

## ИЗУЧЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ КОЖУРЫ (ПЕРИДЕРМЫ) КАРТОФЕЛЯ ОБЫКНОВЕННОГО С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ, ОБЛАДАЮЩЕЙ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

© 2015 О.А. Андреева, О.М. Жилина, Е.О. Куличенко, С.П. Лукашук, М.В. Мазурина, Э.Т. Оганесян, Э.Ф. Степанова

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Волгоградского государственного медицинского университета

Статья поступила в редакцию 28.10.2015

В статье приведены результаты исследования наличия фенольных соединений в перидерме клубней картофеля обыкновенного (*Solanum tuberosum* L., сем. Solanaceae) сорта «Невский». Исследования проводились методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. В извлечении, полученном экстракцией сырья 40% спиртом этиловым, идентифицировано 13 веществ фенольной природы, относящихся к флавоноидам, фенолкарбоновым кислотам, дубильным веществам. Установлено, что в сумме всех фенольных соединений наибольшая доля (54,81%) принадлежит фенолкарбоновым кислотам, основными из которых являются кислоты феруловая и галловая. Спиртовое извлечение было использовано для приготовления мази на основе олеогеля (масло подсолнечное, аэросил) с добавлением экстракта ореха чёрного, показавшую выраженную антимикробную активность по отношению к *Staphylococcus aureus* (209); *Staphylococcus aureus* (Макаров); *Staphylococcus aureus* (Type); *Staphylococcus epidermidis* Wood-46; *Bacillus subtilis* L<sub>2</sub>; *Bacillus anthracoides* - 96; *Proteus vulgaris*.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, экзодерма, клубень картофеля, фенольные соединения, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, дубильные вещества катехины, мазь, антимикробная активность

Среди природных веществ, наиболее часто используемых для создания высокоэффективных лекарственных препаратов, одно из ведущих мест занимают фенольные соединения, флавоноиды, кумарины, фенолкарбоновые кислоты и другие. Многие из них в настоящее время получены синтетическим путем, однако выделение их из растений в виде суммарных субстанций по-прежнему считаются наиболее целесообразным. В связи с этим актуальной задачей является поиск новых, наиболее доступных природных

источников получения этих веществ. Особый интерес представляют отходы промышленного производства, в том числе пищевой промышленности. В процессе переработки наиболее распространённого продукта питания – картофеля образуется от 20 до 50% отходов, основная часть которых приходится на кожуру (перидерму) [5]. В то же время исследования, проведённые за рубежом, показали, что водные и водно-спиртовые извлечения из кожуры клубней некоторых сортов картофеля содержат значительное количество фенольных соединений [6] и обладают антиоксидантной [5, 7, 8] и антидепрессивной [9] видами активности.

**Цель работы:** исследование фенольных соединений кожуры картофеля, разработка технологии получения лекарственной формы и определение ее антимикробной активности.

**Материалы и методы.** Сырьё заготавливали от картофеля сорта «Невский», выращенного на территории Краснодарского края. Сырьё собирали осенью 2013 года.

Предварительную оценку растительного материала на наличие в нём фенольных соединений проводили методами одно- и двумерной хроматографии на бумаге (ТХ) и тонкослойной (ТХ) на силикагеле. Использовали хроматографическую бумагу марки «Ленинградская С» и

Андреева Ольга Андреевна, кандидат химических наук, доцент кафедры органической химии. E-mail: oa-51934@yandex.ru

Жилина Оксана Михайловна, кандидат фармацевтических наук, преподаватель кафедры органической химии. E-mail: sharenko\_oks@mail.ru

Куличенко Евгения Олеговна, студентка

Лукашук Светлана Павловна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии. E-mail: Svetlana.pawlowna@yandex.ru

Мазурина Майя Викторовна, старший преподаватель кафедры биологической химии и микробиологии. E-mail: mayavikt-mazurina@yandex.ru

