

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

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

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

ВОДНЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ФОРМЫ ИЗ ТРАВЫ ДОННИКА КАК ИСТОЧНИКИ КУМАРИНОВ (рецензирована)

Приведены результаты качественного анализа водных форм и спирто-хлороформного экстракта из травы донника лекарственного, установлено, что степень извлечения кумаринов зависит от характера экстрагента (вода, спирт/хлороформ) и времени извлечения. Характер протекания качественных реакций, тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии указывает на низкую степень извлечения кумаринов в чай и настой.

Ключевые слова: водные лекарственные формы, донник лекарственный, кумарины.

Bochkareva Inna Ivanovna, Candidate of Pharmacy, associate professor of the Department of Pharmacy of the Faculty 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 the Faculty of Pharmacy of FSBEI HE “Maikop State Technological University”, e-mail: djakova_irina@rambler.ru;

Artemyeva Vera Vladimirovna, a senior lecturer of the Department of Pharmacy of FSBEI HE “Maikop State Technological University”; e-mail: denis7radnet.ru@mail.ru.

CLOVER WATER MEDICINAL FORMS AS SOURCES OF COUMARIN (Reviewed)

The results of qualitative analysis of water forms and spirit-chloroform extract of the medicinal clover are given; degree of coumarins extraction depends on the nature of the extractant (water, spirit / chloroform) and extraction time. Character of qualitative reactions, thin layer chromatography and spectrophotometry indicates a low degree of coumarins extraction into the tea and infusion.

Keywords: water medicinal forms, *Melilotus officinalis*, coumarin.

Проблема создания эффективных фитопрепаратов из лекарственного растительного сырья (ЛРС) в настоящее время является достаточно актуальной.

Фармакологические эффекты ЛРС зависят от его химического состава, дозировки и условий извлечения веществ. Наиболее распространенными в фитотерапии лекарственными формами являются водные – настои и чаи. Фармакопейная методика (ГФ 13 издания) регламентирует приготовление настоев в условиях 15 минутного нагревания на водяной бане и постепенного охлаждения при комнатной температуре не менее 45 минут [1].

Чай из растительного сырья – наиболее предпочитаемая населением лекарственная форма, так как его можно приготовить в домашних условиях [2]. Чай заваривают горячей водой в течение пяти-пятнадцати минут. Данные условия не всегда соответствуют физико-химическим особенностям биологически активных соединений лекарственного сырья. Это относится, в том числе, к кумаринам, агликоны которых не растворяются в воде, но хорошо растворимы в неполярных растворителях, а гликозидные формы – наоборот [3].

Кумарины – одна из групп биологически активных соединений травы донника (*Herba Meliloti*). Донник лекарственный – *Melilotus officinalis* (L.) Pallas относится к семейству Бобовые (*Fabaceae*). Вся надземная часть донника лекарственного является ядовитой и содержит: кумарины – кумарин, кумаровую кислоту, мелилотин, дикумарол, мелиотовую кислоту, глюкозид мелилотозида; фенольные соединения – *o*-гидроксикоричную кислоту и ее производные; флавоноиды – кемпферол, кверцетин; кемпферол-3-О-В-D-галактозид; кверцетин-3-О-В-D-галактозид; дубильные вещества, слизистые вещества, производные пурина, азотистые основания, алантоин и алантоиновую кислоту, каротиноиды, жироподобные вещества, белок и эфирное масло; макро- и микроэлементы [4].

В результате сушки и хранения травы донника может происходить ферментативный гидролиз гликозидных форм кумаринов, что отражается на химическом составе сырья и водных извлечений.

Цель исследования обнаружить кумарины в водных лекарственных формах из травы донника – чае и настое.

