

УДК 615.322:615.451.13-07

ОСОБЕННОСТИ ФРАКЦИОННОГО РАЗДЕЛЕНИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ СУММЫ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НАСТОЙКИ ТРАВЫ СТАЛЬНИКА ПОЛЕВОГО

Сампиев А.М., Давитавян Н.А., Староверова В.В.

ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России»,
Краснодар, e-mail: davitavyan08@mail.ru

Настойку стальника слабительного действия подвергали фракционному разделению с использованием разнополярных растворителей: диэтилового эфира, хлороформа, этилацетата, бутанола. В полученных фракциях определяли содержание различных групп фенольных соединений (флавоноидов, изофлавоноидов, фенолкарбоновых кислот), а также суммы всех биологически активных веществ. Было установлено, что в зависимости от использованного экстрагента, состав фракций существенно отличается. Наилучшую экстракционную способность по отношению к фенольным соединениям настойки стальника проявили этилацетат и бутанол. Заметные отличия в содержании фенольных групп соединений в полученных фракциях отразятся на уровне их слабительного действия. Корреляционный анализ полученных данных по содержанию различных групп фенольных соединений с результатами фармакологических исследований фракций позволит выявить действующие вещества настойки травы стальника.

Ключевые слова: настойка стальника полевого, флавоноиды, изофлавоноиды, фенолкарбоновые кислоты

FEATURES FRACTIONAL SEPARATION AND QUANTIFICATION OF AMOUNT OF PHENOLIC COMPOUNDS TINCTURES HERBS ONONIS ARVENSIS

Sampiev A.M., Davitavyan N.A., Staroverova V.V.

Kuban State Medical University, Krasnodar, e-mail: davitavyan08@mail.ru

Infusion harrow laxative fractionally separation using bipolar solvents: diethyl ether, chloroform, ethyl acetate and butanol. In the resulting fractions was determined by the content of the different groups of phenolic compounds (flavonoids, isoflavones, phenol carbonic acids), as well as the amount of biologically active substances. It was found that depending on the used extractant composition of the fractions is significantly different. The best extraction ability with respect to the phenolic compounds shown harrow tinctures, ethyl acetate and butanol. Notable differences in the content of phenolic compounds in groups obtained fractions affect the level of their laxative action. Correlation analysis of the data with the results of phytochemistry pharmacological studies of fractions will identify the active ingredients of tincture grass harrow.

Keywords: harrow the field tincture, flavonoids, isoflavones, phenol carboxylic acids

Изучение растительного сырья, как одного из источников получения лекарственных средств, по-прежнему остается востребованным научным направлением фармации. Это связано с тем, что лекарственные средства растительного происхождения содержат разнообразный комплекс биологически активных веществ (БАВ), придающий им ценные фармакологические свойства и обеспечивающий многостороннее действие на организм. Фитопрепараты достаточно часто используют для лечения длительно протекающих хронических заболеваний, так как они обладают более мягкими терапевтическими и меньшими побочными эффектами, по сравнению с синтетическими лекарственными средствами [2, 10]. При разработке рациональной технологии получения и норм качества новых фитопрепаратов особое внимание должно быть уделено действующим веществам, обуславливающим применение лекарственного средства в определенных терапевтических целях. В случае разработки многокомпонентных фитопрепаратов, позиционирование и выявление в них действующих веществ пред-

ставляет собой весьма сложную задачу. Вместе с тем, в случае фитопрепаратов, отнесение к действующим веществам одной или нескольких групп, как правило, близких по химической природе БАВ, бывает, зачастую, обоснованным.

Одним из оригинальных подходов, позволяющих с достаточной вероятностью определить действующую группу веществ, является сопоставление и анализ результатов сопряженных фитохимических и фармакологических исследований фракций БАВ, выделенных из растительного сырья или получаемого из него суммарного фитопрепарата. Данный методологический подход [7] заключается в экстрагировании растительного сырья или суммарного фитопрепарата различными по полярности растворителями с получением соответствующих фракций БАВ, количественном анализе компонентного состава этих фракций, изучении их фармакологической активности. Завершающим этапом реализации указанного подхода является корреляционный анализ уровня содержания различных БАВ и результатов фармакологических исследо-

ваний выделенных фракций с выявлением действующих (наиболее ответственных за проявление терапевтического эффекта) веществ.

