

УДК 582.635.3:543.544.25:543.857.1

ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПЛОДОВ И ЭКСТРАКТОВ МАКЛЮРЫ

© В.А. Коротков^{1,2*}, А.С. Кухтенко², С.К. Ордабаева¹

¹Южно-Казахстанская государственная фармацевтическая академия,
пл. Аль-Фараби, 1, Шымкент, 160000 (Казахстан),
e-mail: farmaceutv.vk@gmail.com

²Национальный фармацевтический университет, ул. Блюхера, 4, Харьков,
(Украина)

Изучен состав биологически активных веществ в плодах маклюры оранжевой, произрастающей в южном Казахстане. Проведена хромато-масс-спектрометрия гексанового экстракта, установлено содержание таких соединений, как тритерпены, фитостерины, изофлавоны, токоферолы и полиненасыщенные жирные кислоты, отмечено их относительное содержание в экстракте. В наибольшем количестве в плодах преобладает комплекс тритерпенов и фитостеринов, а также изофлавоновые соединения. Выполнена качественная оценка экстрактов, полученных растворителями различной полярности, идентифицированы соединения: лупеол, β -ситостерин, осайин и помиферин. Отмечена перспективность получения липофильных экстрактов маклюры.

Ключевые слова: маклюра, хромато-масс-спектрометрия, фитостерины, изофлавоны, лупеол, ситостерол, осайин, помиферин.

Введение

Маклюра оранжевая – *Maclura pomifera* (Raf.) Schneid. относится к семейству тутовые – *Moraceae*, род Маклюра – *Maclura*.

Это дерево высотой до 20 м с густой кроной. Ствол до 1 м в диаметре, с глубоко трещиноватой темно-бурой корой. Молодые ветви зеленые, пушистые, позже голые. В пазухе листа расположена тонкая колючка длиной 0,6–2 см. Листорасположение спиральное. Листья цельнокрайние, от яйцевидных до продолговато-ланцетных, 5–12 см длины, 3–7 см ширины, светло-зеленые, блестящие сверху, снизу светлее. Цветы зеленые, в пазушных соцветиях расположенные на однолетних веточках. Плоды – сухие многочисленные светло-бурые орешки, погруженные в сильно разрастающуюся ось соцветия, образующие в совокупности шарообразное соплодие 10–15 см в поперечнике, сильно морщинистое, от зеленого до золотисто-желтого, напоминающее внешним обликом апельсин, несъедобно. Все части растения, особенно соплодия, содержат млечный сок. Плоды созревают в сентябре-октябре [1, 2].

Растение очень светолюбиво, хорошо переносит жару, засухоустойчиво, нетребовательно к почве,

растет быстро, особенно при достаточном количестве влаги в почве. В диком виде растение произрастает в США, в южных штатах Арканзасе, Оклахоме и Техасе. В Европе растение появилось впервые в 1818 г. В середине XIX века маклюра оранжевая завезена в Никитский ботанический сад. В настоящее время маклюра оранжевая культивируется в Крыму, на Кавказе и в Средней Азии, при этом среднеазиатский климат является наиболее благоприятным для растения [3, 4].

Коротков Владимир Андреевич – преподаватель кафедры фармацевтической химии,
e-mail: farmaceutv.vk@gmail.com

Кухтенко Александр Сергеевич – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры промышленной фармации,
тел.: +38 (0572)-67-91-51,
e-mail: kukhtenk@rambler.ru

Ордабаева Сауле Кутымовна – доктор фармацевтических наук, профессор и заведующая кафедрой фармацевтической и токсикологической химии,
e-mail: ordabaeva@mail.ru

* Автор, с которым следует вести переписку.

Маклюра до сих пор изучена недостаточно. В доступных нам источниках имеются данные о применении растения в народной медицине. Спиртовые извлечения из плодов растения используют при онкологических и сердечно-сосудистых заболеваниях, масляные извлечения используют при артрите, проктите, простатите, кожных и геморрагических заболеваниях.

