

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК $\alpha$ -АРБУТИНА И $\beta$ -АРБУТИНА

### В.А. Куркин

д.фарм.н., зав. кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии,  
ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России  
E-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

### Т.К. Рязанова

к.фарм.н., ст. преподаватель, кафедра управления и экономики фармации,  
ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России

### А.В. Куркина

д.фарм.н., доцент, кафедра фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии,  
ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России

### С.В. Первушкин

д.фарм.н., зав. кафедрой фармацевтической технологии,  
ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России

### И.К. Петрухина

д.фарм.н., зав. кафедрой управления и экономики фармации,  
ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России

### А.И. Агапов

д.фарм.н., профессор, кафедра общей, бионеорганической и биоорганической химии,  
ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России

Цель работы – сравнительное изучение особенностей спектральных характеристик  $\alpha$ -арбутина и  $\beta$ -арбутина, выделенных из листьев толокнянки обыкновенной *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng.

Арбутин (1-О- $\beta$ -D-глюкопиранозид гидрохинона) является основным действующим веществом листьев толокнянки обыкновенной (*Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng.), семейства вересковые (*Ericaceae*), брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* L.), а также в ряде других растений, обуславливающим диуретические и противовоспалительные свойства лекарственных препаратов на основе вышеуказанного сырья. Арбутин широко используется в фармацевтическом анализе листьев толокнянки обыкновенной и брусники обыкновенной, а также лекарственных препаратов на основе данного сырья в качестве стандартного вещества. Из листьев толокнянки обыкновенной выделены и охарактеризованы с использованием  $^1\text{H}$ -ЯМР-,  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-, УФ-спектроскопии и масс-спектрометрии  $\alpha$ -арбутин (1-О- $\alpha$ -D-глюкопиранозид гидрохинона) и  $\beta$ -арбутин (арбутин) (1-О- $\beta$ -D-глюкопиранозид гидрохинона). В сравнительном плане изучены особенности спектральных характеристик  $\alpha$ -арбутина и арбутина, а также их пентаацетатов, полученных в результате ацетилирования уксусным ангидридом в присутствии пиридина. Определено, что для идентификации  $\alpha$ -арбутина и  $\beta$ -арбутина принципиальное значение имеют данные  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектроскопии. Принципиальным различием в  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектрах  $\alpha$ -арбутина и  $\beta$ -арбутина являются значения констант спин-спинового взаимодействия и величина химического сдвига аномерного протона глюкозы (C-1'). Кроме того, в  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектре  $\alpha$ -арбутина наблюдается однопротонный синглетный сигнал фенольной ОН-группы при 9.02 м.д., тогда как в  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектре арбутина этот сигнал отсутствует. Таким образом, одной из важнейших характеристик оценки подлинности и степени чистоты арбутина как стандартного образца являются результаты  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектроскопии.

**Ключевые слова:** толокнянка обыкновенная, *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., листья,  $\alpha$ -арбутин,  $\beta$ -арбутин, арбутин, пентаацетат арбутина, ЯМР-спектроскопия.

**Для цитирования:** Куркин В.А., Рязанова Т.К., Куркина А.В., Первушкин С.В., Петрухина И.К., Агапов А.И. Сравнительное исследование спектральных характеристик  $\alpha$ -арбутина и  $\beta$ -арбутина. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2019; 22(10): 10–18. <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-10-02>

Арбутин (1-О- $\beta$ -D-глюкопиранозид гидрохинона) является основным действующим веществом листьев толокнянки обыкновенной (*Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., семейство вересковые – *Ericaceae*), брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* L.), а также в целом ряде других растений [1–12]. Ценность арбутина заключается еще и в том, что данное соединение широко используется в фармацевтическом анализе листьев толокнянки обыкновенной и брусники обыкновенной в качестве стандартного вещества [12–18]. Практически во всех литературных источниках

арбутин характеризуется как 1-О- $\beta$ -D-глюкопиранозид гидрохинона.

Сравнительный анализ литературных данных показал, что имеют место некоторые противоречия в спектральных характеристиках арбутина, особенно в данных  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектроскопии [19–28]. Прежде всего, это касается характера сигналов протонов, значений химических сдвигов и констант спин-спинового взаимодействия. Видимо, это зависит не только от растворителя, в котором снимают спектры веществ, но и способа получения, степени очистки.

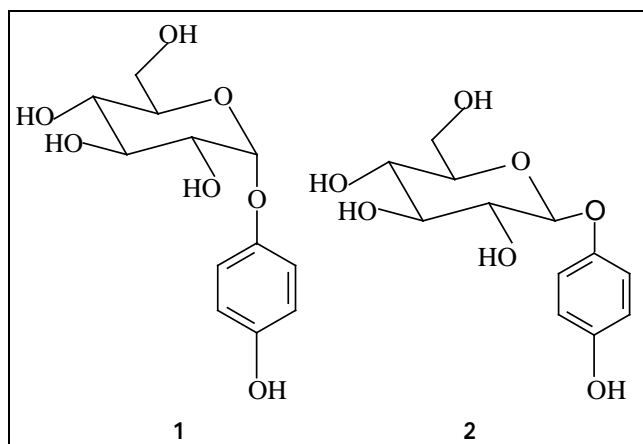


Рис. 1. Структурные формулы α-арбутина (1) и арбутина (2)

В ходе исследований по разработке методик количественного определения арбутина в листьях толокнянки обыкновенной и брусники обыкновенной с использованием метода ВЭЖХ выявилась проблема очистки арбутина, позволяющей получать стандартное вещество с необходимой степенью чистоты [13, 14]. В литературе описаны способы синтеза α-арбутина и β-арбутина [19, 25, 27], что представляет интерес с точки зрения изучения структурных и спектральных особенностей природного арбутина. Структурные формулы α-арбутина и β-арбутина представлены на рис. 1.

Цель работы – изучение особенностей спектральных характеристик α-арбутина и β-арбутина, полученных из листьев толокнянки обыкновенной.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследовали воздушно-сухие листья толокнянки обыкновенной, заготовленные в августе 2016 г. в Пермском крае. Выделение и очистку α-арбутина (1) и β-арбутина (2) из сырья осуществляли с использованием колоночной хроматографии экстрактивных веществ с последующей рехроматографией.

<sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР-спектры получали на приборах «Bruker AM 300» (300 МГц), масс-спектры снимали на масс-спектрометре «Kratos MS-30», регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena).

100 г воздушно-сухих листьев толокнянки обыкновенной экстрагировали 70% этиловым спиртом, осуществляя вначале две экстракции при комнатной температуре в течение 24 ч, а затем при нагревании на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Объединенное водно-спиртовое извлечение упаривали под вакуумом до объема 50 мл, смешивали с 30 г силикагеля L 40/100 и высушивали. Высу-

шенный порошок (сухой экстракт + силикагель) наносили на слой силикагеля (диаметр – 8 см, высота – 5 см), сформированный в виде взвеси в хлороформе. Хроматографическую колонку элюировали хлороформом и смесью хлороформ-этанол в различных соотношениях (99:1; 98:2; 97:3; 95:5; 93:7; 90:10; 85:15; 80:20; 70:30, 60:40, 50:50, 40:60, 30:70).

Из фракций, полученных при элюировании смесью растворителей хлороформ-спирт этиловый 95% (80:20) и (75:25), были получены семь образцов вещества белого цвета с желтоватым оттенком с суммарным выходом 2,0%.

