

УДК 615.322.07:[582.678.2:581.45]

**Э.Х. Галияхметова**

канд. фармацевт. наук, доцент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России

**Н.В. Кудашкина**

д-р фармацевт. наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России

**С.Р. Хасанова**

д-р фармацевт. наук, профессор кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России

**E.H. Galiakhmetova**

PhD, Associate Prof., Pharmacognosy with Botany and Basics of Phytotherapy, Bashkir State Medical University

**N.V. Kudashkina**

PhD, DSci, Full Prof., Chair of Pharmacognosy with Botany and Basics of Phytotherapy, Bashkir State Medical University

**S.R. Khasanova**

PhD, DSci, Full Prof., Pharmacognosy with Botany and Basics of Phytotherapy, Bashkir State Medical University

## Исследование содержания кверцетина в листьях лимонника китайского

## A study of quantitative content of quercetin in the leaves of the schisandra chinensis

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Галияхметова Эльвира Халитовна, канд. фармацевт. наук, доцент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России

Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3

Тел.: +7 (347) 271-22-85

E-mail: galiahmetova.elvi@yandex.ru

Статья поступила в редакцию: 16.03.2018

Статья принята к печати: 04.06.2018

### CONTACT INFORMATION

Elvira Kh. Galiakhmetova, PhD, Associate Prof., Pharmacognosy with Botany and Basics of Phytotherapy, Bashkir State Medical University

Address: 3, Lenin str., Ufa, 450008, Russia

Tel.: +7 (347) 271-22-85

E-mail: galiahmetova.elvi@yandex.ru

Article received on: March 16, 2018

Article approved on: June 4, 2018

### Аннотация

### Abstract

В статье рассмотрены вопросы определения содержания доминирующего флавоноида в спиртовых извлечениях из листьев лимонника китайского (*Schisandra chinensis*), которые не являются официальным видом сырья. В исследованиях использовался хромато-денситометрический метод (высокоэффективная тонкослойная хроматография), позволяющий не только обнаружить зоны адсорбции на слое сорбента, но и дать количественную оценку полученного разделения непосредственно на хроматографической пластине. Предварительно подобранные условия хроматографирования (система растворителей этилацетат–метанол–вода (77 : 15 : 8), хроматографическая пластинка марки «Сорбфил ПТСХ-П-А-УФ» (ЗАО «Сорбполимер», г. Краснодар, размер 10 × 10), способ экстрагирования изучаемого

The article deals with the issues of determining the content of the dominant flavonoid in alcohol extracts from the leaves of *Schisandra chinensis*, which are not an official type of raw materials. The chromatodensitometric method (high-performance thin-layer chromatography) was used in the studies, which allows not only to detect adsorption zones on the sorbent layer, but also gives a quantitative assessment of the resulting separation directly on the chromatographic plate. Pre-selected chromatography conditions (solvent system ethyl acetate-methanol-water (77 : 15 : 8), chromatographic plate «Sorbfil PTSH-P-A-UV», a method of extraction of the studied raw materials, extractant) at 365 nm allowed to develop a method of quantitative determination of quercetin in the leaves of *Schisandra chinensis*, a species introduced in the Re-

сырья, время экстракции, экстрагент) при 365 нм позволили разработать методику количественного определения кверцетина в листьях лимонника китайского, интродуцированного в условиях Республики Башкортостан. По высоте и площади полученных пиков зон адсорбции на денситограммах определено оптимальное соотношение сырья и экстрагента (1 : 5) и объемы проб количественно наносимого извлечения (0,025 мл). В итоге наблюдали линейную зависимость между площадью пика и количественным содержанием кверцетина в сырье. Содержание кверцетина в листьях лимонника китайского составило  $0,188 \pm 0,004$  %. Метрологический анализ результатов показал воспроизводимость методики и отсутствие систематической погрешности. Следовательно, хроматоденситометрический метод можно использовать не только для полуколичественной, но и для количественной оценки содержания различных веществ в лекарственном растительном сырье.

**Ключевые слова:** хроматография, лимонник китайский, денситометрия, флавоноиды, кверцетин.

public of Bashkortostan. The optimal ratio of raw material and extractant (1 : 5) and the volume of samples of quantitatively applied extraction (0.025 ml) were determined by the height and area of the obtained peaks of adsorption zones on densitograms. As a result, we observed a linear relationship between the peak area and the quantitative content of quercetin in raw materials. The content of quercetin in the leaves of *Schisandra chinensis* vine amounted to  $0,188 \pm 0,004$  %. Metrological analysis of the results showed the reproducibility of the technique and the absence of systematic error. Consequently, chromatodensitometric method can be used not only for semi-quantitative, but also for quantitative evaluation of the content of various substances in medicinal plant raw materials.

