УДК615.3226547.972.2].074

ИЗУЧЕНИЕ ЛИГНАНОВ В ЛИСТЬЯХ ЛИМОННИКА МЕТОДОМ ТСХ

А. А. Мальцева, И. А. Тамилина, М. А. Недосекова, О. В. Тринеева, А. И. Сливкин, А. С. Чистякова

ФГБОУ ВПО Воронежский государственный университет
Поступила в редакцию 30.05.2014 г.

Аннотация. Проведено изучение лигнанов листьев лимонника китайского методом ТСХ. Подобраны и обоснованы оптимальные условия хроматографирования. Показано присутствие в листьях основных составляющих комплекса лигнанов плодов и семян лимонника.
Ключевые слова: Лигнаны, листья лимонника китайского, тонкослойная хроматография.

Abstract. The study of Chinese magnolia leaves lignan TLC. The optimal chromatographic conditions. Shows the presence of the main components of Schisandra lignan complex - and Schizandrin shizandrol.
Keywords. Lignans, Chinese magnolia leaves, thin layer chromatography.

Род *Schizandra* – лимонник – принадлежит к семейству Лимонниковые — *Schisandraceae*, которое насчитывает всего 2 рода (по всему миру) и 47 видов вечнозеленых или листопадных, вьющихся или лазящих кустарников. На территории России произрастает и разрешен к применению один вид этого семейства — лимонник китайский Schizandra chinensis. В фармацевтической практике к использованию допускаются плоды и семена лимонника, остальные части растения не подлежат заготовке.

Согласно литературным данным, основными действующими веществами плодов и семян лимонника китайского являются дибензоциклооктановые лигнаны (рис. 1.) – схизандрин (схизандрол А), схизандрин А, схизандрин В, схизандрин С, γ-схизандрин (рацематная форма схизандрина В), гомизин А (схизандрол В), гомизин N и др. [1].

В действующей нормативной документации на плоды и семена лимонника (табл. 1) стандартизация по содержанию биологически активных веществ (БАВ) не предусмотрена.

Учитывая постоянно возрастающий интерес к новым источникам получения препаратов растительного происхождения, обладающих адаптогенной активностью, а также возможности расширения сырьевой базы, исследования по изучению БАВ листьев лимонника китайского следует считать актуальными.

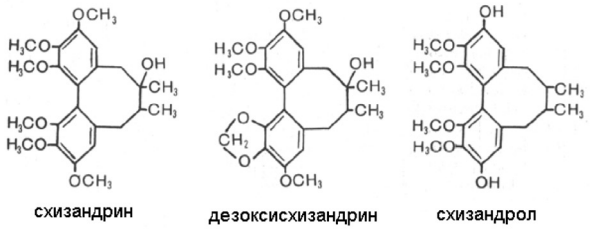

Рис. 1. Структурные формулы лигнанов

Одним из перспективных методов анализа растительного сырья является метод хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ), универсальность и простота использования делают его незаменимым в подобных исследованиях.

Проводя анализ литературных данных необходимо отметить, что среди исследователей нет единого мнения, касающегося оптимальных условий проведения анализа лигнанов лимонника китайского методом ТСХ [1-9].

Целью исследования явилось изучение и выбор оптимальных параметров хроматографиче-

© Мальцева А. А., Тамилина И. А., Недосекова М. А., Тринеева О. В., Сливкин А. И., А. С. Чистякова А. С., 2015

ского разделения лигнанов листьев лимонника китайского методом ТСХ.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектом исследования являлись высушенные листья лимонника китайского, заготовленные в Воронежской области в летний период в фазу формирования плодов.

На первом этапе исследования был проведен поиск оптимальной системы, обладающей наибольшей разделительной способностью и селективностью к определяемым веществам. Для этого были изучены хроматографические системы, рекомендуемые литературными источниками для разделения суммы лигнанов, выделенных из плодов и семян лимонника китайского [1].