Оганесян Эдуард Тоникович, доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой органической химии. E-mail: edwardov@mail.ru

Степанова Элеонора Федоровна, доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической технологии лекарств. E-mail: e.f.stepanova@mail.ru

пластины «Сорбфил» (ПТСХ-П-А-УФ», производитель ЗАО «Сорбполимер», размером 10Ч10 и 10Ч15). Хроматограммы развивали в восходящем и нисходящем токах растворителей. В качестве элюирующих систем применяли:

для БХ: уксусная кислота – муравьиная кислота – вода (10 : 2 : 3); н-бутанол – уксусная кислота – вода (4 : 1 : 2) и (4 : 1 : 5); 15% и 30% уксусная кислота [3];

для ТХ: хлороформ; хлороформ – петролейный эфир (1 : 2); хлороформ – этанол (9 : 1) и (9 : 3); хлороформ – этанол – вода (10 : 2 : 0,1); толуол – этилацетат – уксусная кислота (5 : 4 : 1) [2].

Отдельные порции (по 10 г) высушенного до постоянной массы и измельченного растительного сырья (кожура светло жёлтого цвета толщиной не более 1 мм) трёхкратно экстрагировали 96%, 70%, 40% спиртом этиловым и водой. Экстракцию проводили в колбе с обратным холодильником. Время каждой экстракции – 60 минут. Полученные извлечения упаривали в выпарительной чашке до 3 мл. Для хроматографирования брали 0,02-0,05 мл экстракта. После разделения веществ хроматограммы просматривали в видимом и УФ-свете, затем обрабатывали парами аммиака, 5% спиртовым раствором алюминия хлорида; 10% спиртовым раствором калия гидроксида, свежеприготовленным диазореактивом – диазотированной сульфаниловой кислотой, 2% спиртовым раствором железа хлорида (III), 1%

раствором ванилина в хлористоводородной кислоте.

На основании испытаний, проведенных методами БХ и ТСХ, был сделан вывод, что наибольшее число пятен на хроматограммах, принадлежащих фенольным соединениям, содержатся в извлечении, полученном экстракцией сырья 40% спиртом этанолом. Поведение веществ на хроматограммах, цвет зон адсорбции, наблюдаемый в видимом и УФ-свете до и после обработки детектирующими реактивами позволило отнести эти вещества к флавонам, катехинам, фенолокислотам, кумаринам [2, 3].

Подтверждение качественного состава фенольных соединений проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Для исследования использовали хроматограф фирмы “GILSTON” (модель 305, Франция); инжектор ручной, модель RHEODYNE 7125 USA. Компьютерную обработку результатов осуществляли с помощью программы Мультихром для Windows. Неподвижной фазой являлась металлическая колонка размером 4,6x250 мм KROMASIL C18, размер частиц 5 микрон, подвижной фазой – система метанол-вода-фосфорная кислота концентрированная, в соотношении (400:600:5). Анализ проводили при комнатной температуре в течение 60 минут. Скорость подачи элюента 0,8 мл/мин. Детектирование осуществляли с помощью УФ-детектора “GILSTON” UV/VIS модель 151 при длине волны 254 нм.

