produkcii: sbornik nauchnyh trudov.* – Pjatigorsk, 2013. no. 68. pp. 41–43.
3. Popova O.I., Leonova V.N., Savenko I.A.. Issledovanie fenolnyh soedinenij listev forzicii promezhutochnoj (*Forsythia intermedia* Zabel.) // *Him. rast. syrja.* 2012. no. 2. pp. 199–201.
4. Cherepanov S.K. Sosudistye rastenija Rossii i sopredelnyh gosudarstv (v predelah byvshego SSSR) // *Mir i semja.* SPb., 1995. pp. 19.
5. Chumakova V.V., Popova O.I. Izuchenie fenolnyh soedinenij travy lofanta anisovogo // *Farmacija.* 2011. no. 3. pp. 20–22.
6. Nićiforović N., Mihailović V., Mašković P. et al. Antioxidant activity of selected plant species; potential new sources of natural antioxidants // *Food Chem Toxicol.*, 48(11), 3125–3130 (2010).

Рецензенты:

Коновалов Д.А., д.фарм.н., профессор кафедры фармакогнозии, зам. директора по НИР, Пятигорский медико-фармацевтический институт, филиал, ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск;
Кодониди И.П., д.фарм.н., доцент кафедры органической химии, Пятигорский медико-фармацевтический институт, филиал, ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск.

Работа поступила в редакцию 18.03.2015.