

УДК 547.595:582.651.224(470.638)

<https://www.doi.org/10.34907/JRQAI.2023.17.13.001>

ТРИТЕРПЕНОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ЛИСТЬЕВ ОМЕЛЫ БЕЛОЙ (*VISCUM ALBUM L.*)

С.Л. Аджихметова, канд. фарм. наук, доцент кафедры органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ставропольский край, г. Пятигорск, similla503@mail.ru

Н.М. Червонная, канд. фарм. наук, доцент кафедры органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ставропольский край, г. Пятигорск, nadezhda.chervonnaya@yandex.ru

Д.И. Поздняков, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ставропольский край, г. Пятигорск, rozdniaskow.dmitry@yandex.ru

Э.Т. Оганесян, доктор фарм. наук, профессор, зав. кафедрой органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ставропольский край, г. Пятигорск, edwardov@mail.ru

В хлороформных и 50%-ных спиртовых извлечениях, полученных из листьев омелы белой, собранных с разных деревьев-хозяев, установлено наличие веществ тритерпеновой природы. Методом тонкослойной хроматографии определено наличие олеаноловой кислоты и лупеола. Содержание тритерпеновых соединений определяли после предварительного кислотного гидролиза спектрофотометрическим методом. Спектр поглощения продуктов взаимодействия веществ тритерпеновой природы с концентрированной серной кислотой характеризуется максимумом полосы поглощения при 312 ± 2 нм. Максимальное содержание веществ тритерпеновой природы наблюдается в листьях омелы белой, собранных осенью, и составляет $7,96 \pm 0,27\%$.

Ключевые слова: листья омелы белой, тритерпеноиды, тонкослойная хроматография, спектрофотометрия

Омела белая (*Viscum album*) – паразитирующее вечнозеленое растение и наиболее известный представитель рода омела (*Viscum L.*) [1]. Таксономическое положение омелы белой противоречиво: А.Е. Тахтаджян и М.С. Гилярова ее относят к семейству омеловые (*Viscaceae Batsch*), а А.Г. Еленевский и Н.В. Цицин – к семейству ремнецветниковые (*Loranthaceae Juss.*) [2,3].

Химический состав омелы белой разнообразен и представлен полипептидом вискотоксином, висцеринном (сесквитерпеновым спиртом $C_{15}H_{26}O_2$), α -висколом (β -амирином), β -висколом (лупеолом), олеаноловой и урсоловой кислотами, холином и его сложными эфирами, а также аминами, спиртами, жирным маслом, каротином, смолами, минеральными солями и др. [1,4,5].

Особый интерес представляют наиболее распространенные пентациклические

тритерпеновые кислоты – урсоловая и олеаноловая. Ранее из олиственных побегов омелы белой была выделена урсоловая кислота [6]. Установлено, что урсоловая и олеаноловая кислоты проявляют противоатеросклеротическое и антидиабетическое действие, обладают антиоксидантными свойствами [7,8]. Антигиперлипидемический эффект проявляется в снижении содержания холестерина, триглицеридов и липопротеиновой фракции в плазме крови [9,10]. Урсоловая кислота является ингибитором процессов ангиогенеза и может усиливать апоптоз в клетках различных опухолей [11].

Целью настоящей работы является изучение качественного состава и количественного содержания тритерпеноидов в листьях омелы белой, собранных с разных деревьев-хозяев.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования явились листья омелы белой (*Viscum album* L.), произрастающей на яблоне домашней (*Malus domestica* Borkh.) и тополе черном (*Populus nigra* L.) (сбор в окрестностях г. Ставрополя), а также на груше обыкновенной (*Pyrus communis* L.) (сбор – Белореченский район Краснодарского края). С яблони домашней листья омелы белой собраны в осенний (25.09.2021), зимний (21.01.2022), весенний (15.05.2022) и летний (03.08.2022) периоды. С тополя черного и груши обыкновенной листья омелы собраны осенью (02.10.2022) с умеренно-зараженных веток и высушены до постоянной массы воздушно-теневым методом.

Отбор проб сырья для анализа проводили по методике ГФ XIV издания [12]. Идентификация сырья проведена профессором кафедры фармакогнозии, ботаники с курсом технологии фитопрепаратов, д.ф.н. О.И. Поповой. Определение влажности проводили по методике ГФ XIV издания [12].

