

УДК 633.77:581.2

ББК 42.8

А 86

Артемяева Вера Владимировна, старший преподаватель кафедры фармации ФГБОУ ВО «Майкопский государственный технологический университет»; e-mail: denis7radnet.ru@mail.ru;

Бочкарева Инна Ивановна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармации ФГБОУ ВО «Майкопский государственный технологический университет»; e-mail: bocharevainna@gmail.com;

Дьякова Ирина Николаевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры фармации ФГБОУ ВПО «Майкопский государственный технологический университет»; e-mail: djakova_irina@rambler.ru.

ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЧАЯ КИТАЙСКОГО (*Thea sinensis* L.)

(рецензирована)

Представлены результаты фитохимического анализа чая китайского, в результате работы установили наличие в листьях чая китайского, выращенного в условиях Республики Адыгея, пуриновых алкалоидов, среди которых преобладает кофеин, и дубильных веществ.

Ключевые слова: чай китайский, фитохимический анализ, кофеин, дубильные вещества, спектрофотометрия.

Artemyeva Vera Vladimirovna, senior lecturer of the Department of Pharmacy of FSBEI HE "Maikop state technological university", e-mail: denis7radnet.ru@mail.ru;

Bochkaryova Inna Ivanovna, Candidate of Pharmaceutical Sciences, associate professor of the Department of Pharmacy of FSBEI HE "Maikop state technological university", e-mail: bocharevainna@gmail.com;

Dyakova Irina Nikolaevna, Candidate of Biology, associate professor of the Department of Pharmacy of FSBEI HE "Maikop state technological university", e-mail: djakova_irina@rambler.ru.

PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF THE CHINESE TEA (*Thea sinensis* L.)

(reviewed)

The results of the phytochemical analysis of the Chinese tea have been presented, presence of purin alkaloids including caffeine and tannins in the leaves of the Chinese tea grown up in the conditions of the Republic of Adyghea have been stated.

Keywords: Chinese tea, phytochemical analysis, caffeine, tannins, spectrophotometer.

Thea sinensis L. – вечнозеленый кустарник или деревцо до 10 м высоты. Листья очередные, коротко-черешковые, кожистые, блестящие, неравнозубчатые, к верхушке суженные, эллиптические или продолговато-эллиптические, сверху темно, снизу светло-зеленые, 5-7 см длины и 3,5-4 см ширины, в молодом состоянии слегка опушенные. Родина – горные леса юго-восточной Азии (Индо-Китай). Широко культивируется в Китае, Индии, Японии, Индонезии, Бирме, в некоторых районах Африки, Южной Америки и Западной Европы [1].

Соотношение отдельных элементов сырья чайного растения изменяется в зависимости от условий произрастания и сорта растения, почвенно-климатических особенностей, применяемой агротехники, методов сбора [4].

Листья чайного куста содержат дубильные вещества (9-35%), из них растворимых в воде до 26% и нерастворимых – до 9,88%.

К экстрактивным веществам чая относятся фенольные соединения, или танино-катехиновая смесь (ТКС), кофеин, теобромин и теофиллин, эфирные масла, аминокислоты, водорастворимые белки и углеводы, витамины, пектиновые и минеральные вещества и пр. Чем больше экстрактивных веществ, тем выше качество чайного экстракта и биологическая ценность [6].

Танин чая представляет собой сложную смесь различных фенольных соединений. А.Л. Курсановым, В.Н. Буниным, К.М. Поволоцкой и М.Н. Запрометовым было установлено, что катехины, выделенные из чайного танина, являются биологически активными и относятся к соединениям с сильно выраженной витаминной активностью [3].

Они повышают прочность капилляров, способствуют лучшему усвоению аскорбиновой кислоты. Широко используется в медицине и другое важное свойство катехинов – способность уменьшать активность холестерина в крови, препятствовать развитию атеросклероза [5].

Препарат витамина P, получаемый из листьев чайного куста, применяется при геморрагических диатезах, отеках, связанных с нарушением сосудистой проницаемости, кровоизлияниях на дне глаза, капилляротоксикозах, после лучевых индуративных отеках, трофических язвах. Он снижает артериальное давление, уменьшает хрупкость и проницаемость капилляров, увеличивает количество тромбоцитов и повышает свертываемость крови [1].

