

## ФАРМАЦИЯ

УДК 615.322: 582.998.1: 543.061

### ИЗУЧЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЛИСТЬЕВ СЛИВЫ КОЛОЧЕЙ (PRUNUS SPINOSA L.) МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

**И.А. Сафонова**  
**В.Я. Яцюк**

*Курский*  
*государственный*  
*медицинский*  
*университет*

*e-mail: Isafon@yandex.ru*

Методом ВЭЖХ проведен качественный анализ фенольных соединений листьев сливы колючей (*Prunus spinosa* L.). В спиртовом извлечении, полученном методом мацерации, найдено 70 веществ. 20 из них идентифицированы: среди них фенолкарбоновые кислоты, производное оксистерилбена, кумарины, флавоны, флавонолы, флавононы, изофлавоноиды и их производные. 17 соединений в данных объектах исследования идентифицированы впервые.

Ключевые слова: фенольные соединения, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, слива колючая, розоцветные, ВЭЖХ.

В настоящее время одной из актуальных проблем современной медицины является расширение ассортимента отечественных фармацевтических препаратов из лекарственного растительного сырья, преимущество которых состоит в мягкости действия, малой токсичности и аллергенности, широком спектре терапевтического действия. Одним из способов решения этой проблемы является изучение и внедрение в медицинскую практику растений, используемых в народной медицине. К обширной группе растений, представляющих пищевую и лекарственную ценность относится терн, или слива колючая (*Prunus spinosa* L.) семейства Rosaceae. Растение широко распространено в Европейской части, на Кавказе, в Средней Азии как декоративное, так и в дикорастущем виде. Это отличное кормовое растение для скота, медонос и перганос. Зрелые плоды применяют для изготовления варенья, джемов, маринадов, компотов, кваса. Незрелые маринованные плоды сливы колючей – это заменитель маслин во Франции. Высушенные и поджаренные плоды, сухие листья издавна использовались как чайные суррогаты [3, 4].

Все органы растения широко используются в народной медицине. Сок плодов обладает антибактериальными и антифаговыми свойствами, его применяют при кровотечениях из носа, для полоскания горла и рта, при воспалениях десен и нёба. Настой плодов проявляет протистоцидную активность в отношении лямблий. Сухие плоды, корни, отвар коры, настои и отвары ветвей, листьев и цветков используются как слабительное при хронических запорах, жидкий экстракт сухих плодов – как закрепляющее средство при хронических диареях различной этиологии. Настои и отвары листьев и цветков, ветвей оказывают диуретическое действие при нефритах и цистуретритах. Корни рекомендуются при желудочно-кишечных заболеваниях, их отвар – при зубной боли. Отвар коры стволов обладает жаропонижающим действием, его назначают при малярии. Наружно – при белях, рожистом воспалении, гнойничковых заболеваниях кожи применяют отвар коры, настои листьев и цветов. Цветки используются как отхаркивающее средство, при аденоме простаты, при желудочных коликах, болезнях печени, невралгиях, при нарушениях обме-



на веществ, метеоризме, тошноте, одышке, как потогонное. В гомеопатии цветки используются при коликах, головной боли, циститах, метеоризме, экссудативном плеврите, асците, дисменорее и белях. Флавоноидные комплексы листьев и цветков проявляют миотропную, спазмолитическую активность, оказывают противовоспалительное действие и понижают проницаемость сосудов [2, 3, 4].

Из данных литературы известно, что в растении содержится целый комплекс биологически активных веществ. Наиболее изучены плоды, в которых установлено наличие углеводов, пектина, тритерпеноидов; стероидов: ситостерина, витаминов (С, Е, каротина), кумаринов (умбеллиферона, скополетина), дубильных веществ (в том числе катехинов), флавоноидов (рутина, авикулярина, кверцитрина, изокверцитрина); антоцианов (гликозидов цианидина и пеонидина), высших алифатических углеводов. В семенах содержится стероиды и жирное масло, компонентами которого являются пальмитиновая, стеариновая, пальмитолеиновая, олеиновая, линолевая, элеостеариновая кислоты. В плодах и семенах определено наличие синильной кислоты. В корнях содержится кумарин эскулетин, в древесине – лейкоантоцианидины [4].