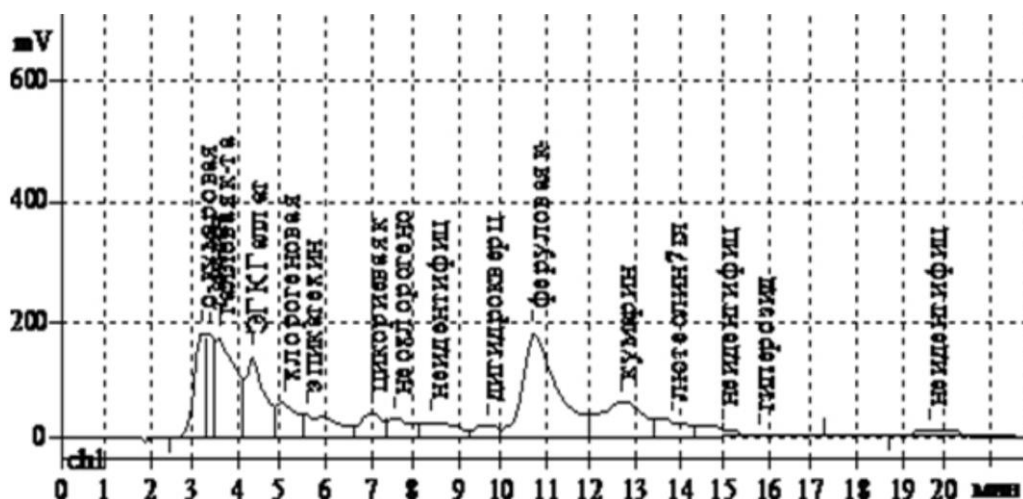


Рис. 1. Хроматограмма водно-спиртового извлечения из кожуры клубней картофеля сорта «Невский»

Для подготовки пробы 10 г сырья экстрагировали 40% этанолом вышеописанным способом. Извлечение выпаривали досуха в выпарительной чашке на водяной бане и сушили до постоянной массы в сушильном шкафу при температуре не превышающей 60°С. Навеску экстракта (0,9272 г) помещали в колбу вместимостью 100

мл, прибавляли 20 мл 70% спирта этилового и нагревали в течение 1 часа с момента закипания растворителя на кипящей водяной бане. Смесь охлаждали, фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу объёмом 25 мл и доводили 70% спиртом этиловым до метки. Параллельно в 70% спирте этиловом готовили серию 0,05% растворов

сравнения следующих веществ: рутина, кверцетина, лютеолина, лютеолин-7-гликозида, кемпферола, гиперозида, геспередина, апигенина, нарингенина, дигидрокверцетина, катехина, эпикатехина; эпигалокатехингаллата (ЭГКгаллат), танина; кумарина, дикумарина, а также кислот: галловой, кофейной, хлорогеновой, неохлорогеновой, коричной, цикориевой, феруловой. По 20 мкл исследуемого раствора и растворов сравнения вводили в хроматограф и хроматографировали в выше приведенных условиях. Вещества идентифицировали путём сопоставлением времени удерживания компонентов исследуемого раствора и растворов сравнения. Результаты исследования извлечения полученного экстракцией сырья спиртом этиловым 40% метода ВЭЖХ представлены на рисунке (рис. 1) и в табл. 1.

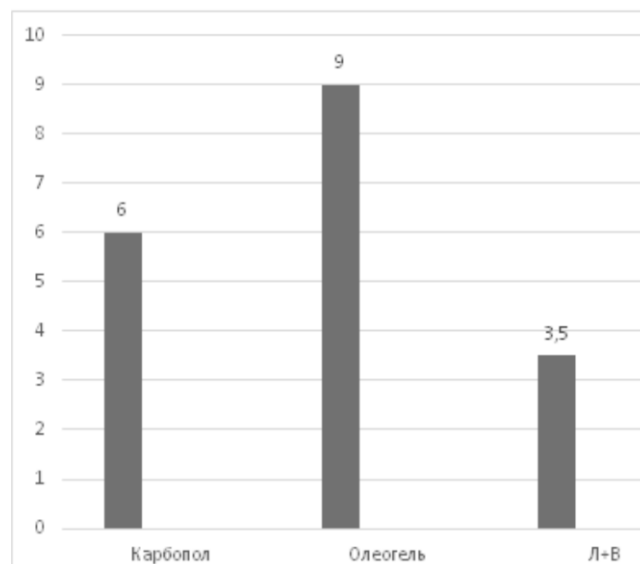
**Таблица 1.** Результаты исследования фенольных веществ кожуры клубней картофеля сорта «Невский» методом ВЭЖХ

