

К ВОПРОСУ ПРИМЕНЕНИЯ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ В ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Назарова Юлия Владиславовна

студент, Оренбургский государственный медицинский университет, РФ, г. Оренбург

Немерешина Ольга Николаевна

научный руководитель, научный руководитель, канд. биол. наук, доц., Оренбургский государственный медицинский университет, РФ, г. Оренбург

Введение

В современном мире интерес к использованию природных биологически активных веществ для лечения и профилактики различных заболеваний продолжает расти. И одним из наиболее популярных классов БАВ являются растительные полифенолы, относящиеся к группе вторичных метаболитов растений [2]. В настоящее время известны тысячи вторичных метаболитов, синтезируемых растениями. Поэтому актуальной проблемой современной фармацевтической науки является необходимость быстрой и качественной оценки содержания соединений различных групп в лекарственном растительном сырье [3]. С этой целью нам представляется оптимальным использование метода тонкослойной хроматографии (ТСХ).

ТСХ – это один из вариантов жидкостной хроматографии, в котором разделение компонентов подвижной фазы происходит на открытом слое сорбента. Преимуществами данного метода являются быстрота и легкость выполнения, а также низкая стоимость оборудования. Тем не менее, разработка методик исследования может быть трудоемкой и сложной [4]. Флора Оренбургской области характеризуется значительным числом видов лекарственных растений, которые можно использовать в качестве источников биологически активных веществ [5].

Поэтому **целями** нашего исследования стали:

1. Анализ компонентного состава экстрактов шести видов растений народной и официальной медицины методом тонкослойной хроматографии.
2. Выявление оптимальных условий хроматографирования.

Объекты исследования

Экстракты лекарственного растительного сырья следующих растений:

Боярышник кроваво-красный (*Crataegus sanguinea*), морковь посевная (*Daucus carota*), кровохлёбка лекарственная (*Sanguisorba officinalis*), шалфей лекарственный (*Salvia officinalis*), малина обыкновенная (*Rubus idaeus*), подорожник большой (*Plantago major*), марьянник луговой (*Melampyrum pratense*), вероника длиннолистная (*Veronica longifolia*).

Для определения многокомпонентного состава биологически активных веществ были получены экстракты из растительного сырья боярышника кроваво-красного, моркови посевной, кровохлебки лекарственной, шалфея лекарственного, малины обыкновенной, подорожника большого, марьянника лугового и вероники длиннолистной. Экстракты готовились с использованием этилового спирта с концентрацией 70% по стандартной методике Государственной Фармакопеи XIII издания [1].

В качестве систем растворителей использовались смеси бутанола, уксусной кислоты и воды (4:1:5 и 4:1:3). Пробы 6 экстрактов наносились капиллярами в виде точек размером 5–7 мм на две пластинки фирмы “Silufol” (Чехия) длиной 13 см и 15 см, а также на пластинку фирмы “Sorbfil” (Россия) длиной 10 см. Расстояние между пробами, нанесенными на пластинки, должно быть не менее 1 см.

Предварительно на пластинках были отмечены стартовые линии на расстоянии 1 см от края. После испарения растворителя пластинки опускали в разделительные камеры с системой растворителей бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5 и 4:1:3).

Расшифровка хроматограмм, обработанных парами 25% аммиака, велась при УФ-свете. Для обнаружения флуоресцирующих веществ использовали источник света с максимумами излучения в области 254 и 365 мкм. Также нами применялась обработка хромогенными реактивами по методике ВИЛАР.

Результаты и их обсуждение

Полученные результаты представлены в таблицах 1 и 2. Методом тонкослойной хроматографии выявлено, что наиболее разнообразным по количеству групп биологически активных веществ является сырье кровохлебки, боярышника и шалфея, а наименьшим разнообразием состава отличается сырье малины, марьянника, подорожника и вероники.

Оценивая яркость пятен, можно отметить, что соединения полифенольной природы преобладают в сырье боярышника, шалфея, моркови, подорожника; флавоноидной природы – в листьях малины, вероники и марьянника; таннины в большом количестве обнаружены в корневищах кровохлебки, в меньшей степени – в листьях шалфея, моркови и малины.

Таблица 1.

Результаты хроматографического исследования на пластинках “Sorbfil”

Вид растения	№ пятна	Окраска Пятна	Rf	
БУВ 4:1:5				
Боярышник кровоаво-красный	1	Желто-коричневое	0,31	Фл
		Желтое		
	2	Голубое	0,46	Фен
	3	Желтое	0,75	Фен
	4		0,88	Фен
Морковь посевная	1	Светло-желтое	0,13	Фен
	2	Коричневое	0,25	Фл
	3	Голубое	0,41	Фен
	4	Ярко-голубое	0,75	Фен
Кровохлебка лекарственная	1	Черное	0,2	Фл
	2	Светло-коричневое	0,38	Фл
		Голубое		
	3	Коричневое	0,5	Фен
	4	Желтое	0,66	Фл

	5			Фен
Шалфей лекарственный	1	Коричневое	0,08	Фл
	2	Бурое	0,19	Т
	3	Желто-коричневое	0,25	Фл
		Грязно-голубое		
	4	Желтое	0,45	Фен
	5	Грязно-желтое	0,69	Фен
	6		0,88	Фен
Малина обыкновенная	1	Светло-коричневое	0,19	Фл
		Темно-коричневое		
	2	Светло-коричневое	0,26	Фл
		Коричневое		
	3	Голубое	0,34	Фл
		Голубое		
	4		0,5	Фл
	5		0,79	Фен
	6		0,89	Фен

Таблица 2.

