УДК 615.322
DOI 10.5281/zenodo.4954836

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОДЛИННОСТИ СОПЛОДИЙ И ЛИСТЬЕВ ОЛЬХИ РАЗНЫХ ВИДОВ

USING THE METHOD OF THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY TO DETERMINE THE AUTHENTICITY OF THE ALDER SEEDS AND LEAVES OF DIFFERENT SPECIE

НЕСТЕРОВ ГЕОРГИЙ ВИКТОРОВИЧ,
ассистент кафедры фармации,
ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова
Минздрава России (Сеченовский Университет).
ЧЕРНОВА СВЕТЛАНА ВИКТОРОВНА,
к.ф.н., доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии,
ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова
Минздрава России (Сеченовский Университет).
ЛИТВИНОВА ТАТЬЯНА МИХАЙЛОВНА,
к.ф.н., зав. кафедрой фармации,
ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова
Минздрава России (Сеченовский Университет).

GEORGY VIKTOROVICH NESTEROV,
Assistant of the Department of Pharmacy,
First Moscow State Medical University named after I. M. Sechenov
Ministry of Health of Russia (Sechenov University).
CHERNOVA SVETLANA VIKTOROVNA,
Ph. D., Associate Professor of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry,
Sechenov First Moscow State Medical University
Ministry of Health of Russia (Sechenov University).
LITVINOVA TATYANA MIKHAILOVNA,
Ph. D., Head of the Department of Pharmacy,
First Moscow State Medical University named after I. M. Sechenov
Ministry of Health of Russia (Sechenov University).

В ходе исследования был проведен ТСХ анализ извлечений, полученных из соплодий и листьев ольхи черной (Alnus glutinosa (L.)Gaerth.) и серой (Alnus incana (L.) Moench). Были использованы различные хроматографические системы, обычно используемые для хроматографического анализа веществ полифенольной природы. Наилучшее разделение компонентов было достигнуто при использовании системы растворителей кислота метановая безводная- этилацетат- толуол (10 : 30 : 60). В ходе ТСХ анализа для всех исследуемых образцов идентифицированы кислота галловая, танин, гиперозид, рутин. Также выявлено наличие 3 неидентифицированных зон адсорбции у соплодий и листьев ольхи серой и четырех- у сырья ольхи черной. Отличий в количестве обнаруженных зон на

хроматограммах образцов сырья одного вида, заготовленных в разных районах Московской области обнаружено не было. Разработанная авторами методика идентификации компонентов дубильных веществ (кислота галловая, танин) и флавоноидов (рутин, гиперозид) в составе извлечений из соплодий и листьев фармакопейных видов ольхи может быть использована при совершенствовании нормативной документации на соплодия ольхи и для включения в разрабатываемую документацию на листья ольхи черной и серой.

In the course of the study, a TLC analysis of extracts obtained from the coplods and leaves of black alder (Alnus glutinosa (L.)Gaerth.) and gray (Alnus incana (L.) Moench). Various chromatographic systems were used, usually used for the chromatographic analysis of substances of a polyphenolic nature. The best separation of the components was achieved by using the solvent system anhydrous methane acid-ethyl acetate-toluene (10 : 30 : 60). During TLC analysis, gallic acid, tannin, hyperoside, and rutin were identified for all the studied samples. The presence of 3 unidentified zones of adsorption in the coplods and leaves of gray alder and four in the raw materials of black alder was also revealed. There were no differences in the number of detected zones on the chromatograms of raw material samples of the same type prepared in different districts of the Moscow region. The method developed by the authors for identifying the components of tannins (gallic acid, tannin) and flavonoids (rutin, hyperoside) as part of extracts from the coplods and leaves of pharmacopoeial alder species can be used to improve the regulatory documentation for alder coplods and to include them in the developed documentation for black and gray alder leaves.

***Ключевые слова**: тонкослойная хроматография, соплодия ольхи, листья ольхи, ольха черная, ольха серая, дубильные вещества, хроматографическая система.*

***Key words:** thin-layer chromatography, alder coplodia, alder leaves, black alder, gray alder, tannins, chromatographic system.*

Анализ научной литературы показывает широкое распространение методов хроматографического анализа, в том числе ТСХ, для определения подлинности различных видов пищевого и лекарственного растительного сырья [1,2]. Однако, хроматографические методы идентификации недостаточно широко применяются в стандартизации лекарственного растительного сырья, содержащего дубильные вещества. Учитывая необходимость совершенствования методов анализа, а также важность включения современных методов в вновь разрабатываемые нормативные документы, мы сочли изучить возможность идентификации веществ дубильной природы в соплодиях и листьях ольхи черной и серой методом тонкослойной хроматографии.

Целью данной работы является изучение состава дубильных веществ в соплодиях и листьях ольхи черной (Alnus glutinosa (L.)Gaerth.) и серой (Alnus incana (L.) Moench)методом тонкослойной хроматографии и предварительная оценка возможности использования данного метода для идентификации сырья.

Материалы и методы.

