



УДК 915.072,615.074,615.322

ХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ БУДРЫ ПЛЮЩЕВИДНОЙ (*Glechoma hederacea* L.)

Д.И. Писарев
О.О. Новиков
В.Н. Сорокопудов
А.С. Шабельникова
Н.Н. Нетребенко

*Белгородский государственный
университет*

*Россия, 308015 г. Белгород,
ул. Победы, 85*

E-mail: bukhanov@bsu.edu.ru

В статье изложены данные о химическом изучении травы будры плющевидной как перспективного источника флавоноидов. Методами масс-спектрометрии, тонкослойной хроматографии и УФ-спектрофотометрии в траве будры плющевидной обнаружены лютеолин-7-гликозид, апигенин, апигенин-7-гликозид, кофейная кислота. Полученные результаты можно использовать для дальнейших химических и фармакологических испытаний данного растения.

Ключевые слова: трава будры плющевидной, флавоноиды, апигенин-7-гликозид, лютеолин-7-гликозид, кофейная кислота.

Введение

Природные флавоноидные соединения являются одними из наиболее доступных источников лечебных средств, поскольку они широко распространены среди цветковых растений и достаточно хорошо изучены в химическом и фармакологическом отношении.

В настоящее время во многих странах продолжают исследования по созданию новых поколений препаратов на их основе.

Проблема рационального поиска новых растительных источников этой группы биологически активных веществ (БАВ) приобретает особую актуальность. В этой связи определённый интерес представляет будра плющевидная. В химическом отношении данное растение изучено недостаточно. Однако, богатая сырьевая масса, разнообразие биологически активных веществ и использование в народной и научной медицине создали предпосылки для более глубокого и всестороннего её исследования.

Будра плющевидная – представитель семейства губоцветных, это многолетнее травянистое растение высотой до 60 см. Распространена по всей Европейской части России (кроме Севера), на Кавказе, в Сибири (южная часть); за пределами России – в Казахстане, Украине, Белоруссии, странах Прибалтики. Неприхотливое растение, обитает на влажных лугах, лесных опушках, полянах, по берегам рек и ручьёв в лесной и лесостепной зонах. В народной медицине будра плющевидная используется в качестве отхаркивающего, мочегонного, желчегонного, противовоспалительного и болеутоляющего средства [1, 2, 3].

Целью настоящего исследования явилось обоснование возможности использования будры плющевидной в качестве перспективного источника флавоноидов.

Для реализации поставленной цели задачей настоящего исследования явилось химическое изучение флавоноидов будры плющевидной.

Для выделения суммы флавоноидов измельчённое воздушно-сухое сырьё травы будры плющевидной в количестве 50,0 г, помещали в колбу на 250 мл, заливали спиртом этиловым 96%-ным и настаивали в течение 24 часов. Полученное извлечение сливали и заливали свежей порцией экстрагента. Всего было сделано пять сливов. Полученные извлечения объединяли, сгущали под вакуумом с помощью ротационного испарителя ИР-1, остаток растворяли в 4-х кратном количестве воды очищенной и оставляли в холодильнике на 72 часа. Выпавший осадок липофильных веществ, отфильтровывали и полученную сумму обрабатывали в делительной воронке хлороформом. Маточник после экстрагирования хлороформом обрабатывали этилацетатом до обесцвечивания этилацетатного слоя. В дальнейшем для изучения флавоноидного состава использовали этилацетатное извлечение, которое упаривали под вакуумом в



ротационном испарителе ИР-1. Полученный остаток растворяли в минимальном количестве спирта этилового 96%-ного и сумму флавоноидов осаждали хлороформом.

Полученную фракцию (Φ_1) отфильтровывали, после чего она представляла собой жёлтую кристаллическую массу, давала положительную цианидиновую пробу по Синоду и по Брианту, что свидетельствует о гликозидной форме флавоноида.