Наименование РСО	Время удерживания, мин	Количественное соотношение в смеси, % от суммы
о-кумаровая кислота	3.112	6.57
танин	3.289	6.51
галловая кислота	3.548	13.73
ЭГКгаллат	4.297	9.62
хлорогеновая кислота	4.972	4.83
эпикатехин	5.536	5.15
цикориевая кислота	6.951	3.60
неохлорогеновая кислота	7.504	2.84
дигидрокверцетин	9.56	1.76
феруловая кислота	10.68	23.24
кумарин	12.66	9.55
лютеолин-7-глюкозид	13.83	3.49
гиперозид	15.76	0.60
неидентифицировано	8.339	4.04
неидентифицировано	14.94	2.26
неидентифицировано	19.65	2.21

Таким образом, методом ВЭЖХ в 40%-ном извлечении из кожуры клубней исследуемого сорта картофеля было зафиксировано шестнадцать пиков, тринадцать из которых принадлежат веществам фенольной природы. Прежде всего, это фенолокислоты. Доля этих веществ в сумме всех фенольных соединений составляет 54,81%. Основными фенолокислотами являются феруловая и галловая. В извлечении также обнаружены флавоноиды. На долю лютеолин-7-гликозида, гиперозида, дигидрокверцетина

приходится только 5,85%. Несколько больше содержится катехинов – 14,77%. В изучаемом извлечении кроме выше перечисленных соединений идентифицированы танин и кумарин. Все вещества в исследуемом объекте установлены впервые, однако полученная закономерность о соотношении фенольных соединений соответствует данным, полученным для кожуры клубней других сортов картофеля [6].

Так как ранее проведенными исследованиями [4] установлено, что извлечение из кожуры картофеля обладает антимикробной активностью, авторами была поставлена задача – разработать на его основе 40% спиртового извлечения мазь косметического направления и изучить её антимикробную активность. Сырьё экстрагировали спиртом этиловым 40% методом перколяции. Спиртовую вытяжку очищали отстаиванием при пониженной температуре, затем сушили в вакууме при температуре, не превышающей 60°C до получения густого экстракта [1]. В качестве мазевых основ использовали следующие вспомогательные компоненты: классическая мазевая основа вазелин с ланолином в равных соотношениях, карбопол-940 и олеогель (масло подсолнечное, аэросил). При проведении предварительных биофармацевтических исследований *in vitro* с помощью диффузии в 3% желатиновый гель (реактив: трехвалентное железо) установили, что максимальное высвобождение обеспечивает основа олеогель, которая сама по себе обладает противоожоговым действием (рис.2).



**Рис. 2.** Результаты биофармацевтических исследований высвобождаемости мазей

С учетом приведенных на рис.2 результатов были приготовлены две 5% мази на разных основах. Кроме действующего вещества в состав первой входили глицерин, аэросил, масло

подсолнечное, экстракт чёрного ореха в качестве консерванта и пропиленгликоль (как пенетрант), в состав второй прописи - те же компоненты, но без экстракта чёрного ореха. Микробиологические исследования разработанных мазевых композиций определяли методом диффузии в агар (способ «колодцев») по отношению к 11 тест-культурам. Вводили по 0,1 г мази. Оценку результатов проводили путем измерения диаметра зон задержки роста вокруг «колодца», включая диаметр самого «колодца». Отсутствие зоны задержки роста свидетельствует о том, что испытуемая культура не чувствительна к данной концентрации

препарата; диаметр зоны задержки роста на 10 мм показывает на умеренную чувствительность культуры к данной концентрации препарата, а диаметр зоны задержки роста более 10 мм на высокую чувствительность испытуемой культуры к данной концентрации препарата. В качестве объектов сравнения использовали мази, полученные на основе 40% жидких экстрактов из цветков арники и бессмертника, которые сгущали до консистенции густых экстрактов. Результаты определения антимикробной активности исследуемых образцов представлены в табл. 2.

