

СОДЕРЖАНИЕ УРСОЛОВОЙ КИСЛОТЫ В РАСТЕНИЯХ РОДА ПЕРВОЦВЕТ

Г.М. Латыпова^{1*},

В.Н. Бубенчикова², докт. фарм. наук, профессор, В.А. Катаев¹

¹Башкирский государственный медицинский университет;
450000, Уфа, ул. Ленина, д. 3

²Курский государственный медицинский университет;
305041, Курск, ул. К. Маркса, д. 3

*E-mail: guzel.latypova2014@yandex.ru

В траве первоцветов весеннего и крупночашечного показано присутствие урсоловой кислоты. Разработана спектрофотометрическая методика количественного определения содержания в сырье суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на урсоловую кислоту.

Ключевые слова: первоцвет весенний (лекарственный), *Primula veris* L. (*P. officinalis* (L.) Hill.), первоцвет крупночашечный, *Primula macrocalyx* Bunge., трава, тритерпеноиды, урсоловая кислота.

Тритерпеновые соединения широко представлены в растительном мире. Особое применение в медицинской практике нашла олеаноловая кислота, присутствующая в растениях в свободном виде, а также в виде гликозидов (сапонинов), отличающихся структурой углеводного компонента.

Фармакологические свойства (противовоспалительное, противовирусное, гепатопротекторное, ги-

полипидемическое) многих лекарственных растений обусловлены наличием олеаноловой кислоты. Интерес представляет также структурный изомер олеаноловой кислоты – урсоловая кислота, находящаяся в растениях преимущественно в свободном виде. Фармакологические свойства урсоловой кислоты практически идентичны свойствам олеаноловой кислоты. Известны цитотоксическое действие урсоловой кислоты в отношении лейкемии, противовоспалительные и гиполлипидемические ее свойства. В растениях чаще всего присутствует смесь обоих соединений. В медицинской практике применяется эсцин – сложноеэфирный гликозид олеаноловой кислоты. Препараты на его основе используются в качестве ангиопротекторных и антикоагулянтных средств [1,7].

Растения рода первоцвет представляют большой интерес как источники сапонинов. Благодаря тритерпеновым сапонинам первоцвет весенний (*Primula veris* L., или *P. officinalis* (L.) Hill.) проявляет отхаркивающее и противовоспалительное действия. На его основе созданы отхаркивающие лекарственные препараты, преимущественно зарубежного производства, разрешенные к применению и включенные в Государственный реестр лекарственных средств [4,5]. Стандартизация корневищ с корнями первоцвета весеннего, согласно Европейской фармакопее, проводится по содержанию тритерпенового сапонина эсцина [4, 5, 8]. На территории России первоцвет весенний встречается в Европейской части, на Кавказе, Среднем и Южном Урале, в Западной Сибири, ограниченно произрастает на территории Республики Башкортостан, в приграничных районах с Татарией.

Первоцвет крупночашечный (*Primula macrocalyx* Bunge) широко распространен на территории Республики Башкортостан, имеет достаточные сырьевые запасы. Первоцвет крупночашечный является подвидом первоцвета весеннего, используется в народной медицине наравне с ве-

сенным, однако его химический состав недостаточно изучен [2, 6].

Цель настоящих исследований – изучение содержания урсоловой кислоты в растениях рода первоцвет.

Экспериментальная часть

Объектом изучения служила трава первоцвета весеннего, заготовленная в Курской области, и трава первоцвета крупночашечного, собранная на территории Башкирии.

В анализе был использован метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках с кизельгелем в системе растворителей этилацетат: спирт метиловый: диэтиламин (70:20:15) (с предварительным насыщением камеры в течение 1 ч) с последующим проявлением раствором ванилина [3]. Оценку хроматограмм проводили визуально при дневном свете, хроматографические зоны описывали относительно зоны урсоловой кислоты. В исследовании использовали водно-спиртовые извлечения и гидролизаты водно-спиртовых извлечений с 30% раствором натрия гидроксида.