Фракцию Φ_1 растворяли в спирте этиловом 96%-ном и снимали УФ-спектр на спектрофотометре СФ-56. В УФ-спектре соединение имеет две полосы поглощения с максимумами в области 353 нм (I) и 257 нм (II), а также «плечо» при 268 нм, что характерно для флавонов со свободной ортодиоксигруппой в кольце "В" (рис. 1).

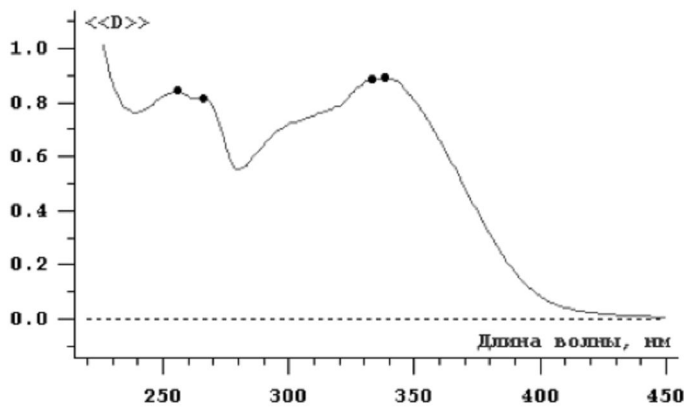


Рис. 1. УФ-спектр фракции Φ_1

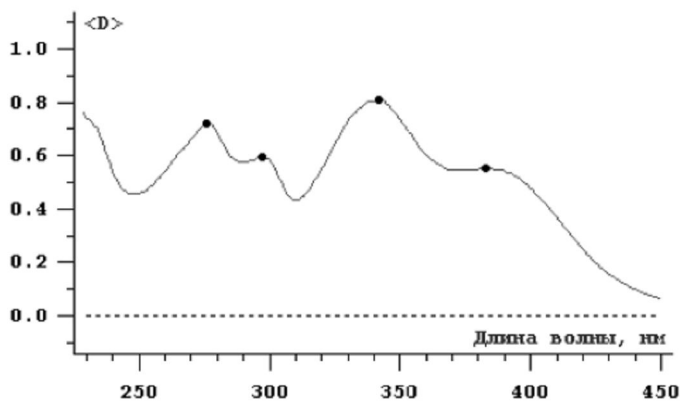
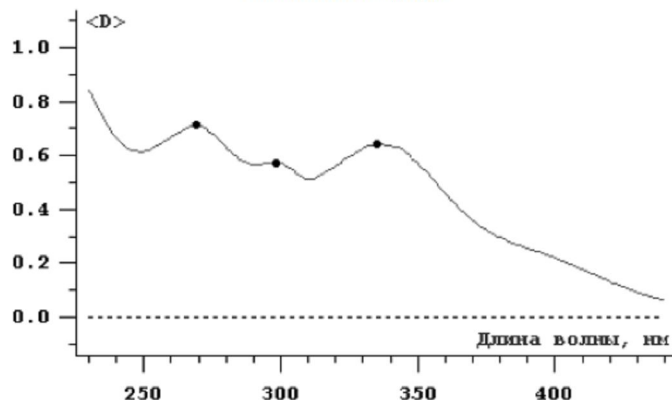


Рис. 2. УФ-спектр поглощения фракции Φ_1 с добавлением алюминия хлорида



Анализ УФ-спектров соединения с использованием шифт-реактивов, позволяет выявить расположение гидроксильных групп и место гликозидирования. В качестве шифт-реактивов использовали 5%-ный спиртовой раствор алюминия хлорида. Характерный батохромный сдвиг первой полосы ($\lambda = 50$ нм) исчезающий при добавлении кислоты хлористоводородной указывает на то, что в положениях 5, 3' и 4' имеются свободные гидроксигруппы (рис. 2, 3).

Под влиянием ацетата натрия не наблюдался батохромный сдвиг максимумов, что указывает на отсутствие свободной гидроксигруппы в положении C_7 .

Детекцию масс-спектра исследуемой фракции проводили на масс-спектрометре «Autoflex II» «MALDI TOF/TOF» фирмы Bruker Daltonics.