По литературным данным известно, что соплодия маклюры богаты биологически активными веществами (БАВ), такими как флавоноиды, тритерпеноиды, стероиды, аминокислоты и витамины [5, 6]. Из них наибольший интерес представляют изофлавоны осайин и помиферин, выделенные впервые из этого растения, обладающие способностью укреплять стенки капилляров. Являясь сильными природными антиоксидантами, они предохраняют клетки нашего организма от разрушительного воздействия свободных радикалов, оно проявляется ускорением старения организма, нарушением иммунитета и возникновением различных заболеваний [7]. Также весьма интересны такие стероидоподобные вещества, как лупеол и ситостерол, известные своими противовоспалительными и простатопротекторными свойствами [8].

Возможность применения данного растения в медицинской практике требует изучения его качественного и количественного состава, поэтому целью настоящей работы является фитохимическое исследование плодов маклюры оранжевой, произрастающей в южном Казахстане.

Экспериментальная часть

Объектом настоящего исследования являются плоды маклюры оранжевой, собранные в начале октября 2011 г. в городском парке г. Шымкент (Казахстан). Плоды были вымыты, порезаны небольшими частями и высушены в конвективной электрической печи Binder при постоянной температуре 60 °С в течение 24 ч. Высушенные соплодия были помолоты электрической мельницей с диаметром сит 3 мм.

Для получения гексанового экстракта 20 г измельченного сырья было экстрагировано гексаном в количестве 200 мл в аппарате Сокслета. Экстракция проводилась до полного истощения сырья. Водно-спиртовой 40%, этанольный и хлороформный экстракты были получены нагреванием в колбе, снабженной обратным холодильником, на водяной бане в течение 2 ч в соотношении «сырье : экстрагент» 1 : 10.

Масляный экстракт был получен путем мацерации подсолнечным маслом (1 : 10) с предварительным замачиванием в спирте (1 : 0,5; 30 мин) с нагреванием при постоянной температуре 50 °С в течение 24 ч.

Исследование гексанового экстракта выполнялось на хромато-масс-спектрометре Agilent 6890N/5975B Inert XL EI/CI GC/MS System с капиллярной колонкой Agilent 19091S-433 HP-5MS 5% Phenyl Methyl Siloxane (толщина пленки 0,25 мкм, 30 м x 0,25мм, Agilent, США). Использовались библиотеки масс-спектров Nist05 Spectra Lib и Wiley 7th/Nist 05 MS lib. Углубленный анализ масс-спектров хроматографических пиков выполнялся программой NIST MS SEARCH. В качестве газа-носителя использовали гелий. Температурная программа: начальная температура 70 °С, время выдержки 2,76 мин, подъем до второй изотермы 150 °С со скоростью 18,13 °С/мин, третья изотерма 200 °С со скоростью подъема температуры 2,18 °С/мин, четвертая изотерма 280 °С со скоростью 5,80 °С/мин, время выдержки при четвертой изотерме 33,79 мин. Номинальный начальный поток газа 1,10 мл/мин, время анализа составило 77,69 мин.

Качественную оценку полученных экстрактов проводили при помощи тонкослойной хроматографии (ТСХ), для чего использовали хроматографические пластины марки Sorbfil ПТСХ-АФ-В-УФ 10 × 15. Для изофлавоноидов и фитостеринов нами была подобрана система растворителей гексан – этилацетат (10 : 1), опрыскивание проводили 1%-м раствором ванилина в серной кислоте с дальнейшим нагреванием при 105 °С в течение 10 мин. Идентификацию анализируемых веществ осуществляли в сравнении со стандартными образцами лупеола (Santa Cruz Biotechnology, США), β-ситостерина и изофлавонов осайина и помиферина (BioBioPha Co., Ltd., Китай). Пробы наносили на пластины хроматографическим шприцом в количестве 3 мкл, для чего экстракты предварительно разводили в 10 раз (масляный экстракт разводили в гексане).

Обсуждение результатов

Для оценки фитохимического состава плодов маклюры оранжевой методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС) нами был изучен гексановый экстракт.

Результаты, представленные на хроматограмме (рис. 1), позволяют утверждать о преимущественном содержании в плодах маклюры, произрастающей в Казахстане, таких биологически активных веществ, как тритерпены, изофлавоны, фитостерины, токоферолы и полиненасыщенные жирные кислоты. Относительное количественное содержание БАВ представлено в таблице.