В листьях и цветках содержатся флавоноиды (кемпферол, кверцетин, их моно- и дигликозиды), тритерпены и стеролы. [4, 6, 7, 8] Также в листьях найдены витамины С, Е, фенолкарбоновые кислоты (в гидролизате феруловая и кофейная), антоцианы (производные цианидина). [4]

Многие из этих соединений интересны с фармакологической и терапевтической точек зрения, что требует более детального их изучения современными методами. Для изучения различных групп фенольных соединений, выделяемых из растений, широко применяется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), который отличается высокой чувствительностью и точностью и позволяет достоверно судить о составе изучаемой группы биологически активных веществ. В связи с этим, целью нашей работы было исследование фенольных соединений сливы колючей методом ВЭЖХ.

**Материалы и методы исследования.** В качестве объектов исследования были использованы листья сливы колючей, собранные в фазу цветения – начала плодоношения на территории Курской области в 2008 году. Изучение фенольных соединений листьев сливы колючей проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе фирмы «Waters» с последующей компьютерной обработкой результатов исследования с помощью программы Мультихром для «Windows».

Для разделения компонентов была использована колонка INERTSILODS-2.5  $\mu\text{m}$  150x4,6 мм; метод – градиентного элюирования. В качестве подвижной фазы – система растворителей ацетонитрил – вода- кислота ортофосфорная. Градиент линейный: от 8% до 40% ацетонитрила в 0,1% растворе кислоты ортофосфорной. Скорость подвижной фазы 1 мл/мин. Объем вводимой пробы – 10 мкл. Детектирование проводилось с помощью УФ-детектора при длине волны 254 нм. Продолжительность анализа 64 мин.

При приготовлении извлечения воздушно-сухое сырье измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 1мм. В колбу объемом 250 мл помещали 3,0 г измельченного сырья и прибавляли 50 мл 70% спирта этилового. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 мин от момента закипания спиртоводной смеси. Извлечение после охлаждения фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили объем 70% спиртом этиловым до метки.

Параллельно готовили серию 0,05% растворов стандартных образцов (PCO) в спирте этиловом. Время удерживания определяли для каждого вещества в отдельности и на модельных смесях. По 10 мкл исследуемого раствора и PCO вводили в хроматограф и хроматографировали по выше приведенной методике.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Данные, полученные при помощи ВЭЖХ, свидетельствуют о том, что в листьях сливы колючей содержится богатый набор фенольных соединений: производные бензо- $\gamma$ -пирана (флаваноны, флавоны, флавонолы, изофлавоноиды, их О-моноголикозиды, О-биозиды и метилиро-

ванные производные), бензо- $\alpha$ -пирона (кумарины), производное оксистерильбена, а также фенолкарбоновые кислоты. Всего в составе проанализированного извлечения определено 70 соединений (рисунок).