Чайные закладки на территории предгорной Адыгеи появились еще в 1938 году. Растения – сортосмесь грузинских номерных сортов и китайского сорта Кимынь, выращиваются здесь в зоне «рискованных субтропиков» на высоте 350-540 м над уровнем моря. Так называемый «Адыгейский чай» считается самым морозостойким. Содержание дубильных веществ в «Адыгейском чае» составляет от 16 до 24,80%, экстрактивных веществ – до 46,30%.

Цель исследования – изучение основных групп биологически активных соединений (пуриновых алкалоидов и дубильных веществ) листьев чая китайского, выращиваемого на территории Республики Адыгея.

Объект исследования: свежее и высушенное воздушно-теневым способом сырье (листья) чая китайского – *Thea sinensis* L., выращиваемого в пос. Цветочном Майкопского района Республики Адыгея. Периоды сбора – июнь 2012 г и август 2013 г.

Материалы, этапы и методы исследования: работа проводилась на базе фармацевтического факультета ФГБОУ ВПО «МГТУ», сбор сырья производили на селекционном (опытном) участке Адыгейского филиала Государственного научного учреждения ВНИИЦ и СК Республики Адыгея Российской академии сельскохозяйственных наук (пос. Цветочный). Качественный анализ пуриновых алкалоидов и дубильных веществ в извлечениях из сырья *Thea sinensis* L. проводили общепринятыми методами и методиками, включая: тонкослойную хроматографию с элюированием индивидуальных соединений, спектрофотометрическое исследование полученных извлечений. Количественное определение кофеина в листьях чая китайского проводили методом спектрофотометрии, дубильных веществ – методом перманганатометрии согласно Государственной фармакопее [2].

Свойство алкалоидов кофеина, теобромина, теофиллина давать непрочные соли, гидролизующиеся в кислой среде, позволяет экстрагировать их из кислого водного раствора (извлечения из растительного сырья). Для проведения реакций, позволяющих установить наличие алкалоидов в листьях чая получали извлечение следующим образом: 1 г измельченного сырья помещали в колбу вместимостью 100 мл, заливали 25 мл 1 %-ной HCl и нагревали на кипящей водяной бане в течение 5 мин. После охлаждения извлечение фильтровали через бумажный фильтр и использовали для проведения общеалкалоидных реакций с реактивами Майера,

Вагнера, Драгендорфа, Зонненштейна, Шейблера, растворами танина, пикриновой кислоты. Образование осадков указывало на наличие алкалоидов в листьях чая. Для спектрофотометрии (предварительной) на определение группы алкалоидов и тонкослойной хроматографии проводили обработку водного настоя листьев чая хлороформом в соотношении 1:1. По характерной кривой спектра поглощения веществ в хлороформе и значению максимума поглощения (274,9 нм), установили принадлежность изучаемых алкалоидов к группе пуриновых алкалоидов. Для изучения состава пуриновых алкалоидов проводили хроматографический анализ. Хлороформное извлечение из водного настоя подвергали анализу в следующих условиях: пластины «Сорбфил» с УФ-подложкой (ПТСХ-П-А-УФ); система растворителей хлороформ – ацетон – 25% раствор аммиака (30:30:1); для сравнения использовали хлороформные растворы кофеина, теобромина, теофиллина; детектирование осуществляли в УФ-свете при длине волны 254 нм по собственной флюоресценции индивидуальных соединений. Определяли показатели R_f. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Характер окрашивания пятен и показатели R_f алкалоидов листьев чая китайского

Пятна	Флуоресценция пятен в УФ-свете	R _f (средний показатель)
СО кофеина	Темно-серая	0,63
СО теобромина	Темно-серая	0,38
СО теофиллина	Темно-серая	0,19
Пятно 1	Слабо-серая	0,38
Пятно 2	Темно-серая	0,63

По величинам R_f, а также по характеру собственной флюоресценции определили в хлороформном извлечении из водного настоя листьев чая кофеин и теобромин.

Пятна кофеина и теобромина элюировали из сорбента хлороформом в течение 10 мин при комнатной температуре. Спектрофотометрическим методом измеряли оптическую плотность элюатов при длине волны 276 нм. Измерения проводили на фоне контрольного раствора (хлороформ). Максимум поглощения для вещества из пятна 2 составил 275,0 нм, что соответствует кофеину; теобромин спектрофотометрически определить не удалось.