Каждую из полученных фракций вещества растворяли в спирте этиловом, высушивали на полиамиде «Wolem» с целью дальнейшей очистки. Сухой порошок (вещество + полиамид) переносили в хроматографическую колонку (высота сорбента – 5,0 см, диаметр – 4 см). Соответствующую хроматографическую колонку элюировали хлороформом и смесью хлороформ-этанол в различных соотношениях (99:1; 98:2; 97:3; 95:5; 93:7; 90:10; 85:15; 80:20). В результате проведенной очистки на колонке с полиамидом и дополнительной рехроматографии алюминия оксида (элюент – хлороформ-спирт, 90:10) с последующей перекристаллизации из смеси хлороформа и этилового спирта в соотношении 2:1 были получены два образца вещества **1** и пять образцов вещества **2**.

Контроль за разделением веществ осуществляли с помощью ТСХ-анализа на пластинках «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» в системах хлороформ-этанол (9:1), хлороформ-этанол-вода (26:16:3), а также *n*-бутанол-ледяная уксусная кислота-вода (4:1:2). Детекцию веществ осуществляли просмотром хроматограмм в УФ-свете при длине волны 254 и 366 нм, а также проявлением щелочным раствором диазобензолсульфоуксусной кислоты.

**Ацетилирование.** Соединения **1** и **2** в количестве 50 мг растворяли в 1 мл пиридина, добавляли 5 мл свежеперегнанного уксусного ангидрида и оставляли на 24 ч. Далее в реакционную смесь обоих веществ добавляли ледяную воду. Выпавший из реакционной смеси вещества **2** осадок промывали водой и перекристаллизовывали из спирта. В результате получен пентаацетат вещества **2** (**2a**). Реакционную смесь вещества **1** обрабатывали хлороформом, хлороформные извлечения с целевым веществом промывали водой, упаривали в вакууме и подвергали хроматографической очистке на силикагеле (элюент – гексан – хлороформ в различных соотношениях). В результате получен пентаацетат вещества **1** в виде белого аморфного вещества (**1a**).

**1-О- $\alpha$ -D-глюкопиранозид гидрохинона ( $\alpha$ -арбутин) (1).** Игольчатые кристаллы белого цвета состава  $C_{12}H_{16}O_7$  с т. пл. 198–199 °С; УФ-спектр:  $\lambda_{\max}^{EiOH}$  225 и 285 нм. Масс-спектр (ESI-MS, 180 °С, m/z): 295 [ $M^+ + Na$ ].

$^1H$ -ЯМР-спектр (300,13 МГц, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 9.02 (с, 1H, 4-OH группы), 6.85 (д, 2H, 9 Гц, H-2 и H-6), 6.65 (д, 2H, 9 Гц, H-3 и H-5), 5.23 (д, 1H, 3.5 Гц, H-1<sup>1</sup> глюкозы), 5.03 (д, 1H, 3 Гц, H-4<sup>1</sup>), 4.97 (д, 1H, 3 Гц, H-2<sup>1</sup>), 4.63 (д, 1H, 10 Гц, H-6A<sup>1</sup>), 4.53 (т, 4 Гц, H-3<sup>1</sup>), 3.67 (м, 1H, H-6B<sup>1</sup>), 3.45 (м, 1H, H-5<sup>1</sup>).

$^{13}C$ -ЯМР спектр (126,76 МГц, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , м.д.): C-1 (152.18), 150.36 (C-4), C-2 и C-6 (117.69), C-3 и C-5 (115.46), C-1<sup>1</sup> (101.77), C-4<sup>1</sup> (76.93), C-5<sup>1</sup> (76.64), C-3<sup>1</sup> (73.30), C-2<sup>1</sup> (69.83), C-6<sup>1</sup> (60.81).

**Пентаацетат  $\alpha$ -арбутина (1a).** Аморфное вещество белого цвета состава  $C_{22}H_{26}O_{12}$ . Масс-спектр (ESI-MS, 180 °С, m/z): 505 [ $M^+ + Na$ ].

$^1H$ -ЯМР-спектр (300,13 МГц, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 7.12 (д, 2H, 9 Гц, H-2 и H-6), 7.02 (д, 2H, 9 Гц, H-3 и H-5), 5.53 (д, 1H, 10 Гц, H-4<sup>1</sup> глюкозы), 5.41 (т, 1H, 11 Гц, 3<sup>1</sup>), 5.04 (м, 2H, H-1<sup>1</sup> и H-2<sup>1</sup>), 4.23 (м, 2H, 2H-6<sup>1</sup>), 4.06 (д, 1H, 10 Гц, H-5<sup>1</sup>), 2.26 (с, 3H, ароматическая ацетоксигруппа), 2.01 (с, 3H), 1.99 (с, 6H), 1.93 (с, 3H) (четыре алифатических ацетоксигруппы).

$^{13}C$ -ЯМР спектр (126,76 МГц, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 170.04, 169.65, 169.46, 169.37, 169.18 (C=O пяти ацетоксигруппы), 153.96 (C-1), 145.72 (C-4), 122.94 (C-2 и C-6), 117.31 (C-3 и C-5), 97.52 (C-1<sup>1</sup>), 71.96 (C-4<sup>1</sup>), 70.84 (C-5<sup>1</sup>), 70.74 (C-3<sup>1</sup>), 68.06 (C-2<sup>1</sup>), 61.64 (C-6<sup>1</sup>), 20.82, 20.52, 20.44, 20.38, 20.34 (5CH<sub>3</sub> пяти ацетоксигруппы).

**1-О- $\beta$ -D-глюкопиранозид гидрохинона ( $\beta$ -арбутин) (2)** Игольчатые кристаллы белого цвета состава  $C_{12}H_{16}O_7$  с т. пл. 198–199 °С; УФ-спектр:  $\lambda_{\max}^{EiOH}$  224 и 286 нм. Масс-спектр (ESI-MS, 180 °С, m/z): 295 [ $M^+ + Na$ ].

$^1H$ -ЯМР-спектр (300,13 МГц, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 6.86 (д, 2H, 9 Гц, H-2 и H-6), 6.66 (д, 2H, 9 Гц, H-3 и H-5), 4.64 (д, 1H, 7 Гц, H-1<sup>1</sup> глюкозы), 3.1–3.8 (м, 6H глюкозы).

$^{13}C$ -ЯМР спектр (126,76 МГц, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , м.д.): C-1 (152.52), 150.21 (C-4), C-2 и C-6 (117.69), C-3 и C-5 (115.52), C-1<sup>1</sup> (101.80), C-4<sup>1</sup> (76.94), C-5<sup>1</sup> (76.64), C-3<sup>1</sup> (73.31), C-2<sup>1</sup> (69.83), C-6<sup>1</sup> (60.81).

**Пентаацетат арбутина (2a).** Кристаллы белого цвета с т. пл. 140–142 °С состава  $C_{22}H_{26}O_{12}$ . Масс-спектр (ESI-MS, 180 °С, m/z): 505 [ $M^+ + Na$ ].

$^1H$ -ЯМР-спектр (300,13 МГц, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 7.12 (д, 2H, 9 Гц, H-2 и H-6), 7.02 (д,

2H, 9 Гц, H-3 и H-5), 5.53 (д, 1H, 10 Гц, H-4<sup>1</sup> глюкозы), 5.43 (т, 1H, 11 Гц, H-3<sup>1</sup>), 5.05 (м, 2H, H-1<sup>1</sup> и H-2<sup>1</sup>), 4.24 (м, 2H, 2H-6<sup>1</sup>), 4.07 (д, 1H, 10 Гц, H-5<sup>1</sup>), 2.25 (с, 3H, ароматическая ацетоксигруппа), 2.01 (с, 3H), 1.99 (с, 6H), 1.92 (с, 3H) (четыре алифатических ацетоксигруппы).