В ранее проведенном исследовании была показана целесообразность разработки настойки слабительного действия из травы стальника полевого (*Ononis argvensis* L.) и выявлено, что оптимальным экстрагентом для ее получения является 70% спирт по сравнению с 40%, 50% и 60% спирто-водными растворами [6]. Это свидетельствует о том, что 70% спирт наилучшим образом извлекает действующие вещества из травы стальника полевого. Следует отметить, что согласно известным данным, к веществам, оказывающим слабительный эффект настойки из корня стальника, относятся изофлавоноиды. В траве же стальника, наряду с изофлавоноидами, выявлено существенное содержание флавоноидов и фенолкарбоновых кислот [1, 8]. С целью уточнения того, являются ли лишь изофлавоноиды, либо другие группы фенольных соединений, а возможно и их сочетание – действующими веществами в настойке травы стальника полевого, на первом этапе реализации упомянутого выше методологического подхода, необходимо было получить из данного фитопрепарата фракции БАВ и дать количественную оценку их состава по группам фенольных соединений. Одновременно представляла интерес сравнительная оценка экстракционной способности того или иного органического растворителя по отношению к фенольным соединениям стальника.

Подбор растворителей для фракционного разделения суммы БАВ основывался на полярности фенольных соединений, а именно степени их гидрофильности. Известно, что вещества полярные, с высоким значением диэлектрической постоянной, хорошо растворяются в полярных растворителях, а вещества неполярные, с малым значением диэлектрической постоянной – в неполярных растворителях. Поэтому, используя последовательную обработку сырья различными по полярности растворителями, можно получить фракции с отличающимся составом БАВ, прежде всего – по группам фенольных соединений [3]. Заметные различия в составе фракций из настойки травы стальника по содержанию фенольных соединений должны сказаться на степени проявления ими фармакологической активности. Поэтому, анализ отличий количественного состава и сопоставление фитохимических данных с фармакологическими исследованиями фракций, выделенных из настойки травы стальника полевого, позволят судить о принадлежности той или

иной фенольной группы БАВ к категории действующих веществ.

Целью исследования явилось получение фракций БАВ из настойки травы стальника полевого и количественная оценка содержащихся в них фенольных соединений.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования являлась настойка травы стальника полевого. Получение настойки осуществляли методом вакуум-фильтрационного экстрагирования [4,9]. Затем полученную настойку подвергали фракционированию. Схема фракционного разделения (рис.) суммы БАВ настойки травы стальника, в том числе фенольных соединений, включала концентрирование спирто – водного извлечения и последовательную обработку жидкость-жидкостной экстракцией концентрата растворителями с возрастающей полярностью.

Настойку упаривали под вакуумом до 1/5 первоначального объема, что практически приводило к удалению этилового спирта из среды и получению «водного» концентрата БАВ. Затем концентрат переносили в делительную воронку и взбалтывали с равными объемами эфира 7-8 раз, каждый раз отделяя и объединяя эфирные извлечения. После этого аналогичным образом концентрат обрабатывали последовательно хлороформом, этилацетатом и бутанолом. Затем хлороформную, эфирную, этилацетатную, бутанольную фракции и оставшийся после обработки органическими растворителями «водный остаток» упаривали в вакууме до получения смолообразных остатков, которые высушивали в вакуум-сушильном шкафу до содержания остаточной влаги не более 5%. В полученных фракциях оценивали количественное содержание групп фенольных соединений (изофлавоноидов, флавоноидов и фенолкарбоновых кислот), а также выход суммы всех БАВ. Количественное определение указанных выше групп соединений проводили по методике, заключающейся в определении сначала флавоноидов по образующемуся комплексу с алюминия хлоридом в кислой среде методом дифференциальной спектрофотометрии, а затем, с учетом установленного их количества и принципа аддитивности, – содержания фенолкарбоновых кислот прямым спектрофотометрированием при длине волны 325 нм, при которой изофлавоноиды практически не поглощают. Установленная концентрация в испытуемом растворе флавоноидов и фенолкарбоновых кислот и рассчитанные для используемых стандартов (гиперозид и хлорогеновая кислота, соответственно) значения удельных показателей поглощения позволяют, на следующем этапе, рассчитать по принципу аддитивности количество изофлавоноидов при длине волны 260 нм (в пересчете на ононин) [5].

Результаты исследования и их обсуждение

Согласно приведенной на рисунке схеме, из настойки травы стальника были получены пять фракций БАВ, в которых количественно определяли содержание изофлавоноидов, флавоноидов, фенолкарбоновых кислот, а также всей суммы веществ, включающей и фенольные соединения (таблица). Было установлено, что концен-

трация фенольных соединений различных групп в полученных фракциях заметно отличается, что отразится на степени их сла-

бительного эффекта и позволит конкретизировать действующие вещества настойки стальника.

