

Кудайбергенова С.М.

ФЛАВОНОИДЫ МАКЛЮРЫ ОРАНЖЕВОЙ

S.M. Kudeibergenova

FLAVONOIDS OF MACLURA AURANTIACA

УДК: 581.6.582.949.2.581.19.615-092

В результате экспериментального исследования подобраны оптимальные условия определения качественного и количественного содержания биологически активных веществ маклюры оранжевой.

*During the experimental research optimal conditions of identifying qualitative and quantitative definition of biologically active substances of dry grapes *Maclura aurantiaca*.*

Маклюра оранжевая (апельсиновидная) *Maclura aurantiaca* Nutt является малоизученным растением, о чем свидетельствуют ограниченные литературные данные, особенно, по органам растения.

Отмечено, что все части растения, особенно листья и плоды выделяют липкую жидкость, млечный сок, основной составной частью которого являются циклические тритерпеновые спирты в виде эфиров жирных кислот. К этому классу биологически активных веществ, широко распространенных в растительном мире, относятся стерины, желчные кислоты, сапонины. Суммарное содержание тритерпеноидов в соплодиях маклюры в период молочной спелости достигает 4%. Много в соплодиях сахаров, пектиновых веществ до 10%, в листьях почти 13% лимонной кислоты.

Семена – небольшие орешки, размещенные внутри соплодия, содержат почти 30% жирных кислот. Семена маклюры представляют особый интерес как источник ингибиторов трипсина и химотрипсина. В обезжиренной муке содержится 41,7% белков, 39% масла.

Но наиболее ценными веществами маклюры можно считать флавоноидные соединения. В наибольшем количестве из флавонолов содержится – кемпферол – до 1,2%. Именно эти вещества обладают желто-оранжевым (апельсиновым) цветом. В больших

количествах (около 6%) в плодах содержится – изофлавоноидов. Из них большая часть приходится на долю осайина [1,2].

Цель настоящего исследования – изучение качественного и количественного состава флавоноидных соединений маклюры оранжевой.

Экспериментальная часть

Исследовались плоды маклюры оранжевой, собранного в период цветения и после плодоношения в 2003-2005 гг.

Хроматографический компонентный анализ извлечений проводился в присутствии метчиков стандартных веществ (PCO) вариантом восходящей одномерной хроматографии на бумаге (FN 11) и в тонком слое (Silyfol UV 254) в подвижной фазе н-бутанол – уксусная кислота – вода 40:12,5:29 [3]. Хроматограммы высушивались на воздухе, просматривались в УФ-свете, затем проявлялись специфическими реагентами, высушивались и вновь просматривались в УФ-свете. Полученные данные представлены в таблице 1.

Сравнение величин Rf и цвета пятен в УФ свете и от совместного действия аммиака и раствора $AlCl_3$ идентифицированы: в воде – рутин, в ацетоне – кверцетин, в 50% ацетоне – осайин, рутин, мирицетин, в 70% спирте – мирицетин, в 50% спирте – рутин и мирицетин, в 50% диоксане – сканденон, осайин и кверцетин.

Таким образом, 50% спирт экстрагирует флавоноиды и их гликозиды, в 50% диоксан переходят флавоноиды и изофлавоноиды, что может быть использовано для их селективного извлечения из сырья.

Идентификация флавоноидного состава

№ п/п	Метчики флавоноидов и анализируемые растворы	Rf	УФ-свет	NH ₃ ·AlCl ₃
1.	Кверцетин	0,64	ярко-желтый	желтый
2.	Мирицетин	0,77	Желтый	желтый
3.	Рутин	0,50	Желтый	желтый
4.	Осайин	0,36	коричневый	зелено-коричневый
5.	Сканденон	0,29	коричневый	зелено-коричневый
извлечения	H ₂ O	0,48	коричневый	желтый
	Ацетон	0,61; 0,87	темно-коричневый	коричневый с желтым оттенком
	50% ацетон	0,36; 0,55; 0,76; 0,90; 0,95;	коричневый	зелено-коричневый
	70% спирт	0,75; 0,85; 0,94	желто-коричневый	ярко-зелено-коричневый
	50% спирт	0,60; 0,74	серо-коричневый	ярко-зелено-коричневый
	30% спирт	0,60	фиолетовый	желтый
	10% спирт	0,60	фиолетовый	желтый
	50% диоксан	0,37; 0,29; 0,65		

Методика количественного определения суммы флавоноидов в плодах маклюры оранжевой.

