



ИЗУЧЕНИЕ ФЛАВОНОИДНОГО СОСТАВА ТРАВЫ ЛОФАНТА АНИСОВОГО

О.С. Воронкова¹, Д.И. Писарев¹

О.О. Новиков¹, В.К. Тохтарь¹

В.С. Казакова¹, Е.Г. Яковлева²

¹ Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: pisarev@bsu.edu.ru

² Белгородская государственная сельскохозяйственная академия

Изучен флавоноидный состав лопанта анисового методами хроматографии в тонком слое сорбента, УФ-спектрофотометрии, масс-спектрометрии. Установлено, что основными флавоноидными компонентами являются гликозиды акацетина.

Ключевые слова: флавоноиды, акацетин, ТСХ, УФ-спектрофотометрия, масс-спектрометрия

Введение. Флавоноиды представляют собой один из наиболее распространенных, многочисленных и перспективных классов природных соединений [5].

Особый интерес представляют малоизученные источники флавоноидных соединений, так как именно они могут содержать редкие группы флавоноидов, ценные ввиду их высокой фармакологической активности, а также распространенные флавоноиды, в большем количестве, чем в известных источниках этой группы БАВ. В связи с вышеизложенным определен интерес представляет лопант анисовый. В химическом отношении данное растение изучено недостаточно. Однако широкий спектр фармакологической активности, а также его активное использование в народной медицине создали предпосылки для более глубокого и всестороннего исследования лопанта.

Лопант анисовый (*Lophanthus anisatus Benth.*) – многолетнее травянистое растение высотой 1 м семейства Яснотковые (*Lamiaceae*), относящееся к роду мяты (*Agastache*), к отделу *Agastache*. Растёт в виде куста на одном месте до 6 лет и дольше. Корень мочковатый. Побеги многочисленные, четырехгранные. Листья черешковые, сердцевидно-ланцетовидные, редкозубчатые, длиной 7,5-10 см и шириной 4-4,5 см. Цветки обоеполые, синие. Собраны в колосовидные соцветия длиной 2-10 см, расположенные на осевых и боковых побегах. Плод – гладкий, продолговато-овальный, темно-коричневый орешек. Сырьем служит вся надземная масса, а также эфирное масло, в состав которого входят пинен, милонен, терпинен, камфен, пулегон, ментол, цинеол, линалоол, борнеол, метилхавикол, анетол, тимол, эвгенол [3, 6].

В лечебных целях используют всю наземную часть растения. В свежем и сухом виде его применяют при заболеваниях нервной, сердечно-сосудистой систем, желудочно-кишечного тракта, печени и мочевыводящих путей, для удаления камней из печени и почек, а также для повышения иммунитета [1].

Целью настоящего исследования явилось обоснование возможности использования лопанта анисового в качестве перспективного источника флавоноидов. Для реализации поставленной цели задачей настоящего исследования явилось химическое изучение флавоноидов лопанта анисового.

Материалы и методы. Для получения суммы флавоноидов воздушно-сухое сырьё травы лопанта анисового экстрагировали спиртом этиловым 70%-ным методом циркуляционной экстракции в аппарате «Соклет» до полного истощения сырья. Полученную вытяжку сгущали под вакуумом с помощью ротационного испарителя ИР-1МЗ. Сгущенную 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. Маточный раствор, полученный после обработки хлороформом, подогревали для удаления следов последнего, охлаждали и экстрагировали этилацетатом. Этилацетатное извлечение сушили натрия сульфатом безводным и сгущали на ротационном испарителе. Полученную фракцию разводили спиртом этиловым 96%-ным, переосаждали водой очищенной и оставляли в холодильнике на сутки. Выпавший осадок отделяли центрифугированием, высушивали в эксикаторе и очищали препаративной хроматографией в тонком слое силикагеля (веще-



ство Ф1). Маточник после отделения осадка сгущали под вакуумом и также очищали препаративной тонкослойной хроматографией в тонком слое силикагеля (вещество Ф2).

Для отнесения выделенных веществ к группе флавоноидов использовали качественные реакции и результаты хроматографирования.

Вещества Ф1 и Ф2 давали положительную цианидиновую пробу по Синоду и отрицательную по Брианту, что свидетельствует об их гликозидной природе.

