

УДК 615.322:54.062

КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ЛИСТЬЕВ ГОЛУБИКИ ВЫСОКОРОСЛОЙ

Счастная А.В.^{1*}, Пунтус В.Ю.², Мушкина О.В.³

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

*автор для переписки – anna.schastnaya.schastnaya@mail.ru

Аннотация. Голубика высокорослая (*Vaccinium corymbosum*) – источник ценных пищевых и биологически активных веществ различного фармакологического действия (гипогликемическая, противомикробная, антиоксидантная, противовоспалительная и др.). На данный момент в Республике Беларусь и Российской Федерации не разработана нормативная документация для стандартизации листьев голубики высокорослой, что подтверждает актуальность данной работы. В данной статье предложена методика идентификации биологически активных веществ в листьях голубики высокорослой методом тонкослойной хроматографии. Наилучшее разделение биологически активных веществ происходит при применении в качестве подвижной фазы – 30% кислоты уксусной, неподвижной фазы – хроматографической целлюлозной пластинки «TLC Cellulose» и обработкой хроматограммы раствором 10 г/л аминоэтилового эфира дифенилборной кислоты в метаноле и раствором 50 г/л макрогола 400 в метаноле. В листьях *Vaccinium corymbosum* были идентифицированы такие вещества, как: хлорогеновая кислота ($R_f=0,79$) – зона голубого цвета, рутин ($R_f=0,68$) и гиперозид ($R_f=0,53$) – зоны желтого цвета. Наличие зоны голубого цвета в верхней трети хроматографической пластинки и в нижней – желто-зелёного цвета позволяет отличить *Vaccinium corymbosum* от примесных видов семейства Ericaceae (*Vaccinium myrtillus*, *Vaccinium vitis-idaea*, *Arctostaphylos uva-ursi*).

Ключевые слова: голубика высокорослая, *Vaccinium corymbosum*, стандартизация.

QUALITATIVE ANALYSIS OF HIGH BLUEBERRY LEAVES

Schastnaya A.V.^{1*}, Puntus V.Yu.², Mushkina O.V.³

Belarusian State Medical University, Minsk

* corresponding author – anna.schastnaya.schastnaya@mail.ru

Abstract. Highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) is a source of valuable nutritional and biologically active substances with various pharmacological effects (hypoglycemic, antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory, etc.). At the moment, the Republic of Belarus and the Russian Federation have not developed regulatory documentation for the standardization of highbush blueberry leaves, which confirms the relevance of this work. A method for identifying biologically active substances in highbush blueberry leaves using thin layer chromatography is proposed. The best separation of biologically active substances occurs when using as a mobile phase - 30% acetic acid, a stationary phase - a chromatographic cellulose plate "TLC Cellulose" and processing the chromatogram with a solution of 10 g/l diphenylboronic acid aminoethyl ester in methanol and a solution of 50 g/l macrogol 400 in methanol. The following substances were identified in the leaves of *Vaccinium corymbosum*: chlorogenic acid ($R_f = 0.79$) - blue zone, rutin ($R_f = 0.68$) and hyperoside ($R_f = 0.53$) - yellow zone. The presence of a blue zone in the upper third of the chromatographic plate and in the lower third of a yellow-green color makes it possible to distinguish *Vaccinium corymbosum* from admixture species of the Ericaceae family (*Vaccinium myrtillus*, *Vaccinium vitis-idaea*, *Arctostaphylos uva-ursi*).

Keywords: highbush blueberry, *Vaccinium corymbosum*, standardization.

Введение

В соответствии с Государственной фармакопеей Республики Беларусь II издания стандартизация лекарственного растительного сырья осуществляется по таким показателям, как: «Внешние признаки», «Микроскопия», «Качественные реакции», «Хроматография»,

«Количественное определение», «Микробиологическая чистота», а также содержание радионуклидов (Шеряков А.А. и соавт., 2016).