$^{13}C$ -ЯМР спектр (126,76 МГц, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 169.95, 169.55, 169.35, 169.27, 169.09 (C=O пяти ацетоксигруппы), 153.90 (C-1), 145.68 (C-4), 122.86 (C-2 и C-6), 117.31 (C-3 и C-5), 97.52 (C-1<sup>1</sup>), 71.93 (C-4<sup>1</sup>), 70.81 (C-5<sup>1</sup>), 70.71 (C-3<sup>1</sup>), 68.09 (C-2<sup>1</sup>), 61.59 (C-6<sup>1</sup>), 20.75, 20.44, 20.36, 20.31, 20.26 (5CH<sub>3</sub> пяти ацетоксигруппы).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В  $^1H$ -ЯМР-спектре соединения **1** при 6.85 м.д. и 6.65 м.д. присутствуют два двухпротонных дублетных сигнала с константой спин-спинового взаимодействия (KCCB) 9 Гц, принадлежащих протонам при C-2, C-6 и C-3, C-5 соответственно (рис. 2). Сигналы данных протонов в  $^1H$ -ЯМР-спектре соединения **2** практически совпадают: 6.86 и 6.66 соответственно (рис. 3). Принципиальным различием в  $^1H$ -ЯМР-спектрах соединений **1** и **2** являются значения константы спин-спинового взаимодействия (KCCB) и величина химического сдвига аномерного протона глюкозы (C-1<sup>1</sup>). В  $^1H$ -ЯМР-спектре соединения **1** KCCB составляет 3.5 Гц, а величина химического сдвига – 5.23 м.д., тогда как в случае соединения **2** – 7 Гц при 4.64 м.д., что свидетельствует о  $\alpha$ -конфигурации гликозидной связи в соединении **1** и  $\beta$ -конфигурации гликозидной связи в соединении **2**. Различия касаются и значений химических сдвигов сигналов других углеродных протонов.

Кроме того, в  $^1H$ -ЯМР-спектре соединения **1** наблюдается однопротонный синглетный сигнал фенольной OH-группы при 9.02 м.д., тогда как в  $^1H$ -ЯМР-спектре соединения **2** этот сигнал не обнаружен. Данные  $^{13}C$ -ЯМР спектров соединений **1** и **2** практически совпадают, причем это касается и величин химических сдвигов сигналов углеродных атомов глюкозы (C-1<sup>1</sup>) – 101.77 м.д. и 101.80 м.д. соответственно (рис. 4 и 5). Анализ данных  $^1H$ -ЯМР- и  $^{13}C$ -ЯМР-спектров пентаацетатов соединений **1** и **2** (**1a** и **2a**) показывает (рис. 6 и 7), что подобные совпадения наблюдаются и в этом случае. Так, в  $^1H$ -ЯМР-спектре ацетата соединения **1** (**1a**) при 7.12 м.д. и 7.02 м.д. присутствуют два двухпротонных дублетных сигнала с KCCB 9 Гц, принадлежащих протонам при C-2, C-6 и C-3, C-5 соответственно (рис. 6).