Хроматографирование осуществляли в тонком слое силикагеля на пластинках «Сорбфил» в системе этилацетат – уксусная кислота – муравьиная кислота – вода (10:1:1:2,6). Хроматограммы просматривали в УФ-свете и проявляли хромогенными реактивами: парами 25% аммония гидроксида, 5% спиртовым раствором алюминия хлорида, 10% водным раствором натрия карбоната, результаты приведены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты качественных реакций флавоноидов на хроматограммах в тонком слое сорбента

Флавоноиды	Окраска пятен при проявлении реактивами			
	УФ-свет	УФ-свет + NH ₃	AlCl ₃ 5% спиртовый р-р в УФ-свете	5% водный р-р натрия карбоната
Ф1	Тёмно-жёлтая	Ярко- жёлтая	Ярко-жёлтая	Жёлтая
Ф2	Тёмно-жёлтая	Зелёная	Жёлтая	Жёлтая

Для определения структуры выделенных веществ нами использован подход, заключающийся в сочетании двух методов: УФ-спектрофотометрии и масс-спектрометрии, что позволяет с предельной точностью экспрессно идентифицировать выделенное соединение.

Для установления расположения гидроксильных групп в структуре соединения использовали шифт-реактивы.

Используя УФ-спектрофотометрию с шифт-реактивами, можно добиться выявления определённых диагностических признаков в структуре исследуемого соединения, в частности расположение гидроксильных групп и их гликозидирование. После добавления шифт-реактива в исходном спектре происходит сдвиг полос поглощения, и по характеру этих изменений делается вывод о наличии в соединении определённых структурных фрагментов [2, 5]. Привлечение масс-спектрометрии информирует о молярной массе вещества, а совпадение характера фрагментации неизвестного вещества и соединения предполагаемой структуры позволяет надёжно охарактеризовать строение соединения в целом [4].

В УФ-спектре вещества Ф1 – наблюдалось два максимума поглощения при λ = 268 и 322 нм, что характерно для флавонов (рис. 1).

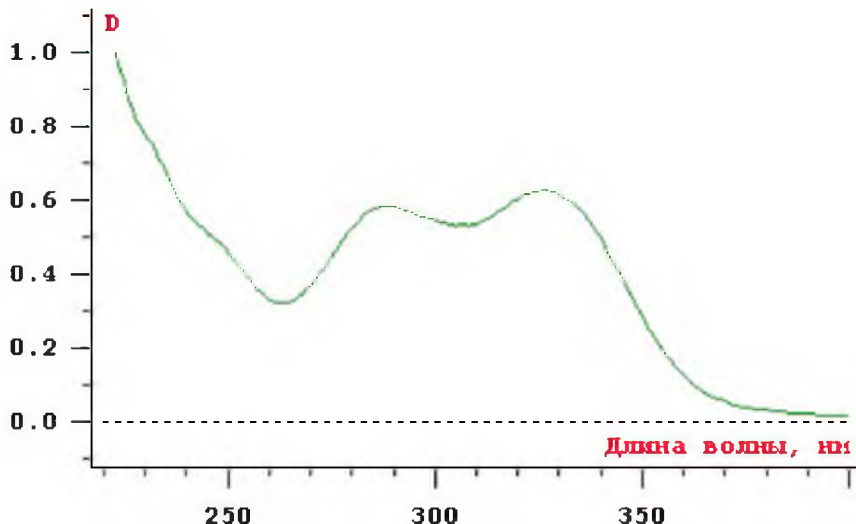


Рис. 1. УФ-спектр вещества Ф1

При использовании шифт-пробы с алюминия хлоридом не наблюдалось батохромного сдвига обеих полос поглощения, что свидетельствует об отсутствии свободной гидроксильной группы в 5 положении.

При добавлении натрия ацетата наблюдалась батохромия первой полосы поглощения, что свидетельствует о свободной гидроксильной группе в положении 7 (рис. 2).