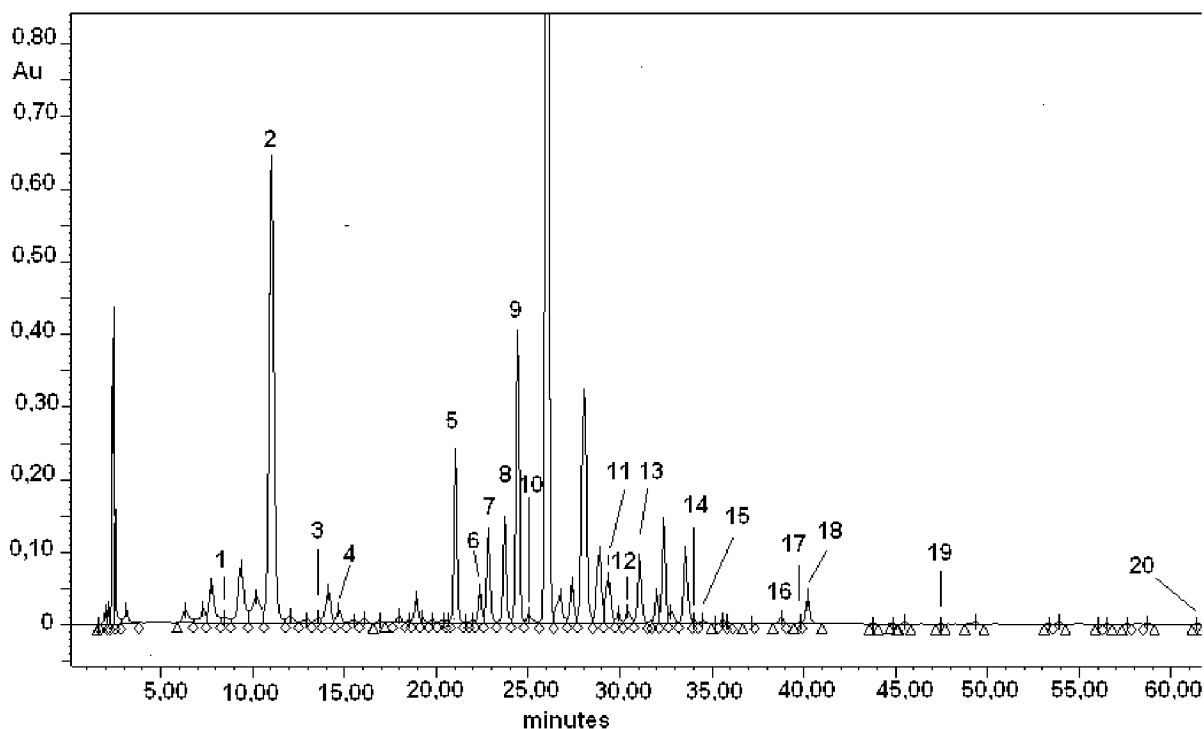


Рис. Хромотограмма фенольных соединений листьев сливы колючей

По времени удерживания РСО, отдельных компонентов модельных смесей РСО и исследуемых растворов установлено, что качественный состав фенольных соединений извлечения представлен фенолкарбоновыми кислотами (хлорогеновой (2), кофейной (3), розмариновой (15) и салициловой (14)), кумаринами (эскулином (1), герниарином (18), эскулетином (22)), флавонами и их производными (лютеолином (19), апигенином (22), витексина-О-рамнозидом (6), цинарозидом (10), байкалином (17)), флавонолами и их производными (кверцетин (20), 3,4-изорамнетина диглюкозидом (4), робинином (4), рутином (8), гиперозидом (9), изофлавоноидом (софорикозидом (13)), флаваном (нарингенином (7)), производным оксистерильбена (резвератролом (16)).

Количественное соотношение веществ полифенольной природы в изучаемом извлечении установлено методом внутренней нормализации [5]. По данным ВЭЖХ все вещества, содержащиеся в извлечении, можно разделить на 3 подгруппы в зависимости от относительного содержания каждого. 1 группа – вещества, площадь индивидуального пика которых составляет более 1% от суммарной площади всех пиков, 2 группа – 0,5-1,0%, 3 группа – менее 0,5%. В первую группу входят 19 веществ. Их суммарная доля среди всех детектированных веществ составляет 90,39 % . 7 из них идентифицировано. Во вторую группу входят 5 веществ, 2 из них идентифицированы. В 3 группе – 48 веществ, 11 из них идентифицированы. В таблице 1 приведены данные о всех веществах 1 группы и идентифицированных веществах 2 и 3 групп.

Доля идентифицированных соединений составляет 35,24% от всех детектированных. Из идентифицированных флавоноидов преобладает гликозид кверцетина – гиперозид, из фенолкарбоновых кислот – хлорогеновая кислота.

Фенолкарбоновые кислоты (хлорогеновая, салициловая, розмариновая), кумарины (герниарин, эскулин), производное оксистерильбена (резвератрол), флавоны и их производные (витексин-О-рамнозид, цинарозид, байкалин), флавонолы и их производные (3,4-изорамнетина диглюкозид, робинин) изофлавоноид (софорикозид), фла-



ванон (нарингенин) в данном растении идентифицированы впервые. Гиперозид впервые определен в листьях.

На основании полученных результатов можно сделать выводы, что листья сливы колючей являются перспективным объектом исследований по поиску биологически активных веществ фенольного характера с целью создания новых лекарственных препаратов и БАД.