Для количественной оценки содержания кофеина в листьях чая использовали спектрофотометрический метод. Из водного экстракта листьев чая, кофеин однократно экстрагировали хлороформом в соотношении 1:1. После разделения смеси, отбирали 1 мл хлороформной части извлечения и доводили объем хлороформом до 50 мл. На спектрофотометре при длине волны 276 нм измеряли оптическую плотность полученного хлороформного извлечения в сравнении со стандартным образцом (СО) кофеина. Кривые спектров поглощения полностью совпали (рис. 1).

По построенному калибровочному графику и табличным значениям, отражающих зависимость оптической плотности (D) хлороформных растворов СО кофеина от концентраций в них вещества, рассчитали содержание кофеина. Содержание кофеина составило не менее 0,334% (по результатам трех параллельных измерений).

Качественное определение дубильных веществ проводили, используя общеизвестные реакции, позволяющие обнаружить дубильные вещества в водном экстракте из растительного сырья. Для анализа извлечение готовили следующим образом: 1,0 г сырья, измельченного до размера частиц 1 мм, поместили в колбу вместимостью 250 мл, прибавили 50 мл горячей воды и кипятили на водяной бане в течение 20 мин. Охлажденное извлечение фильтровали и использовали для проведения качественных реакций. Результаты проведения качественных реакций на дубильные вещества листьев чая китайского представлены в таблице 2.

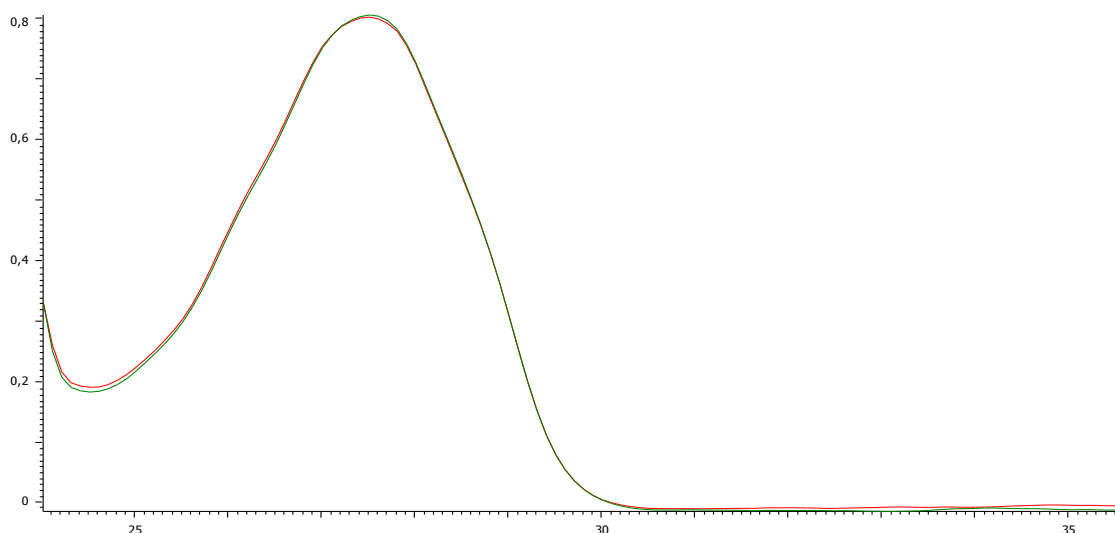


Рисунок 1. Кривые спектров поглощения хлороформного извлечения алкалоидов для количественного анализа (зеленый цвет (2), максимум поглощения 275,0 нм) и СО кофеина (красный цвет (1), максимум поглощения 275,0 нм)

Таблица 2 - Качественные реакции на дубильные вещества листьев чая китайского

Реакция	Аналитический эффект реакции
Осадочные реакции	
Реакция с желатином (специфическая реакция)	Помутнение раствора от образовавшихся желатинтаннов
Реакция с солями алкалоидов (хинина гидрохлорид)	Помутнение раствора
Реакция с калия бихроматом	Выпадение желто-коричневого осадка
Реакция со свинцом основным уксуснокислым	Выпадение осадка
Цветные реакции	
Реакция с солями железа (раствор хлорида железа III)	Появление черно-зеленого окрашивания, свидетельствующего о присутствии конденсированных дубильных веществ
Реакция с раствором ванилина в кислой среде	Образование красного окрашивания раствора, что свидетельствует о наличии конденсированных дубильных веществ (катехинов)