Положительная реакция пенообразования и реакция осаждения с 10% раствором свинца ацетата выявили наличие сапонинов. Сине-зеленое окрашивание при проведении реакции Лафона и окрашивание органического слоя в оранжевый цвет при реакции Сальковского также подтверждали присутствие в исследуемом сырье данной группы соединений. Образование равной по объему и стойкости пены водного извлечения с растворами кислоты хлористоводородной и натрия гидроксида указывало на тритерпеновую природу сапонинов.

Хроматографический анализ спирто-водных извлечений и гидролизатов травы первоцветов весеннего и крупночашечного показал наличие в извлечениях из сырья до гидролиза 5 зон адсорбции, отнесенных к тритерпеновым сапонинам, после гидролиза – 3 зон (табл. 1).

Таблица 1

РЕЗУЛЬТАТЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ ТРИТЕРПЕНОИДОВ МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Значения Rf и окраска хроматографических зон				
урсоловая кислота	трава первоцвета весеннего		трава первоцвета крупночашечного	
	до гидролиза	после гидролиза	до гидролиза	после гидролиза
	0,43(сине-зел.)		0,43(сине-зел.)	
	0,56(фиол.)	0,56(фиол.)	0,56(фиол.)	0,56(фиол.)
0,74 (фиол.)	0,74(фиол.)	0,74(фиол.)	0,74(фиол.)	0,74(фиол.)
	0,81(жёлтый)	0,81(жёлтый)	0,81(жёлтый)	0,81(жёлтый)
	0,98 (фиол.)		0,98 (фиол.)	

Согласно полученным данным, исследуемые образцы сырья имеют одинаковый качественный состав тритерпеноидов, в них идентифицирована урсоловая кислота; её присутствие обнаружено в образцах до и после гидролиза. После гидролиза отсутствовали зоны с Rf 0,43 и Rf 0,98.

Для количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов была использована методика спектрофотометрического определения урсоловой кислоты, основанная на реак-

ции с концентрированной серной кислотой [3]. Для выбора рабочего стандартного образца (PCO) при количественной оценке суммы тритерпеновых сапонинов были получены спектры поглощения окрашенных комплексов урсоловой кислоты с кислотой серной. Для этого около 0,02 г (точная навеска) PCO урсоловой кислоты помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 80 мл кислоты серной концентрированной, выдерживали на водяной бане при температуре 70°C в течение 1 ч и доводили до метки кислотой серной концентрированной. Раствор перемешивали (раствор А).

К 0,8 мл раствора А прибавляли 9,2 мл кислоты серной концентрированной, перемешивали и снимали спектры полученных окрашенных растворов в интервале длин волн 220–430 нм. Согласно полученным данным, максимум поглощения окрашенного комплекса урсоловой кислоты находится при длине волны 306,0±5 нм. Спектр поглощения окрашенного комплекса извлечения из травы первоцвета весеннего имел максимум поглощения при длине волны 321±5 нм, из травы первоцвета крупночашечного – при длине волны 322±5 нм (см. рисунок). Исследования проводились при длине волны 321±5 нм.

Методика определения. Аналитическую пробу 4,0 г (точная навеска) сухого сырья, предварительно измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с размером 2 мм, помещали в колбу объемом 200 мл, прибавляли 70 мл 70% спирта этилового, присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 1 ч. После охлаждения смесь фильтровали в мерную колбу вместимостью 100 мл через бумажный фильтр и объем доводили соответствующим растворителем до метки (раствор А).

0,5 мл раствора А помещали в выпарительную чашку и растворитель удаляли нагреванием на водяной бане досуха. Сухой остаток в выпарительной чашке обрабатывали дважды порциями по 5 мл хлороформа. Хлороформные извлечения фильтровали через беззольный фильтр «синяя лента». Хлороформ выпаривали на водяной бане. К сухому остатку прибавляли 100 мл кислоты серной концентрированной, перемешивали и выдерживали при температуре 70° С (водяная баня) в течение 60 мин.

