



УДК: 615.3226 577.127.4

ГИДРОКСИКОРИЧНЫЕ КИСЛОТЫ НЕФАРМАКОПЕЙНЫХ ВИДОВ РОДА БОЯРЫШНИК

Н.Ф. ГОНЧАРОВ*Курский государственный
медицинский университет**e-mail: Fg.ksmu@mail.ru*

На основании результатов хроматографического и УФ-спектрального исследований в плодах пяти видов боярышников впервые идентифицированы хлорогеновая, неохлорогеновая, кофейная и феруловая кислоты. Методами спектрофотометрии определено количественное содержание гидроксикоричных кислот в плодах исследуемых объектов, которое соответствует фармакопейному образцу.

Ключевые слова: боярышник, гидроксикоричные кислоты, качественный состав, количественное определение.

К одной из злободневных задач современной фармацевтической науки необходимо отнести поиск растительных источников биологически активных веществ (БАВ) и создания на их основе препаратов сердечно-сосудистого действия. К такой группе растений относится и боярышник. Из официальных (ГФ XI) 12 видов на территории Российской Федерации, после распада СССР, произрастает 7 видов. Сохранившаяся сырьевая база до настоящего времени далеко не отвечает запросам фармацевтической промышленности [2].

Боярышника цветки и плоды в современной медицинской практике используются при функциональных расстройствах сердечной деятельности, ангионеврозах, мерцательной аритмии, параксизмальной тахикардии [5]. Фармакологический эффект при вышеуказанных патологиях определяется суммой БАВ, в которой фенольные соединения, в частности и гидроксикоричные кислоты, занимают одно из основных мест [4, 6]. Ранее мы сообщали об изучении плодов боярышников на присутствие и количественное содержание флавоноидов [1].

Целью работы явилось изучение гидроксикоричных кислот плодов дикорастущих и культивируемых видов боярышников.

Материалы и методы. Объектами изучения стали распространенные на территории Центрального Федерального Округа России: боярышник (б.) волжский – *crataegus* (с.) *volgensis* A. Rojark, б. страшный – с. *horrida* Medic, б. густоцветковый – с. *densiflora* Sarg., б. сочный – с. *succulenta* Schrad. ex Link. и фармакопейный вид б. однопестичный – с. *monogyna* Jacq., заготовленные в августе-сентябре 2012 г. в Центрально-черноземном биосферном заповеднике имени В.В. Алёхина (Курская обл.), Ботаническом саду ВГУ (г. Воронеж), Дендропарке «ЛОСС» (Липецкая обл.).

Качественные химические реакции на БАВ проводились по известным методикам [2, 7, 8]. Для идентификации фенольных соединений использовали методы тонкослойной хроматографии (ТСХ), бумажной хроматографии (БХ) и препаративной ТСХ и БХ. Для БХ использовали бумагу «Filtrak» №12, системы: I – этилацетат – кислота муравьиная – вода (10:2:3) и II – 2% кислота уксусная. Как сорбент для ТСХ использовались пластинки «Sorbfil», смесь растворителей – этилацетат – спирт этиловый (95:5) и хлороформ – кислота уксусная (3:1), насыщенные водой. Хромогенными проявителями служили фильтрованный УФ свет (354 нм), аммиака пары, кислота сульфаниловая диазотированная, 5% раствор спиртовой NaOH, бромтимоловый синий, железа окисного хлорид.

Количественное определение суммы гидроксикоричных кислот проводили спектрофотометрическим методом (СФ-2000) [3].

Метрологические характеристики количественного определения гидроксикоричных кислот осуществлялись с помощью статистических методов программного обеспечения Microsoft Office для ПК.

Результаты и их обсуждение. Химическими реакциями и хроматографическими методами анализа были обнаружены различные группы фенольных соединений, в том числе и кислоты гидроксикоричные.

Вещества определяли по флуоресценции в УФ-свете до и после обработки аммиака парами, а также по сравнительным значениям R_f и R_s с известными образцами. В плодах боярышника густоцветкового было определено 25 веществ фенольной природы, в плодах боярышника страшного – 19, боярышника сочного – 22, у боярышника волжского – 19. В плодах фармакопейного вида – боярышника однопестичного выявлено 18 фенольных веществ.



Фенольные соединения, являющиеся общими для исследуемых объектов, представлены на схеме хроматограммы (рис. 1).