Рис. 3. УФ-спектр поглощения фракции Φ_1 после добавления алюминия хлорида и кислоты хлористоводородной.

Пробу полученной суммы наносили на мишень «MTP 384 target plate matt steel TF», высушивали и сверху наносили



ли каплю матрицы. В качестве матрицы использовали α -цианокоричную кислоту, регистрацию спектров вели с помощью программы «Flex Control», обработку данных осуществляли в программе «Flex Analis». В результате получен спектр, на котором наблюдается наиболее интенсивный пик иона с зарядом $m/z = 287.315$ соответствующий пику агликона флавона – лютеолина и менее интенсивный пик иона $m/z = 449.23$ отвечающий его моногликозидной форме (рис. 4).

Таким образом, по совокупности исследования нами установлено, что вещество фракции Φ_1 представляет собой лютеолин-7-гликозид.

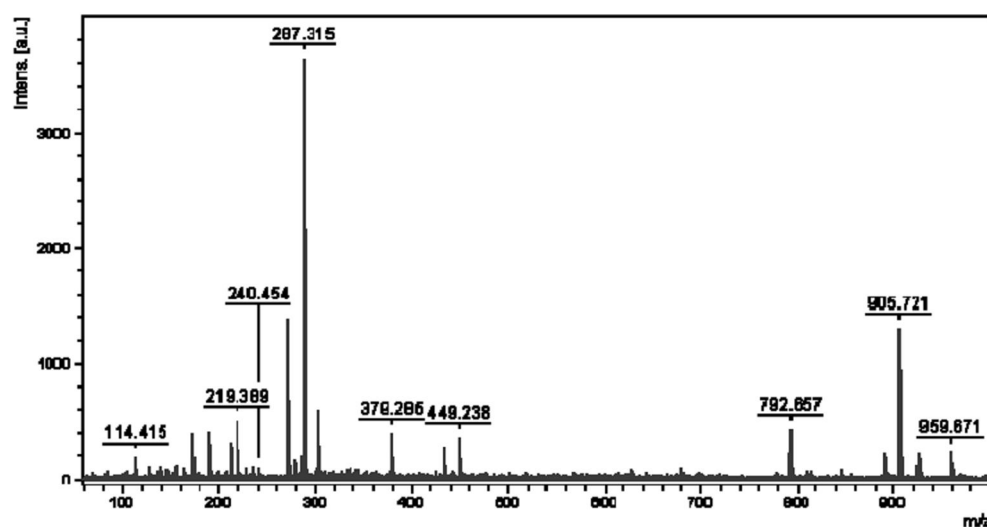


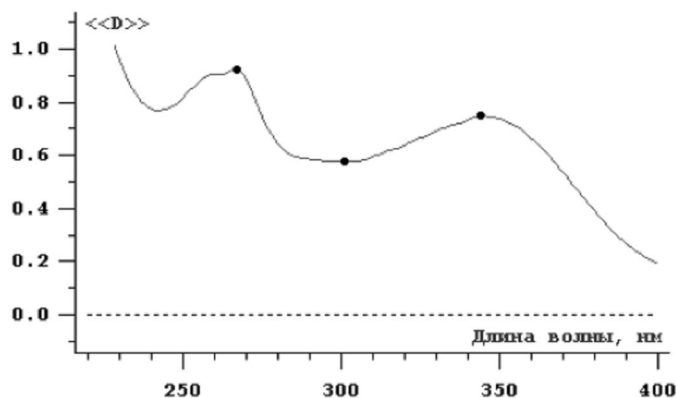
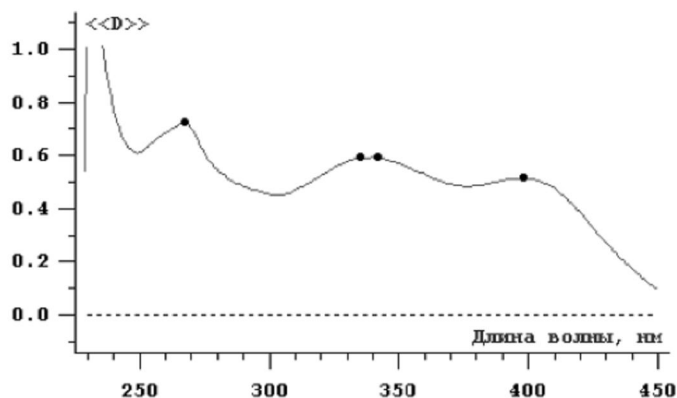
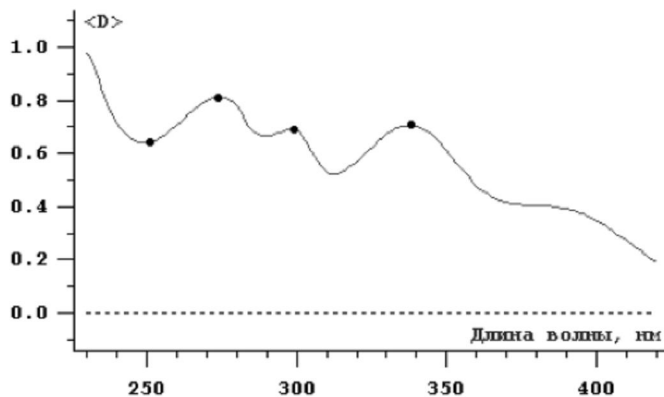
Рис. 4. Масс-спектр вещества фракции Φ_1

Шрот после обработки спиртом этиловым 96%-ным заливали спиртом этиловым 70% до зеркала и мацерировали в течение суток. Извлечение сливали, и сырьё снова заливали экстрагентом. Всего было сделано пять сливов. После объединения сливов получили 3,0 л извлечения, которое фильтровали и сгущали на испарителе ротационном ИР-1М3 до густой консистенции. Стущенную сумму разбавляли 4-кратным объёмом воды и оставляли на сутки в холодильнике. Выпавший после охлаждения смолистый осадок отфильтровывали. Фильтрат переносили в делительную воронку и обрабатывали несколькими порциями хлороформа до обесцвечивания слоя органического растворителя и далее этилацетатом. Этилацетатное извлечение сушили натрием сульфатом безводным и сгущали на ротационном испарителе (фракция II).

