УДК 582.572.8:581.45.192:543.544.5.068.7

ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ЛИСТЬЕВ ЛИЛИИ БЕЛОЙ (LILIUM CANDIDUM (L.))

Вдовенко-Мартынова Н.Н., Кобыльченко Н.В., Блинова Т.И.

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО «ВолгГМУ» Минздрава России, Пятигорск, e-mail: martynovann@yandex.ru

Объект исследований – лилии белой листья, заготовленные с растений Lilium candidum L., семейства Liliaceae в Ботаническом саду Пятигорского медико-фармацевтического института. Цель исследования – изучение фенольных соединений в анализируемом сырье. Качественный состав и количественное определение фенольных соединений в исследуемых образцах воздушно-сухого сырья определяли, используя качественные реакции, метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Выявлено 8 соединений, из них идентифицировано 5 веществ фенольной природы: галловая кислота, хлорогеновая кислота, ферулловая кислота, цикориевая кислота, эпигаллокатехингаллат. Содержание суммы идентифицированных фенольных соединений составило 82,37% от всех обнаруженных данным методом соединений.

Ключевые слова: лилия белая Lilium candidum L., фенольные соединения, высокоэффективная жидкостная хроматография

STUDY OF PHENOLIC COMPLEX OF LEAVES OF LILIUM CANDIDUM (L.)

Vdovenko-Martynova N.N., Kobylchenko N.V., Blinova T.I.

Pyatigorsk Medico-Pharmaceutical Institute – branch of SBEE HPE «VolgSMU» of the Russian Health Service Ministry, Pyatigorsk, e-mail: martynovann@yandex.ru

The object of research is the leaves of white lilies stored from Liliumcandidum L. plants of Liliaceae Family collected in the Botanical garden of Pyatigorsk Medical & Pharmaceutical Institute. A research target is phenolic connections in the analyzed raw materials investigation. The qualitative structure and quantitative definition of phenolic connections in the test samples of air and dry raw materials were defined with the help of high-quality reactions, the method of a highly effective liquid chromatography. We identified 8 connections, among them 5 substances of the phenolic nature: gallic acid, chlorogenic acid, ferulic acid, chicoric acid, epigallocatechin gallate. The maintenance of the identified phenolic connections sum comprises 82,37% of all connections found by this method.

Keywords: Lilium candidum L., phenolic connections, highly effective liquid chromatography

Развитие фармацевтического рынка доказывает, что интерес к лекарственным растениям, как к источнику сырья для производства эффективных и безопасных лекарственных средств, является стабильным, несмотря на различные периоды в развитии Российской фармации и изменения экономической ситуации в нашей стране. Так, растительные источники флавоноидов обладают широким спектром фармакологической активности и в настоящее время составляют одну из наиболее крупных групп лекарственного сырья, востребованного в медицине. Актуальной задачей является поиск перспективных лекарственных средств растительного происхождения, разработка современных методов и приёмов стандартизации, определяющих его качество [3, 6]. Перспективным для создания фитопрепаратов является лилия белая (Lilium candidum L.), семейства Liliaceae. Химический состав сырья лилии белой (Lilium candidum L.) изучен недостаточно, однако лечебное действие народная медицина знает хорошо. В настоящее время сырье Lilium candidum L. широко используется в парфюмерно-косметической промышленности, в гомеопатии.

Целью данной работы явилось изучение фенольных соединений лилии белой листьев.

Материалы и методы исследования

Объект нашего исследования – лилии белой листья, заготовленные с растений Lilium candidum L., семейства Liliaceae в Ботаническом саду Пятигорского медико-фармацевтического института [1].