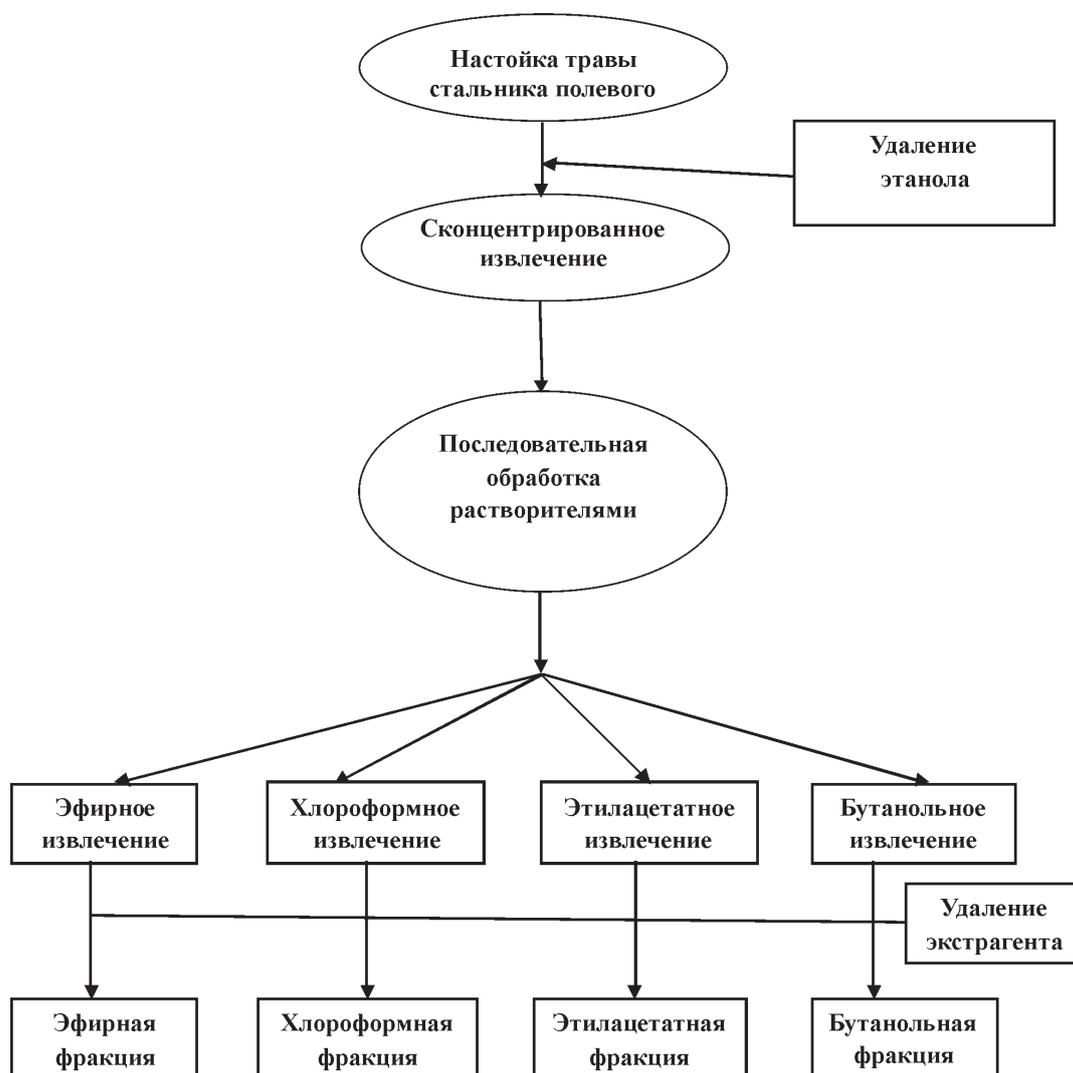


Схема фракционного разделения суммы БАВ настойки травы *Ononis arvensis*

Количественный выход фракций БАВ из настойки травы *Ononis arvensis* и концентрация в них фенольных соединений