Для качественных реакций готовили водные извлечения из сырья 1:10 нагреванием на водяной бане в течение 10 мин. Поскольку реакцией пенообразования можно дифференцировать наличие в сырье стероидных или тритерпеновых сапонинов, то нами проведены следующие операции: в одну пробирку прибавляли 5 мл 0,5 моль/л раствора кислоты хлористоводородной, в другую – 5 мл 0,5 моль/л раствора натрия гидроксида. В каждую пробирку добавляли несколько капель извлечения и встряхивали [13,14].

Одновременно проводили реакцию Лафона: к 2 мл извлечения прибавляли 1 мл серной кислоты концентрированной, 1 мл спирта и 1 каплю 10% раствора сульфата (II) железа и нагревали [13–15].

Методика получения анализируемых извлечений. Точную навеску измельченного сырья (около 1,000 г) помещали в колбу вместимостью 100 мл, добавляли 50 мл спирта этилового 50% или хлороформа и кипятили на водяной бане в течение 30 минут. Содержимое колбы фильтровали через бумажный фильтр и концентрировали до объема 10 мл. Изучение продуктов гидролиза тритерпеновых гликозидов изучали в растворе А, полученном по методике количественного анализа [14,15].

Качественное обнаружение тритерпеновых соединений. Исследование хлороформных извлечений, а также таковых, полученных экстракцией 50% спиртом этиловым, проводили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках Silufol с использованием таких элюентов, как петролейный эфир – хлороформ – ацетон (20:20:5) (система I); петролейный эфир – хлороформ – кислота уксусная (10:4:0,4) (система II); хлороформ – этилацетат (9:1) (система III); бензол – ацетон (8:2) (система IV) [14,16–18]. Для идентификации тритерпеноидов хроматографирование перечисленных выше извлечений проводили со стандартными об-

разцами урсоловой и олеаноловой кислот. С этой целью после хроматографирования влажные пластинки опрыскивали 20% раствором кислоты серной, затем выдерживали в сушильном шкафу в течение 5 мин. при температуре 110°C [14–16].

Количественное определение тритерпеновых соединений проводили спектрофотометрическим методом. Расчет процентного содержания суммы тритерпеновых соединений проводили с использованием удельного показателя поглощения олеаноловой кислоты [14,19].

Содержание тритерпеновых соединений в пересчете на олеаноловую кислоту находили по формуле (%):

$$X = \frac{A \cdot 50 \cdot 5 \cdot 100}{\epsilon \cdot a \cdot Va \cdot (100 - W)}, \quad (1)$$

где A – оптическая плотность; ϵ – удельный показатель поглощения олеаноловой кислоты, равный 311; a – масса навески в г; Va – объем аликвоты (0,1 мл); W – влажность сырья.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Качественные реакции

При встряхивании водных извлечений анализируемых объектов наблюдали появление обильной пены.

В отдельных пробирках с 0,5 моль/л раствором кислоты хлористоводородной и с 5 мл 0,5 моль/л раствором натрия гидроксида образуется пена, равная по объему и устойчивости, что указывает на наличие в анализируемых объектах веществ тритерпеновой природы.

При проведении реакции Лафона наблюдается появление сине-фиолетового окрашивания, что указывает на наличие в анализируемых объектах веществ тритерпеновой природы.

Хроматографический анализ

После проявления ТСХ 20% раствором H_2SO_4 и выдерживании в сушильном шкафу наблюдали зоны адсорбции веществ тритерпеновой природы и стандартных образцов олеаноловой и урсоловой кислот, окрашенные в розово-вишневый или фиолетовый цвет, переходящий в голубой [14,15].

Извлечения, полученные из листьев омелы белой, собранных с разных деревьев-хозяев, характеризуются по данным коэффициентов подвижности ТСХ близким составом веществ тритерпеновой природы. Наилучшее разделение веществ тритерпеновой природы наблюдали при использовании I и II систем растворителей. Наблюдали от 4 до 5 зон адсорбции в хлороформных извлечениях у всех анализируемых объектов. В остальных извлечениях у всех исследуемых объектов обнаружено от двух до трех зон адсорбции.