Для подтверждения наличия дубильных веществ различной природы в листьях чая проводили хроматографическое исследование спиртового извлечения из сырья в тонком слое сорбента. Извлечение получали следующим образом: 0,1 г измельченного сырья заливали 2 мл 95% этилового спирта и нагревали на водяной бане до кипения, затем охлаждали и фильтровали. Фильтрат наносили с помощью капилляра на стартовую линию хроматографических пластинок «Сорбфил». Хроматографирование осуществляли в системе растворителей н-бутанол – уксусная кислота – вода (40:12:28), в качестве раствора сравнения использовали этанольный раствор танина. Отмечали разделение пятна этанольного извлечения на 5 пятен. Хроматограммы высушивали на воздухе и обрабатывали: 1% раствором хлорида железа (III); 1% раствором ванилина в конц. H₂SO₄. После обработки хроматографической пластинки раствором хлорида железа (III) наблюдали черно-синее окрашивание пятна извлечения, находящегося на высоте пятна танина. Пятно вещества-свидетеля также окрашивалось с черно-синий цвет. После обработки хроматографической пластинки 1% раствором ванилина в конц. H₂SO₄ наблюдали ярко-розовое для извлечения и слабо-розовое для танина окрашивание пятен. Рассчитывали показатели R_f (табл. 3).

На основании результатов хроматографического анализа установили присутствие в листьях чая китайского дубильных веществ различной природы (танино-катехиновая смесь).

Количественное определение дубильных веществ проводили методом перманганометрии, основанном на легкой окисляемости дубильных веществ калия перманганатом в присутствии индигосульфокислоты при комнатной температуре. Индигосульфокислота является индикатором и регулятором реакции. Титрование вели согласно методике [ГФ 11 изд.], при сильном разбавлении экстракта, до появления золотисто-желтого окрашивания. Содержание дубильных веществ составило 13,44%.

Таблица 3 - Характер окрашивания пятен и показатели R_f дубильных веществ листьев чая китайского

Пятна	Цвет пятна после обработки 1% раствором хлорида железа (III)	Цвет пятна после обработки 1% раствором ванилина в конц. H_2SO_4	R_f (средний показатель)
СО танина	Черно-синий	Розовый	0,81
Пятно 1	-	-	От 0,4 до 0,7
Пятно 2	-	-	
Пятно 3	-	-	
Пятно 4	-	-	
Пятно 5	Черно-синий	Ярко-розовый	0,81

В результате проведенной работы установили наличие в листьях чая китайского, выращенного в условиях Республики Адыгея, пуриновых алкалоидов, среди которых преобладает кофеин (0,334%), и дубильных веществ (13,44%).

Литература:

1. Гончарова Т.А. Энциклопедия лекарственных растений: (лечение травами): в 2-х томах. Том 1. Москва: МСП, 1997. 559 с.
2. Государственная фармакопея СССР: в 2-х томах. Том 1. 11 изд. Москва: Медицина, 1987. 335 с.
3. Гринкевич Н.И., Сафронич Л.Н. Химический анализ лекарственных растений. Москва, 1983. 175 с.
4. Культура чая в СССР / М.К. Дараселия [и др.]. Тбилиси: Метниереба, 1989. 560 с.
5. Запрометов М.Н. Биохимия катехинов. Основы биохимии фенольных соединений. Москва: Высшая школа, 1974. 214 с.
6. Татарченко И.И., Мохначев И.Г., Касьянов Г.И. Химия субтропических и пищевкусковых продуктов: учебное пособие для студентов. Москва: Академия, 2003. 256 с.

Literature:

1. Goncharova T.A. Encyclopedia of herbs: (treatment by herbs): in 2 volumes. Volume 1. Moscow: MSP, 1997. 559 p.
2. State pharmacopeia of the USSR: in 2 volumes. Volume 1. 11 ed. Moscow: Medicine, 1987. 335 p.
3. Grinkevich N. I., Safronich L.N. Chemical analysis of herbs. Moscow, 1983. 175 p.
4. Tea culture in the USSR / M. K. Daraseliya [and oth.]. Tbilisi: Metsniyereba, 1989. 560 p.
5. Zaprometov M. N. Biochemistry of catechins. Fundamentals of biochemistry of phenolic connections. Moscow: The higher school, 1974. 214 p.
6. Tatarchenko I.I., Mokhnachev I.G., Kasyanov G. I. Chemistry of subtropical and flavoring products: manual for students. Moscow: Academy, 2003. 256 p.