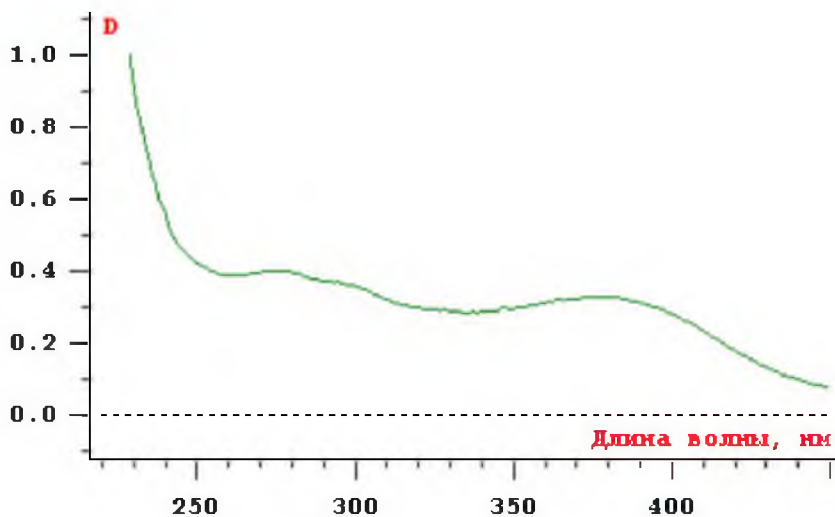


Рис. 2. УФ-спектр вещества Ф1 с использованием шифт-реактива натрия ацетата

При добавлении этилата натрия не наблюдалось батохромии, что свидетельствует об отсутствии гидроксила в положении 7 или его замещении.

В УФ-спектре вещества Ф2 – наблюдалось два максимума поглощения при $\lambda = 268$ и 322 нм, что свидетельствует о флавоновой природе вещества (рис. 3).

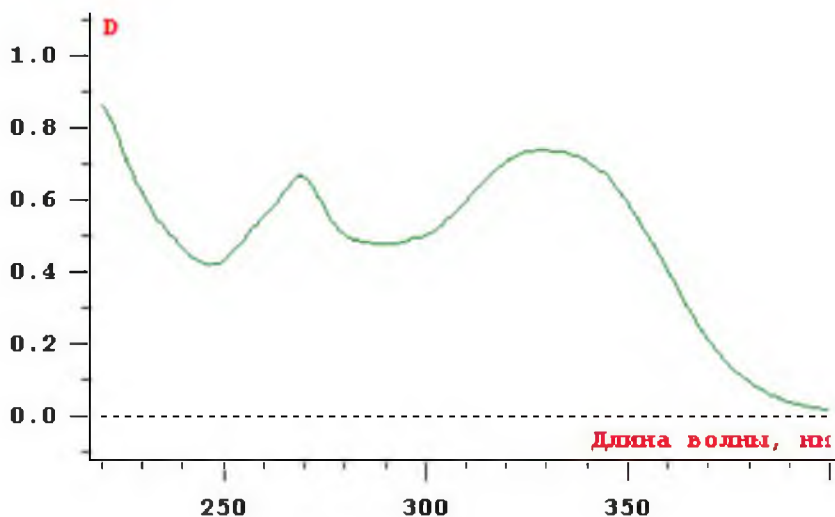


Рис. 3. УФ-спектр вещества Ф2

При использовании шифт-пробы с алюминия хлоридом наблюдался батохромный сдвиг обеих полос поглощения, который понижался при добавлении кислоты хлористоводородной, что свидетельствует о свободной гидроксильной группе в 5 положении (рис. 4 и 5).