В ходе хроматографического анализа, проведенного в сравнении с достоверными образцами свидетелей тритерпеноидов, установлено, что в хлороформных и 50% спиртовых извлечениях, полученных из листьев омелы белой, присутствует олеаноловая кислота. Важно отметить, что в хлороформном извлечении зона адсорбции размыта и это, возможно, связано с присутствием урсоловой кислоты, что согласуется с данными литературы [4,5].

Также известно присутствие лупеола в листьях омелы белой [1], и для его идентификации использовали систему растворителей «гексан – этилацетат» (9:2) [20].

В хлороформном извлечении после гидролиза у всех анализируемых объектов при проявлении ТСХ 20% раствором H_2SO_4 наблюдали две зоны адсорбции веществ тритерпеновой природы. По коэффициентам подвижности $0,76 \pm 0,02$ и $0,38 \pm 0,02$ можно отнести к лупеолу и олеаноловой кислоте соответственно.

Таблица 1

ПОКАЗАТЕЛИ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ХЛОРОФОРМНЫХ И 50% СПИРТОВЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ЛИСТЬЕВ ОМЕЛЫ, СОБРАННЫХ С ЯБЛОНИ ДОМАШНЕЙ (n=3)

Исследуемое извлечение	Хлороформное после гидролиза	Хлороформное	Спирт этиловый 50%	Олеаноловая кислота	Урсоловая кислота
Системы растворителей	Значения коэффициентов подвижности зон адсорбции				
Петролейный эфир – хлороформ – ацетон (20:20:5)	0,39±0,02 0,63±0,02 0,71±0,02	0,40±0,02 0,62±0,02 0,70±0,02 0,81±0,02 0,94±0,02	0,41±0,02 0,68±0,02	0,39±0,02	0,36±0,02
Петролейный эфир – хлороформ – кислота уксусная (10:4:0,4)	0,15±0,02 0,28±0,02 0,45±0,02	0,15±0,01 0,27±0,02 0,32±0,02 0,37±0,02 0,57±0,02	0,15±0,01 0,27±0,02	0,14±0,01	0,12±0,01
Хлороформ – этилацетат (9:1)	0,29±0,02	0,29±0,02 0,61±0,02 0,76±0,02	0,28±0,02	0,29±0,01	0,26±0,01
Бензол – ацетон (8:2)	0,54±0,01	0,54±0,01 0,67±0,02 0,97±0,02	0,55±0,01	0,54±0,01	0,53±0,01

Количественное определение

После качественного анализа тритерпеновых соединений следующим этапом было установление динамики накопления этих веществ в зависимости от времени года. Определение содержания тритерпеновых соединений проводили спектрофотометрическим методом, в котором гликозиды подвергали кислотному гидролизу [19,21]. Методика УФ-спектрофотометрии производных тритерпеновых кислот проста и не требует сложного приборного оформления, но имеет ряд недостатков. Суть метода состоит в том, что растворы пентациклических тритерпеноидов в серной кислоте при термостатировании

при 70°C приобретают окраску. Максимум кривой поглощения наблюдается при длине волны 310±2 нм. Однако, кроме тритерпеновых кислот, такую же реакцию дают тритерпеновые спирты: лупеол, α- и β-амирины и т. д. [22–24].

Для расчета процентного содержания суммы тритерпеновых соединений мы использовали удельный показатель поглощения олеаноловой кислоты.

В спектрах поглощения продуктов взаимодействия концентрированной кислоты серной и веществ тритерпеновой природы обнаружили характерный максимум при 312±2 нм (рис. 1). Содержание представлено в табл. 2.