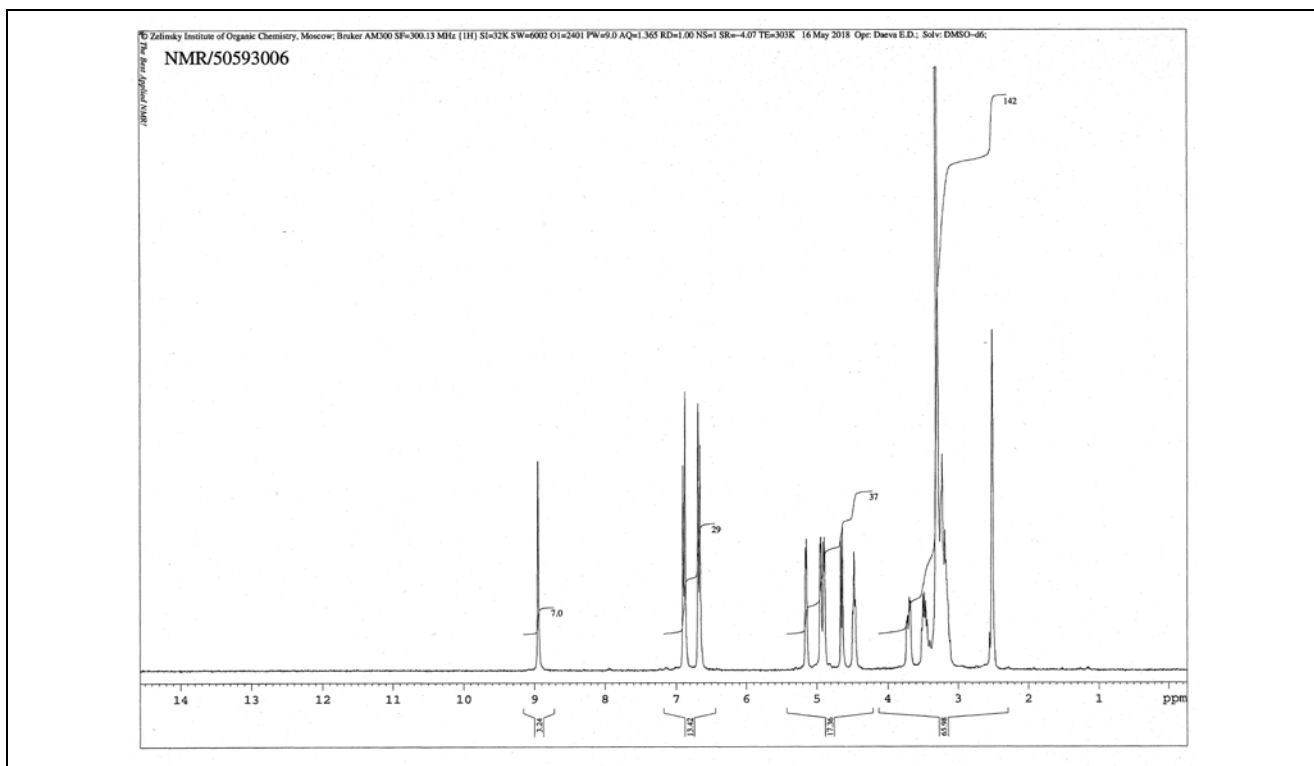


Рис. 2. <sup>1</sup>H-ЯМР-спектр α-арбутина (1) в DMSO-d<sub>6</sub>

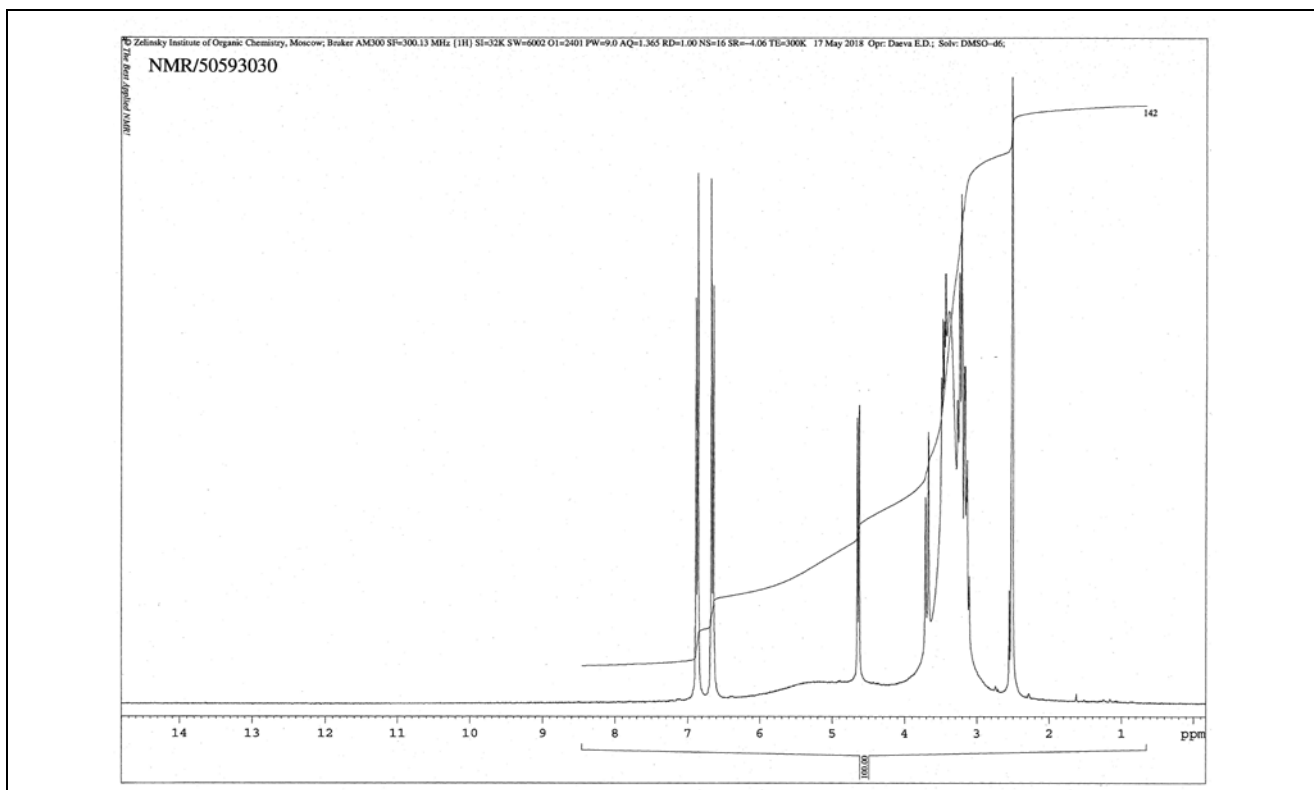


Рис. 3. <sup>1</sup>H-ЯМР-спектр β-арбутина (2) в DMSO-d<sub>6</sub>

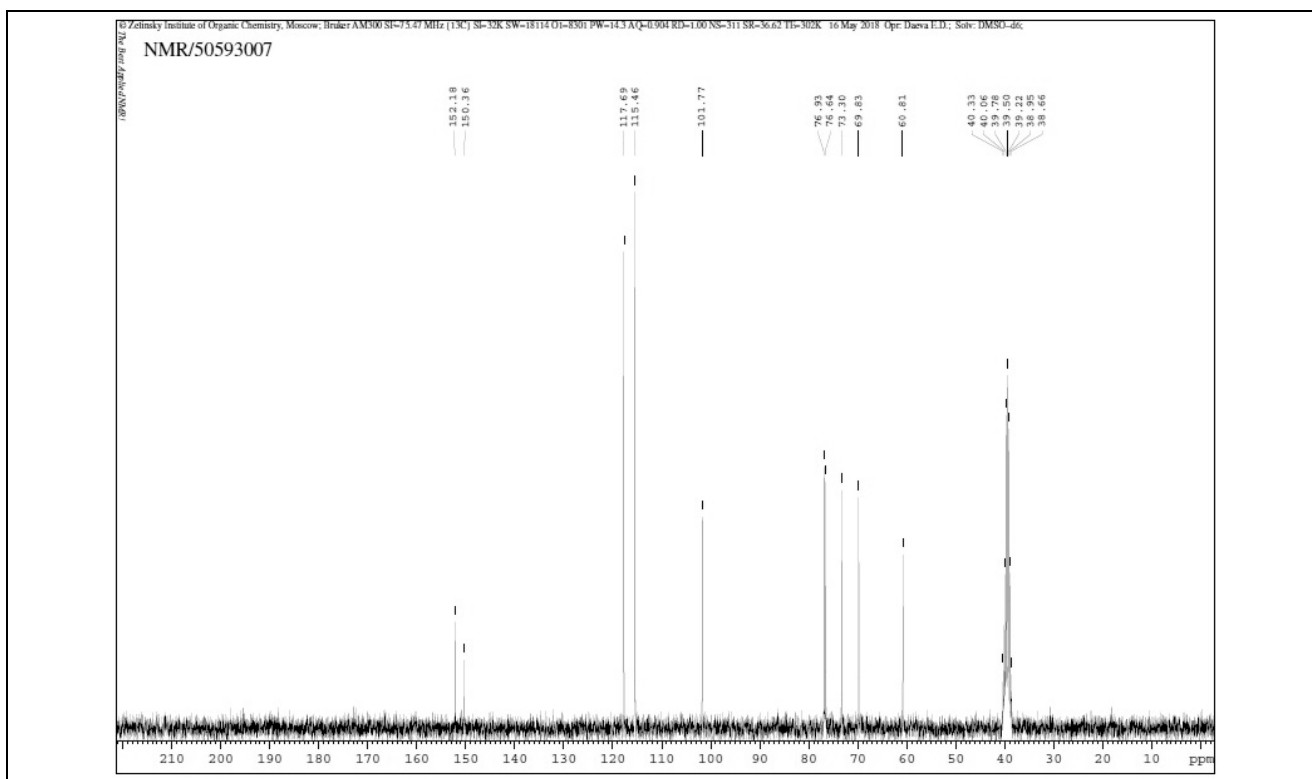


Рис. 4.  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектр  $\alpha$ -арбутина (1) в DMSO- $d_6$

