



ИЗУЧЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЛИСТЬЕВ ШИПОВНИКА МАЙСКОГО (ROSAMAJALIS.) МЕТОДОМ ВЭЖХ

И.А. САФОНОВА¹
В.Я. ЯЦЮК¹
И.А. СИЛЕНИН¹
А.А. САФОНОВ²

¹⁾ Курский государственный
медицинский университет

²⁾ Лицей №6, г. Курск

e-mail: Isafon@yandex.ru

Методом ВЭЖХ проведен анализ фенольных соединений листьев шиповника майского. В спиртовых извлечениях найдено 41 вещество, 15 из которых идентифицированы: среди них фенолкарбоновые кислоты, кумарины, флавоны, флавонолы, флаваноны и их производные. 11 соединений (эскулин, хлорогеновая, кофейная, п-кумаровая, розмариновая кислоты, витексин-О-рамнозид, робинин, нарингенин, гиперозид, циннарозид, арабенин, астрагалин, рутин) в листьях этого растения идентифицированы впервые.

Ключевые слова: фенольные соединения, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, шиповник майский, розоцветные, ВЭЖХ.

Введение. С конца прошлого века резко возрос интерес к традиционным методам лечения, к которым относится фитотерапия. Около 40% фармацевтической продукции в мире изготавливается на основе лекарственного растительного сырья. Содержащиеся в растениях вторичные метаболиты, в особенности фенольные соединения, являются источником получения лекарственных средств различных фармакологических групп: противовоспалительных, антиаритмических, антиоксидантных, гастро-и гепатопротективных, гемореологических и др. [4]. Одним из перспективных растений, обладающих значительными сырьевыми ресурсами на территории центральной России, является шиповник майский (*Rosa majalis* L.). По антиоксидантной активности он лидирует среди растений семейства Rosaceae, а также среди растений, предназначенных для лечения и профилактики воспалительных заболеваний печени [1, 3]. Из данных литературы известно, что в растении содержится целый комплекс биологически активных веществ. Наиболее полно изучены плоды шиповника майского, которые давно и широко используются в официальной и народной медицине как источники витамина С. Кроме того, установлено наличие в них углеводов, витаминов (Е, каротина), кумаринов, дубильных веществ, флавоноидов (рутина, авикулярина, кверцитрина, изокверцитрина); антоцианов, высших алифатических углеводов. В семенах содержатся стероиды и жирное масло, компонентами которого являются пальмитиновая, стеариновая, олеиновая, линолевая и другие высшие карбоновые кислоты. Другие части этого растения до настоящего времени современными научными методами изучены недостаточно и не используются официальной медициной. В народной медицине их издавна применяют при малокровии, гастритах с пониженной кислотностью желудочного сока, язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки. Листья прикладывают к коже при экземах. Отвары из корней рекомендуют при камнях в почках и мочевом пузыре [5].

В многогранном использовании шиповника в народной медицине во многом прослеживается связь с биологическим действием не только витаминов С и Р, но и других БАВ (в том числе фенольных соединений), обладающих широким спектром фармакологической активности. Для изучения различных групп фенольных соединений, выделяемых из растений, применяется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), который отличается высокой чувствительностью и точностью, позволяет достоверно судить о составе изучаемой группы биологически активных веществ [2]. В связи с этим, целью нашей работы было исследование фенольных соединений листьев шиповника майского методом ВЭЖХ.

Материалы и методы исследования. В качестве объектов исследования были использованы листья шиповника майского (*Rosa majalis* L.), собранные в фазу цветения – начала плодоношения на территории Курской области в 2008 и 2009 годах. Изучение фенольных соединений листьев шиповника 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 μm 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 – 70 мин.

Для приготовления извлечения воздушно-сухое сырье измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм. В 2 колбы помещали по 1,0 г измельченного сырья и прибавляли по 24 мл 70% спирта этилового. Одну колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 мин. от момента закипания спиртоводной смеси. Обе колбы оставляли на сутки в темном месте, после чего извлечения фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили объем 70% спиртом этиловым до метки.

Параллельно готовили серии 0,05% растворов стандартных образцов (PCO) в этаноле. 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 шиповника майского содержится богатый набор фенольных соединений: производные бензо-гамма-пирана (флаваноны, флавоны, флавонолы, их О-моногликозиды, О-биозиды и метилированные производные), бензо-альфа-пирона (кумарины), а также фенолкарбоновые кислоты. Всего в составе проанализированных извлечений определено 41 соединение (рис. 1, 2) При чем при данных режимах экстракции – качественный состав извлечений отличается незначительно.