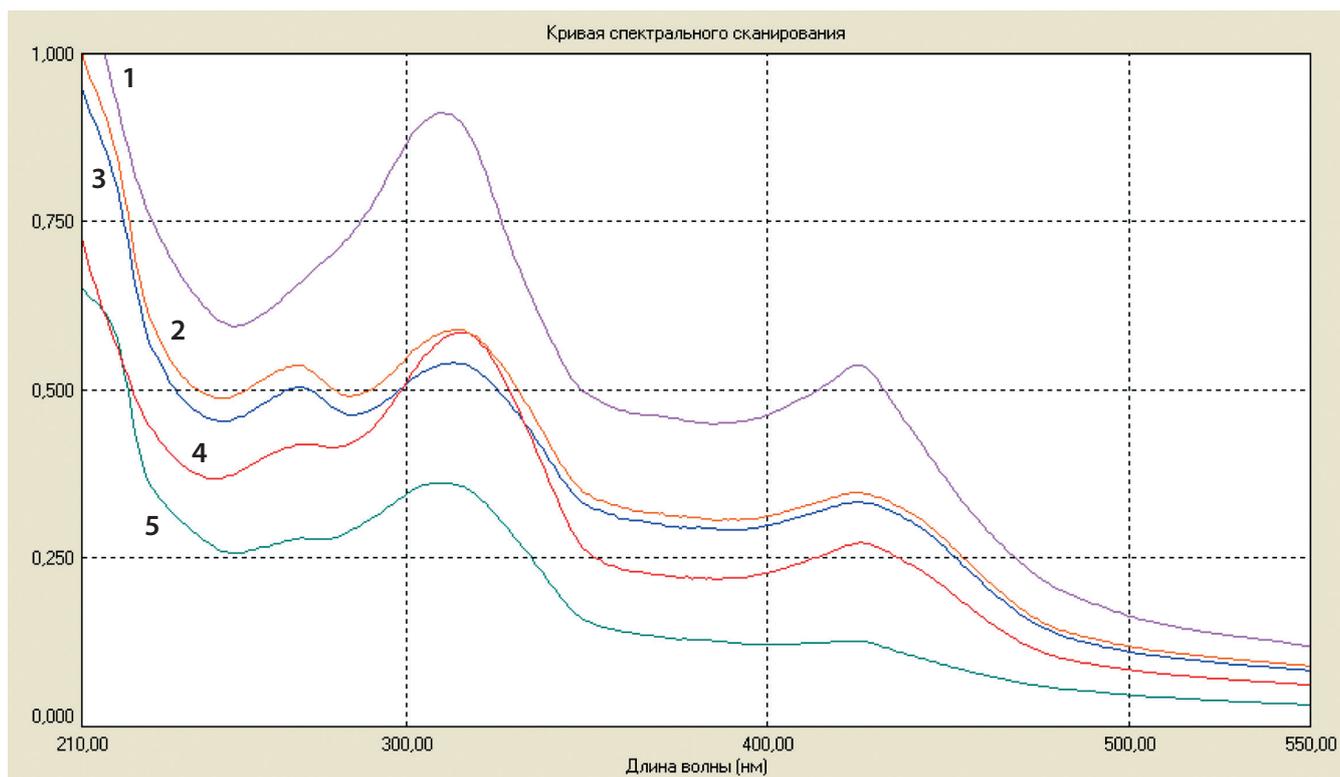


РИС. 1. УФ-спектры поглощения хлороформных извлечений после гидролиза из листьев *Viscum album L.*, собранных с *Malus domestica Borkh.*: 1 – осенью; 2 – весной (вновь образованные); 3 – зимой; 4 – весной (перезимовавшие); 5 – летом

Установлено, что максимальное содержание веществ тритерпеновой природы наблюдается в листьях омелы белой, собранной осенью. Поэтому далее определили содержание веществ тритерпеновой природы в листьях

омелы белой, собранной с груши обыкновенной и тополя черного, собранных осенью.

У тритерпеновых соединений листьев омелы белой, собранной с разных деревьев-хозяев, и стандарта кислоты олеаноловой один

Таблица 2

СОДЕРЖАНИЕ ВЕЩЕСТВ ТРИТЕРПЕНОВОЙ ПРИРОДЫ В ЛИСТЬЯХ ОМЕЛЫ БЕЛОЙ, СОБРАННЫЕ С ЯБЛОНИ ДОМАШНЕЙ

Анализируемый объект: листья омелы белой, собранные	Содержание тритерпеновых сапонинов, % (n=6)	Метрологические характеристики
Осенью	$\bar{X} = 7,96 \pm 0,27$	$S = 0,2578, \bar{S} = 0,1053, \epsilon = 3,40\%$
Зимой	$\bar{X} = 5,24 \pm 0,20$	$S = 0,1941, \bar{S} = 0,0792, \epsilon = 3,89\%$
Весной (перезимовавшие)	$\bar{X} = 4,74 \pm 0,17$	$S = 0,1625, \bar{S} = 0,0664, \epsilon = 3,60\%$
Весной (вновь образованные)	$\bar{X} = 5,19 \pm 0,18$	$S = 0,1690, \bar{S} = 0,0690, \epsilon = 3,42\%$
Летом	$\bar{X} = 3,28 \pm 0,09$	$S = 0,0869, \bar{S} = 0,0355, \epsilon = 2,78\%$