Голубика высокорослая (*Vaccinium corymbosum*) – многолетний листопадный кустарник семейства Ericaceae, имеет достаточные сырьевые ресурсы в природе и легко культивируется. (Лазарев А.С. и соавт., 2019). Листья *V. corymbosum* обладают широким спектром фармакологической активности (гипогликемическая, противомикробная, антиоксидантная, противовоспалительная и др.) (Копыстецкая А. и соавт., 2023). Данное растение имеет разнообразный химический состав (флавоноиды, фенольные соединения, антоцианидины, витамины, макро- и микроэлементы) (Попов А.И. и соавт., 2014), что объясняет актуальность стандартизации данного растения.

Материалы и методы

Метод исследования – одномерная восходящая тонкослойная хроматография. Объектами исследования являлись: листья *V. corymbosum* и листья примесных видов семейства Ericaceae (*V. myrtillus*, *V. vitis-idaea*, *Arctostaphylos uva-ursi*), заготовленные в фазу плодоношения. Сушка сырья производилась в хорошо проветриваемых помещениях без доступа прямых солнечных лучей при комнатной температуре.

Для анализа биологически активных веществ проводили экстракцию 70% спиртом в течение 40 мин при соотношении сырьё-экстрагент 1:60 и температуре 60°C.

Для идентификации биологически активных веществ получали растворы сравнения: 0,2% растворы гиперозида, кверцетина, рутина, мирицетина, галловой кислоты, эллаговой кислоты, кофейной кислоты, хлорогеновой кислоты, транс-феруловой кислоты в 70% этиловом спирте. В качестве неподвижных фаз использовали: 1) целлюлозную пластинку «TLC Cellulose» фирмы «Merck»; 2) пластинка со слоем силикагеля марки «TLC Silica gel 60» фирмы «Merck» (Германия). В качестве подвижных фаз – следующие системы растворителей:

1. Кислота уксусная 30%;
2. Кислота уксусная ледяная- эфир-гексан-этилацетат (20:20:20:40);
3. 2-пропанол-кислота муравьиная-вода (2:5:5);
4. Бутанол-кислота уксусная ледяная-вода (5:1:4);
5. Этилацетат- кислота муравьиная безводная- вода (44:3:3);
6. Кислота муравьиная- вода- бутанол (16:19:65);
7. Кислота муравьиная- вода- этилацетат (6:6:88).

Пробу наносили в виде точек (20 мкл). Фронт подвижной фазы: не менее 8 см от линии старта. Хроматографическую пластинку высушивали на воздухе и обрабатывали раствором 10 г/л аминоэтилового эфира дифенилборной кислоты в метаноле и затем раствором 50 г/л макрогола 400 в метаноле. Просматривали пластинку в УФ-свете при длине волны 365 нм.

Результаты и обсуждение

В системах №2,5,7 разделения не произошло. В системах №1,3,4,6 биологически активные соединения разделились, однако в системе № 4 растворы сравнения гиперозида и рутина имели одинаковый Rf (0,65), что не позволит выполнить их идентификацию. В системах №1,3,6 были идентифицированы гиперозид, рутин и хлорогеновая кислота, однако использование системы №3, 6 сопряжены с дополнительными материальными затратами на реагенты (2-пропанол, бутанол, кислота муравьиная). При хранении хроматографические пластинки со слоем силикагеля расслаивались и мутнели. Следовательно, для дальнейших исследований была выбрана 30% кислота уксусная и пластинка со слоем целлюлозы (рис. 1).

Верх хроматографической пластинки				
Флуоресцирующая зона голубого цвета	Флуоресцирующая зона голубого цвета	Флуоресцирующая зона голубого цвета		
Флуоресцирующая зона голубого цвета	Флуоресцирующая зона голубого цвета	Флуоресцирующая зона голубого цвета	Флуоресцирующая зона голубого цвета	Хлорогеновая кислота: флуоресцирующая зона голубого цвета
Флуоресцирующая зона желтого цвета		Флуоресцирующая зона желтого цвета		Рутин: флуоресцирующая зона желтого цвета
			Флуоресцирующая зона синего цвета	Галловая кислота: флуоресцирующая зона синего цвета
Флуоресцирующая зона желтого цвета	Флуоресцирующая зона желтого цвета	Флуоресцирующая зона желтого цвета	Флуоресцирующая зона желтого цвета	Гиперозид: флуоресцирующая зона желтого цвета
Флуоресцирующая зона желто-зеленого цвета				
Листья <i>V. corymbosum</i>	Листья <i>V. myrtillus</i>	Листья <i>V. vitis-idaea</i>	Листья <i>Arct. uva-ursi</i>	Раствор сравнения