Таблица

**Результаты исследования фенольных соединений в листьях сливы колючей методом ВЭЖХ**

№	Название	Время удерживания, мин	Относительное содержание, %
1	Неидентифиц.	2,471	4,47
2	Неидентифиц.	7,761	1,37
3	Эскулин (1)*	8,435	0,28
4	Неидентифиц.	9,366	2,23
5	Неидентифиц.	10,204	1,52
6	Хлорогеновая кислота (2)	11,019	14,80
7	Кофейная кислота (3)	13,581	0,19
8	Неидентифиц.	14,134	1,07
9	3,4-изорамнетина диглюкозид (4)	14,688	0,39
10	Робинин (5)	21,040	3,42
11	Витексин-О-рамнозид (6)	22,369	0,71
12	Нарингенин (7)	22,818	2,12
13	Рутин (8)	23,722	2,19
14	Гиперозид (9)	24,423	6,16
15	Цинарозид (10)	25,023	0,30
16	Неидентифиц.	25,991	31,68
17	Неидентифиц.	26,739	1,11
18	Неидентифиц.	27,388	1,02
19	Неидентифиц.	28,065	7,57
20	Неидентифиц.	28,879	2,26
21	Софорикозид (11)	29,347	1,58
22	Салициловая кислота (12)	30,427	0,39
23	Розмариновая кислота (13)	31,060	1,59
24	Неидентифиц.	32,386	2,30
25	Неидентифиц.	33,546	1,93
26	Резвератрол (14)	34,013	0,08
27	Байкалин (15)	34,513	0,10
28	Герниарин (16)	38,778	0,18
29	Лютеолин (17)	39,813	0,05
30	Кверцетин (18)	40,215	0,68
31	Апигенин (19)	47,433	0,01
32	Эскулетин (20)	61,405	0,02

Примечание. \* – (1) – цифры обозначают номер пика на хроматограмме.



### Литература

1. Изучение фенольного состава подземных органов сабельника болотного [Текст] / О.Л. Жукова [и др.] // Вестник Московского Университета. Сер.2.Химия. – 2006. – Т.47, №5. – С.342–346.
2. Йорданов, Д. Фитотерапия [Текст] / Д. Йорданов, П. Наколов, А. Бойчинов – 2-е изд. – София, 1970. – 342 с.
3. Лекарственные растения: Терн [Электронный ресурс] / Справочно-информационный Интернет-портал «Медицина. Харьков», 2008.  
Web: <http://www.medicina.kharkov.ua/herbal/tern.html> – Загл. с экрана.
4. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Hydrangeaceae – Haloragaceae [Текст]. – Л.: Наука, 1987. – 326 с.
5. Стыскин, Е.Л. Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография [Текст] / Е.Л.Стыскин, Л.Б.Ициксон, Е.В.Брауде. – Москва, 1986. – 204 с.
6. Olszewska, M. Flavonoids from the flowers of *Prunus spinosa* L. [Text]/ M. Olszewska, M. Wolbis // Acta poloniae pharmaceutica. – 2001. – Vol.58, №5. – P.367–372.
7. Olszewska, M. Further flavonoids from the flowers of *Prunus spinosa* L. [Text]/M. Olszewska, M. Wolbis // Acta poloniae pharmaceutica. – 2002. – Vol.59, №2. – P.133–137
8. Wolbis, M. Triterpenes and sterols in the flowers and leaves of *Prunus spinosa* L. (*Rosaceae*) [Text] / M. Wolbis, M. Olszewska, W. J. Wesolowski // Acta poloniae pharmaceutica. – 2001. – Vol.58, №6. – P.459–462.

## STUDYING OF PHENOLIC COMPOUNDS OF PRUNUS SPINOSA L. LEAVES BY HIGHLY PROGRESSIVE LIQUID CHROMATOGRAPHY-METHOD

**I.A. Safonova**  
**V.Y. Yatzuk**

*Kursk State*  
*Medical University*

*e-mail: Isafon@yandex.ru*

The qualitative analysis of phenolic compounds of *Prunus spinosa* leaves was made with the HPLC method. 70 compounds are found in the alcohol extract, received by maceration. 20 of them are identified: among them there are phenolcarboxylic acids, oxystilbene derivative, coumarines, flavones, flavonoles, isoflavones, flavanones and their derivatives. 17 compounds in this investigation objects have been identified for the first time.

Keywords: phenolic compounds, flavonoides, phenolcarboxylic acids, *Prunus spinosa*, *Rosaceae*, HPLC.