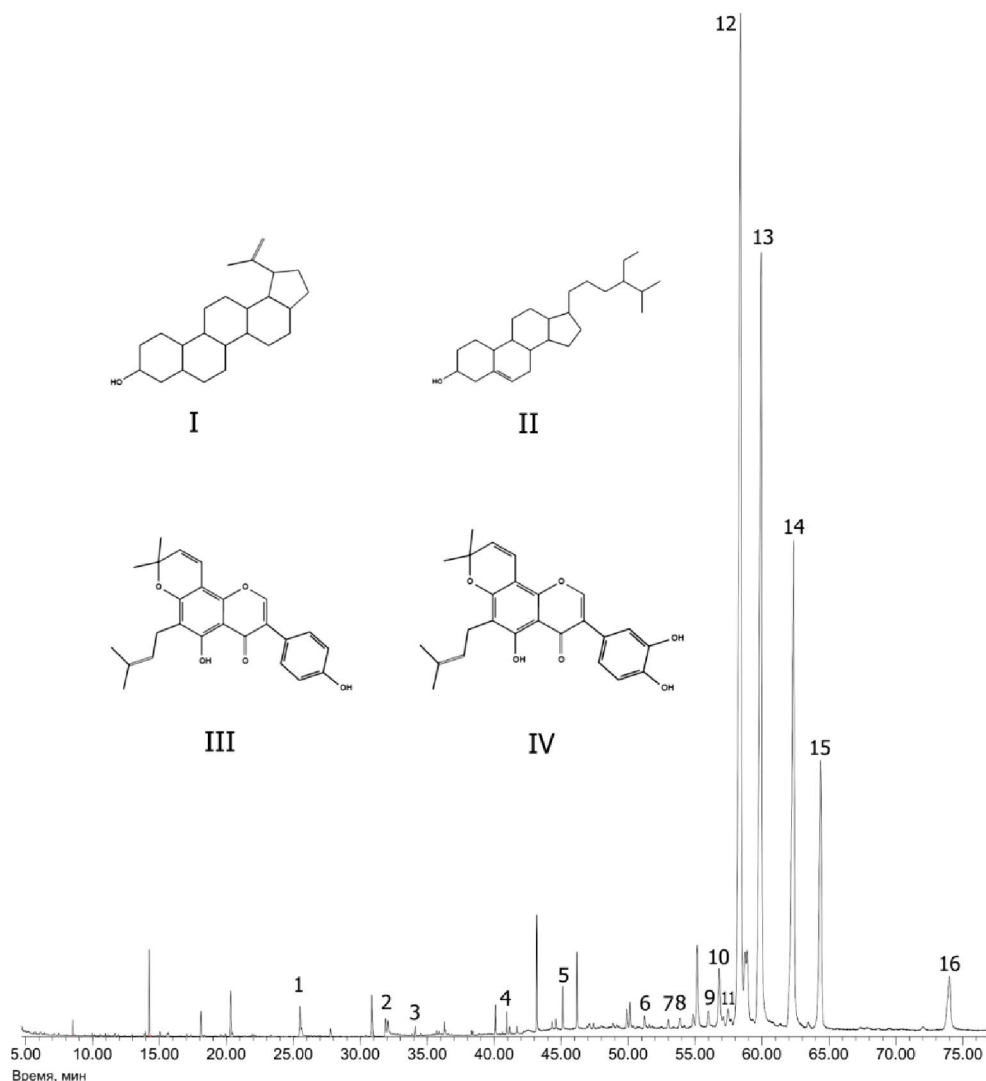


Рис. 1. ГХ-МС хроматограмма гексанового экстракта плодов маклюры оранжевой: 1 – пальмитиновая кислота, 2 – линолевая кислота, 3 – додекатриеновая кислота, 4 – олеиновая кислота, 5 – сквален, 6 – токоферола ацетат, 7 – кампестерин, 8 – стигмастерин, 9 – обтусифолиол, 10 – ситостерин, 11 – фукостерин, 12 – ланостерол, 13 – лупеол, 14 – ланостерола ацетат, 15 – лупеола ацетат, 16 – изофлавоны. I – лупеол, II – ситостерин, III – осайин, IV – помиферин

Согласно результатам, в наибольшем относительном количестве в экстракте преобладают тетрациклический тритерпен – ланостерол (34,16%) и его ацетат (15,83%), а также пентациклический тритерпен лупеол (25,84%) и его ацетат (8,39%).