**Таблица 2.** Антимикробная активность исследуемых мазей

Объекты исследования (компоненты мази)	Диаметр зоны задержки роста тест-культур микроорганизмов, мм										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
40% экстракт из кожуры картофеля, глицерин, аэросил, масло подсолнечное, экстракт чёрного ореха, пропиленгликоль	21	23	15	23	-	-	22	-	13	-	24
40% экстракт из кожуры картофеля, глицерин, аэросил, масло подсолнечное, пропиленгликоль	12	13	-	11	12	-	20	11	13	-	23
40% экстракт из арники, глицерин, аэросил, масло подсолнечное, пропиленгликоль, эмульгатор цесто-пал	-	10	-	11	13	-	18	12	-	13	22
40% экстракт из бессмертника, глицерин, аэросил, масло подсолнечное, пропиленгликоль, эмульгатор цесто-пал	-	-	-	16	-	-	20	-	11	-	20

*Примечание:* используемые тест-культуры: 1. *Staphylococcus aureus* (209); 2. *Staphylococcus aureus* (Макаров); 3. *Staphylococcus aureus* (Type); 4. *Staphylococcus epidermidis* Wood-46; 5. *Escherichia coli* 675; 6. *Salmonella galenarum*; 7. *Bacillus subtilis* L<sub>2</sub>; 8. *Bacillus anthracoides* - 1; 9. *Bacillus anthracoides* - 96; 10. *Pseudomonas aeruginosa*; 11. *Proteus vulgaris*

Из приведенных в табл. 2 данных следует, что мази, полученные на основе экстрактов из кожуры картофеля, обладают выраженной антимикробной активностью. По величине эта активность не уступает образцам сравнения по отношению к *Staphylococcus epidermidis* Wood-46; *Bacillus subtilis* L<sub>2</sub>; *Bacillus anthracoides* - 96; *Proteus vulgaris*, и превосходит их по отношению к *Staphylococcus aureus* (209); *Staphylococcus aureus* (Макаров) и *Staphylococcus aureus* (Type). При введении в состав мази экстракта грецкого ореха её антимикробная активность по отношению к ряду тест-культур усиливается.

#### **Выводы:**

1. В результате проведенных исследований методами бумажной и тонкослойной хроматографии установлено, что извлечение из кожуры (перидермы) клубней картофеля сорта

«Невский», полученное экстракцией 40% спиртом этиловым, содержит разнообразный комплекс фенольных соединений.

2. Методом ВЭЖХ идентифицированы 6 фенолоксилов, 5 веществ флавоноидной природы относящихся к флаванололам, катехинам, гликозидам флавонов и флавонолов, одно вещество, относящееся к кумаринам и танин. Содержание фенолоксилов составило 54,81%, флавоноидов 5,85%, танина 14,77%.

3. На основе 40% спиртового извлечения разработана технология получения лекарственной формы - 5% мази на различных мазевых основах, показавшая выраженную микробиологическую активность, которая в ряде случаев усиливается при добавлении в её состав экстракта из грецкого ореха.

