

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЕЛИССЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ И ШАЛФЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО НА СОДЕРЖАНИЕ ПОЛИФЕНОЛОВ

Е. И. Рябинина, Е. Е. Зотова, Н. И. Пономарева, С. В. Рябинин

*Воронежская государственная медицинская академия им. Н. Н. Бурденко*

Поступила в редакцию 17.08.2009 г.

**Аннотация.** В результате проведенных исследований установлено, наличие полифенолов разных групп (гидролизуемых и конденсированных) в шалфее лекарственном и гидролизуемых в мелиссе. Методами Левинтала-Курсанова и потенциометрически определен количественный состав каждой групп танинов в исследуемом сырье.

**Ключевые слова:** дубильные вещества, мелисса, шалфей.

**Abstract.** The presence of polyphenols of different groups (hydrolysed and condensed) in officinal sage and hydrolysed in balm has been established as a result of the present researches. The potentiometric and Levintal-Kursanov methods were used to determine the quantitative composition of each group of tannins in the investigated plant raw materials.

**Keywords:** tannins, balm, sage.

### ВВЕДЕНИЕ

В фармацевтической практике широко распространены препараты, полученные из растительного сырья. Во многом это обусловлено тем, что лекарственные растения и препараты из них относительно доступны и при правильном применении практически нетоксичны, безопасны, эффективны, а в некоторых случаях не имеют конкурентов среди синтетических аналогов [1].

Направления современного развития биоорганической химии и нанобиотехнологии предусматривают разработку технологии получения из природных объектов биологически активных соединений фенольной природы, к которым относятся флавоноиды, фенольные кислоты, кумарины, дубильные вещества — представляющие собой гетерогенную группу полифенольных соединений, обладающих дубящими свойствами и подразделяющиеся на гидролизующиеся дубильные вещества и негидролизующиеся (конденсированные).

Выделяют группы лекарственного растительного сырья, которые содержат только конденсированные или только гидролизуемые дубильные вещества или их смеси [2, 3]. Поэтому необходимо для каждого вида лекарственного растительного сырья устанавливать природу биологически активных соединений.

Листья шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L.) и мелиссы лекарственной (*Melissa officinalis* L.) широко применяются в медицинской практике,

так как оказывают противовоспалительное, антиспастическое, вяжущее, стимулирующее и тонизирующее действие. Согласно литературным данным [4, 5], комплекс фенольных соединений, содержащихся в шалфее и мелиссе, состоит из флавоноидов, дубильных веществ, однако не акцентируется внимание на природу и количественный состав отдельных групп танинов.

Целью настоящей работы являлась определение качественного и количественного состава мелиссы лекарственной и шалфея лекарственного на содержание дубильных веществ.

### МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Для проведения исследований использовали готовое сырье Шалфея лекарственного и Мелиссы лекарственной выпускаемого ЗАО фирма «Здоровье». Для проведения анализа дубильных веществ из воздушно-сухого сырья готовили водное извлечение. Для этого нагревали около 1.5 г (точная навеска) сырья со 100 мл воды на водяной бане с обратным холодильником в течение 20 мин. Жидкость отстаивали, охлаждали и осторожно процеживали через вату в мерную колбу на 100.0 мл так, чтобы частицы сырья не попали на вату. Сырье в колбе повторно извлекали кипящей водой, как указано выше. Извлечение повторяли до отрицательной реакции на дубильные вещества (проба с раствором железоаммонийных квасцов). Объем извлечений в мерной колбе доводили водой до метки [6].

Обнаружение биологически активных веществ в исследуемых видах проводили с помощью качественных реакций [2].

Количественное определение дубильных веществ проводили методом Левинталя-Курсанова и потенциметрически [7, 8].

В растительном сырье простые фенолы и фенолоксилоксины, которые входят в состав дубильных веществ, могут находиться и в свободном состоянии. Их количественное содержание определяли по следующей методике: 25.0 мл водного извлечения помещали в делительную воронку, прибавляли несколько капель раствора кислоты хлористоводородной, экстрагировали эфиром диэтиловым в течение 3 ч. Из полученного экстракта эфир отгоняли, остаток растворяли в теплой воде, количественно переносили в мерную колбу на 100.0 мл, доводя водой до метки. 10.0 мл полученного раствора титровали раствором калия перманганата в присутствии индигосульфокислоты. Таниды при извлечении свободных фенолоксилоксинов не переходя в эфирный экстракт, их количество определяли по разности титрования исходного водного и эфирного извлечения.