Объект исследования – трава донника, собранная в окрестностях пос. Шунтук (Республика Адыгея), высушенная воздушно-теневым способом и обмолоченная, соответствует описанию раздела «Внешние признаки» ФС.2.5.0011.15 ГФ XIII издания. Для качественного обнаружения кумаринов в траве донника использовали различные условия извлечения:

1 вариант – 1,5 г (масса стандартного фильтр-пакета) травы заваривали 200 мл горячей воды в течение 10 минут и охлаждали при комнатной температуре;

2 вариант – 10 г травы помещали в колбу, добавляли 100 мл воды и нагревали на кипящей водяной бане при частом перемешивании в течение 15 минут, затем сосуд снимали с водяной бани и охлаждали при комнатной температуре не менее 45 минут, после чего настой процеживали и использовали для анализа [1];

3 вариант – контроль (методика извлечения очищенной суммы кумаринов) – 3,0 г травы измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 3 мм, помещали в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляли 30 мл 95 %-ного спирта и нагревали на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 20 мин. Извлечение фильтровали в горячем виде и к фильтрату добавляли по каплям при постоянном перемешивании 10 %-ный раствор свинца ацетата. Горячую массу переносили на фильтр, отделяли осадок солей свинца и промывали осадок 3 мл спирта. К охлажденному фильтрату прибавляли 5 мл воды. Для дальнейшей очистки фильтрат помещали в делительную воронку вместимостью 100 мл, приливали 20 мл хлороформа и встряхивали. Отделяли нижний слой. Хлороформ отгоняли, а остаток в колбе растворяли в 6 мл 95 %-ного спирта. Полученный раствор использовали для качественного анализа кумаринов [5, 6].

Для обнаружения в водных и контрольном извлечениях кумаринов были осуществлены общеизвестные качественные реакции, позволяющие установить наличие исследуемой группы веществ. Тонкослойная хроматография проводилась в следующих условиях: извлечения согласно условиям эксперимента, хроматографическая пластинка Сорбфил с УФ-подложкой, система растворителей н-бутанол-ЛУК-вода (4:1:2), спиртовый раствор стандартного образца (СО) кумарина, детекция пятен веществ в УФ-свете (365 нм) после обработки 10% спиртовым раствором КОН.

Метод прямой УФ спектрофотометрии использовался для изучения качественного состава кумаринов. Спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре СФ-2000 в кюветах с

толщиной слоя 10 мм в диапазоне волн от 220 до 320 нм. Растворами сравнения служили СО кумарина в аналогичных условиях.

Работа проводилась на базе фармацевтического факультета Майкопского Государственного Технологического Университета.

Кумарины обнаруживали, используя следующие качественные реакции: лактонную пробу, реакцию азосочетания, реакцию возгонки. Аналитические эффекты реакций усиливались в ряду: чай – настой – контроль.

Дополнили анализ изучением характера флуоресценции кумаринов в УФ-свете. На полоску фильтровальной бумаги наносили небольшое количество извлечений и обрабатывали раствором щелочи. Наблюдали усиливающуюся голубую флуоресценцию в чае, настое и контрольном извлечении соответственно.

При проведении тонкослойной хроматографии исследуемые извлечения и СО кумарина наносили капилляром на линию старта пластинки Сорбфил с УФ-подложкой. Пластинку сушили на воздухе в течение 5 мин, затем помещали в хроматографическую камеру со смесью растворителей н-бутанол-ЛУК-вода (4:1:2) и хроматографировали восходящим способом. После окончания хроматографирования пластинку сушили, отмечали пятна кумаринов и цвет их флуоресценции в УФ-свете (264 нм). Хроматограмму опрыскивали 10 %-ным спиртовым раствором калия гидроксида, подсушивали в сушильном шкафу при температуре 110-120°C в течение 2-3 мин и просматривали в УФ-свете (365 нм). Окраска пятен в УФ-свете (365 нм) после обработки 10% спиртовым раствором КОН и показатели R_f представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Результаты хроматографирования кумаринов

Растворы	Характер флуоресценции	R_f
СО кумарина	Яркая зелено-голубая	0,90
Чай донника	Слабо голубая	0,63
Настой донника	Яркая зелено-голубая	0,44
	Яркая зелено-голубая	0,69
	Слабо зелено-голубая	0,88
Контроль	Слабо зелено-голубая	0,63
	Слабо зелено-голубая	0,88
	Яркая зелено-голубая	0,90

В результате хроматографирования показан неоднородный состав кумаринов донника лекарственного. По характерной окраске и флуоресценции пятен, величине R_f предположили наличие кумаринов (гликозидных форм) в чае, настое и агликонов в контрольном извлечении. Флуоресценция усиливалась в ряду: чай – настой – контроль. Идентифицировали кумарин в спирто/хлороформном извлечении ($R_f = 0,90$).