Результаты хроматографического исследования на пластинках “Silufol”

Вид растения	Пластинка	№ пятна	Окраска пятна	Rf	Группа веществ
БУВ 4:1:5					
Малина обыкновенная	1	1	Голубое	0,85	Фенолы
Шалфей лекарственный		1	Желто-зеленое	0,10	Фенолы
		2	Бурое	0,27	Танины
		3	Светло-бурое	0,85	Танины
Кровохлебка лекарственная		1	Темно-бурое	0,2	Танины
		2	Голубое	0,45	Фенолы
		3	Бурое	0,85	Танины
		4	Желтое	0,90	Полноценные белки
Морковь посевная		1	Ярко-голубое	0,79	Фенолы

		2	Бурое	0,25	Та
		3	Темно-бурое	0,86	Та
Боярышник кроваво-красный		1	Грязно-желтое	0,13	Фенол
		2	Ярко-голубое	0,75	Фенол
		3	Желтое	0,83	Полн
		4	Бурое	0,91	Та
Марьяник луговой	2	1	Оранжевое	0,92	Полн
		2	Темно-синее		Фенол
Шалфей лекарственный		1	Желто-коричневое	0,042	Фла
			Бурое		
		2	Желтое	0,83	Та
		3		0,86	Полн
Малина обыкновенная		1	Оранжевое	0,72	Полн
		2	Ярко-желтое	0,76	Фенол
		3	Бурое	0,88	Та
Вероника длиннолистная		1	Коричневое	0,059	Фла
		2	Ярко-желтое	0,75	Полн
		3	Светло-желтое	0,83	Фенол
Подорожник большой		1	Оранжевое	0,88	Полн
		2	Голубое	0,83	Фенол
БУВ 4:1:3					
Кровохлебка лекарственная	3	1	Бурое	0.027	Та
Морковь посевная		1	Желтое	0.9	Полн
		2	Темно-бурое	0.89	Та
Шалфей лекарственный		1	Темно-оранжевое	0.84	Полн
		2	Ярко-желтое	0.89	Фенол
Подорожник большой		1	Светло-желтое	0.93	Полн
		2	Бурое	0.96	Та
Марьянник луговой		1	Светло-коричневое	0.95	Фла
			Бурое		
		2		0.98	Та

Напомним, что на качество разделения многокомпонентной смеси в тонкослойной хроматографии влияют следующие факторы: тип выбранной системы; стартовый размер пятна; расстояние от старта до нижнего края пластинки; толщина и равномерность нанесения слоя сорбента; длина пластинки; объем растворителя в камере; наличие примесей в элюенте.

Таким образом, можно утверждать, что выбранная нами для исследования система растворителей бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5) способствует оптимальному разделению компонентов смеси, вне зависимости от выбранного соотношения. При этом на пластинках

марки "Sorbfil" наблюдаются более четкие пятна, чем на пластинках марки "Silufol". Кроме того, на пластинках большей длины исключается накладывание пятен друг на друга, что также способствует точности расшифровки. Представленные результаты являются примером предварительного анализа, для более точной оценки необходимо использовать инструментальные методы.

Заключение

Все исследованные виды растительного сырья Оренбургской области, используемые в официальной и народной медицине, содержат значительное количество веществ полифенольной группы. Данный факт требует определенного внимания к исследованию местной флоры и может послужить поводом для рассмотрения указанных видов растений в качестве источников получения полифенолов.

В настоящий момент ведутся исследования по изучению состава и влияния полифенольных соединений, которые содержатся во многих лекарственных растениях, в частности, веронике лекарственной, и обуславливают их антиоксидантные, противовоспалительные и антимикробные свойства [2; 3].

Тонкослойная хроматография является наиболее оптимальным методом предварительного исследования, при этом наилучшие результаты достигаются при использовании пластинок российской фирмы «Sorbfil» с пробегом не менее 13–15 см и системой растворителей бутанол-уксусная кислота-вода в соотношении 4:1:5.

Список литературы:

1. Государственная Фармакопея XIII изд., Т.3, – М., 2015. – С.134–138.
2. Немерешина О.Н., Гусев Н.Ф., Петрова Г.В. Изучение биологически активных веществ в растениях *Veronica chamaedrys* L. и *V. officinalis* L. // Успехи современного естествознания. – 2013. – № 8. – С. 113–118.
3. Немерешина О.Н., Гусев Н.Ф. [Влияние техногенного загрязнения на содержание флавоноидов в растениях семейства норичниковых степного Предуралья](#). // [Вестник Оренбургского государственного университета](#). – 2004. – № 10. – С. 123–126.
4. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Углова В.З., Кулакова Н.В. Тонкослойная хроматография. Теоретические основы и практическое применение. / Саратов. Изд-во Саратовского государственного университета. – 2012. – 128 с.
5. Хлебников А.В., Олешко Г.И., Гусев Н.Ф. Запасы сырья лекарственных растений в западных и северо-западных районах Оренбургской области. //

[Растительные ресурсы](#). – 1989. – Т. 25. – № 2. – С. 180.