Таблица 1

Стандартизация лекарственного растительного сырья лимонника китайского

Вид НД	ГФ X, статьи 294 и 604, стр. 319 и 616	ГФ XI, статья 80, стр. 373
Fructus Schizandrae Плоды лимонника		
Внешние признаки	Цельное сырье	Отсутствует
Микроскопия	Описание поверхности плода	Отсутствует
Числовые показатели	Цельное сырье	Отсутствует
Semena Schizandrae Семена лимонника		
Внешние признаки	Цельное сырье	Цельное сырье
Микроскопия	Отсутствует	Описание поперечного среза
Числовые показатели	Цельное сырье	Цельное сырье

Так как стандартные образцы лигнанов лимонника являются труднодоступными и дорогостоящими, идентификацию хроматографических зон лигнанов при изучении извлечения из листьев лимонника проводили в сравнении с величинами R_f основных лигнанов, присутствующих в настойке семян лимонника [1,6] (производитель ЗАО «ВИФИТЕХ», Россия, серия 020411). Проявляющим реагентом был выбран рекомендуемый большинством литературных источников 16% раствор серной кислоты, окрашивающий зоны схизандрола в серый, а зоны схизандрина в желтый цвета [2,5].

Для каждой элюирующей системы были рассчитаны полярность (P) [7]; относительная скорость перемещения веществ (величина R_f); высота, эквивалентная теоретической тарелке (H); число теоретических тарелок (N), селективность сорбции (L), коэффициент распределения (K). Результаты представлены в табл. 2.

Анализируя полученные результаты необходимо отметить, что при изучении лигнанов в настойке из семян лимонника оптимальные величины Rf наблюдаются в системах No 2, 6, 7, 9; N и H – 2, 7, 9. Следовательно, эффективность хроматографического процесса достигается при использовании данных элюентов. Однако, только в системе No 7 зоны имели округлую форму, что свидетельствует о линейной изотерме сорбции в данных условиях. В результате, по совокупности представленных параметров и качеству хроматографической картины для разделения лигнанов в тонком слое сорбента была выбрана система № 7. Кроме того, в выбранной системе наблюдается наличие всех основных зон лигнанов, присутствующих в семенах лимонника – схизандрина А и В и схизандрола А и В [4, 6].

В результате проведенной работы были выбраны оптимальные условия хроматографирования лигнанов методом ТСХ на модели лигнанов настойки семян лимонника: – схизандрина А и В и схизандрола А и В [4, 6].

В результате проведенной работы были выбраны оптимальные условия хроматографирования лигнанов методом ТСХ на модели лигнанов настойки лимонника:

1. Хроматографические пластинки марки «Sorbfil» размером 10×10 см с алюминиевой подложкой;
2. Элюирующая система: петролейный эфир – этилацетат (1:1);
3. Время насыщения камеры парами элюента: 20 мин;
4. Объем наносимой пробы - 7 мкл;
5. Детектирующий реагент — 16%-ный раствор серной кислоты;
6. Время выдерживания пластины в сушильном шкафу при температуре 105^0C составило 5-7 мин.

Разработанная методика разделения и идентификации лигнан была апробирована на извлечении из листьев лимонника.

Для проведения эксперимента навеску сырья нагревали в течение 30 мин на водяной бане с обратным холодильником в соотношении сырье – экстрагент (спирт этиловый 90%) 1:50, извлечение охлаждали, отфильтровывали через складчатый фильтр, отбрасывая первые порции фильтрата. На хроматографические пластины наносили по 3, 5,