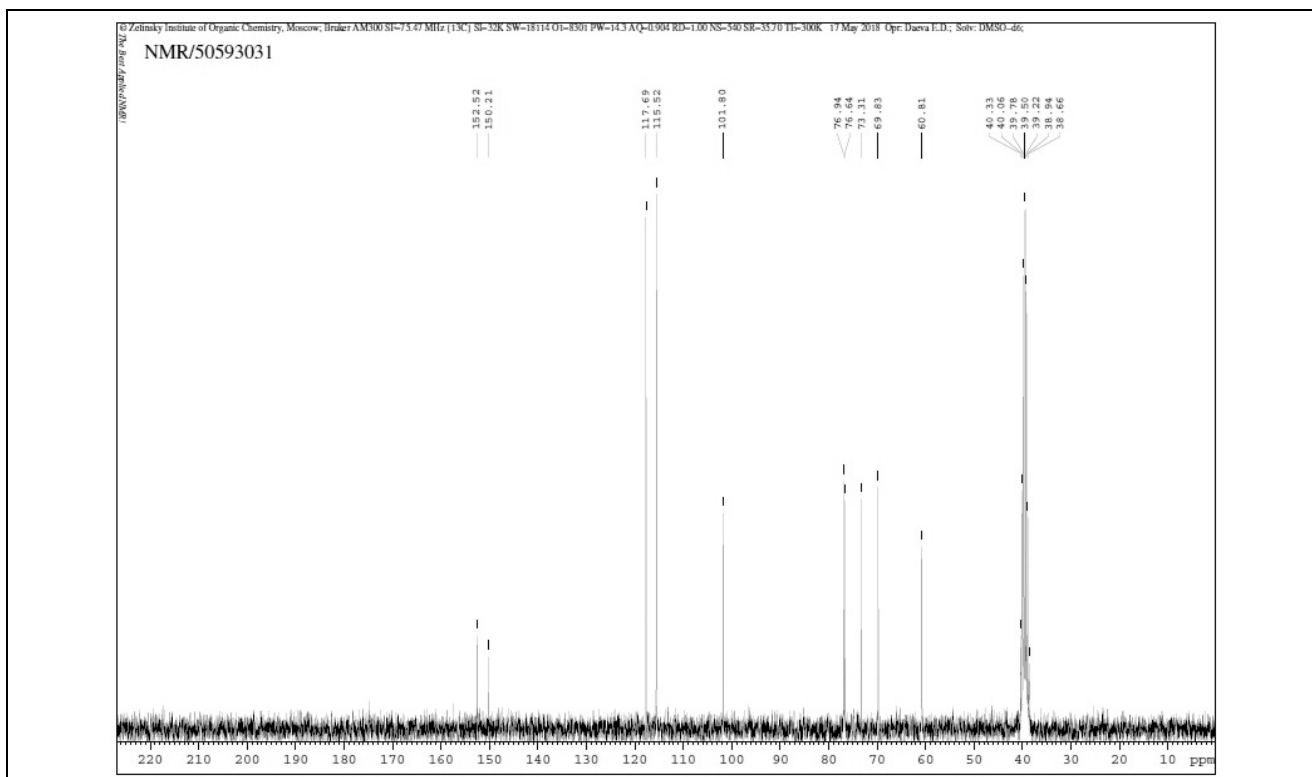


Рис. 5.  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектр  $\beta$ -арбутина (2) в DMSO- $d_6$

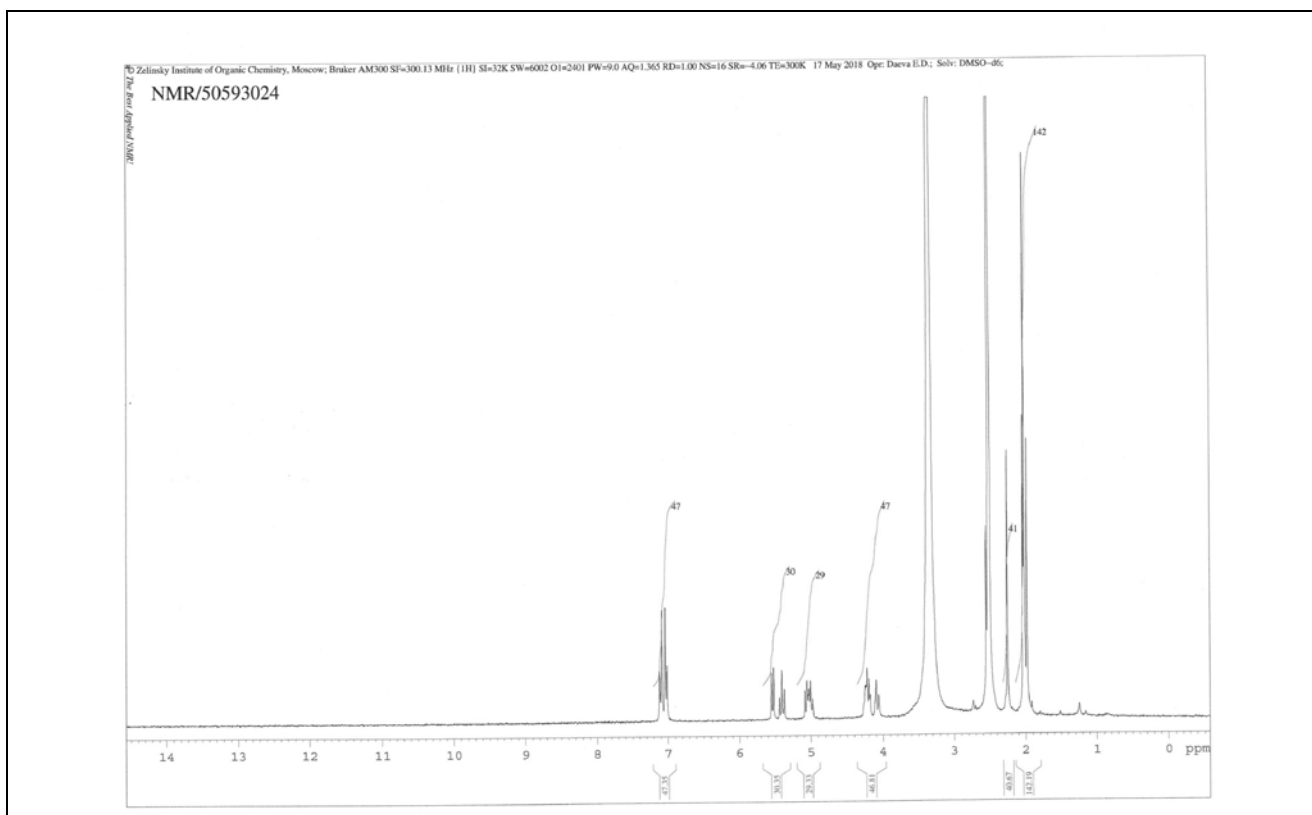


Рис. 6.  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр пентаацетата  $\alpha$ -арбутина (**1a**) в DMSO- $d_6$