**Keywords:** chromatography, *schisandra chinensis*, densitometry, flavonoids, quercetin.

## ВВЕДЕНИЕ

Лимонник китайский, наряду с женьшенем, элеутерококком и родиолой, является ценным лекарственным растением адаптогенного действия. На территории России в диком виде лимонник китайский произрастает на Дальнем Востоке, Хабаровском и Приморском крае. В настоящее время в Республике Башкортостан эта многолетняя лиана введена в культуру. Российскими учеными ведутся исследования по изучению химического состава всех органов данного растения: плодов, семян, коры корней и стеблей, а также листьев.

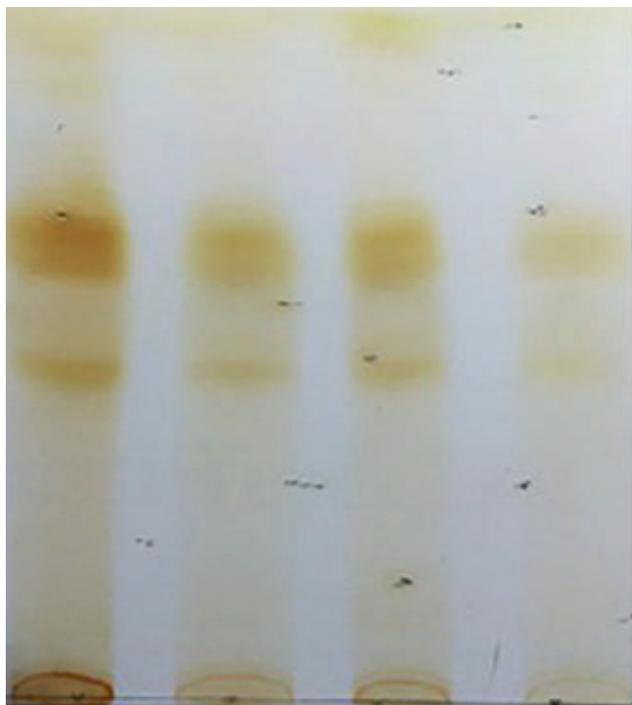
Наши предварительные хроматографические исследования по определению качественного состава флавоноидов листьев лимонника китайского показали, что наилучшее разделение веществ наблюдается при использовании в качестве экстрагента 70 % этилового спирта в системе растворителей этилацетат–метанол–вода (77 : 15 : 8) на хроматографических пластинках марки «Сорбфил ПТСХ-П-А-УФ» (ЗАО «Сорбполимер», Россия, размер 10 × 10) при экстрагировании сырья в течение 30 мин. При изучении площади и высоты пиков веществ установлено, что доминирующим веществом является кверцетин [1].

**Целью исследования** явилась разработка методики количественного определения кверцетина (как доминирующего флавоноида) хроматоденситометрическим методом.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве изучаемого сырья использовали листья лимонника китайского, интродуцированного на территории Республики Башкортостан, заготовленные летом в вегетационный период в 2015–2017 гг. Собранные листья сушили воздушно-теневым способом в хорошо проветриваемом помещении. Количественное определение кверцетина в листьях лимонника китайского проводили с использованием хроматоденситометрического метода [5]. Для исследований готовили спиртовое извлечение по следующей методике: измельченную аналитическую массу сырья с целью увеличения межфазной поверхности массой около 10,0 г помещали в колбу со шлифом вместимостью 250 мл и добавляли 50 мл спирта этилового 70 % (1 : 5). Измельчение листьев проводили в мельнице аналитической марки IKA WERKE модели A11 basic (Германия) до размера частиц 3 мм, однородность добивались ситовым анализом, предварительно отсеяв пыль через сито диаметром отверстий 0,5 мм. Далее колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на водяной бане (лабораторная водяная ТБ-4А, Россия) в течение 30 минут (оптимальное время экстракции определено экспериментально) [1]. Искусственно охлажденное извлечение фильтровали через бумажный обеззоленный фильтр (АО «Завод Химреактивкомплект», диаметром 7,0 см, марки «Красная лента»,