Таблица 3

СОДЕРЖАНИЕ ВЕЩЕСТВ ТРИТЕРПЕНОВОЙ ПРИРОДЫ В ЛИСТЬЯХ ОМЕЛЫ БЕЛОЙ, СОБРАННЫХ С РАЗНЫХ ДЕРЕВЬЕВ-ХОЗЯЕВ

Изучаемое растение	Содержание тритерпеновых сапонинов, % (n=6)	Метрологические характеристики
Листья омелы, собранные с яблони домашней	$\bar{X} = 7,96 \pm 0,27$	$S = 0,2578, \bar{S} = 0,1053, \varepsilon = 3,40\%$
Листья омелы, собранные с груши обыкновенной	$\bar{X} = 7,74 \pm 0,16$	$S = 0,1497, \bar{S} = 0,0611, \varepsilon = 2,03\%$
Листья омелы, собранные с тополя черного	$\bar{X} = 8,26 \pm 0,32$	$S = 0,3074, \bar{S} = 0,0125, \varepsilon = 3,91\%$

максимум поглощения – при длине волны $\lambda_{\max} 312 \pm 2$ нм [24].

Содержание тритерпеновых соединений в пересчете на олеаноловую кислоту в листьях омелы белой, собранных с разных деревьев-хозяев, сопоставимо.

ВЫВОДЫ

Установлено наличие олеаноловой кислоты в листьях омелы белой, собранных с разных деревьев-хозяев. Обнаружено, что в осенний период содержание веществ тритерпеновой природы максимально. Поэтому сбор сырья для дальнейшей идентификации биологически активных соединений предлагаем производить осенью.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства Rutaceae – Elaeagnaceae. – Л.: Наука, 1988; 197–199.
2. Жизнь растений: Цветковые растения / А.Л. Тахтаджян и др.; под ред. А.Л. Тахтаджяна. – М.: Просвещение, 1981; 5(2): 327–329.
3. Еленевский А.Г., Соловьева М.П., Тихомиров В.Н. // Ботаника. Систематика высших или наземных растений. – М. 2004. – 420 с.
4. Завражнов В.И., Китаева Р.И., Хмелев К.Ф. Лекарственные растения: лечебное и профилактическое использование. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 1993. – 480 с.
5. Рабинович А.М., Рабинович С.А., Солдатов Е.И. Иллюстрированная энциклопедия «Целебные растения России с давних времен». Научный редактор – директор Всероссийского института лекарственных и ароматических растений, академик РАМН и РАСХН В.А. Быков. Издательство «Арнебия». – Москва, 2012. – 655 с.
6. Попова О.И., Муравьева Д.А. Урсоловая кислота из олиственных побегов *Viscum album* // Химия природных соединений. 1990; 3. Отдельный оттиск.
7. Somova L. O., Nadar A., Rammanan P., Shode F.O. Cardiovascular, antihyperlipidemic and antioxidant effects of oleanolic and ursolic acids in experimental hypertension // Phyto-medicine. 2003; 10: 115–121.
8. Yin M.C., Chan K.C. Nonenzymatic Antioxidative and Antiglycative Effects of Oleanolic Acid