Содержание конденсированных дубильных веществ устанавливали следующим образом: к 25.0 мл водного извлечения добавляли 0.5 мл концентрированной кислоты хлористоводородной, оставляли на 20 ч. Осадок отделяли и титровали фильтрат. Разность между титрованием водного извлечения до и после удаления свободных полифенолов, фенолоксилоксинов соответствует содержанию конденсированных дубильных веществ.

Гидролизующие танины определяли по разности суммы дубильных веществ и конденсированных танинов.

Потенциметрическое количественное определение дубильных веществ определяли по следующей методике. Потенциметрическое титрование 20 мл приготовленного водного извлечения осуществляли на высокоомном потенциометре (Ионмер ЭВ-74) по окислительно-восстановительному механизму 0.02 М раствором перманганата калия.

Процентное содержание дубильных веществ рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{V_1 \cdot K \cdot D \cdot V \cdot 100 \cdot 100}{V_2 \cdot (100 - W) \cdot m},$$

где  $V_1$  — объем 0.02М  $\text{KMnO}_4$ , пошедшего на титрование, мл;  $V_2$  — объем экстракта, взятого для титрования, мл;  $K$  — поправка на титр (по щавелевой кислоте);  $D$  — коэффициент пересчета на танин: для гидролизующих дубильных веществ равен 0.004157, для конденсированных — 0.00582;  $V$  — общий объем экстракта, мл;  $m$  — масса навески сырья, г;  $W$  — влажность, %.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Экстракты Melissa и Salvia анализировали на содержание фенольных соединений (флавоноиды, дубильные вещества).

Для обнаружения флавоноидов использовали пробу Синода: появление оранжевого или красного окрашивания с цинком в присутствии концентрированной хлористоводородной кислоты свидетельствует о том, что исследуемые виды содержат флавоноиды.

Присутствие дубильных веществ было достоверно подтверждено реакцией с раствором желатина. При этом наблюдали образование белой мути в извлечениях, исчезающей от избытка реактива.

Для идентификации отдельных групп дубильных веществ были проведены следующие качественные реакции:

Реакция с 1%-ным раствором железомонокислотных квасцов (ЖАК). При этом для извлечений Melissa было характерно черно-синее окрашивание, что свидетельствует о наличии гидролизующих танинов, в случае с Salvia наблюдалось также черно-синее окрашивание и осадок.

При добавлении 10%-ного раствора уксусной кислоты, 10% раствора средней соли ацетата свинца в обоих экстрактах наблюдалось выпадение осадка (гидролизующие дубильные вещества). Осадок отфильтровали, к фильтрату добавили 1%-ный раствор ЖАК и несколько кристалликов ацетата свинца, при этом в извлечении Salvia вокруг кристаллов фильтрат окрашивался в черно-зеленый цвет, что свидетельствует о присутствии конденсированных дубильных веществ.

Реакция Стианси. При добавлении смеси хлористоводородной кислоты и 40%-ного раствора формальдегида после кипячения в водном экстракте Salvia образовался осадок кирпично-красного цвета (конденсированные дубильные вещества). Осадок отфильтровали и к фильтрату добавили 1%-ный раствор ЖАК и несколько кристалликов ацетата свинца, наблюдалось фиолетово-синее окрашивание около кристалликов  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$  (гидролизующие танины).

В извлечении прибавляли нитрат натрия и хлористоводородную кислоту, наблюдалось бурое окрашивание.

Сводные данные по результатам обнаружения фенольных соединений в экстрактах Salvia и Melissa представлены в табл. 1.

На основании проведенных качественных реакций на дубильные вещества установлено, что исследуемый образец Melissa лекарственной со-

Результаты обнаружения фенольных соединений

Сырье	Качественные реакции					
	Дубильные вещества					Флавоноиды
	1 % р-р желатина	1 % р-р ЖАК	10 % CH <sub>3</sub> COOH и 10 % (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Pb	реакция Станси	NaNO <sub>3</sub>	проба Синода
<b>Melissa officinalis L.</b> — Melissa лекарственная	белая муть	черно-синее окрашивание	осадок	синее окрашивание	бурое окрашивание	оранжевый
<b>Salvia officinalis L.</b> — шалфей лекарственный	белая муть	черно-синее окрашивание и осадок	осадок, к фильтрату 1% ЖАК — черно-зеленое окрашивание	кирпично-красный осадок, к фильтрату: 1% ЖАК и (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Pb — фиолетово-синее окрашивание	бурое окрашивание	светло-красный

держит гидролизуемые дубильные вещества, а листья шалфея лекарственного содержат смешанную группу дубильных веществ — гидролизуемые и конденсированные.

Далее устанавливали количественное содержание суммы дубильных веществ в исследуемых образцах, количество конденсированных и гидролизуемых соединений.