Ланостерол является предшественником стероидных соединений и известен своими антиоксидантными, антимуtagenными и антиканцерогенными свойствами. Изучены свойства ланостерола, содержащегося в чаге, который входит в препараты «Настойка чаги» и «Бефунгин» [9, 10].

Широко описаны свойства лупеола, выделенного из коры березы, по своей структуре он очень близок к бетулину. Установлено, что данные соединения обладают антиоксидантной, противовоспалительной и иммуномодулирующей активностью. Имеются также положительные данные о влиянии лупеола на заболевания предстательной железы. Была доказана эффективность лупеола в торможении пролиферации раковых клеток [11, 12].

Плоды маклюры богаты содержанием группы фитостеринов, из которых наибольший интерес представляет ситостерин. Данное соединение по своей химической структуре очень близко к холестерину. Наиболее широкое применение находит β -ситостерин, выделенный из различных растительных источников и используемый для лечения гиперплазии предстательной железы и простатита. β -ситостерин локализуется в тканях простаты, где он ингибирует синтез простагландинов и оказывает стабилизирующее влияние на гиперплазированные ткани [13].

Относительное содержание БАВ, идентифицированных в гексановом экстракте плодов маклюры методом ГХ-МС

№	Химическое соединение	Время удерживания, мин	Площадь пика, %
1	Ланостерол	58,398	34,16
2	Лупеол	59,933	25,84
3	Ланостерола ацетат	62,345	15,83
4	Лупеола ацетат	64,346	8,39
5	Изофлавоны	73,995	2,17
6	Ситостерин	56,799	1,43
7	Линолевая кислота	31,874	0,37
8	Сквален	45,117	0,37
9	Обгусифолиол	55,991	0,29
10	Фукостерол	57,457	0,29
11	Стигмастерол	54,857	0,24
12	Кампестерол	53,857	0,23
13	Пальмитиновая кислота	25,515	0,22
14	Токоферола ацетат	51,225	0,2
15	Додекатриеновая кислота	34,099	0,08
16	Олеиновая кислота	41,149	0,05

При анализе хроматографических пиков системой NIST MS SEARCH были обнаружены две изофлавоноидные структуры, при этом библиотекой было предложено наиболее близкое к ним вещество – изофлаван сканденон, который является изомером осайина, содержащегося в плодах маклюры.

На данном этапе нами было предположено, что этими изофлавонами являются осайин и помефирин, поскольку поиск данных веществ в библиотеках Nist05 Spectra Lib и Wiley 7th/Nist 05 MS lib показал отсутствие спектров этих соединений.

Таким образом, на основании предварительных фитохимических исследований гексанового экстракта методом ГХ-МС нами было установлено, что плоды маклюры богаты БАВ, из которых наибольший интерес представляют комплексы тритерпенов и фитостеринов, а также изофлавоноидные соединения. Поэтому следующим этапом нашей работы было сравнительное изучение извлечений из плодов маклюры, полученных при помощи различных экстрагентов. Так, нами были исследованы следующие экстракты: водно-спиртовый 40%, спиртовый, хлороформный, гексановый, масляный.

Результаты цветных реакций (1% железа хлорид, 5% алюминия хлорид, реактив Вильсона, 5% калия гидроксид) позволили нам установить, что все экстракты содержат вещества флавоноидной структуры.

Для сравнения качественного состава экстрактов мы воспользовались методом ТСХ, с целью определения в них наличия фитостеринов и изофлавонов, для чего использовались образцы сравнения: лупеол, β -ситостерин, осайин и помиферин (рис. 2). Данные вещества были выбраны в качестве стандартов в связи с их преимущественным содержанием в маклюре оранжевой [14, 15].