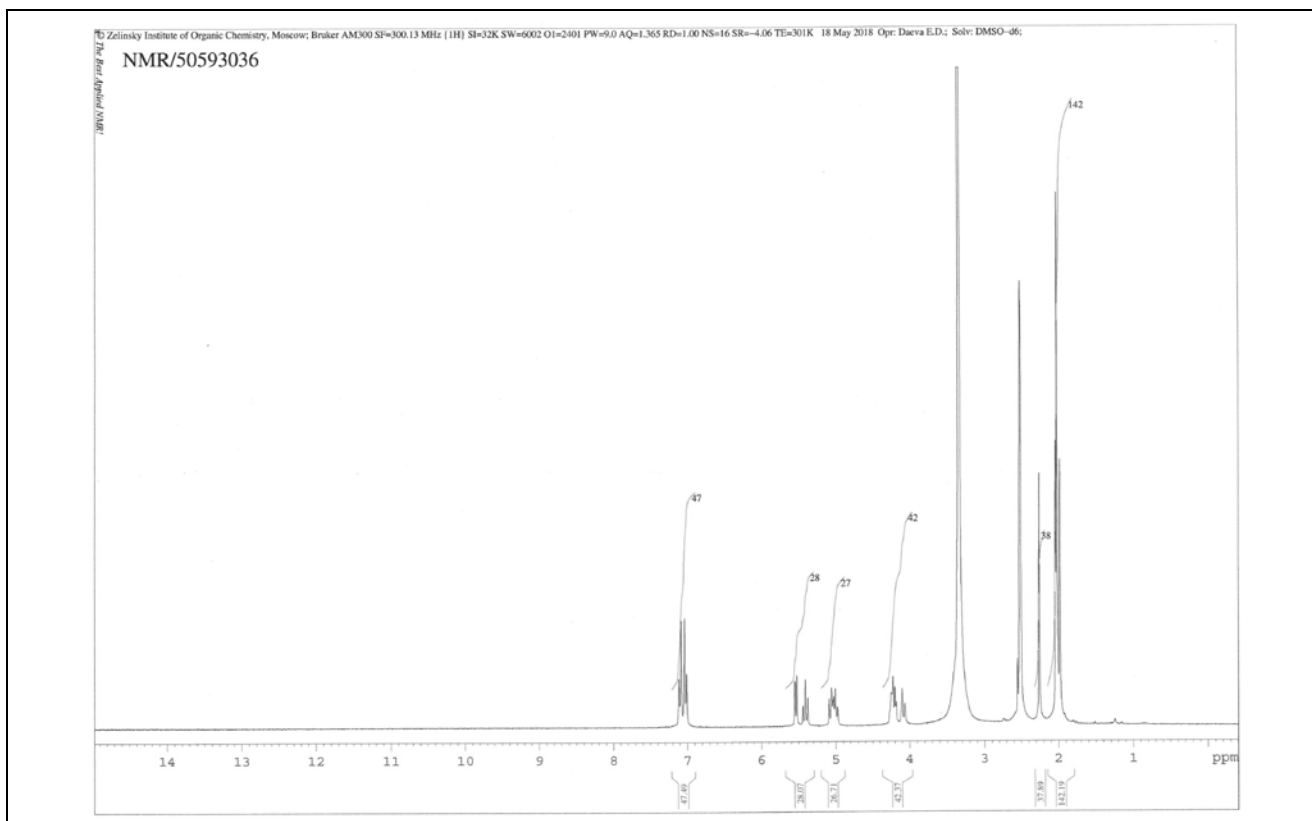


Рис. 7.  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр пентаацетата  $\beta$ -арбутина (**2a**) в DMSO- $d_6$

В <sup>1</sup>H-ЯМР-спектре пентаацетата соединения **2** (**2a**) два двухпротонных дублетных сигнала с КССВ 9 Гц, принадлежащих протонам при С-2, С-6 и С-3, С-5 также обнаруживаются при 7.12 м.д. и 7.02 м.д. соответственно (рис. 7). Совпадения в <sup>1</sup>H-ЯМР-спектрах пентаацетатов **1a** и **2a** наблюдаются также и для величин химических сигналов ацетоксигрупп, причем как фенольной (трехпротонные синглетные сигналы при 2.26 и 2.25 м.д.), так и четырех алифатических ацетоксигрупп при 2.01 (с, 3H), 1.99 (с, 6H), 1.93 (с, 3H) м.д. в пентаацетате **1a** (рис. 6) и при 2.01 (с, 3H), 1.99 (с, 6H), 1.92 м.д. в пентаацетате **2a** (рис. 7). Сопоставимые значения химических сдвигов наблюдаются также в <sup>13</sup>C-ЯМР-спектрах пентаацетатов **1a** и **2a** для пяти СН<sub>3</sub> ацетоксигрупп и пяти С=О ацетоксигрупп.

Принципиальных различий не обнаружено также в данных УФ- и масс-спектров. Следовательно, для идентификации α-арбутина и арбутина принципиальное значение имеют данные <sup>1</sup>H-ЯМР-спектроскопии. Данное обстоятельство необходимо учитывать при проведении аналитических исследований с использованием стандартного образца арбутина, а также при изучении фармакологических свойств арбутина.

## Выводы

1. Из листьев толокнянки обыкновенной наряду с арбутином (1-О-β-D-глюкопиранозид гидрохинона) впервые выделен α-арбутин (1-О-α-D-глюкопиранозид гидрохинона).
2. Для идентификации α-арбутина и β-арбутина принципиальное значение имеют данные <sup>1</sup>H-ЯМР-спектроскопии. Принципиальным различием в <sup>1</sup>H-ЯМР-спектрах α-арбутина и β-арбутина являются значения констант спин-спинового взаимодействия и величина химического сдвига аномального протона глюкозы (С-1<sup>1</sup>). Кроме того, в <sup>1</sup>H-ЯМР-спектре α-арбутина наблюдается однопротонный синглетный сигнал фенольной ОН-группы при 9.02 м.д., тогда как в <sup>1</sup>H-ЯМР-спектре арбутина этот сигнал не обнаружен.
3. На наш взгляд, данные <sup>1</sup>H-ЯМР-спектроскопии имеют важнейшее значение для определения подлинности β-арбутина, используемого в качестве стандартного образца для целей стандартизации ЛРС.

## Литература

1. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье, МЗ СССР. 11-е изд., доп. М.: Медицина. 1990.

2. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Т. 4. М. 2018 / <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>.
3. Куркин В.А. Фармакогнозия. Изд. 3-е, перераб. и доп. Самара: ООО «Офорт»; ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. 2016. 1279 с.
4. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства *Paeoniaceae* - *Thymelaeaceae*, Л.: Наука. 1985. 336 с.
5. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 2. Семейства *Actinidiaceae* – *Malvaceae*, *Euphorbiaceae* – *Haloragaceae* / Под ред. А.Л. Буданцева. СПб; М.: Товарищество научных изданий КМК. 2009. С. 24–26.
6. Федосеева Л.М., Малолеткина Т.С. Выделение некоторых фенольных соединений и идентификация арбутина из листьев бадана // Химия растительного сырья. 1999. № 2. С. 109–111.
7. Волобой Н.Л., Бутакова Л.Ю., Смирнов И.В. Изучение антимикробного действия арбутина и гидрохинона в отношении некоторых представителей граммотрицательной флоры // Химия растительного сырья. 2013. № 1. С. 179–182.
8. Волобой Н.Л., Смирнов И.В., Бондарев А.А. Особенности мочегонной активности арбутина и гидрохинона // Сибирский медицинский журнал. 2012. Т. 27. № 3. С. 131–134.
9. Gousiadou C., Li H-Q., Gotfredsen C.H., Jensen S.R. Iridoids in *Hydrangeaceae* // *Biochemical Systematics and Ecology*. 2016. № 64. P. 122–130.
10. Chauhan R., Rubyk K., Dwivedi J. Secondary metabolites found in *Bergenia* species: a compendious review // *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2013. V. 5. № 1. P. 9–16.
11. Sohretoglu D., Sakar M.K., Sabuncuoğlu S.A., Ozgunes H., Sterner O. Polyphenolic constituents and antioxidant potential of *Geranium stepporum* Davis // *Rec. Nat. Prod.* 2011. V. 5. № 1. P. 22–28.
12. Могиленко Т.Г., Денисенко О.Н., Галаятудинов И.В. Методика получения арбутина из надземной части серпухи пятилистной (*Serrulata quinquefolia* Bild. ex Will), интродуцированной на Северном Кавказе // Журнал научных статей «Здоровье и образование в XX веке». 2016. Т. 18. № 8. С. 116–119.
13. Куркин В.А., Рязанова Т.К., Платонов И.А., Павлова Л.В. Количественное определение арбутина в листьях толокнянки обыкновенной // Химия растительного сырья. 2015. № 1. С. 95–100.
14. Куркин В.А., Рязанова Т.К., Платонов И.А., Павлова Л.В. Определение арбутина в листьях брусники обыкновенной // Химико-фармацевтический журнал. 2017. Т. 51. № 4. С. 34–37.
15. Моисеев Д.В. Кинетики реакции деструкции арбутина в листьях брусники обыкновенной при хранении в естественных и стрессовых условиях // Краткий научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2013. № 2. С. 106–111.
16. Árok R., Végh K., Alberti Á., Kéry Á. Phytochemical comparison and analysis of *Bergenia crassifolia* L. (Fritsch.) and *Bergenia cordifolia* Sternb // *Eur. Chem. Bull.* 2012. V. 1. № 1–2. P. 31–34.
17. Rychlinsk I., Nowak S. Quantitative Determination of Arbutin and Hydroquinone in Different Plant Materials by HPLC // *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj*. 2012. V. 40. № 2. P. 109–113.
18. Panusa A., Petrucci R., Marrosu G., Mulhari G., Gallo F.R. UHPLC-PDA-ESI-TOF/MS metabolic profiling of *Arctostaphylos pungens* and *Arctostaphylos uva-ursi*. A comparative study of phenolic compounds from leaf methanolic extracts // *Phytochemistry*. 2015. V. 115. № 1. P. 79–88.