Качественный анализ и тонкослойную хроматографию дополнили проведением спектрофотометрического анализа исследуемых извлечений.

Результаты спектрофотометрии чая, настоя и контрольного извлечения из травы донника представлены на рисунках 1-3. Согласно кривым спектров поглощения СО кумарина имеет два максимума при 274,9 нм и 310,8 нм.

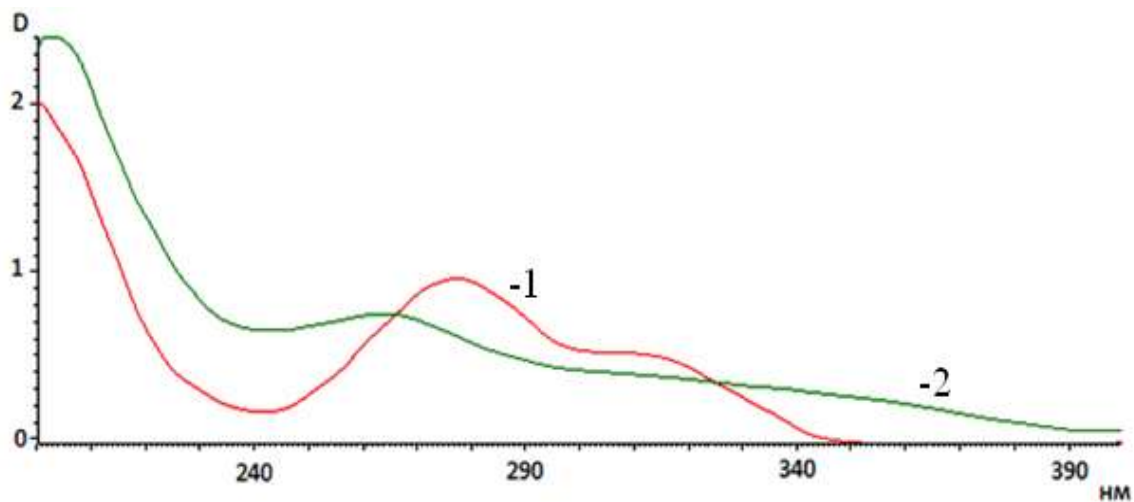


Рисунок 1. Кривые спектров поглощения СО кумарина (1) и чая (2)

Максимум поглощения чая донника составил 263,9 нм.

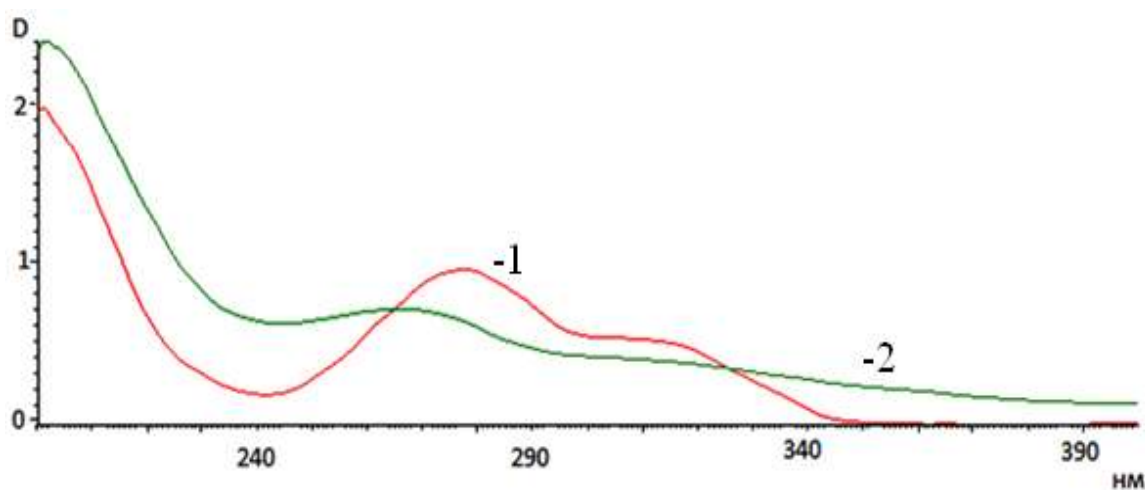


Рисунок 2. Кривые спектров поглощения СО кумарина (1) и настоя (2)

Максимум поглощения настоя донника составил 265,9 нм.