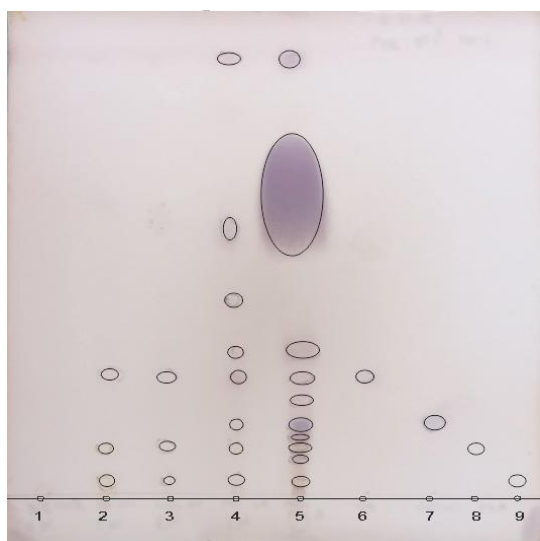


Рис. 2. ТСХ-хроматограмма анализа экстрактов маклюры: 1 – водно-спиртовый экстракт; 2 – спиртовый экстракт; 3 – хлороформный экстракт; 4 – гексановый экстракт; 5 – масляный экстракт; 6 – лупеол; 7 – β -ситостерин; 8 – осайин; 9 – помиферин

В результате анализа методом ТСХ, было обнаружено около 10 соединений, среди них идентифицированы изофлавоноиды помиферин и осайин, а также β -ситостерин, лупеол и вещества схожей структуры. Подобранные нами условия позволяют разделить компоненты экстрактов, которые проявляются под воздействием ванилинового реактива в виде окрашенных зон от светло-розового до фиолетового цвета для веществ стероидной структуры и лимонно-желтого цвета для изофлавонов. Визуальная оценка площадей пятен позволяет заключить, что в плодах маклюры доминируют липофильные вещества, из которых в наибольшем количестве представлены фитостерины и изофлавоны. При этом на основании полученных результатов оценки БАВ в различных извлечениях весьма перспективным является разработка масляного экстракта плодов маклюры. Растительные масла нетоксичны, содержат широкий спектр таких активных соединений, как токоферолы, непредельные жирные кислоты и позволяют получать суммарные фитопрепараты с высоким содержанием липофильных действующих веществ, пригодных для введения в лекарственные формы без предварительного упаривания и сушки.

Выводы

1. Проведено фитохимическое исследование плодов маклюры, произрастающей в Казахстане. Установлено, что плоды богаты липофильным БАВ, из которых наибольший интерес представляют комплекс фитостеринов и изофлавонов.

2. Проведена качественная оценка экстрактов плодов маклюры, полученных различными экстрагентами. Отмечена перспективность получения масляного экстракта с целью его дальнейшего изучения в качестве лекарственного средства.

Список литературы

1. Комаров В.Л., Шишкин Б.К. (ред.). Флора СССР: в 30 т. М., 1936. Т. 5. 396 с.
2. Соколов С.Я. и др. Деревья и кустарники СССР. М., 1954. 871 с.
3. Burton J.D. Osage-orange: an American wood. USDA Forest Service. Washington. 1973. 7 p.
4. Smith J.L., Perino J.V. Osage orange (*Maclura pomifera*): history and economic uses // *Economic Botany*. 1981. Vol. 35. N1. Pp. 24–41.
5. Кабиев О.К., Верменичева С.М., Едыгенова А.К. Токсичность и противоопухолевая активность настоя маклюры оранжевой // *Здравоохранение Казахстана*. 1964. №5. С. 18.
6. Орынбасарова К.К. Биологические и другие полезные свойства М. *Pomifera* // *Вестник ЮКПУ*. 2010. №1. С. 216–218.
7. Tsao R., Yang R., Young J.C. Antioxidant isoflavones in osage orange, *Maclura pomifera* (Raf.) Schneid // *Journal of agricultural and food chemistry*. 2003. Vol. 51. N22. Pp. 6445–6451.
8. Lewis K.G. 15. Triterpene constituents of the fruits of the osage orange (*Maclura pomifera*) // *Journal of the Chemical Society (Resumed)*. 1959. Pp. 73–75.
9. Жукович Е.Н. и др. К вопросу о стандартизации препаратов «Чаги настойка» и «Бефунгин» // *Химико-фармацевтический журнал*. 2009. Т. 44. №3. С. 35–37.
10. Жукович Е.Н. и др. Тетрациклические тритерпены чаги, *Inonotus obliquus* (Pers.) PkL., произрастающей в России // *Химико-фармацевтический журнал*. 2009. Т. 44. №9. С. 28–29.
11. Кузнецова С.А. и др. Изучение состава гексанового экстракта бересты и его токсико-фармакологических свойств // *Химия растительного сырья*. 2008. №1. С. 45–49.
12. Gallo M.B.C., Sarachine M.J. Biological activities of lupeol // *Int. J. Biomed. Pharm. Sci*. 2009. Vol. 3. Special Issue 1. Pp. 44–66.
13. Wilt T.J., MacDonald R., Ishani A. Sitosterol for the treatment of benign prostatic hyperplasia: a systematic review // *BJU international*. 1999. Vol. 83. Pp. 976–983.
14. Walter E.D., Wolfrom M.L., Hess W.W. A Yellow Pigment from the Osage Orange (*Maclura pomifera* Raf.) // *Journal of the American Chemical Society*. 1938. Vol. 60. N3. Pp. 574–577.
15. Lewis K.G. Triterpene constituents of the fruits of the osage orange (*Maclura pomifera*) // *Journal of the Chemical Society (Resumed)*. 1959. N1. Pp. 73–75.