Далее оставшуюся испытуемую сумму подвергали фракционированию на колонке с полиамидным сорбентом (колонка 40×0.5 см, полиамид в виде суспензии в спирте этиловом 50%). Фракцию II предварительно смешивали с небольшим количеством сорбента, загружали в колонку и элюировали водными спиртами в соотношениях 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1 и чистым спиртом этиловым. Фракции собирали по 10–15 мл. Состав элюата контролировали с помощью УФ-спектрофотометра. Фракции, содержащие одинаковые компоненты, объединяли и сгущали под вакуумом на водяной бане. После объединения были выделены вещества X_{1-4} , которые на основании проведённых качественных реакций и изучения хроматограмм отнесены к флавоноидам и оксикоричным кислотам.

Вещество X_1 В УФ-спектре вещества наблюдались максимумы λ_{max} 268, 337 нм, что характерно для флавонов (рис. 5).

Характерный батохромный сдвиг первой полосы ($\lambda = 50$ нм) при взаимодействии с алюминия хлоридом (рис. 6) и исчезающий при добавлении кислоты хлористоводородной (рис. 7) указывает на свободную гидроксигруппу в положении 5.

Рис. 5. УФ-спектр вещества X_1 Рис. 6. УФ-спектр вещества X_1 после добавления алюминия хлоридаРис. 7. УФ-спектр вещества X_1 с алюминия хлоридом после добавления кислоты хлористоводородной

Батохромия с ацетатом натрия на 17 нм говорит о наличии свободного гидроксила у C_7 .

В масс-спектре исследуемого вещества (рис. 8) наблюдался интенсивный пик иона с зарядом $m/z = 271.355$.

Таким образом, при совокупности исследования установлено, что вещество X_1 является апигенином.