Результаты количественного определения танинов представлены в табл. 2.

В Melissa содержатся только гидролизуемые дубильные вещества в количестве 4.32 %. Сырье шалфея лекарственного содержит смесь танинов. Конденсированная группа составляет наибольшую часть суммы дубильных веществ шалфея (более 70 %). Содержание дубильных веществ в шалфее 5.71 %, из которых 1.73 % гидролизуемые, 3.98 % конденсированные.

Определение количественного содержания полифенолов в исследуемом растительном сырье осуществлялось также методом потенциометрического титрования [8].

На рис. 1. представлены потенциометрические кривые титрования водных извлечений Шалфея лекарственного и Melissa лекарственной перманганатом калия. Для определения эквивалентной точки титрования по полученным результатам были построены дифференциальные кривые титрования в координатах  $dE/dV$  —  $V$ . На точку эквивалентности указывает максимум полученной кривой, а отсчет по оси абсцисс, соответствующий этому максимуму, дает объем титранта, израсходованного на титрование до точки эквивалентности (рис. 2). На дифференциальной кривой потенциометрического титрования экстракта шалфея, в отличие от Melissa, наблюдается два максимума, что характерно

Таблица 2

Результаты количественного определения дубильных веществ в шалфее лекарственном и Melissa лекарственной (в пересчете на абсолютно сухое сырье)

Сырье	Содержание дубильных веществ, %		
	сумма	конденсированные	гидролизуемые
<b>Melissa officinalis L.</b> — Melissa лекарственная	4.32±0.16	—	4.32±0.16
<b>Salvia officinalis L.</b> — шалфей лекарственный	5.71±0.43	3.98±0.18	1.73±0.20

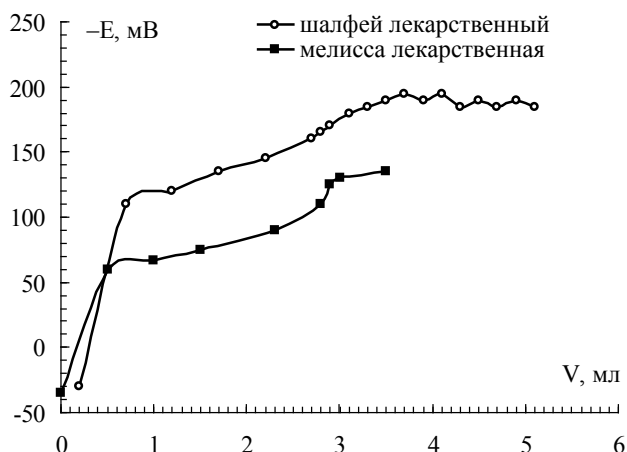


Рис. 1. Потенциметрические кривые титрования экстрактов шалфея и мелиссы перманганатом калия

ризует наличие двух окислительно-восстановительных процессов. Поскольку в водном извлечении шалфея присутствуют обе группы танинов (гидролизуемые и конденсированные), следовательно, наблюдаемые максимумы отвечают окислению разных групп полифенолов.

Для идентификации природы максимумов нами был определен потенциал точки эквивалентности для экстракта мелиссы, содержащей только гидролизуемые танины (рис. 1). Поскольку окисление гидролизуемых танинов должно происходить при одинаковом потенциале независимо от природы лекарственного сырья, то был определен объем титранта идущего на титрование экстракта шалфея при данном потенциале (рис. 1), который соответствует первому пику на дифференциальной кривой (рис. 2). Следовательно, первый максимум на дифференциальной кривой титрования шалфея отве-

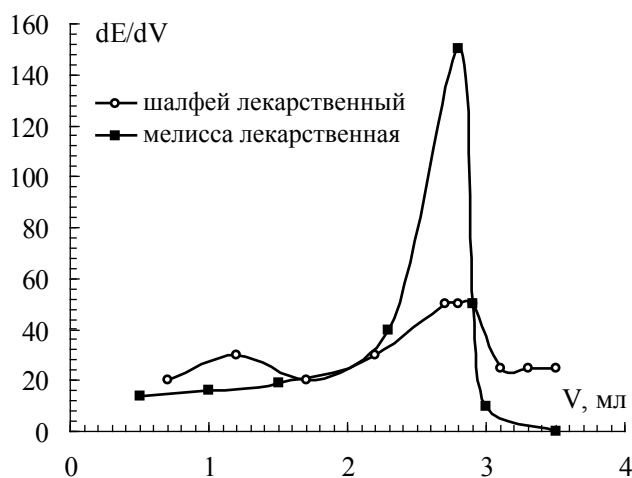


Рис. 2. Дифференциальные кривые титрования водных экстрактов шалфея и мелиссы перманганатом калия