Рисунок 1 – Внешний вид хроматографической пластинки с использованием 30% кислоты уксусной

Таким образом, разработанная методика анализа с использованием в качестве неподвижной фазы – целлюлозной пластинки, в качестве подвижной фазы – 30% кислоты уксусной и с проявлением пластинки раствором 10 г/л аминоэтилового эфира дифенилборной кислоты в метаноле и раствором 50 г/л макрогола 400 в метаноле, может быть использована для идентификации листьев голубики высокорослой и отличить от листьев сходных видов растений семейства *Ericaceae* – листьев черники, брусники, толокнянки (табл. 1).

Таблица 1 – Отличительные особенности *Vaccinium corymbosum* и примесных семейства *Ericaceae*

ЛРС	Количество зон	Отличительные особенности
Листья <i>Vaccinium corymbosum</i>	5	Отличается от других примесных видов наличием зоны желто-зеленого цвета в нижней трети пластинки
Листья <i>Vaccinium myrtillus</i>	3	Сходна с <i>V. vitis-idaea</i> , отличается отсутствием зоны рутина
Листья <i>Vaccinium vitis-idaea</i>	4	Сходна с <i>V. corymbosum</i> , отличается отсутствием зоны желто-зеленого цвета
Листья <i>Arctostaphylos uva-ursi</i>	3	Обнаружена зона, соответствующая галловой кислоте

Заключение

Разработана методика идентификации биологически активных веществ листьев голубики высокорослой тонкослойной хроматографии, основанная на использовании в качестве подвижной фазы – 30% уксусной кислоты, неподвижной фазы – целлюлозной пластинки «TLC

Cellulose» и обработкой хроматограммы раствором 10 г/л аминоэтилового эфира дифенилборной кислоты в метаноле и раствором 50 г/л макрогола 400 в метаноле. Данный метод позволяет идентифицировать гиперозид, рутин и хлорогеновую кислоту, а также отличить *Vaccinium corymbosum* от примесных видов семейства Ericaceae (*V. myrtillus*, *V. vitis-idaea*, *A. uva-ursi*) наличием в нижней трети хроматографической пластинки зоны жёлто-зелёного цвета. Методика может быть использована при разработке нормативного документа по качеству на новый вид лекарственного растительного сырья – листья голубики высокорослой.

Список литературы

1. Копыстецкая, А. *Vaccinium uliginosum* и *Vaccinium myrtillus* – Два вида – Один используется в качестве функциональной пищи / А. Копыстецкая, И. Козел, Д. Радомска, К. Белявский, А. Белявска, М. Вуец // Питательные вещества. – 2023. – №15 (4119) – С. 1-27. DOI.org/10.3390/nu15194119
2. Лазарев, А.С. Состав и антиоксидантные свойства экстрактов из листьев голубики высокорослой (*Vaccinium corymbosum* L.) / А.С. Лазарев, А.В. Кляузова, А.Г. Ручкина, К.И. Кобраков, Л.К. Шпигун // Химия растительного сырья. – 2019. – №4 – С.223-232. DOI: 10.14258/jcprgm.2019045498
3. Попов, А.И. Химические элементы минеральных веществ листьев голубики / А.И. Попов, Ю.Н. Дементьев // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2014. – №10 (120) – С. 69–73
4. Шеряков, А.А. Государственная фармакопея Республики Беларусь. Общие методы контроля качества лекарственных средств / А.А. Шеряков / Молодечно: Типография «Победа». – 2016. – 2 т. – 1368 с.



**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ И АРОМАТИЧЕСКИХ РАСТЕНИЙ»**

**МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНАЯ
КОНФЕРЕНЦИЯ**

**ДОСТИЖЕНИЯ И
ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ
НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ
СРЕДСТВ
РАСТИТЕЛЬНОГО
ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ

6 - 7 июня 2024 года

Москва, 2024