Содержание 10 веществ уменьшается при нагревании, что говорит об их термолабильности.

По времени удерживания PCO, отдельных компонентов модельных смесей PCO и исследуемых растворов установлено, что качественный состав фенольных соединений извлечения представлен фенолкарбоновыми кислотами (хлорогеновой, кофейной, розмариновой, п-кумаровой), кумаринами (эскулином), флавонами и их производными (витексина-О-рамнозидом, цинарозидом, байкалином), флавонолами и их производными (робинином, рутином, гиперозидом, астрагалином, арабенином), флаваноном (нарингенином).

Количественное соотношение веществ полифенольной природы в изучаемом извлечении установлено методом внутренней нормализации [6]. Количественное содержание веществ определено в пересчете на рутин. (табл. 1)

По данным ВЭЖХ все вещества, содержащиеся в извлечении, можно разделить на 3 подгруппы в зависимости от относительного содержания каждого.

1-я группа – вещества, площадь индивидуального пика которых составляет более 1% от суммарной площади всех пиков, 2-я группа – 0,5-1,0%, 3-я группа – менее 0,5%. В 1-ю группу входят 16-17 веществ (в извлечении без нагревания и полученного с кипячением соответственно). Их суммарная доля среди всех детектированных веществ составляет 90,43%. 6 из них идентифицированы.

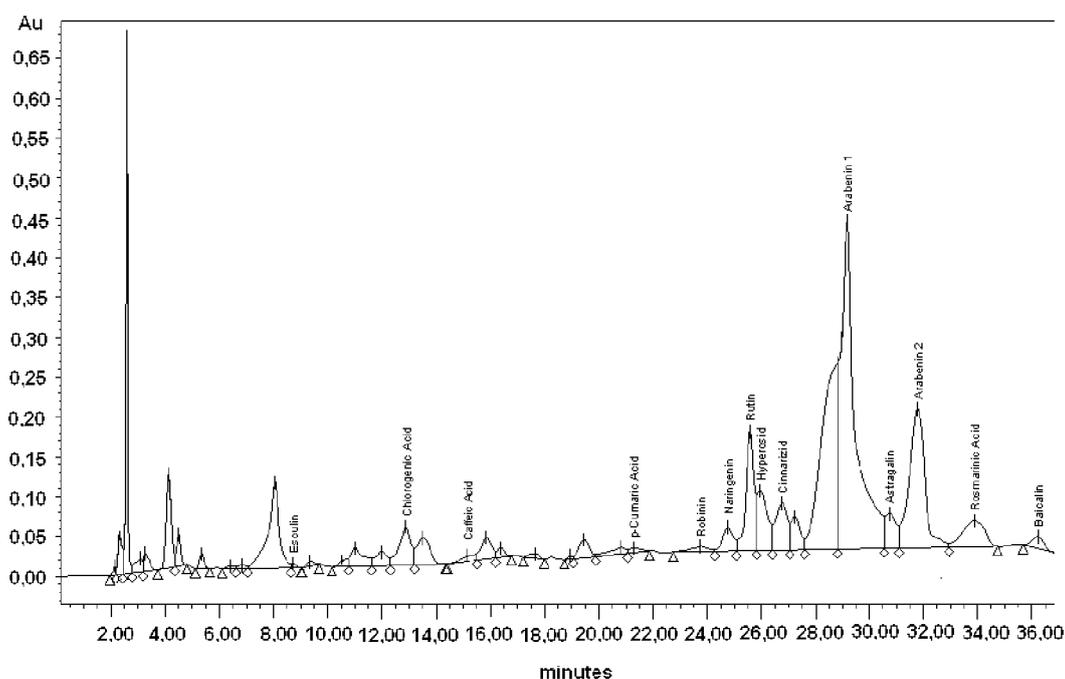


Рис. 1. Хроматограмма фенольных соединений листьев шиповника майского (*Rosa majalis* L.) (проба после кипячения)