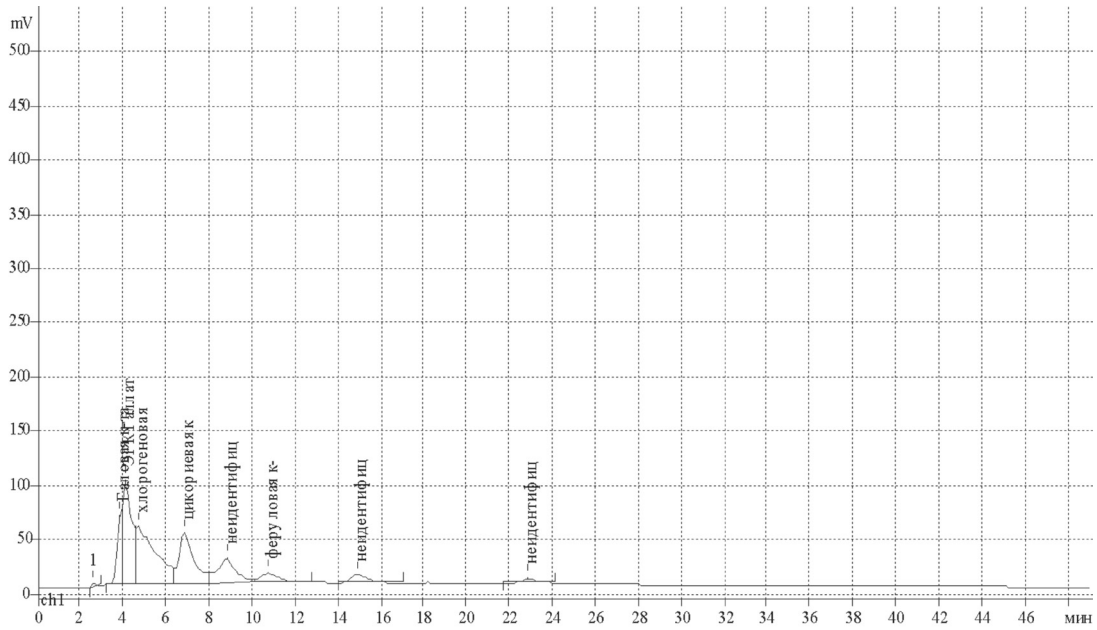
Качественный состав и количественное определение фенольных соединений в исследуемых образцах воздушно-сухого сырья определяли, используя качественные реакции, метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [2].

Определение флавоноидов проводили, применяя качественные реакции: цианидиновую пробу, с водным раствором хлорида железа (Ш), водным раствором натрия гидрооксида, раствором ацетата свинца; дубильных веществ: с раствором желатина, хинина сульфата, при добавлении 1% раствора железоаммониевых квасцов, наблюдалось черно-синее окрашивание (гидролизуемые дубильные вещества) [4, 5]. Для более точного определения использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Для этого образцы исследуемого сырья – лилии листья – измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром

отверстий 2 мм (ГОСТ 214-83). Измельченное сырье в количестве 2,0 г помещали в колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 20 мл спирта этилового 70%. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение часа с момента закипания спиртоводной смеси. После охлаждения смесь фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили объем спиртом этиловым 70% до метки. Параллельно готовили серию растворов стандартных образцов фенольных соединений 0,05% в спирте этиловом 70%: рутина, кверцетина, лютеолина, лютеолин-7-гликозида, галловой кислоты, кофейной кислоты, хлорогеновой кислоты, цикориевой кислоты, коричной кислоты, о-кумаровой, эпигалокатехингаллата, танина, гиперозида, гесперидина, апигенина, феруловой кислоты, эпикатехина, эскулетина, кумарина, дигидрокверцетина, кемпферола, нарингенина. По 50 мкл исследуемых растворов и растворов сравнения вводили в хроматограф и хроматографировали. Для анализа фенольных соединений использовали высокоэффективный жидкостный хроматограф «GILSON-305» (Франция) с ручным инжектором RHEODYNE-7125 USA, результаты обрабатывали с помощью компьютерной программы «МультиХром» В качестве неподвижной фазы была использована металлическая колонка размером 4,6x250 мм Kromasil C 18, размер частиц 5 микрон. Подвижная фаза: метанол-вода-фосфорная кислота концентрированная, в соотношении 400:600:5. Анализ проводили при комнатной температуре. Скорость подачи элюента 0,8 мл/мин. Продолжительность анализа 60 мин. Детектирование проводилось с помощью УФ-детектора «GILSTON» UV/VIS модель 151, при длине волны 254 нм. Идентификацию разделенных веществ проводили путем сопоставления времен удерживания пиков, полученных на хроматограмме проб с временами удерживания стандартных растворов. Оценку количественного соотношения идентифицированных веществ в исследуемых образцах проводили по площади пиков, используя метод внутренней нормализации.