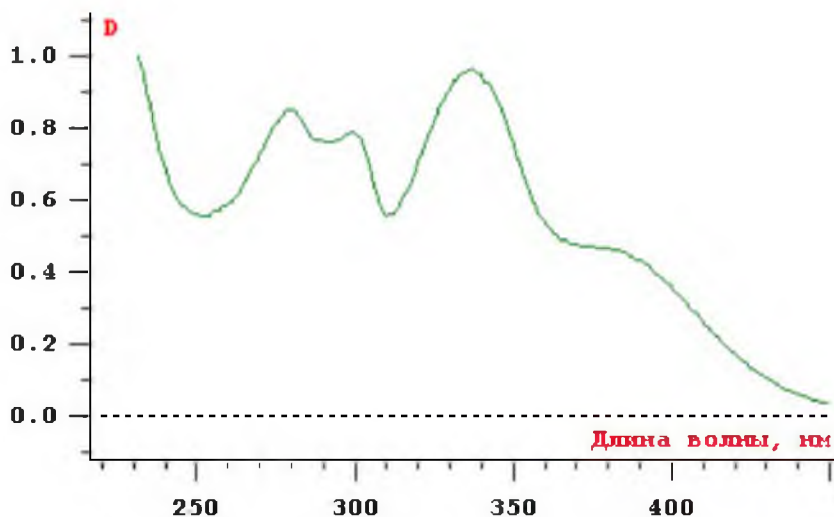


Рис. 4. УФ-спектр вещества Ф2 с использованием шифт-реактива алюминия хлорида

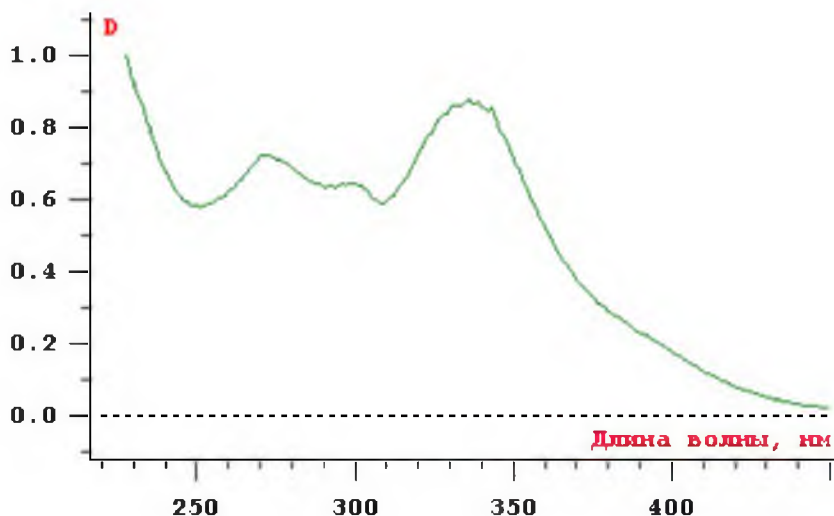


Рис. 5. УФ-спектр вещества Ф2 с шифт-реактивом алюминия хлоридам в присутствии кислоты хлороводородной концентрированной

При добавлении ацетата натрия не наблюдалось батохромии первой полосы поглощения, что свидетельствует об отсутствии свободной гидроксильной группе в положении 7.

При добавлении этилата натрия не наблюдалось батохромии, что свидетельствует об отсутствии гидроксила в положении 7 или его замещении.

Масс-спектры изучаемых веществ регистрировали на аппарате Autoflex II, с использованием в качестве матрицы – α -цианокоричной кислоты (рис. 5). В масс-спектре обоих изучаемых веществ наблюдался один наиболее интенсивный пик иона m/z иона = 285,306 соответствующий агликону акацетину, и менее выраженный пик иона m/z = 469,129, отвечающий их гликозидной структуре в виде натриевой формы.