Вещество X_2 в УФ-спектре имеет две полосы поглощения с максимумами в области 335 нм (I) и 268 нм (II), что характерно для флавонов с паразамещением в боковом фенильном радикале (рис. 9).

Анализ УФ-спектров соединений с диагностическими добавками (алюминия хлорид) указывает на то, что в положениях 5 и 4' имеются свободные гидроксигруппы (рисунок 10).

Под влиянием ацетата натрия не наблюдается батохромного сдвига максимумов, что указывает на отсутствие свободной гидроксигруппы в положении C_7 .

В масс-спектре вещества наблюдался интенсивный пик иона с зарядом $m/z = 271.352$ соответствующий агликону апигенину и менее интенсивный пик иона с зарядом $m/z = 433.221$ соответствующий его гликозидной форме (рис. 11).

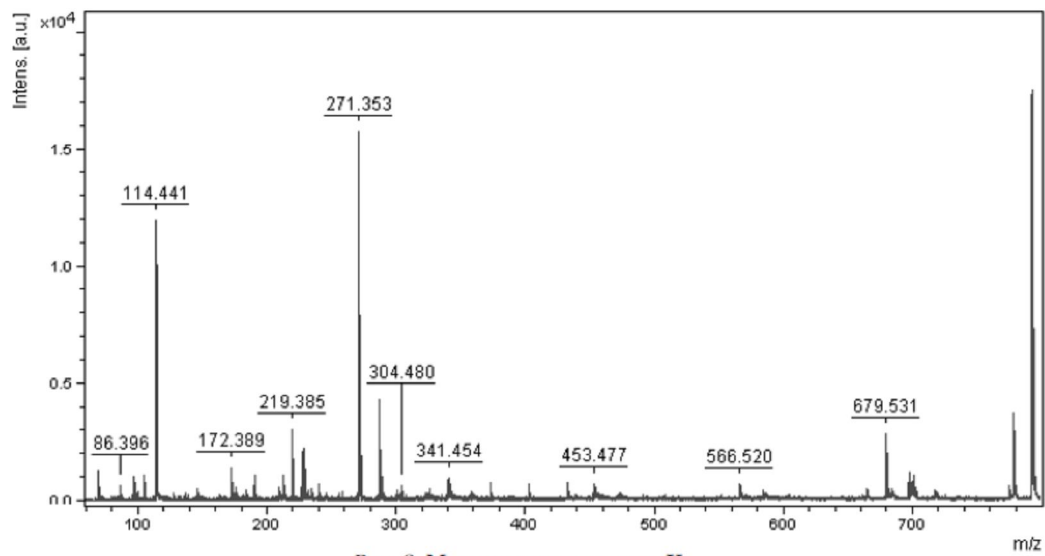


Рис. 8. Масс-спектр вещества X₁

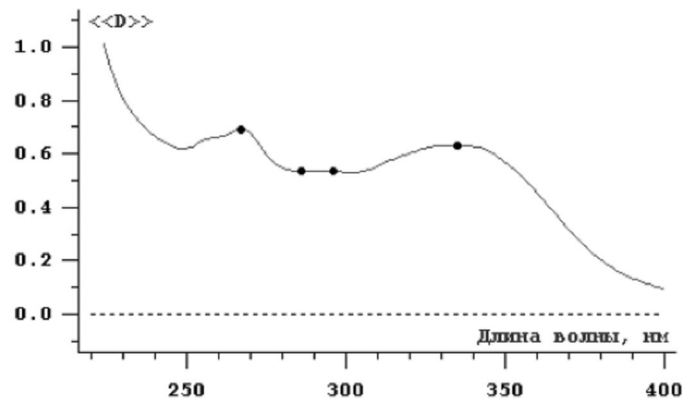


Рис. 9. УФ-спектр вещества X₂

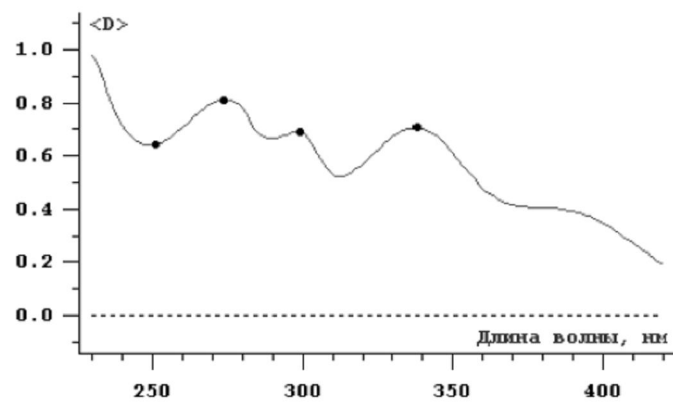
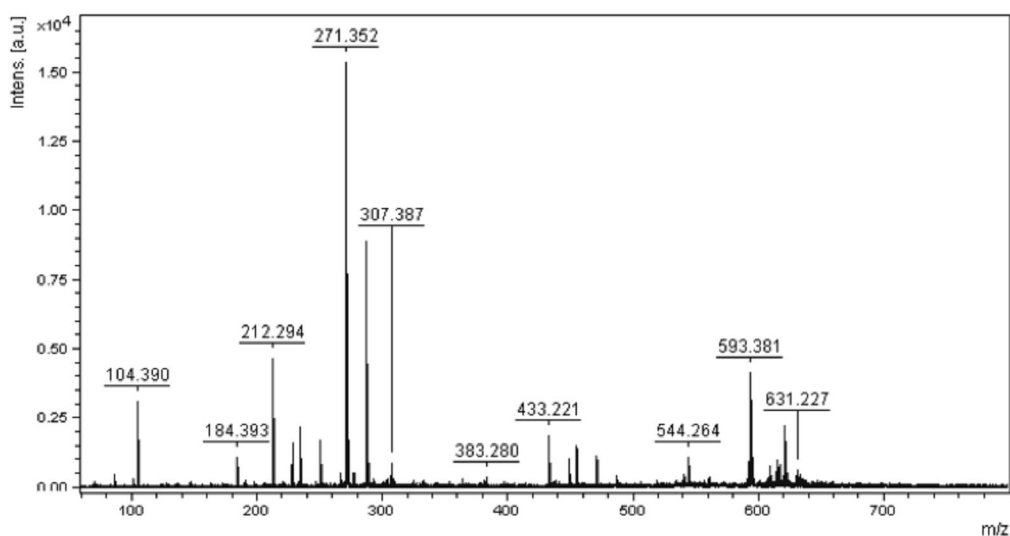


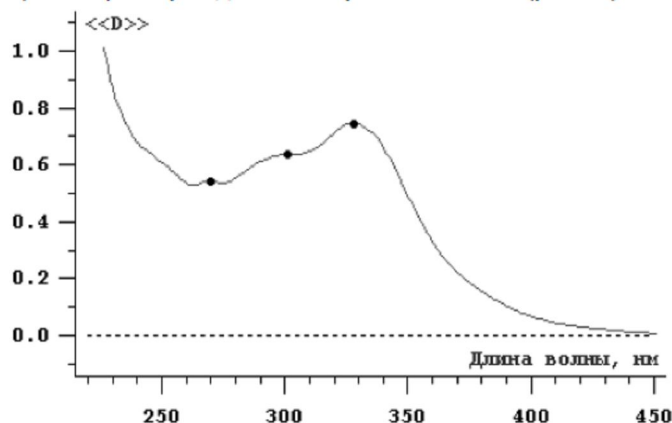
Рис 10. УФ-спектр вещества X₂ с алюминия хлоридом

Рис. 11. Масс-спектр вещества X₂

Таким образом, по совокупности результатов исследования нами доказано, что соединение X₂ представляет собой апигенин-7-гликозид.

Далее установлено, что вещество X₃ соответствует ранее выделенному веществу Φ₁.