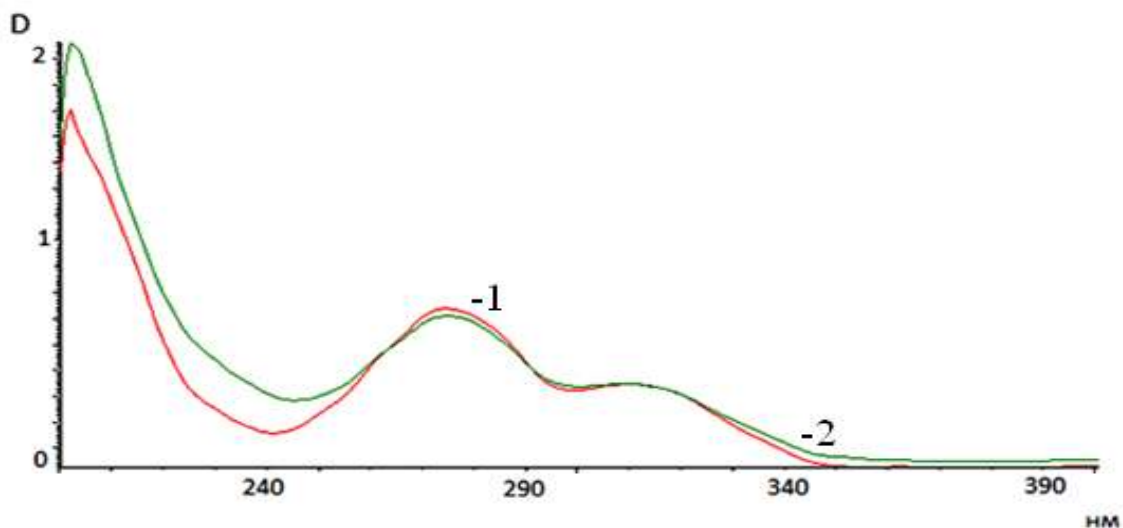


Рисунок 3. Кривые спектров поглощения СО кумарина (1) и контроля (2)

Максимумы поглощения контрольного спирто-хлороформного извлечения донника составили 274,9 нм и 310,8 нм.

При сравнении кривых спектров поглощения СО кумарина, чая и настоя травы донника наблюдалось их несовпадение. Это можно объяснить суммарным эффектом биологически активных

соединений травы донника, извлекаемых водой и имеющих сходные спектры поглощения. Больше всего СО кумарина и, следовательно, группе кумаринов соответствовал спектр контрольного извлечения травы донника.

Результаты качественного анализа водных форм и контроля из травы донника лекарственного свидетельствуют о том, что извлечение кумаринов зависит от характера экстрагента (вода, спирт/хлороформ) и времени извлечения. Характер протекания качественных реакций, тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии указывает на низкую степень извлечения кумаринов в чай и настой – в них выделяются только гликозидные формы веществ.

Литература:

1. Государственная Фармакопея РФ XIII издания [Электронный ресурс]. URL: http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_2/HTML/#123/z.
2. Крылов А.А., Марченко В.А. Фитотерапия в комплексном лечении заболеваний внутренних органов. Киев: Здоровье, 1991. 238 с.
3. Максютина Н.П., Комиссаренко Н.Ф. Растительные лекарственные средства. Киев: Здоровье, 1985. 280 с.
4. Яковлев Г.П. Фармакогнозия. Лекарственное сырье растительного и животного происхождения: учебное пособие. СПб.: СпецЛит, 2010. 863 с.
5. Ковалев В.М., Павлыч О.И., Исакова Т.И. Фармакогнозия с основами биохимии растений. Харьков: МТК-книга, 2004. 704 с.
6. Ладыгина Е.Я., Сафронович Л.Н., Отряшенкова В.Э. Химический анализ лекарственных растений. М.: Высшая школа, 1983. 176 с.