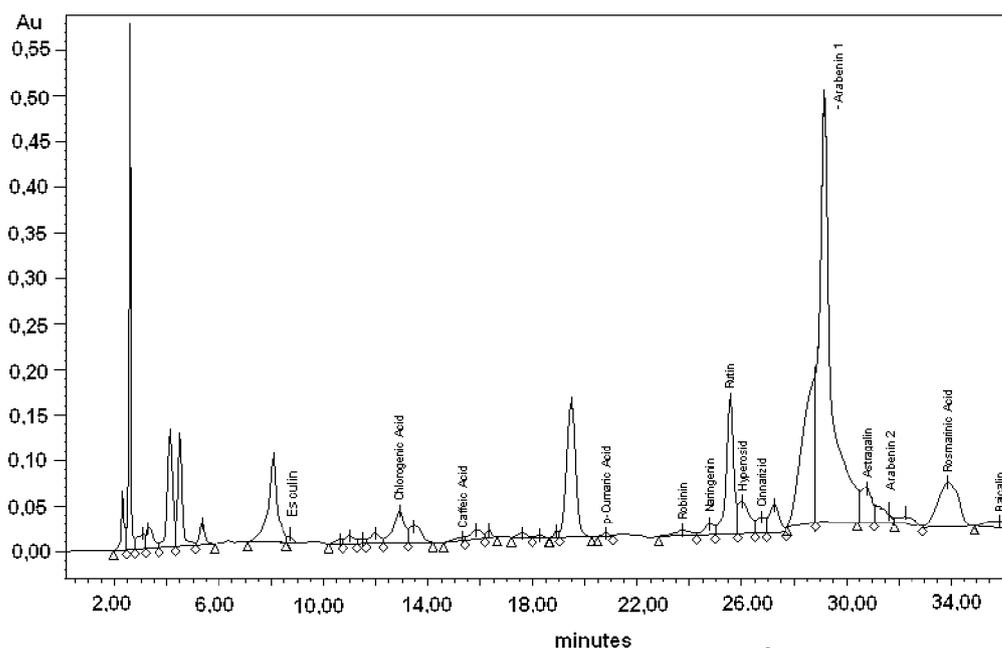


Рис. 2. Хроматограмма фенольных соединений листьев шиповника майского (*Rosa majalis* L.) (проба без кипячения)

Во 2-ю группу входят 7 веществ, 3 из них идентифицированы. В 3-й группе – 19 веществ, 5 из них идентифицированы. Доля идентифицированных соединений составляет 36,56% от всех детектированных.

Таблица

Результаты исследования фенольных соединений в листьях шиповника майского (*Rosa majalis* L.) методом ВЭЖХ

№	Соединения	RT		Количественное содержание (в пересчете на рутин)		Количественное соотношение, % (по площади пика)	
		1*	2*	1	2	1	2
1	2	3	4	5	6	7	8
1	Неизв.	-	2,144	-	0,008		
2	Неизв.	2,305	2,308	0,063	0,068	1,10	0,90
3	Неизв.	-	2,480	-	0,052		
4	Неизв.	2,590	2,589	0,309	0,340	5,44	4,50
5	Неизв.	3,086	3,083	0,041	0,041	0,73	0,54
6	Неизв.	3,277	3,257	0,053	0,039	9,93	0,51
7	Неизв.	4,127	4,125	0,227	0,199	4,00	2,63
8	Неизв.	4,502	4,496	0,176	0,053	3,10	0,71
9	Неизв.	5,347	5,347	0,042	0,026	0,74	0,34
9	Неизв.	6,432	6,413	0,008	0,008	-	0,10
10	Неизв.	6,839	6,827	0,010	0,011	-	0,14
11	Неизв.	8,067	8,052	0,256	0,381	4,51	5,05
12	Esculin	8,708	8,716	0,007	0,008	0,11	0,11
13	Неизв.	-	9,342	-	0,013	-	0,17
14	Неизв.	10,637		0,012	-	0,21	
15	Неизв.	10,991	11,002	0,026	0,117	0,46	1,55
16	Неизв.	11,499	-	0,013	-	0,23	
17	Неизв.	11,982	11,986	0,037	0,066	0,65	0,88
18	Chlorogenic Acid	12,897	12,874	0,132	0,178	2,32	2,35
19	Неизв.	13,454	13,496	0,074	0,139	1,30	1,84
20	Caffeic Acid	15,317	15,210	0,013	0,015	0,23	0,23
21	Неизв.	15,845	15,842	0,040	0,123	0,70	1,63
22	Неизв.	16,330	16,376	0,014	0,028	0,25	0,37



Окончание табл.