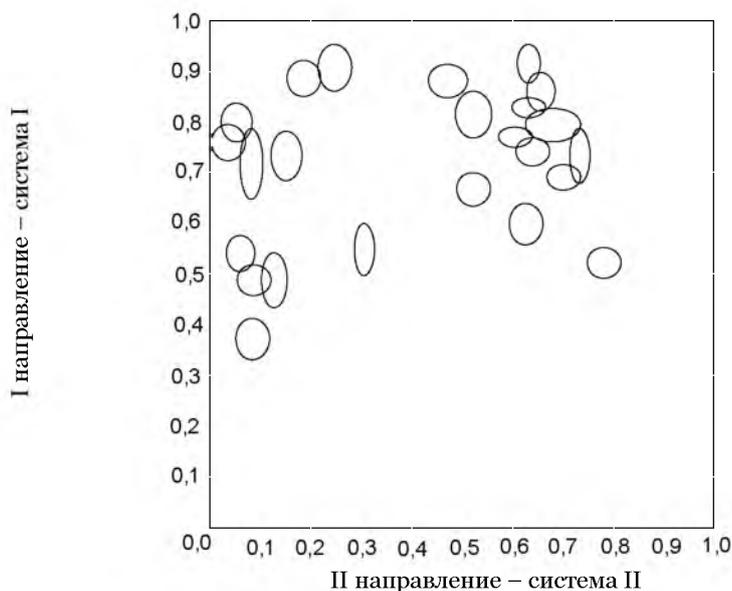


Рис. 1. Схема общей хроматограммы фенольных соединений исследуемых видов.

Во всех видах обнаружены хлорогеновая ($R_f100 = 68$ – I и 55 – II система) и неохлорогеновая ($R_f100 = 58$ – I и 58 – II система) кислоты, которые в системе II делятся на цис- и транс-изомеры хлорогеновой и неохлорогеновой кислот. Кофейную ($R_f100 = 78$ – I и 23 – II системы) и феруловую ($R_f100 = 85$ – I и 53 – II система) кислоты идентифицировали в плодах боярышников волжского, страшного, густоцветкового, сочного и однопестичного. Препаративной хроматографией эти вещества были выделены из изучаемых видов. Соединения дают положительную реакцию с бромтимоловым синим, железа окисного хлоридом, кислотой диазотированной сульфаниловой.

Таблица 1

Спектральная характеристика гидроксикоричных кислот боярышников

Вещество	Флуоресценция в УФ-свете		Окраска с реактивами		λ_{\max} в УФ-спектрах, нм				
	до обработки	после обработки парами NH_3	Диазотированная сульфаниловая кислота и щелочь	FeCl_3	96% этанол	с добавлением			
						NaOH		AlCl_3	
λ	$\Delta\lambda$	λ	$\Delta\lambda$						
Кислота кофейная (К1)	Голубая	Бледно-голубая	Коричневая	Сине-зеленая	325	358	+33	360	+35
					299			316	
					235	250	+15	240	+5
Кислота неохлорогеновая (К2)	Голубая	Жёлто-зелёная	Жёлто-коричневая	Сине-зеленая	325	380	+55	355	+30
					300			312	
					245	265	+20	240	0
Кислота хлорогеновая (К3)	Голубая	Жёлто-зеленая	Жёлто-коричневая	Сине-зелёная	325	371	+46	350	+25
					300			310	
					245	265	+20	244	-1
Кислота феруловая (К4)	Голубая	Ярко-голубая	Розово-фиолетовая	Оранжевая	320	349	+29	320	0
					290			305	
					234	240	+6	235	+1

Результаты УФ-спектрального анализа спиртовых растворов с ионизирующими добавками позволили установить, что исследуемые вещества являются кофейной, феруловой и монокофеилхинной кислотами. Для установления места присоединения кислоты кофейной к кислоте хинной проводили нагревание этих соединений с кислотой уксусной ледяной. Вещество K_2 после нагревания осталось неизменным, следовательно положение С-3 замещено кислотой кофейной, потому что по гидроксильной группе у С-3 кислоты хинной возможно образование лактона. Это вещество можно идентифицировать как 3-о-кофеил-хинную или кислоту нехлоро-



геновую, которая имеет такие же УФ- и ИК- спектральные характеристики как и кислота хлорогеновая, однако у неё иная хроматографическая подвижность. Вещество K_3 идентифицировано с 5-кофеил-хинной или кислотой хлорогеновой. Вещества 1 и 4 при щелочном сплавлении с калия гидроксидом образовывали K_1 – протекатеховую, K_4 – ванилиновую кислоты; эти соединения были идентифицированы K_1 – как 3,4-дигидроксикоричная (кофейная), а K_4 – как 3- гидрокси-4-метокси - коричная (феруловая) кислоты. Спектральная характеристика веществ приведена в таблице 1.

Определение содержания гидроксикоричных кислот проводили спектрофотометрическим методом. Оптическую плотность анализируемых объектов измеряли на спектрофотометре СФ-2000 при длине волны 327 нм. В качестве раствора сравнения использовали 70% спирт этиловый, расчет проводили в пересчёте на хлорогеновую кислоту и абсолютно сухое сырьё. Статистическая обработка результатов количественной оценки суммы гидроксикоричных кислот в плодах боярышников отражена в таблице 2.