Оптическую плотность полученного окрашенного раствора измеряли на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 321 нм.

Содержание суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на урсоловую кислоту в абсолютно сухом сырье (X) в процентах определяли по формуле:

$$X = \frac{D^* \cdot M \cdot 0,8 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{D \cdot M^* \cdot 10 \cdot 100 \cdot 0,5 \cdot (100 - W)}$$

где D* – оптическая плотность испытуемого раствора; D – оптическая плотность PCO урсоловой кислоты; M* – масса сырья, г; M – масса PCO урсоловой кислоты, г; W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Результаты количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на урсоловую кислоту представлены в табл. 2.

Таким образом, согласно результатам проведенного исследования, содержание тритерпеновых сапонинов в траве первоцвета весеннего составляет 3,26%, в траве первоцвета крупночашечного – 5,42%. Растения рода первоцвет представляют интерес в качестве доступных импортозамещающих отечественных сырьевых источников получения тритерпеновых сапонинов.

Выводы

1. В траве первоцветов весеннего и крупночашечного методами ТСХ и УФ-спектроскопии идентифицирована урсоловая кислота.
2. Разработана методика спектрофотометрического определения содержания суммы тритерпено-

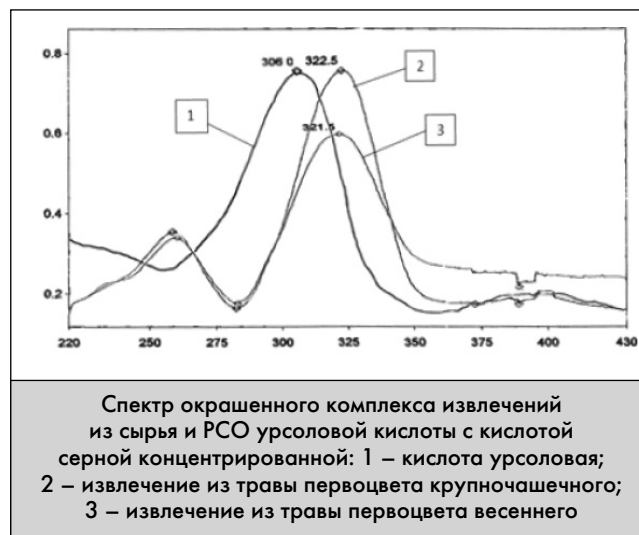


Таблица 2

МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТРИТЕРПЕНОВЫХ САПОНИНОВ В РАСТЕНИЯХ РОДА ПЕРВОЦВЕТ

N	f	x _{ср.}	S ²	S	P, %	t (P, f)	Δx	E, %
Трава первоцвета весеннего								
6	5	3,26	0,00376	0,06132	95	2,57	0,15759	4,8
Трава первоцвета крупночашечного								
6	5	5,42	0,00148	0,03847	95	2,57	0,10695	1,97

вых сапонинов в пересчете на урсоловую кислоту в траве первоцветов весеннего и крупночашечного. Ошибка единичного определения с вероятностью 95% не превышает 4,8%.

3. По содержанию тритерпеновых сапонинов трава первоцвета крупночашечного (5,42%) превосходит траву первоцвета весеннего (3,26%).

ЛИТЕРАТУРА

1. Киселева Т.Л., Смирнова Ю.А. Лекарственные растения в мировой медицинской практике: государственное регулирование номенклатуры и качества. М.: Изд-во Профессиональной ассоциации натуротерапевтов, 2009; 295.
2. Латыпова Г.М., Романова З.Р., Бубенчикова В.Н., Катаев В.А., Гильмутдинова Л.Т., Соколов Г.В. Исследование состава фенольных

соединений первоцвета весеннего, произрастающего в Башкортостане. Башкирский химический журнал, 2007; 14 (5): 34–36.