- and Ursolic Acid // *J. Agric. Food Chem.* 2007; 55(17): 7177–7181.
9. Kirmizigul S., Anil H., Ucar F., Akdemir K. Antimicrobial and antifungal activities of three new triterpenoid glycosides from *Cephalaria transylvanica* // *Phytotherapy Research.* 1996; 10: 274–276.
 10. Somova L. O., Nader A., Rammanan R., Shode P.O. Cardiovascular, antihyperlipidemic and antioxidant effects of oleanolic and ursolic acid in experimental hypotension // *Phytomedicine.* 2003; 10: 115–121.
 11. Kim D.-K., Baek J.H., Kang C.M. et al. Apoptotic activity of ursolic acid may correlate with the inhibition of initiation of DNA replication // *Int.J. Cancer.* 2000; 87: 629–636.
 12. Государственная фармакопея РФ XIV изд. – М.: МЗ РФ, 2018. Т. 2, 4. 3262 с.; 7013 с. [Электронный ресурс] URL: [http://http://femb.ru/femb/pharmacopea.php](http://femb.ru/femb/pharmacopea.php)
 13. Химический анализ лекарственных растений / Под ред. Н.И. Гринкевич, Л.Н. Софронич. – М.: Высшая школа, 1983; 176.
 14. Мирович В.М., Посохина А.А., Петухова С.А., Оленников Д.Н., Дударева Л.В. Компонентный состав фенольных соединений и терпеноидов растительного сбора ангиопротекторного // *Химия растительного сырья.* 2021; 4: 145–155.
 15. Никитина А.С., Попова О.И. Исследование тритерпеновых соединений иссопа лекарственного, культивируемого в условиях Ставропольского края // *Фундаментальные исследования.* 2011; 11(2): 430–432.
 16. Хохлова Е.А., Здорик А.А., Георгиянц В.А., Вишневская Л.И. Разработка и валидация методики идентификации календулозидов в настойке календулы. Сообщение 2 // *Химия растительного сырья.* 2015; 2: 195–199. DOI: 10.14258/jcprtm.201502398.
 17. Мурсалиева В.К., Кожебаева Ж.С., Рахимбаев И.Р., Гемеджиева Н.Г. Качественный и количественный анализы сапонинов туркестанского мыльного корня *Allochrysa gypsophiloides* (Regel) Schischk // *Вестник КазНУ. Серия биологическая.* 2016; 3(68): 115–123.
 18. Евтушенко Н.С., Багирова В.Л., Шлянкевич А.М. Исследование хроматографического поведения моно- и бициклических терпеноидов с целью выбора оптимальных условий хроматографирования препаратов их содержащих // *Современные методы анализа фармацевтических препаратов: сб. науч. тр. ВНИИФ.* – М., 1988; 26: 76–81.
 19. Петухова С.А. Фармакогностическое исследование володушки козелецелистной (*Vipleurum scorzonifolium* Willd.) травы и разработка на ее основе экстракта сухого: автореф. дисс. ... канд. фарм. наук / С.А. Петухова. – Улан-Удэ, 2018; 22.
 20. Коротков В.А., Кухтенко А.С., Бевз Н.Ю., Грудько В.А., Гладох Е.В. Разработка методик качественного и количественного анализа суппозиторий с экстрактом мажораны оранжевой // *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* 2014; 2(15):27–30.
 21. Оганесян Э.Т. О механизме реакции тритерпеноидов с серной кислотой // *Химия природных соединений.* 1980; 4: 647–651.
 22. Кукина Т.П. Содержание урсоловой и олеаноловой кислот в некоторых видах растений семейства розоцветных // *Sciences of Europe.* 2016; 10(10): 12–15.
 23. Оганесян Э.Т., Шинкаренко А.Л., Бандюкова В.А. Спектры поглощения некоторых пентациклических тритерпеноидов в серной кислоте // *Химия природных соединений.* 1968; 4: 212–213.
 24. Казеева А.Р. Фармакогностическое изучение кровохлебки лекарственной (*Sanguisorba officinalis* L.) и перспективы ее использования в медицине: автореф. дисс. ... канд. фарм. наук / А.Р. Казеева. – Самара, 2017. – С. 24.

TRITERPENE COMPOUNDS OF LEAVES *VISCUM ALBUM* L.

S.L. Adzhiakhmetova, N.M. Chervonnaya, D.I. Pozdnyakov, E.T. Oganessian

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, Russia

*In chloroform and 50% alcohol extracts obtained from the leaves of *Viscum album*, collected from different host trees, the presence of substances of a triterpene nature was established. The presence of oleanolic acid and lupeol was determined by thin-layer chromatography. The content of triterpene compounds was determined after preliminary acid hydrolysis by the spectrophotometric method. The absorption spectra of the products of the interaction of substances of triterpene nature with concentrated sulfuric acid is characterized by a maximum of the absorption band at 312 ± 2 nm. The maximum content of substances of triterpene nature is observed in the leaves of mistletoe collected in autumn and is $7,96 \pm 0,27\%$.*

Keywords: *Viscum album* leaves, triterpenoids, thin layer chromatography, spectrophotometry.