Поступило в редакцию 28 ноября 2013 г.

После переработки 16 января 2014 г.

Korotkov V.A.^{1,2*}, Kukhtenko A.S.², Ordabayeva S.K.¹ PHYTOCHEMICAL RESEARCH OF MACLURA POMIFERA FRUITS AND EXTRACTS

¹South Kazakhstan State Pharmaceutical Academy, Al-Farabi, 1, Shymkent, 160000 (Kazakhstan),
e-mail: farmacevt.vk@gmail.com.

²National Pharmaceutical University, Blucher st., 4, Kharkov (Ukraine)

The composition of biologically active substances of *Maclura pomifera* fruits, that grows in Southern Kazakhstan was studied. The chromatography-mass spectrometry of a hexane extract was held and it was found a contain of such compounds as triterpenes, phytosterols, isoflavones, tocopherols and polyunsaturated fatty acids, it was noted their relative content in the extract. The complex of triterpenes and phytosterols as well as isoflavones compound are prevailing in fruits in the largest amount. A qualitative assessment of extracts obtained with solvents of different polarity was made, and it was identified such compounds as: lupeol, β -sitosterol, osayin and pomiferin. It was noted the perspective of Osage Orange lipophilic extracts receiving.

Keywords: *Maclura pomifera*, chromatography-mass spectrometry, phytosterols, isoflavons, lupeol, sitosterol, osayin, pomiferin.

References

1. Komarov V.L., Shishkin B.K. (ed.). *Flora SSSR*. [Flora of the USSR]. In 30 vol. Moscow, 1936, vol. 5, 396 p. (in Russ.)
2. Sokolov S.Ia. et al. *Derev'ia i kustarniki SSSR*. [Trees and shrubs of the USSR]. Moscow, 1954, 871 p. (in Russ.)
3. Burton, J.D. *Osage-orange: an American wood*. USDA Forest Service. Washington. 1973. 7 p.
4. Smith J.L., Perino J.V. *Economic Botany*, 1981, vol. 35, no. 1, pp. 24–41.
5. Kabiev O.K., Vermenicheva S.M., Edygenova A.K. *Zdravoohranenie Kazahstana*, 1964, no. 5, p. 18. (in Russ.)
6. Orynbasarova K.K. *Vestnik JuKPU*, 2010, no. 1, pp. 216–218. (in Russ.)
7. Tsao R., Yang R., Young J. C. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2003, vol. 51, no. 22, pp. 6445–6451.
8. Lewis K.G. 15. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 1959, pp. 73–75.
9. Zhukovich E.N. i dr. *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal*, 2009, vol. 44, no. 3, pp. 35–37. (in Russ.)
10. Zhukovich E.N. i dr. *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal*, 2009, vol. 44, no. 9, pp. 28–29. (in Russ.)
11. Kuznecova S.A. i dr. *Himija rastitel'nogo syr'ja*, 2008, no. 1, pp. 45–49. (in Russ.)
12. Gallo M.B.C., Sarachine M.J. *Int. J. Biomed. Pharm. Sci.*, 2009, vol. 3, special issue 1, pp. 44–66.
13. Wilt T.J., MacDonald R., Ishani A. *BJU international*, 1999, vol. 83, pp. 976–983.
14. Walter E.D., Wolfrom M.L., Hess W.W. *Journal of the American Chemical Society*, 1938, vol. 60, no. 3, pp. 574–577.
15. Lewis K.G. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 1959, no. 1, pp. 73–75.

Received November 28, 2013

Revised January 16, 2014

* Corresponding author.