4. Результаты исследований подтверждают перспективность дальнейшего изучения отходов клубней картофеля с целью создания на их основе биологически активных субстанций и лекарственных форм.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Европейская фармакопея. Вып. 7.0. – Страсбург., 2011. 1812 с.
2. Кирхнер, Ю. Тонкослойная хроматография. В двух томах. - М.: Мир, 1981. 616 с.
3. Клышев, Л.К. Флавоноиды растений (распространение, физико-химические свойства, методы исследования) / Л.К. Клышев, В.А. Бандюкова, Л.С. Алюкина. Алма-Ата, 1978. 220 с.
4. Куличенко, Е.О. Исследование химического состава и антимикробной активности перидермы клубней картофеля / Е.О. Куличенко, О.А. Андреева, С.П. Лукашук, М.В. Мазурина // Фармация и фармакология. 2014. №4 (11). С. 4-6.
5. Schieber, A. Potato Peels: A Source of Nutritionally and Pharmacologically Interesting Compounds – A Review/ A. Schieber, M.A. Saldaña // Food Global Science Books. 2009. P. 23-29.
6. Lewis, C.E. Anthocyanins and Related Compounds in Potatoes (*Solanum tuberosum* L.): A thesis submitted of Doctor of Philosophy in Biochemistry University of Canterbury Christchurch, New Zealand, 1996. 367 p.
7. Ezekiel, R. Beneficial phytochemicals in potato – a review / N. Singh, S. Sharma, A. Kaur // Food Research International. 2013. V.50. P. 487-496.
8. Ah-Hen, K. Antioxidant capacity and total phenolic compounds of twelve selected potato landrace clones grown in Southern Chile / K. Ah-Hen, C. Fuenzalida, S. Hess et al. // Chilean journal of agricultural research. 2012. V. 72 (1). P. 3-9.
9. Keerthi, V. Evaluation of antidepressant activity of ethanolic and aqueous extract of *Solanum tuberosum* peel / V. Keerthi, M. Sriramoju, D. Alumdri, S. Akula // J. Compr. Phar. 2014. V. 1 №5. P. 164-167

### STUDYING THE PHENOLIC COMPOUNDS OF THE POTATOES ORDINARY PEEL (PERIDERMA) FOR THE PURPOSE OF RECEIVING THE DOSAGE FORM, POSSESSING THE ANTIMICROBIC ACTIVITY

© 2015 O.A. Andreeva, O.M. Zhilina, E.O. Kulichenko, S.P. Lukashuk, M.V. Mazurina, E.T. Oganessian, E.F. Stepanova

Pyatigorsk Medical-Pharmaceutical Institute –  
Branch of Volgograd State Medical University

Results of research the existence of phenolic compounds in a periderma of tubers of potatoes ordinary (by *Solanum tuberosum* L.? Solanaceae family) grade “Nevsky”. are given in the article. Researches were conducted by method of highly effective liquid chromatography. In the extraction, received by extraction of raw materials by 40% alcohol ethyl, 13 substances of the phenolic nature relating to flavonoids, phenolcarboxylic acids, tannins are identified. It is established that in the sum of all phenolic compounds the greatest share (54,81%) belongs to phenolcarboxylic acids, ferulic and gallic acids are basic of which. Spirit extraction was used for preparation of ointment on the basis of oleogel (sunflower oil, aerosil) with addition of nut black extract, was shown expressed antimicrobial activity in relation to *Staphylococcus aureus* (209); *Staphylococcus aureus* (Makarov); *Staphylococcus aureus* (Type); *Staphylococcus epidermidis* Wood-46; *Bacillus subtilis* L2; *Bacillus anthracoides* - 96; *Proteus vulgaris*.

Key words: *Solanum tuberosum*, exoderm, potatoes tuber, phenolic compounds, flavonoids, phenolcarboxylic acids, tannins catechins, ointment, antimicrobial activity

---

Olga Andreeva, Candidate of Chemistry, Associate Professor at the Organic Chemistry Department. E-mail: oa-51934@yandex.ru

Oksana Zhilina, Candidate of Pharmacy, Lecturer at the Organic Chemistry Department. E-mail: sharenko\_oks@mail.ru

Evgeniya Kulichenko, Student

Svetlana Lukashuk, Candidate of Pharmacy, Associate Professor at the Pharmacognosy Department. E-mail: Svetlana.pawlowna@yandex.ru

Maiya Mazurina, Senior Teacher at the Department of Biological Chemistry and Microbiology. E-mail: mayavikt-mazurina@yandex.ru

Edward Oganessian, Doctor of Pharmacy, Professor, Head of the Organic Chemistry Department. E-mail: edwardov@mail.ru

Eleonora Stepanova, Doctor of Pharmacy, Professor at the Drugs Pharmaceutical Technology Department. E-mail: e.f.stepanova@mail.ru