Таблица 2

Основные параметры хроматографирования лигнан семян лимонника

№ п/п	Элюирующая система	Rf ±0,02	Идентифицированное вещество	H, см	N	P'
1	Бутанол - уксусная кислота - вода (4:1:5)	0,96	γ схизандрин	0,04	2710	7,26
		0,94	*	0,09	1252	
2	Бензол – этилацетат (4:6)	0,92	*	0,04	3812	3,72
		0,72	γ схизандрин	0,07	1542	
		0,60	схзандрин	0,16	576	
		0,23	схзандрол В	0,22	153	
3	Хлороформ – этилацетат – уксусная кислота (5:2,5:2,5)	0,98	γ схизандрин	0,03	7150	3,40
		0,93	*	0,02	4930	
4	Бензол – этанол – уксусная кислота (45:8:3)	0,85	γ схизандрин	0,16	2421	3,08
		0,71	схзандрин	0,40	4624	
		0,64	схзандрол В	0,57	2704	
5	Бензол – этилацетат (9:1)	0,74	γ схизандрин	0,13	1537	2,53
		0,58	схзандрин	0,09	1665	
		0,48	схзандрол В	0,26	503	
6	Этилацетат – гексан – хлороформ – бутанол (8:6:4:2)	0,98	*	0,04	3406	2,46
		0,93	γ схизандрин	0,05	3068	
		0,27	схзандрин	0,04	829	
		0,14	схзандрол В	0,04	361	
7	Петролейный эфир – этилацетат (1:1)	0,93	*	0,07	1674	2,20
		0,78	γ схизандрин	0,03	2909	
		0,52	схзандрин	0,02	3959	
		0,31	схзандрол В	0,08	459	
8	Хлороформ – этанол (9:1)	0,98	γ схизандрин	0,02	7150	1,87
		0,84	схизандрин	0,02	7150	
		0,21	схизандрол В	0,05	644	
9	Петролейный эфир – хлороформ (1:5)	0,38	γ схизандрин	0,1	629	1,33
		0,21	схзандрин	0,18	185	
		0,14	схзандрол В	0,39	59	
10	Гексан – хлороформ (1:1)	0,18	*	0,28	104	0,85

*- неидентифицированное соединение из комплекса лигнан лимонника.

7, 10, 13 и 15 мкл извлечения из листьев лимонника. В качестве раствора свидетеля наносили 7 мкл настойки семян лимонника и далее хроматографировали как описано выше. Вид полученных хроматограмм представлен на рис. 2.

Обнаружено, что оптимальный объем наносимой пробы исследуемой вытяжки составляет 7 мкл. Дальнейшее увеличение объема приводит к «эффекту нагрузки». Значения критериев эффективности хроматографического разделения лигнанов листьев лимонника китайского приведены в табл. 3.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования была предложена оптимальная система для разделения лигнанов растительного сырья лимонника китайского в тонком слое сорбента. Проведена идентификация лигнанов листьев лимонника. Полученные результаты свидетельствуют о схожести состава изучаемых БАВ в семенах и листьях лимонника, что дает предпосылки к возможному использованию в медицинских целях не только плодов и семян, но и листьев лимонника китайского. Это значительно расширит сырьевую базу и решит проблему рационального использования данного лекарственного растения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Жукович Е.Н. К исследованию биологически активных лигнан настойки и семян лимонника китайского / Е.Н.Жукович [и др.] // Химико

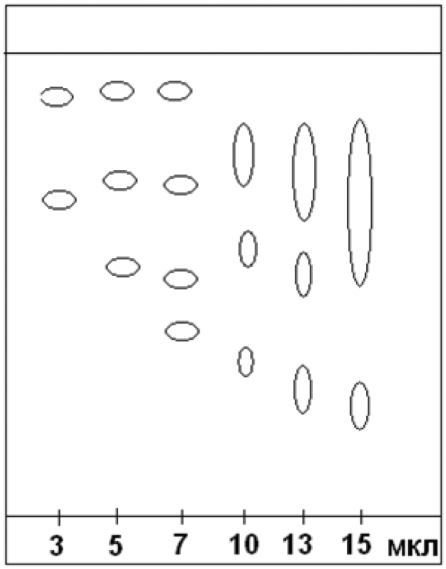

Рис. 2. Хроматограмма лигнанов листьев лимонника китайского.