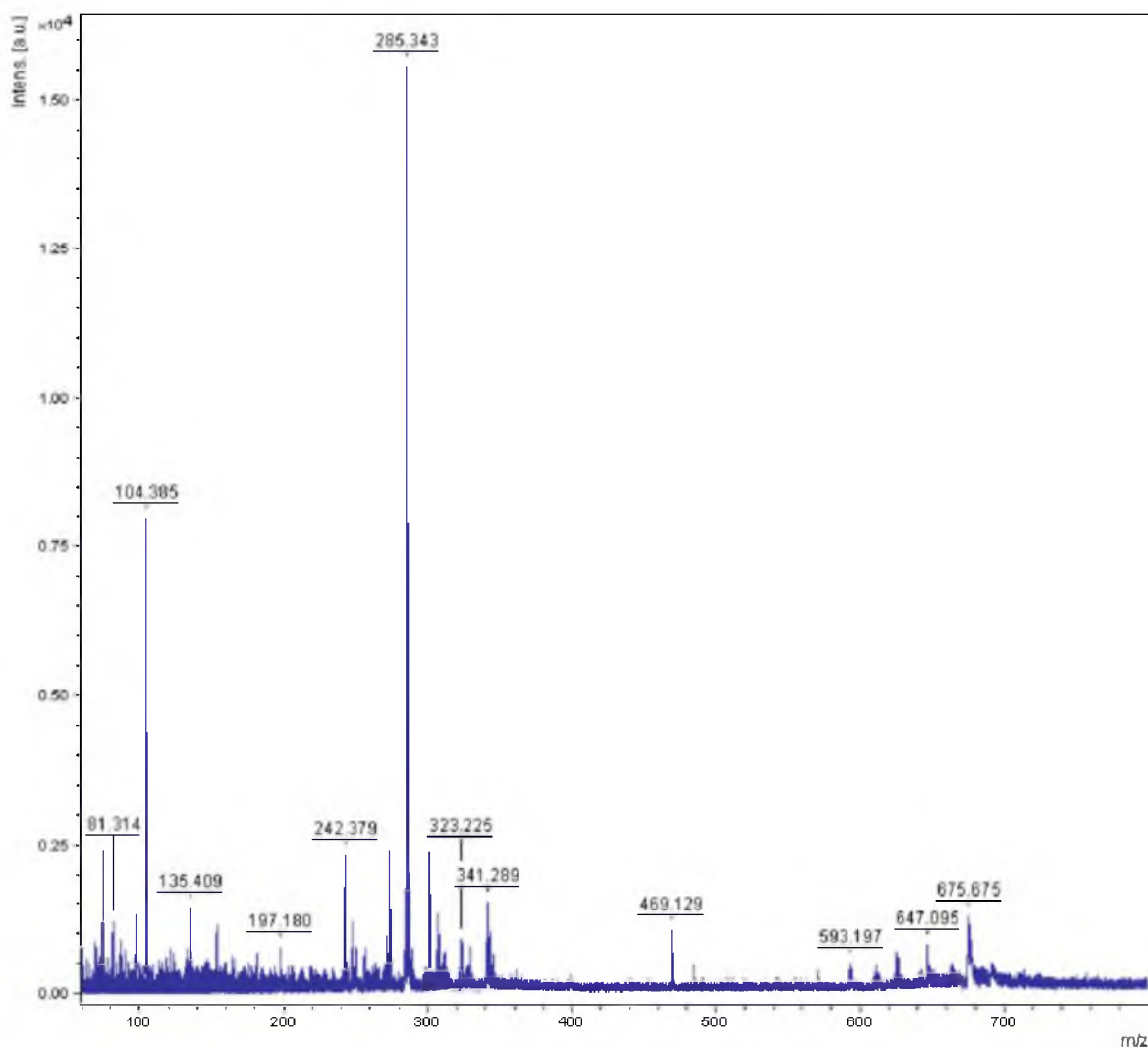


Рис.6. Масс-спектр веществ Ф 2-3

Таким образом, по совокупности результатов исследования можно предположить, что вещество Ф1 является акацетин-5-гликозидом, Вещество Ф2 также является гликозидом акацетина, содержащим сахарный компонент в 7-м положении.

Выводы. В результате наших исследований выделена сумма флавоноидов травы лофанта анисового. Используя сочетание химических реакций, тонкослойной хроматографии, УФ-спектроскопии с шифт-реактивами и масс-спектрометрии удалось установить, что основными флавоноидными компонентами травы лофанта анисового являются гликозиды акацетина.

Работа выполнена в рамках реализации федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 гг., Государственный контракт № П425 от 12 мая 2010 г.

Литература

1. Дикорастущие полезные растения России / отв. ред. А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская. – СПб.: Изд-во СПХФА, 2001. – 663 с.
2. Клышев, Л. К. Флавоноиды растений (распространение, физико-химические свойства, методы исследования) / – Алма-Ата: Наука, 1978. – 220 с.
3. Лавренёв, В. К. Полная энциклопедия лекарственных растений: в 2 т. / В.К. Лавренёв, Г.В. Лавренёва – СПб.: Издательский Дом Нева; М.: ОЛМА-ПРЕСС, 1999. – Т.2. – 816 с.
4. Органическая химия: учеб. Для вузов: 2 кн. – Кн 2: Специальный курс / Н.А. Тюкавкина, С.Э. Зурабян, В.Л. Белобородов и др.; под ред. Н.А. Тюкавкиной. – М.: Дрофа, 2008. – 592 с.



5. Отто, М. Современные методы аналитической химии. 2-е изд., испр. / М. Отто. – М.: Техносфера, 2006. – 416 с.

6. Черепанов, С. К. Сосудистые растения России и сопредельных государств / С.К. Черепанов – СПб.: Мир и семья – 95, 1995. – 990 с.

STUDY OF FLAVONOID COMPOSITION OF *LOPHANTHUS ANISATUS*

O.S. Voronkova¹, D.I. Pisarev¹
O.O. Novikov¹, V.K. Tokhtar¹
V.S. Kazakova¹, E.G. Yakovleva²

¹ *Belgorod National Research University*

e-mail: pisarev@bsu.edu.ru

² *Belgorod State Agricultural Academy*

Flavonoid contents of *Lophanthus anisatus* was studied by TLC, UV-spectrometry and mass-spectrometry. It was established that the main flavonoid components are acacetin's glycosides.

Key words: *Lophanthus anisatus*, flavonoids, acacetin, TLC, UV-spectrometry, mass-spectrometry.