чает окислению гидролизуемых танинов. Исходя из полученных данных рассчитано процентное содержание гидролизуемых дубильных веществ в водных экстрактах мелиссы и шалфея, что составило  $4.5115 \pm 0.0030$  % и  $1.933 \pm 0.011$  % соответственно. Полученные данные хорошо согласуются с титриметрическим анализом и литературными данными [8]. Следовательно, потенциал второго максимума на дифференциальной кривой шалфея отвечает окислению конденсированных танинов. Объем точки эквивалентности второго пика, соответствует суммарному объему перманганата калия идущего на окисление разных групп полифенолов в экстракте шалфея. По разнице объемов второго и первого максимума определили объем титранта затраченного на окисление конденсированных танинов и рассчитали их количество, которое составило  $3.835 \pm 0.0018$  %, что хорошо согласуется с титриметрическими данными  $3.98 \pm 0.18$  %.

Таким образом, потенциметрический метод наряду с общепринятым методом Левинталея-Курсанова можно использовать для количественного определения отдельных групп полифенолов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что в мелиссе лекарственной содержатся гидролизуемые полифенолы. Шалфей лекарственный содержит смесь танинов, т.е. гидролизуемые и конденсированные дубильные вещества.

Определено количественное содержание дубильных веществ в мелиссе и шалфее. Гидролизуемые танины в мелиссе лекарственной составляют 4.32%. В шалфее лекарственном из суммы дубильных веществ конденсируемые танины составляют наибольшую часть (более 70%). Содержание дубильных веществ в шалфее 5.71%, из которых 1.73% гидролизуемые, 3.98% конденсированные.

Получено удовлетворительное согласование результатов определения дубильных веществ двумя методами: титриметрическим и потенциметрическим. Доказана возможность количественного определения отдельных групп полифенолов потенциметрическим методом.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Решетникова А.В. Лечение растениями / А. В. Решетникова, Е. И. Сенчинская. — К.: Феникс, 1993. — 325 с.
2. Гринкевич Н.И. Химический анализ лекарственных растений / Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронич. — М.: Высшая школа, 1983. — 175 с.
3. Запромтов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений / М.Н. Запромтов. — М.: Наука, 1974. — 214 с.

*Сравнительное исследование Melissa лекарственной и шалфея лекарственного на содержание полифенолов*

4. Айзенман Б.Е. Фитонциды и антибиотики высших растений / Б.Е. Айзенман, В.В. Смирнов, А.С. Бондаренко — Киев, 1984. — 280 с.

5. Губанов И.А. Лекарственные растения: Справочник / И.А. Губанов. — М., 1993. — 272 с.

6. Государственная фармакопея СССР XI издания. Вып.2. — М., 1990. — 397 с.

7. Федосеева Г.М. Способы определения полифенольных соединений / Г.М. Федосеева // Дис. д-ра. фарм. наук. — Якутск, 1981.

8. Малахова А.И. Исследование состава травы Melissa лекарственной и ее водного извлечения / А.И. Малахова, Н.Н. Федоровский // Науки о человеке: материалы VIII конгресса молодых ученых и специалистов. Томск: СибГМУ. — 2007. — С. 230—231.

---

*Рябинина Елена Ивановна* — ассистент кафедры неорганической и физической химии Воронежской государственной академии им. Н.Н. Бурденко; тел.: (4732) 437688, e-mail: ryabinina68@mail.ru

*Ryabinina Elena I.* — assistant of chair of inorganic and physical chemistry at the Voronezh N. N. Burdenko State Medical Academy; tel.: (4732)437688, e-mail: ryabinina68@mail.ru

*Зотова Елена Евгеньевна* — ассистент кафедры неорганической и физической химии Воронежской государственной академии им. Н.Н. Бурденко; тел.: (4732) 437688

*Zotova Elena E.* — assistant of chair of inorganic and physical chemistry at the Voronezh N. N. Burdenko State Medical Academy; tel.: (4732) 437688

*Пономарева Наталья Ивановна* — зав. кафедрой неорганической и физической химии Воронежской государственной академии им. Н.Н. Бурденко; тел.: (4732) 437688

*Ponomareva Natalia I.* — head of chair of inorganic and physical chemistry at the Voronezh N. N. Burdenko State Medical Academy; tel.: (4732) 437688

*Рябинин Станислав Викторович* — студент лечебного факультета Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н. Бурденко; e-mail: tonymortal@yandex.ru

*Ryabinin Stanislav V.* — student of medical faculty at the Voronezh N. N. Burdenko State Medical Academy; e-mail: tonymortal@yandex.ru