Вещество X₄ в УФ-спектре имело максимумы поглощения при λ = 330 нм, 305 нм и 262 нм, что характерно для оксикоричных кислот (рис. 12).

Рис. 12. УФ-спектр вещества X₄

В масс-спектре данного вещества находился один интенсивный пик иона с зарядом m/z = 219,286 (рис. 13), что соответствует калиевой форме кофейной кислоты.

Таким образом, на данном этапе исследований химического состава будры плющевидной удалось выделить и идентифицировать флавоноиды апигенин, апигенин-7-гликозид, лютеолин-7-гликозид, кофейную кислоту. Полученные результаты можно рекомендовать для дальнейших химических и фармакологических испытаний данного растения.

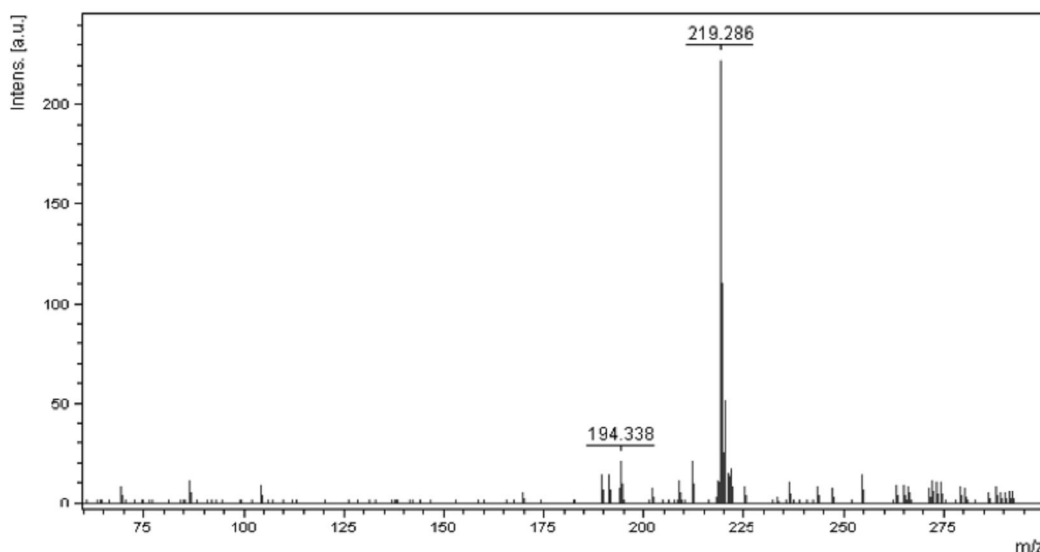


Рис. 13. Масс-спектр вещества X₄

Список литературы

1. Дикорастущие полезные растения России / Отв. ред. А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская. – СПб.: Изд-во СПХФА, 2001. – 663 с.
2. Растительные лекарственные средства / Под ред. Н.П. Максютинной. – Киев: Здоров'я, 1985. – 102 с.
3. Энциклопедический словарь лекарственных растений и продуктов животного происхождения: учеб. пособие / Под ред. Г.П. Яковлева, К.Ф. Блиновой - СПб.: Изд-во СПХФА, 2002. – 407 с.

THE CHEMICAL STUDY OF THE TUNHOOF (*GLECHOMA HEDERACEA* L.) FLAVONOIDS

**D.I. Pisarev, O.O. Novikov
V.N. Sorokopudov
A.S. Shabel'nikova
N.N. Netrobenko**

*Belgorod State University
Pobedy St., 85, Belgorod,
308015, Russia
E-mail: Pisarev@bsu.edu.ru*

The article presents the data on the chemical study of tunhoof herb as a promising source of flavonoids. Luteolin-7-glucoside, apigenin, apigenin-7-glucoside, caffeic acid were found in the tunhoof herb by means of thin layer chromatography and ultraviolet spectrophotometry. Further chemical and pharmacological tests of the plant can be recommended.

Key words: herb of tunhoof, flavonoids, apigenin-7-glucoside, luteolin-7-glucoside, caffeic acid.