19. Ceganec I., Litvič M. Simple and efficient synthesis of arbutin // ARKIVOC. 2008 (ii). P. 19–24.
20. Kwiecień I., Szopa A., Madej K., Ekiert H. Arbutin production via biotransformation of hydroquinone in *in vitro* cultures of *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott // Acta Bionorica Polonica. 2013. V. 60. № 4. P. 865–870.
21. Bulduk I., Şahin M.D., Şanlı S. Arbutin analysis in leaves, fruit and branches of *Pyrus anatolica*, method optimization // Eurasian Journal of Analytical Chemistry. 2016. V. 1. № 5. P. 233–244.
22. Choi Y.H., Sertic S., Kim H.K., Wilson E.G., Michopoulos F., Lefeber A.W.M., Erkelens C., Kricun S.D.P., Verpoorte R. Classification of Ilex Species Based on Metabolomic Fingerprinting Using Nuclear Magnetic Resonance and Multivariate Data Analysis // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2005. № 53. P. 1237–1245.
23. Pop C., Vlase L., Tamas M. Natural resources containing arbutin. Determination of arbutin in the leaves of *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch. acclimated in Romania // Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj. 2009. V. 37. № 1. P. 129–132.
24. Huang S.-L., Zhu Yu-L., Pan Yu.-J., Wu S.-H. Synthesis of arbutin by two-step reaction from glucose // J. Zhejiang Univ. Sci. 2004. V. 5. № 12. P. 1509–1511.
25. Suau R., Cuevas A., Alpuesta V., Reid M.S. Arbutin and sucrose in the leaves of the resurrection plant *Myrothamnus flabellifolia* // Phytochemistry. 1991. V. 30. № 8. P. 2555–2556.
26. Das N.M., Mohan R., Parthipan B.P. Isolation, purification and characterization of arbutin from *Cleidion nitidum* (Muell. – Arg.) Thw. ex Kurz. (Euphorbiaceae) // International Journal of Science and Research. 2016. V. 5. № 1. P. 1549–1554.
27. Sugimoto K., Nishimura T., Nomura K., Sugimoto K., Kuriki T. Syntheses of arbutin- $\alpha$ -glycosides and a comparison of their inhibitory effects with those of  $\alpha$ -arbutin and arbutin on human tyrosinase // Chem. Pharm. Bull. 2003. V. 51. № 7. P. 798–801.
28. Erenler R., Sen O., Aksit H., Demirtas I., Yaglioglu A.S., Elmastasa M., Telciç İ. Isolation and identification of chemical constituents from *Origanum majorana* and investigation of antiproliferative and antioxidant activities // J. Sci Food Agric., wileyonlinelibrary.com. DOI 10.1002/jsfa.7155. 2015.

Поступила 21 мая 2019 г.

## COMPARATIVE STUDY OF THE SPECTRAL CHARACTERISTICS OF $\alpha$ -ARBUTIN AND $\beta$ -ARBUTIN

© Authors, 2019

**V.A. Kurkin**

Dr.Sc. (Pharm.), Professor, Head of Department of Pharmacognosy with Botany and Basis of Phytotherapy, Samara State Medical University

**T.K. Ryazanova**

Ph.D. (Pharm.), Associate Professor, Department of Economics of Pharmacy, Samara State Medical University

**A.V. Kurkina**

Dr.Sc. (Pharm.), Associate Professor, Department of Pharmacognosy with Botany and Basis of Phytotherapy, Samara State Medical University

**S.V. Pervushkin**

Dr.Sc. (Pharm.), Professor, Head of Department of Pharmaceutical Technology, Samara State Medical University

**I.K. Petrukhina**

Dr.Sc. (Pharm.), Professor, Head of Department of Economics of Pharmacy, Samara State Medical University

**A.I. Agapov**

Dr.Sc. (Biol.), Professor, Head of Department of Pharmaceutical Technology, Samara State Medical University

The aim of this work is comparative study of the features of the spectral characteristics of  $\alpha$ -arbutin and  $\beta$ -arbutin, isolated from the leaves of the bearberry [*Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng.]

Arbutin is the main biologically active compound of the leaves of the bearberry [*Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., the family Ericaceae], common cowberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.), as well as in several other plants, causing the diuretic and anti-inflammatory properties of pharmaceuticals on the basis of the above raw materials. Arbutin is widely used in pharmaceutical analysis of the leaves of *Arctostaphylos uva-ursi* and *Vaccinium vitis-idaea*, as well as drugs based on this raw material as a standard substance. From the *Arctostaphylos uva-ursi* leaves there were isolated and characterized  $\alpha$ -arbutin (1-O- $\alpha$ -D-glucopyranoside of hydroquinone) and arbutin (1-O- $\beta$ -D-glucopyranoside of hydroquinone) using the  $^1\text{H-NMR}$ -,  $^{13}\text{C-NMR}$ -, UV-spectroscopy and mass spectrometry.

In the comparative plan the features of the spectral characteristics of  $\alpha$ -arbutin and  $\beta$ -arbutin, and also their pentaacetates received as a result of acetylation by acetic anhydride in the presence of pyridine were studied. It was determined that for the identification of  $\alpha$ -arbutin and  $\beta$ -arbutin the data of  $^1\text{H-NMR}$ -spectroscopy are of fundamental importance. The principal difference in the  $^1\text{H-NMR}$  spectra of  $\alpha$ -arbutin and  $\beta$ -arbutin are the values of the coupling constant and the value of the chemical shift of the anomeric proton of glucose (C-1'). In addition, in the  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of  $\alpha$ -arbutin there has the singlet signal of the proton of the phenolic OH-group at 9.02 ppm, whereas in the  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of  $\beta$ -arbutin this signal is absent.

Consequently, one of the most important characteristics in terms of assessing the authenticity and purity of arbutin as a standard sample are the results of  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy.

**Key words:** *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., leaves,  $\alpha$ -arbutin,  $\beta$ -arbutin, arbutin, pentaacetate of arbutin, NMR spectroscopy.