Объектом исследования служили соплодия ольхи фармакопейных видов, заготовленные в соответствии с требованием статьи «Fructus Alni –Соплодия ольхи» (ст.28 ГФ11) поздней осенью и зимой, а также листья, заготовленные в соответствии с рекомендациями ОФС.1.5.1.0003.15 «Листья» вполне развитыми с черешками от дикорастущих деревьев, произрастающих в подлеске смешанных лесов экологически благополучных районов Московской области. Отбор проб для проведения хроматографического анализа проводили в соответствии с требованием ОФС.1.1.0005.15 Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов. Пробоподготовка включала взятие точной навески, предварительно измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм, сырья массой 0,5 г, которую помещали в экстракционную колбу. Приливали 30 мл спирта этилового 60% и нагревали с обратным холодильником в течение 60 минут, по

истечении времени экстракции содержимое колбы охлаждали, центрифугировали при 3000 об\мин в течение 5 минут и отфильтровывали надосадочную жидкость, которую использовали для хроматографичексого анализа. Анализ осуществляли на пластинках «Сорбфил»10х15 см, широко применяемых в хроматографических исследованиях веществ полифенольной природы. [3] Для проведения хроматографического анализа нами использовались нейтральные и подкисленных хроматографические системы, представленные в таблице.

Обнаружение зон адсорбции веществ полифенольной природы осуществляли в УФ-свете при длине волны 254 и 365 нм с последующей обработкой хроматограмм раствором железо-аммониевых квасцов 1%[].В качестве стандартов использовались коммерчески доступные образцы СО гиперозида (Гиперозид pure AppliChem A 1791,0100), танин (Beervingem. Великобритания), рутин (ГСО 10267-2013 Рутин-Диод), кислота галловая (№CAS 61-51-25-3).

Таблица 1. Хроматографические системы, используемые в ТСХ анализе извлечений из сырья, содержащих вещества полифенольной природы.

Номер хроматографической системы	Состав подвижной фазы	Соотношение компонентов подвижной фазы по объему
1	Хлороформ- вода- спирт этиловый	60 : 30 : 20
2	Этилацетат- кислота метановая безводная- вода	80 : 10 : 10
3	Эфир диэтиловый- кислота уксусная(этановая) ледяная- гексан- этилацетат	20 : 20 : 20 : 20 : 40
4	Бутанол- кислота уксусная- вода	4 : 1 : 2
5	Кислота метановая безводная- этилацетат- толуол	10 : 30 : 60

Результаты и обсуждение.

В результате хроматографического исследования было выявлено, что оптимальные результаты разделения индивидуальных компонентов достигаются при использовании хроматографической системы №5, что согласуется с данными, полученными при изучении качественного состава лекарственного растительного сырья, содержащего дубильные вещества. [3] В ходе ТСХ анализа для всех исследуемых образцов идентифицированы сравнением значений Rf зон адсорбции со значениями Rf стандартов кислота галловая, танин, гиперозид, рутин. Также выявлено наличие 3 неидентифицированных зон адсорбции у соплодий и листьев ольхи серой и четырех у сырья ольхи черной. Отличий в количестве обнаруженных зон на хроматограммах образцов сырья одного вида, заготовленных в разных районах Московской области обнаружено не было. В ходе исследования нами была проведена валидация предложенной методики, включающая определение специфичности, отобранной хроматографической системы и приемлемости. Анализ специфичности проводили путем оценки совпадения основных зон адсорбции, по их соответствию отобранной методике при анализе извлечений из разного образцово сырья. Приемлемость изучалась по сопоставлению зон адсорбций, всех изучаемых объектов предложенному нами описанию. Проведенные контрольные анализы показали совпадения между собой зон адсорбции и их соответствие используемой в наших исследованиях методике.

Вывод. Таким образом, предложенная методика идентификации биологически активных веществ полифенольной природы в составе извлечений из соплодий и листьев фармакопейных видов ольхи может быть использована при совершенствовании нормативной документации на соплодия ольхи и для включения в разрабатываемую документацию на листья ольхи черной и серой.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Н.В. Нестерова, И.А. Самылина. Идентификация фенольных соединений в листьях яблони лесной (Malus sylvestris Mill.) // Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине: сб. мат. V науч.-практ. конф. (Москва, 15 марта 2017) / под ред. чл.-корр. РАН, проф. И.А. Самылиной, доц. А.Н. Луферова; Ин-т фармации и трансляционной медицины, Первый Мос. гос. мед. ун-т им. И.М. Сеченова. – М.: Изд-во Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, 2017. – С.158-161

2. Н.В. Нестерова, И.А. Самылина Сравнительная оценка суммарного содержания дубильных веществ в листьях яблони лесной и домашней зимних сортов // Научные исследования: теория, методика и практика: материалы Междунар. науч.-практ. конф. (Чебоксары, 21 мая 2017 г.). В 2 т. Т. 1 / редкол.: О.Н. Широков [и др.] – Чебоксары: ЦНС «Интерактив плюс», 2017. – С. 94-96.

3. Гринько Е.Н. Требования российской и европейской Фармакопей к методикам определения содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье. Фармация,2010,№5.С49-53

© Нестеров Г.В., Чернова С.В., Литвинова Т.М., 2021.