с размером пор 5–8 мкм) в мерную колбу вместимостью 200 мл. Далее хроматографическую пластинку «Сорбфил ПТСХ-П-А-УФ» (изготовитель ЗАО «Сорбполимер», Россия) размером 9 × 6 активировали в течение 1 ч при температуре 100 °С. На линию старта количественно микрокапилляром наносили по 0,025 мл исследуемого извлечения и 0,05 % (0,0000125 г) спиртового раствора



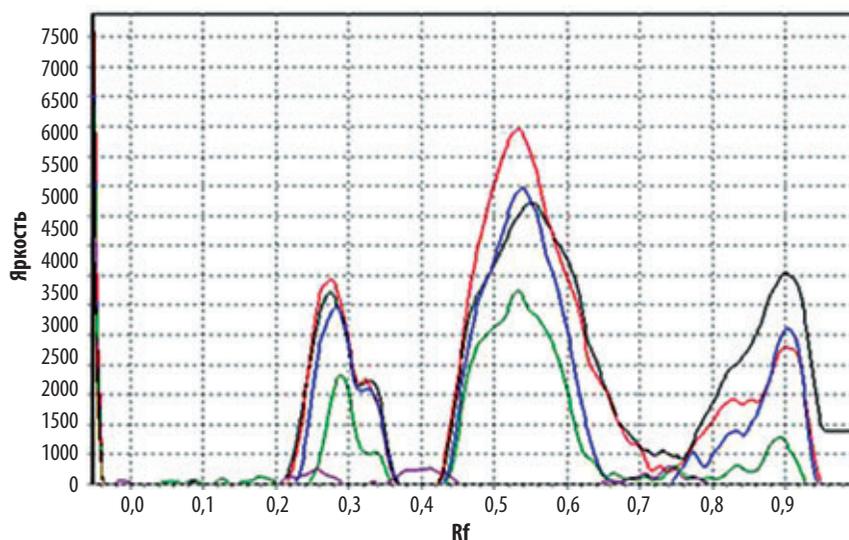
**РИС. 1.** Хроматограмма 70 % спиртового извлечения в разных соотношениях сырья и экстрагента (1 — 1 : 5, 2 — 1 : 10, 3 — 1 : 20, 4 — 1 : 50)

стандартного образца кверцетина (производитель «Сигмабиосинтез», набор стандартных веществ для высокоэффективной и тонкослойной хроматографии, ВТУ 00123-654440-11022006, CAS 117-39-5, ЕС 204-1871). Пластинку помещали в смесь растворителей (линия погружения в элюент составляла примерно 0,5 см) в предварительно насыщенную камеру, стенки которой выложили фильтровальной бумагой, также погруженной в смесь растворителей этилацетат–метанол–вода (77 : 15 : 8), и хроматографировали восходящим способом [2, 4]. После прохождения фронтом растворителей 8 см пластинку вынимали из камеры и просушивали. Хроматограммы, полученные методом тонкослойной хроматографии, анализировали с использованием денситометра марки SORBFIL KC 4.00.000, оснащенного видеокамерой Sony DCR-CX190E (ООО «Имид», Россия) [3, 5].

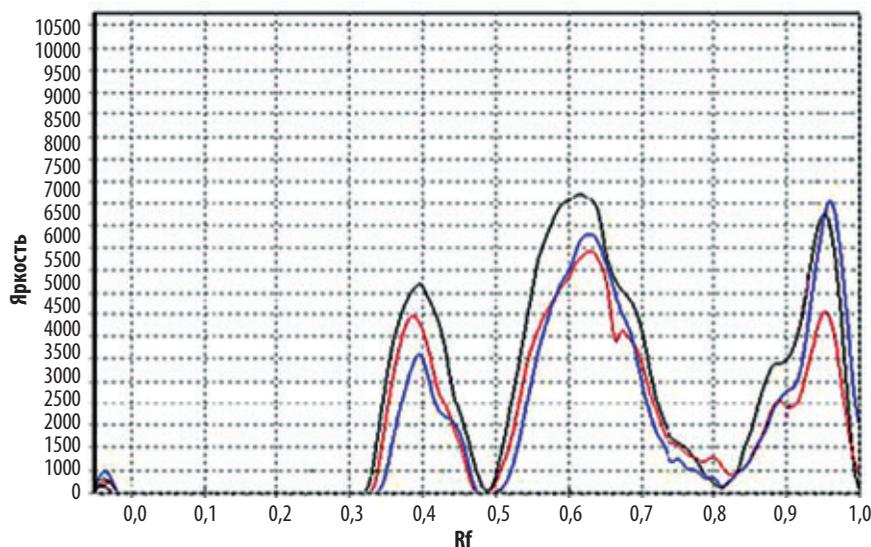
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

После предварительной подготовки (активирования хроматографических пластинок и насыщения камеры парами подвижной фазы) на первом этапе исследования определяли оптимальное соотношение сырья и экстрагента (этиловый спирт 70 %) 1 : 5; 1 : 10; 1 : 20 и 1 : 50, при которых наблюдалась полнота экстракции веществ в используемый экстрагент. Наиболее четкое разделение пятен при хроматографировании и изучении высоты пиков с помощью видеоденситометра наблюдалось в соотношении сырья и экстрагента 1 : 5 (рис. 1, 2).