Идентификация фенольных соединений листьев Lilium candidum L. методом ВЭЖХ

№ п/п	Время, мин	Высота, mV	Площадь, mV·сек	ФО	Содержание, %	Название
1	3,81	64,46	1030,10	1,000	8,57	галловая кислота
2	4,074	96,01	2672,41	1,000	22,22	ЭГКГаллат
3	4,621	53,70	3448,69	1,000	28,68	хлорогеновая кислота
4	6,775	47,32	2236,07	1,000	18,60	цикориевая кислота
5	8,758	23,28	1457,15	1,000	12,12	н
6	10,66	8,42	516,57	1,000	4,30	феруловая кислота
7	14,88	7,29	431,40	1,000	3,59	н
8	22,85	3,39	232,46	1,000	1,93	н



Хроматограмма водно-спиртового извлечения листьев Lilium candidum L

Результаты исследования и их обсуждение

Хроматографические характеристики соединений, обнаруженных методом ВЭЖХ в исследованном извлечении, приведены в таблице.

Методом ВЭЖХ в водно-спиртовом (70%) извлечении лилии белой листьев обнаружено 8 соединений, из них идентифицировано 5 веществ фенольной природы: гидроксикоричные кислоты (цикориевая, хлорогеновая, феруловая, галловая), полифенольные соединения (эпигаллокатехингаллат). Содержание суммы идентифицированных фенольных соединений составило 82,37% от всех обнаруженных данным методом соединений (таблица, рисунок).

Выводы

Таким образом, в листьях Lilium candidum L. методом ВЭЖХ было обнаружено 8 соединений, из них идентифицировано 5 веществ фенольной природы: галловая, цикориевая, хлорогеновая, ферулловая кислоты, эпигаллокатехингаллат.

Список литературы

1. Ботанический сад – исторический экскурс и перспективы развития / В.Л. Аджиенко, А.В. Воронков, Н.Н. Вдовенко-Мартынова и др. //Фармация и фармакология. – 2013. – № 1. – С. 24–28.

2. Вдовенко-Мартынова Н.Н., Кобыльченко Н.В., Блинова Т.И. Исследование фенольного комплекса ежевики сизой Rubus caesius (L.) флоры Северного Кавказа // Традиционная медицина. – 2012. – № 5. – С. 204–206.

3. Вдовенко-Мартынова Н.Н., Кобыльченко Н.В., Блинова Т.И. Тёрн (Prunus spinosa L.) Химическое и фармакогностическое исследование, применение в медицинских и пищевых целях // Вопросы. Гипотезы. Ответы: Наука XXI века: коллективная монография. – Краснодар, 2013. – Книга 5. – 284 с.

4. Государственная фармакопея СССР. – Вып.1 : Общие методы анализа / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.

5. Клышев Л.К. Флавоноиды растений (распространение, физико-химическиесвойства, методы исследования) / Л.К. Клышев, В.А. Бандюкова, Л.С. Алюкина. – Алма-Ата: Наука «Казахской ССР», 1978. – 220с .

6. Попова О.И., Вдовенко-Мартынова Н.Н., Круглая А.А. и др. Чистота лекарственного растительного сырья – показатель безопасности применения // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – Т. 14, № 3(5). – С. 748–750.