Количественное определение флавоноидов в плодах маклюры оранжевой проводили спектрофотометрическим методом. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито (ТУ 23.2.2068-89) с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1,0 г (точная навеска) помещают в круглодонную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл 70% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарирных весах с точностью до 0,01. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 30 мин. Затем колбу закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через фильтр и охлаждают в течение 30 мин. Испытуемый раствор готовят следующим образом: 2 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл 2% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки 95% этиловым спиртом (испытуемый раствор А). Через 30-40 мин измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 415 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, приготовленный при тех же условиях, но вместо раствора алюминия хлорида прибавляют 1 мл 3% раствора уксусной кислоты и спирта этилового 70% до 25 мл (раствор сравнения А). Параллельно измеряют оптическую плотность раствора РСО рутина при длине волны 415 нм, приготовленного по аналогии с испытуемым раствором.

Содержание суммы флавоноидов (в%) в пересчете на рутин в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \cdot 100 \cdot 100 \cdot 25}{380 \cdot 2 \cdot a \cdot (100 - v)}$$

где, D – оптическая плотность исследуемого раствора;
380 – удельный показатель поглощения (E_{1см^{1%}}) рутина с алюминием хлоридом в спиртовом растворе при длине волны 415 нм;
a – масса навески сырья, в граммах;
v – потеря в массе при высушивании сырья, в процентах.

Примечание 1. Приготовление раствора рутина стандартного образца. Около 0,05 РСО рутина (ФС 42-2508-87) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл 70% этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70% этиловым спиртом до метки (раствор А рутина).

1 мл раствора А рутина помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 1 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора 95% этиловым спиртом до метки (испытуемый раствор Б рутина). В качестве раствора сравнения используют раствор, который готовят следующим образом: 1 мл раствора А рутина помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 2-3 капли раствора уксусной кислоты и доводят объем раствора до метки 95% этило-

вым спиртом, затем перемешивают и оставляют на 30 мин (раствор сравнения Б рутина).

Оптическую плотность раствора Б измеряли на спектрофотометре при длине волны 415 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Срок хранения раствора А – 3 мес. Раствор Б должен быть свежеприготовленный.

В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из исходного раствора, 1 мл 3% раствора уксусной кислоты и доведенный 70% этиловым спиртом до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Примечание 2. Приготовление 5% раствора алюминия хлорида в 70% этиловом спирте. 5 г алюминия хлорида (ГОСТ 3759-75, х.ч., ч.д.а.) помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в 50 мл 70% этилового спирта и доводили объем раствора до метки тем же спиртом.

Предложенная методика использовалась при анализе 5 партиях сырья. Результаты исследования обработаны статистически согласовано требованиям ГФ-ХІ [4]. Ошибка единичного определение с 95% вероятностью не превышает 3.8%. Содержание суммы флавоноидов в плодах маклюры колеблется от 0,75 до 0,85%.

Определение влажности плода маклюры

Масса пустого бюкса:

$m_1 = 27,0012; m_2 = 27,0060; m_3 = 27,0054$

Масса бюкса с плодами:

$m_1 = 28,0080; m_2 = 27,9348; m_3 = 27,9266$

Масса до высушивания:

$m = 28,0080 - 27,0012 = 1,0068$

Масса после высушивания:

$m = 27,9266 - 27,0054 = 0,9212$

$$X = \frac{(M - M_1) \cdot 100}{M} = \frac{(1,0068 - 0,9212) \cdot 100}{1,0068} = 8,50\%$$

где, М – навеска сырья, г

M_1 – вес сырья после высушивания, г

Определение количественного содержания рутина в сырье. Для проведения анализа взяли навеску (1,0001 г) измельченного сырья. Навеска стандартного образца рутина составила 0,10265 г, по построенному калибровочному графику определили, что оптической плотности Д равной 0,4 соответствует концентрация 0,03 мг\мл рутина.

Выводы

1. Разработана методика количественного определения в плодах маклюры оранжевой суммы флавоноидов в пересчете на рутин спектрофотометрическим методом.

2. Установлено, что содержание суммы флавоноидов находится в пределах 0,75 - 0,85 %.

Литература:

1. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений.- Новосибирск: Наука, Сиб. отд-ние, 1990.- 333 с.
2. Комиссаренко Н.Ф., Левашова П.Г. Флавоноиды и кумарины некоторых растений Сибири и Дальнего Востока // Новые лекарственные препараты из растений Сибири и Дальнего Востока. - Томск, 1989. – Т.2, вып.2. – С. 81-82.
3. Музыкакина Р.А., Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А. Качественный и количественный анализ основных групп БАВ в лекарственном растительном сырье и фитопрепаратах. – Алматы, 2004. – 238 с.
4. Государственная фармакопея СССР. Вып.2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – изд. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.