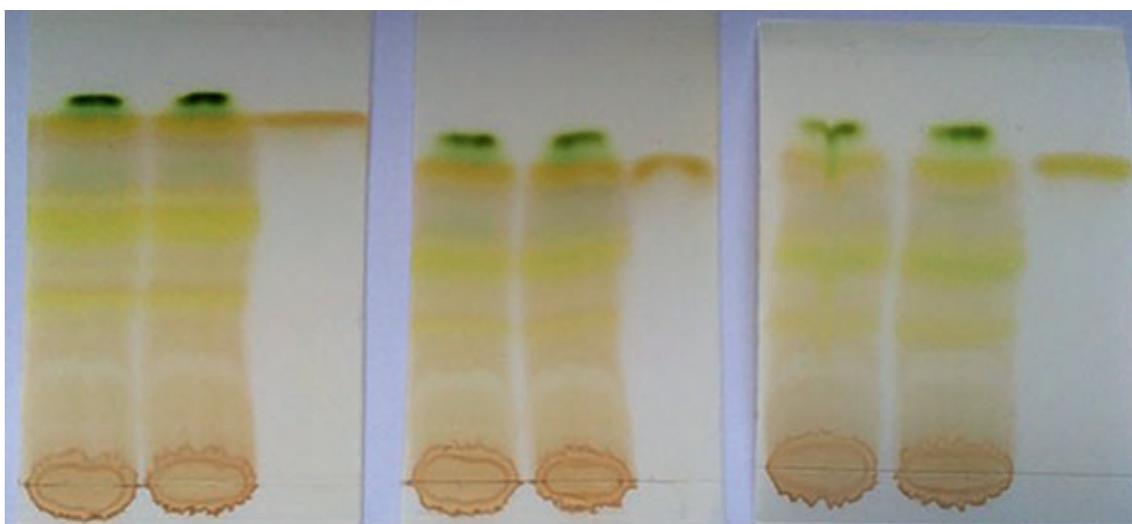
Далее для определения предела обнаружения кверцетина на пластинку мерной пипеткой наносили разные объемы проб извлечения из листьев



**РИС. 2.** Денситограмма 70 % спиртового извлечения при различных соотношениях сырья и экстрагента (черная линия — 1 : 5, красная — 1 : 10, синяя — 1 : 20, зеленая — 1 : 50)



**РИС. 3.** Денситограмма 70 % спиртового извлечения листьев лимонника китайского при соотношении сырья и экстрагента 1 : 5 (черная линия — 0,025 мл, красная — 0,01 мл, синяя — 0,05мл)



**РИС. 4.** Хроматограмма 70 % спиртового извлечения листьев лимонника китайского и ГСО кверцетина в системе этилацетат–метанол–вода (77 : 15 : 8) (1, 2, 4, 5, 7, 8 — спиртовая фракция; 3, 6, 9 — кверцетин)

лимонника китайского 1 : 5: 0,05, 0,025 и 0,01 мл. В ходе определения предела обнаружения кверцетина оказалось, что наиболее четкое разделение зон адсорбции наблюдалось в пробе объемом 0,025 мл (рис. 3).

Далее проводили определение содержания кверцетина в шести параллельных опытах в одинаковых подобранных условиях, где наблюдали линейную зависимость между площадью пика и количественным содержанием кверцетина в сырье (рис. 4).

Расчет содержания кверцетина в листьях лимонника китайского проводили по площади пика (рис. 5). Согласно полученным данным содержание кверцетина хроматоденситометрическим методом

составило в среднем 0,188 % (табл. 1). При проведении статистической обработки полученных данных ошибка опыта составила 2,44 %, что говорит о достоверности полученных результатов.

## ВЫВОДЫ

1. Подобраны оптимальные условия извлечения кверцетина из листьев лимонника китайского.
2. Определен предел обнаружения кверцетина на хроматограмме (0,025 мл), что говорит о чувствительности методики.