**For citation:** Kurkin V.A., Ryazanova T.K., Kurkina A.V., Pervushkin S.V., Petrukhnina I.K., Agapov A.I. Comparative study of the spectral characteristics of  $\alpha$ -arbutin and  $\beta$ -arbutin. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2019;22(10):10–18. <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-10-02>

## REFERENCES

- Gosudarstvennaya farmakopeya SSSR: Vyp. 2. Obshchie metody analiza. Lekarstvennoe rastitel'noe syr'e, MZ SSSR. 11-e izd., dop. M.: Medicina. 1990.
- Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii. XIV izdanie. T. 4. M. 2018 / <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>.
- Kurkin V.A. Farmakognosiya. Izd. 3-e, pererab. i dop. Samara: OOO «Ofort»; FGBOU VO SamGMU Minzdrava Rossii. 2016. 1279 s.
- Rastitel'nye resursy SSSR. Cvetkovye rasteniya, ih himicheskij sostav, ispol'zovanie. Semejstva Paeoniaceae - Thymelaeaceae, L.: Nauka. 1985. 336 s.
- Rastitel'nye resursy Rossii: Dikorastushchie cvetkovye rasteniya, ih komponentnyj sostav i biologicheskaya aktivnost'. T. 2. Semejstva Actinidiaceae – Malvaceae, Eu-phor-biaceae – Haloragaceae / Pod red. A.L. Budanceva. SPb; M.: Tovarishchestvo nauchnyh izdanij KMK. 2009. S. 24–26.
- Fedoseeva L.M., Maloletkina T.S. Vydelenie nekotoryh fenol'nyh soedinenij i identifikaciya arbutina iz list'ev badana // Himiya rastitel'nogo syr'ya. 1999. № 2. S. 109–111.
- Voloboj N.L., Butakova L.Yu., Smirnov I.V. Izuchenie antimikrobnogo dejstviya arbutina i gidrohinona v otnoshenii nekotoryh predstavitelej gramotricatel'noj flory // Himiya rastitel'nogo syr'ya. 2013. № 1. S. 179–182.
- Voloboj N.L., Smirnov I.V., Bondarev A.A. Osobennosti mochegonnoj aktivnosti arbutina i gidrohinona // Sibirskij medicinskij zhurnal. 2012. T. 27. № 3. S. 131–134.
- Gousiadou C., Li H-Q., Gotfredsen C.H., Jensen S.R. Iridoids in Hydrangeaceae // Biochemical Systematics and Ecology. 2016. № 64. P. 122–130.
- Chauhan R., Rubyk K., Dwivedi J. Secondary metabolites found in *Bergenia* species: a compendious review // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2013. V. 5. № 1. P. 9–16.
- Sohretoglu D., Sakar M.K., Sabuncuoglu S.A., Ozgunes H., Sterner O. Polyphenolic constituents and antioxidant potential of *Geranium stepporum* Davis // Rec. Nat. Prod. 2011. V. 5. № 1. P. 22–28.
- Mogilenko T.G., Denisenko O.N., Galyautdinov I.V. Metodika polucheniya arbutina iz nadzemnoj chasti serpuhi pyatilistnoj (*Serrulata quinquefolia* Bild. ex Will), introducirovannoj na Severnom Kavkaze // Zhurnal nauchnyh statej «Zdorov'e i obrazovanie v HKH veke». 2016. T. 18. № 8. S. 116–119.
- Kurkin V.A., Ryazanova T.K., Platonov I.A., Pavlova L.V. Kolichestvennoe opredelenie arbutina v list'yah toloknyanki obyknovnoj // Himiya rastitel'nogo syr'ya. 2015. № 1. S. 95–100.
- Kurkin V.A., Ryazanova T.K., Platonov I.A., Pavlova L.V. Opredelenie arbutina v list'yah brusniki obyknovnoj // Himiko-farmaceuticheskij zhurnal. 2017. T. 51. № 4. S. 34–37.
- Moiseev D.V. Kinetiki reakcii destrukcii arbutina v list'yah brusniki obyknovnoj pri hranenii v estestvennyh i stressovyh usloviyah // Kratkij nauchno-prakticheskij vestnik «Chelovek i ego zdorov'e». 2013. № 2. S. 106–111.
- Árok R., Végh K., Alberti Á., Kéry Á. Phytochemical comparison and analysis of *Bergenia crassifolia* L. (Fritsch.) and *Bergenia cordifolia* Sternb // Eur. Chem. Bull. 2012. V. 1. № 1–2. P. 31–34.
- Rychlinsk I., Nowak S. Quantitative Determination of Arbutin and Hydroquinone in Different Plant Materials by HPLC // Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj. 2012. V. 40. № 2. P. 109–113.
- Panusa A., Petrucci R., Marrosu G., Multari G., Gallo F.R. UHPLC-PDA-ESI-TOF/MS metabolic profiling of *Arctostaphylos pungens* and *Arctostaphylos uva-ursi*. A comparative study of phenolic compounds from leaf methanolic extracts // Phytochemistry. 2015. V. 115. № 1. P. 79–88.
- Cepanec I., Litvić M. Simple and efficient synthesis of arbutin // ARKIVOC. 2008 (ii). P. 19–24.
- Kwiecień I., Szopa A., Madej K. Ekiert H. Arbutin production via biotransformation of hydroquinone in vitro cultures of *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott // Acta Bionica Polonica. 2013. V. 60. № 4. P. 865–870.
- Bulduk I., Şahin M.D., Şanlı S. Arbutin analysis in leaves, fruit and branches of *Pyrus anatolica*, method optimization // Eurasian Journal of Analytical Chemistry. 2016. V. 1. № 5. P. 233–244.
- Choi Y.H., Sertic S., Kim H.K., Wilson E.G., Michopoulos F., Lefeber A.W.M., Erkelens C., Kricun S.D.P., Verpoorte R. Classification of *Ilex* Species Based on Metabolomic Fingerprinting Using Nuclear Magnetic Resonance and Multivariate Data Analysis // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2005. № 53. P. 1237–1245.
- Pop C., Vlase L., Tamas M. Natural resources containing arbutin. Determination of arbutin in the leaves of *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch. acclimated in Romania // Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj. 2009. V. 37. № 1. P. 129–132.
- Huang S.-L., Zhu Yu.-L., Pan Yu.-J., Wu S.-H. Synthesis of arbutin by two-step reaction from glucose // J. Zhejiang Univ. Sci. 2004. V. 5. № 12. P. 1509–1511.
- Suau R., Cuevas A., Alpuesta V., Reid M.S. Arbutin and sucrose in the leaves of the resurrection plant *Myrothamnus flabellifolia* // Phytochemistry. 1991. V. 30. № 8. P. 2555–2556.
- Das N.M., Mohan R., Parthipan B.P. Isolation, purification and characterization of arbutin from *Cleidion nitidum* (Muell. – Arg.) Thw. ex Kurz. (Euphorbiaceae) // International Journal of Science and Research. 2016. V. 5. № 1. P. 1549–1554.
- Sugimoto K., Nishimura T., Nomura K., Sugimoto K., Kuriki T. Syntheses of arbutin- $\alpha$ -glycosides and a comparison of their inhibitory effects with those of  $\alpha$ -arbutin and arbutin on human tyrosinase // Chem. Pharm. Bull. 2003. V. 51. № 7. P. 798–801.
- Erenler R., Sen O., Aksit H., Demirtas I., Yaglioglu A.S., Elmastasa M., Telcic I. Isolation and identification of chemical constituents from *Origanum majorana* and investigation of antiproliferative and antioxidant activities // J. Sci Food Agric., wileyonlinelibrary.com. DOI 10.1002/jsfa.7155. 2015.