3. Муравьев И.А., Шатило В.В., Семенченко В.Ф. Спектрофотометрический метод количественного определения урсоловой кислоты. Химия природных соединений, 1972; 6: 738.
4. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Paeoniaceae – Thimelaeaceae. (под. ред. П.Д. Соколова). Л.: Наука, 1986; 175–176.
5. Вышковский Г.Л. Регистр лекарственных средств России. 19-й вып., М., 2010; 1368.
6. Романова З.Р. Фармакогностическое исследование первоцвета весеннего и первоцвета крупночашечного. Дис. канд. фарм. наук. Курск, 2010; 138.
7. Толстикова Т.Г., Толстиков А.Г., Толстиков Г.А. Лекарства из растительных веществ. Новосибирск: Гео, 2010; 215.
8. European Pharmacopoeia, 7th edition, 2010.

Поступила 19 июня 2014г.

THE LEVEL OF URSOLIC ACID IN THE PLANTS OF THE GENUS PRIMULA

G.M. Latypova, PhD¹; Professor V.N. Bubenchikova², PhD; V.A. Kataev¹

¹Bashkir State Medical University; 3, Lenin St., Ufa 450000

²Kursk State Medical University; 3. K. Marx St., Kursk 305041

SUMMARY

Drugs based on escin, an ester glycoside of oleanolic acid, are used as angioprotective and anticoagulant agents in medicine. The plants also contain the oleanolic acid isomer ursolic acid that has anti-inflammatory, hypolipidemic, and cytotoxic properties.

Ursolic acid is shown to be present in primrose (*Primula veris*) and (*Primula macrocalyx*) herb. A spectrophotometric procedure has been developed to quantify the sum of triterpenic saponins in the raw materials, calculated with reference to ursolic acid, which accounts for 3.26 and 5.42%, respectively. The plants of the genus *Primula* are promising as an accessible Russian raw plant source of triterpenic saponins.

Key words: cowslip primrose, *Primula veris* (*P. officinalis* (L.) Hill), *Primula macrocalyx* Bunge., herb, triterpenoids, ursolic acid.

REFERENCES

1. Kiselieva T.L., Smirnova Yu.A. Medicinal plants in clinical practice: state regulation of nomenclature and quality. Moscow: Publishing House: Professional Association of naturtherapeuists, 2009, 295 (in Russian).
2. Latypova G.M., Romanova Z.R., Bubenchikova V.N., Katayev V.A., Gilmutdinova L.T., Sokolov G.V. Study of the composition of phenolic compounds contained in *Primula officinalis* found in Bashkortostan. Bashkirskiy khimicheskiy zhurnal, 2007; 14 (5): 34–36 (in Russian).
3. Muraviev I.A., Shatilo V.V., Semenchenco V.F. Spectrophotometric method of quantitative determination of ursolic acid. Khimiya prirodnikh soyedineniy, 1972; 6: 738 (in Russian).
4. Plant resources in the USSR: Flowering plants, their chemical composition and use; Paeoniaceae Family – Thimelaeaceae. (ed. P.D. Sokolov). Leningrad: Nauka, 1986; 175–176 (in Russian).
5. Vyshkovskiy G.L. Register of medicinal preparations in the Russia. 19th issue, Moscow, 2010: 1368 (in Russian).
6. Romanova Z.R. Pharmacognostic study of *Primula officinalis* and *Primula macrocalyx*. Dissertation for obtained a candidate degree in Pharmacy. Kursk, 2010: 138 (in Russian).
7. Tolstikova T.G., Tolstikov A.G., Tolstikov G.A. Medications obtained from vegetative substances. Novosibirsk: Geo, 2010: 215 (in Russian).
8. European Pharmacopoeia, 7th edition, 2010.