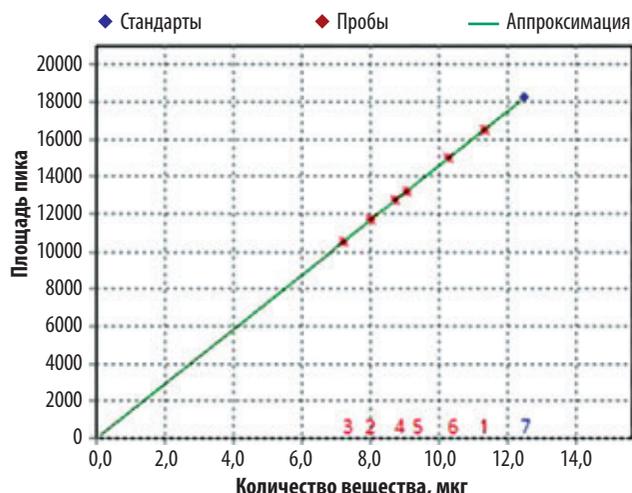


РИС. 5. График расчета кверцетина от площади пика (синий цвет — стандарт, красный — опытные образцы)

3. Разработана методика количественного определения кверцетина в листьях лимонника китайского хроматоденситометрическим методом. Содержание кверцетина составило  $0,188 \pm 0,004 \%$ . Метрологический анализ результатов показал воспроизводимость методики и отсутствие систематической погрешности.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о том, что хроматоденситометрический метод можно использовать не только для полуколичественной, но и для количественной оценки содержания различных веществ в лекарственном растительном сырье.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Галияхметова Э.Х., Кудашкина Н.В., Чуйкин С.В., Егорова Е.Г. Использование денситометрии в качественном анализе флавоноидов листьев лимонника китайского Медицинский вестник Башкортостана. Т. 11. 2016; 5(65): 70–73.

Таблица 1

Результаты расчета концентрации кверцетина и метрологическая характеристика содержания кверцетина в листьях лимонника китайского

Номер трека	Стандарт/Проба	Концентрация (%)	Фактор удерживания (Rf)				
1	проба	$0,187 \pm 0,004$	0,97				
2	проба	$0,189 \pm 0,004$	0,96				
3	проба	$0,188 \pm 0,004$	0,97				
4	проба	$0,190 \pm 0,004$	0,97				
5	проба	$0,184 \pm 0,004$	0,96				
6	проба	$0,190 \pm 0,004$	0,95				
7	кверцетин	0,05	0,96				
f	$\bar{x}$	S	S $\bar{x}$	P, %	T (P, f)	E <sub>абс</sub>	E <sub>отн</sub>
5	0,188	0,005	0,002	95	2,26	0,0046	2,44 %

- [Galiakhmetova E.H., Kudashkina N.V., Chuikin S.V., Egorova E.G. The use of densitometry in the qualitative analysis of flavonoids in the leaves of the Schisandra Chinensis. Medical Bulletin of Bashkortostan. Vol. 11. 2016; 5(65): 70–73 (in Russian).]
2. Кудашкина Н.В., Хасанова С.Р., Мещерякова С.А. Фитохимический анализ: Учеб. пособие по фармакогнозии для студентов. Уфа: ГОУ ВПО БГМУ РОСЗДРАВА, 2007. [Kudashkina N.V., Khasanova S.R., Meshcheryakova S.A. Phytochemical analysis: a textbook on pharmacognosy for students. Ufa: GOU VPO BSMU Roszdruva, 2007 (in Russian).]
3. Хасанова С.Р., Кудашкина Н.В., Файзуллина Р.Р. Возможности использования денситометрии в стандартизации лекарственного растительного сырья. Человек и лекарство: Сб. мат. XXI Российского национального конгресса. М., 2014: 347–348. [Khasanova S.R., Kudashkina N.V., Fayzullina R.R. Possibilities of using densitometry in standardization of medicinal plant raw materials. Man and medicine: proceedings of the XXI Russian National Congress. Moscow, 2014: 347–348 (in Russian).]
4. Харборн, Дж.Б. Фенольные соединения. Хроматография: практическое приложение метода. М.: 1986: 242–276. [Harborne J.B. Phenolic compounds. Chromatography: a practical application of the method. Moscow: 1986: 242–276 (in Russian).]
5. Химическая наука и образование в России [Электронный ресурс]. URL: <http://www.chem.msu.ru>. [Chemical science and education in Russia [Electronic resource]. URL: <http://www.chem.msu.ru> (in Russian).]