Таблица 3

Значения критериев эффективности хроматографического разделения лигнанов листьев лимонника китайского

Объект исследования	Rf	K	L
Настойка из семян лимонника китайского	0,93	0,075	3,73
	0,78	0,28	3,28
	0,52	0,92	2,46
	0,31	2,22	
Спиртовая вытяжка из листьев лимонника китайского	0,91	0,086	3,37
	0,77	0,29	3,44
	0,50	1,00	2,03
	0,33	2,03	

– фармацевтический журнал. — 2007. — Т. 41.— №2. — С. 35-37.

2. Куркин В.А. Стандартизация плодов и семян лимонника китайского / В.А. Куркин, Ф.Ш. Сатдарова // Фармация. — 2008. — №6. — С.11-14.

3. Самойленко, Л.И. Содержание лигнанов в лимоннике китайском / Л.И. Самойленко, Н.И. Супрунов // Растительные ресурсы. — 1974. — Т. 13. —вып.1. — С. 75-81.

4. Сатдарова Ф.Ш. Исследования по стандартизации и созданию лекарственных средств на основе плодов и семян лимонника китайского [Schizandra chinensis (Turcz.) Baill.].: дис... канд. фарм. наук / Ф.Ш Сатдарова. — Курск, 2009. — 179 с.

5. Сатдарова Ф.Ш. Разработка государственного стандартного образца γ-схизандрина из семян лимонника китайского / Ф.Ш. Сатдарова, В.А. Куркин // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: тез. докл. III Всерос. конф., Барнаул, 23-27 апр. 2007 г. — Барнаул, 2007. —– С. 278-281.

6. Степанов А.С. Стандартизация сырья и препаратов элеутерококка колючего и лимонника китайского: дис… канд. фарм. наук / А.С. Степанов. — Пермь, 2004.

7. Сумина Е.Г. Тонкослойная хроматография. Теоретические основы и практическое применение / Е.Г. Сумина, С.Н. Штыков, Н.В. Тюрина — Саратов: Изд-во Сарат. ун-та.— 2002. — 102 с.

8. Темирбулатова А.М. Фитохимическое исследование и разработка технологии жидкого экстракта из листьев лимонника китайского / А.М. Темирбулатова [и др.] // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация.—2010. — №22(93).— Вып.12/2. — С.141-145.

9. Slanina, L. Lignans in the seeds and fruits of Schizandra chinensis cultured in Europe / L. Slanina, E. Taborska, L. Lojkova // Planta Med. — 1997. — Vol. 63, No. 3. – P. 277-280.

Мальцева Алевтина Алексеевна — доцент кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии, к.фарм.н.; тел.: (473) 2530428; e-mail: alinevoroneg@mail.ru

Maltseva Alevtina A. — the associate professor of chair of Management and Economics of Pharmacy and Pharmacognosy, PhD; tel.: (473) 2530428;e-mail: alinevoroneg@mail.ru

Чистякова Анна Сергеевна — ассистент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии, e-mail: anna081189@yandex.ru

Сливкин Алексей Иванович — д.ф.н., профессор, зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии, декан фармацевтического факультета ВГУ, e-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

Тринеева Ольга Валерьевна — кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии фармацевтического факультета ВГУ, e-mail: trineevaov@mail.ru

Тамилина Ирина Александровна — интерн e-mail: irselek91@mail.ru

Недосекова Мария Александровна — e-mail: nedmariya@yandex.ru

Chistyakova Anna S. — Assistant of chair of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology of pharmaceutical faculty VSU, e-mail: anna081189@yandex.ru

Slivkin Alexey I. — PhD, the professor, head of faculty of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology, the dean of pharmaceutical faculty VSU, slivkin@pharm.vsu.ru

Trineeva Olga V. — the associate professor of chair of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology of pharmaceutical faculty VSU, e-mail: trineevaov@mail.ru

Tamilina Irina A. — Intern, e-mail: irselek91@mail.ru

Nedosekova Maria A. — e-mail: nedmariya@yandex.ru