Наименование фракции	Выход фракции, %	Концентрация действующих веществ во фракциях, % от массы фракции		
		флавоноиды	изофлавоноиды	фенолкарбоновые кислоты
Эфирная	36.7±0.5	2.36±0.07	3.26±0.09	2.76±0.08
Хлороформная	1.46±0.04	0.31±0.01	12.3±0.3	6.21±0.15
Этилацетатная	12.51±0.27	9.12±0.21	18.6±0.4	13.7±0.4
Бутанольная	39.7±0.6	3.21±0.09	8.04±0.25	11.15±0.27
«Водный остаток»	8.87±0.23	0.3±0.0	1.22±0.03	8.41±0.19

В результате проведенных исследований выявлено, что, несмотря на значительный выход эфирной фракции, содержание в ней фенольных соединений не столь существенно. Это говорит о том, что эфир не является селективным экстрагентом для фенольных соединений травы стальника полевого, как их суммы, так и групп в отдельности. Из всех исследованных растворителей, судя по количественному выходу соответствующей фракции, хлороформ оказался малопригодным не только для извлечения фенольных соединений, но и других БАВ настойки стальника. Напротив, в случае этилацетата, к тому же примененного третьим в очередности схемы последовательной обработки фитопрепарата, наблюдалась наибольшая концентрация всех трех групп фенольных веществ (флавоноидов, изофлавоноидов и фенолкарбоновых кислот) в получаемой фракции. Данный факт свидетельствует о том, что, в ряду использованных экстрагентов, этилацетат является наиболее селективным по отношению к фенольным соединениям стальника. Несмотря на то, что с учетом последовательности обработки, экстракционную способность, но преимущественно к фенолкарбоновым кислотам, проявил бутанол. Вместе с тем, существенное содержание фенолкарбоновых кислот в «водной остатке», говорит о том, что ни один из органических растворителей не явился «идеальным» экстрагентом для этой группы фенольных веществ настойки травы стальника полевого.

Заключение

С использованием разнополярных экстрагентов получены пять, отличающихся по содержанию фенольных групп соединений, фракций из настойки травы стальника полевого. Количественная оценка содержания фенольных групп соединений в полученных фракциях выявила экстракционную способность эфира, хлороформа, этилаце-

тата и бутанола по отношению к флавоноидам, изофлавоноидам и фенолкарбоновым кислотам. Значительные отличия по количественному содержанию фенольных групп соединений, корреляционный анализ полученных данных и результатов последующих фармакологических исследований выделенных фракций позволяют установить действующие вещества настойки травы стальника полевого, обуславливающие ее слабительный эффект.

Список литературы

1. Давитавян Н.А., Сампиев А.М. Современное состояние и перспективы дальнейшего исследования стальника полевого *Ononis arvensis* L. (обзор) // Кубанский научный медицинский вестник. – 2005. – № 3-4 (76-77). С. 38-49.
2. Мирошников В.М. Лекарственные растения и препараты растительного происхождения в урологии. – М., 2005. – 240 с.
3. Минина С.А., Каухова И.Е. Химия и технология фитопрепаратов. – М.: ГЕОТАР – Мед, 2004. – 560 с.
4. Попова Т.П., Литвиненко В.И. Некоторые общие закономерности извлечения действующих веществ из лекарственного сырья. Сообщение 1 // Фармаком. 1993. № 1. С. 13-16.
5. Сампиев А.М., Давитавян Н.А. Количественное определение флавоноидов, изофлавоноидов и фенолкарбоновых кислот в траве стальника полевого // Хим.-фармац. журнал. 2009. Т. 43, № 7. С.25-31.
6. Сампиев А.М., Давитавян Н.А. Сравнительное изучение фармакологической активности экстрактов из травы и настойки из корня стальника полевого // Кубанский научный медицинский вестник. 2006. № 12(93). С. 102-106.
7. Сампиев А.М., Никифорова Е.Б., Хочава М.Р. Кукурузные рыльца: от выявления действующих веществ до создания технологии малоотходной переработки сырья. Сообщение 2. Установление действующих веществ, определяющих фармакотерапевтическую ценность растительного сырья // Кубанский научный медицинский вестник. 2006. № 12 (93). С. 111-117.
8. Тулайкин А.И. Изучение полифенольного комплекса из надземной части стальника полевого // Тез. докл. нац. конгресса «Человек и лекарство». – М., 2004. – С. 898-899.
9. Фільтраційна екстракція УУ апаратурне оснащення / Т.П. Попова [и др.] // Фармац. журн. 1995. № 6. С. 91-93.
10. Spilkova, J. *Ononis arvensis* in vitro–abiotic elicitation / J. Spilkova, P. Bednar, R. Stroblikova // Pharmazie. 2001. Vol. 56, № 5. P.424-5.