1	2	3	4	5	6	7	8
23	Неизв.	17,592	17,653	0,015	0,018	0,27	0,24
24	Неизв.	18,265	18,285	0,006	0,006	0,11	0,10
25	Неизв.	18,924	18,931	0,011	0,006	0,18	0,08
26	Неизв.	19,473	19,444	0,429	0,077	7,74	1,02
27	p-Cumaric Acid	20,807	20,810	0,007	0,045	0,12	0,59
28	Неизв.	-	21,292	-	0,023	-	0,30
29	Vitexin-o-Rhamnosid	23,210	23,492	-	0,008	-	0,11
30	Robinin	23,730	23,735	0,032	0,026	0,56	0,34
31	Naringenin	24,778	24,753	0,040	0,101	0,70	1,34
32	Rutin	25,566	25,574	0,183	0,194	6,46	5,16
33	Hyperosid	26,009	25,950	0,130	0,247	2,28	3,27
34	Cinnarozid	26,767	26,757	0,051	0,219	0,90	2,90
35	Неизв.	27,237	27,225	0,104	0,124	1,83	1,64
36	Неизв.	28,825	28,805	0,660	0,700	11,76	13,78
37	Arabenin 1	29,159	29,156	1,874	3,244	32,98	37,01
38	Astragalın	30,800	30,792	0,024	0,016	0,42	0,21
39	Arabenin 2	31,807	31,789	0,056	0,873	0,35	11,58
40	Rosmarinic Acid	33,890	33,885	0,323	0,232	5,68	3,07
41	Baicalin	35,892	36,250	0,063	0,061	1,11	0,81

Примечание: 1 – данные для извлечения, приготовленного без нагревания,
2 – данные для извлечения, приготовленного с кипячением.

Из идентифицированных флавоноидов преобладают гликозиды кверцетина – рутин и арабенин, из фенолкарбоновых кислот – розмариновая и хлорогеновая кислоты.

Фенолкарбоновые кислоты (хлорогеновая, розмариновая), кумарин (эскулин), флавоны и их производные (витексин-О-рамнозид, цинарозид, байкалин), флавонолы и их производные (робинин, гиперозид, астрагалин, арабенин, рутин), флаванон (нарингенин) в данном растении идентифицированы впервые.

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

Литература

1. Антиоксидантная и антирадикальная активность видов *Rosa L.* флоры Приморского края. / И.В. Мельникова, Н.И. Кулеш, Е.А. Кольцова, П.Е. Горовой // Растительные ресурсы. – 2002. – Т.38. – С. 25-33.
2. Жукова, О.Л. Изучение фенольного состава подземных органов сабельника болотного / О.Л. Жукова, А.А. Абрамов, Т.Д. Даргаева, А.А. Маркарян // Вестник Московского университета. Сер. 2. Химия. – 2006. – Т. 47, № 5. – С. 342-346.
3. Лубсандоржиева, П.Б. Содержание биологически активных веществ в некоторых растениях Забайкалья и их антиоксидантная активность / П.Б. Лубсандоржиева // Химия растительного сырья. – 2009. – № 3. – С. 133-137.
4. Лубсандоржиева, П.Б. Методика стандартизации антиязвенного растительного сбора / П.Б. Лубсандоржиева, Т.А. Ажунова, Л.Н. Шантанова, Л.Х. Муханова, А.А. Унагаева, С.М. Николаев // Сибирский медицинский журнал. – 2005. – Т. 51, № 2. – С. 64-67.
5. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Hydrangeaceae – Halogagaceae. – Л.: Наука, 1987. – 326 с.
6. Стыскин, Е.Л. Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография / Е.Л.Стыскин, Л.Б. Ициксон, Е.В. Брауде. – М., 1986. – 204 с.

STUDIYNG OF PHENOLIC COMPOUNDS OF ROSA MAJALIS (L.) BY HPLC-METHOD

I. A. SAFONOVA¹,
V.Y. YATCUK¹
I.A. SILENIN¹
A.A. SAFONOV²

¹ *Kursk State Medical University*

² *Lyceum № 6, Kursk*

e-mail: Isafon@yandex.ru

The High-performance liquid chromatography was the method of the analysis of phenolic compounds of *Rosa majalis* leaves. 41 compounds are found in the alcohol extract. 15 of them are identified: there are phenolcarboxylic acids, coumarines, flavones, flavonoles, flavanones and their derivatives there. 11 compounds (esculin, chlorogenic, caffeic, p-cumaric, rosmarinic acids, vitexin-o-rhamnosid, robinin, naringenin, hyperosid, cinnarozid, arabenins, astragalın in this plant have been identified for the first time. Rutin has been identified in this plant leaves for the first time.

Keywords: phenolic compounds, flavonoides, phenolcarboxylic acids, *Rosa majalis*, Rosaceae, HPLC.