Таблица 2

Метрологическая характеристика количественного определения суммы гидроксикоричных кислот в плодах боярышников (m=5, P=0,95)

X	x_{cp}	S^2	xS_x	T(P,n)	Доверительный интервал	$\epsilon, \%$
1	2	3	4	5	6	7
<i>Crataegus monogyna</i> Jack.						
0,151 0,148 0,151 0,150 0,154	0,1508	$0,47 \cdot 10^{-4}$	$0,2168 \cdot 10^{-2}$	2,78	$0,1508 \pm 0,00603$	4,0%
<i>Crataegus volgensis</i> A. Pojark						
0,182 0,183 0,182 0,187 0,180	0,1828	$0,067 \cdot 10^{-4}$	$0,2588 \cdot 10^{-2}$	2,78	$0,1828 \pm 0,0072$	3,94%
<i>Crataegus horrida</i> Medic						
0,175 0,180 0,175 0,174 0,173	0,1754	$0,073 \cdot 10^{-4}$	$0,2702 \cdot 10^{-2}$	2,78	$0,1754 \pm 0,00751$	4,28%
<i>Crataegus densiflora</i> Sarg						
0,175 0,175 0,170 0,178 0,176	0,1748	$0,087 \cdot 10^{-4}$	$0,295 \cdot 10^{-2}$	2,78	$0,1748 \pm 0,0082$	4,69%
<i>Crataegus succulenta</i> Schrad. ex Link						
0,209 0,203 0,212 0,210 0,209	0,2088	$0,122 \cdot 10^{-4}$	$0,3493 \cdot 10^{-2}$	2,78	$0,2088 \pm 0,00971$	4,65%

Содержание кислот гидроксикоричных колеблется в пределах 0,1508-0,2088%.

В плодах боярышника густоцветкового было определено 25 веществ фенольной природы, из них 4 гидроксикоричных кислоты; в плодах боярышника страшного 19 – 4 гидроксикоричных кислоты; боярышника сочного 22 - идентифицировано 4 гидроксикоричных кислоты; у боярышника волжского 19 фенольных соединения, 4 отнесены к гидроксикоричным кислотам.

В плодах фармакопейного вида - боярышника однопестичного определено 18 фенольных веществ, 4 из которых являются гидроксикоричными кислотами.

Из изучаемых объектов выделены и идентифицированы хлорогеновая и неохлорогеновая кислоты, присутствие кофейной и феруловой кислот также подтверждено во всех объектах.

Установлено количественное содержание гидроксикоричных кислот в плодах исследуемых видов.



Полученные результаты вполне сопоставимы по отношению к фармакопейному виду, что дает предпосылки для дальнейшего изучения видов боярышников, не входящих в официальную номенклатуру лекарственного растительного сырья.

Литература

1. Гончаров, Н. Ф. Поиск новых видов рода *Crataegus* L. как потенциальных источников для расширения сырьевой базы / Н.Ф. Гончаров, А.М. Ковалева // II Российский фитотерапевтический съезд. – Москва, 2010. – С. 114-117.
2. Государственная фармакопея СССР. Вып.2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье МЗ СССР – XI изд., доп. - М.: Медицина, 1987. – 398 с.
3. 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. Серия 2. Химия. – 2006 – Т. 47, №5. – С.342-345.
4. Котова, Э.Э. Стандартизация плодов боярышника и лекарственных препаратов на их основе по показателю «Количественное определение» / Э.Э. Котова, А.Г. Котов, Н.П. Хованская // Фармаком – 2004. - № 4. – С. 1– 7.
5. Мапковский. М.Д. Лекарственные средства. – М., 2012. – 420 с.
6. Самылина И.А. Боярышник (*Crataegus*): возможности медицинского применения / Самылина И.А, Сорокина А.А., Пятигорская Н.В. // Фарматека - 2010. - №8. - С.83-85.
7. European Pharmacopoeia. – Strasbourg: Council of Europe. 2000. – P. 930 – 931.
8. Pittler M.H., Guo R., Ernst E. Who monographs on selected medicinal plants. – Vol. 2. – World Health Organization. – Geneva, 2002, P. 142-145.

HYDROXYCINNAMIC ACID NON-PHARMACOPEIAL SPECIES OF HAWTHORN

N.F. GONCHAROV¹

¹Kursk State Medical University

e-mail: Fg.ksmu@mail.ru

On the basis of results of chromatographic and Uf-spectral researches in fetuses of five kinds of aglets for the first time are identified chlorogenic, neochlorogenic, coffee and acids of ferule. Spectrophotometer methods define the quantitative maintenance hydroxycinnamic acids in fetuses of investigated objects which corresponds pharmaceutical sample.

Key words: aglets, hydroxycinnamic acids, qualitative composition, quantitative definition.