

І. Ф. Дуюн

Спектрофотометричне дослідження поліфенольних сполук у траві *Achillea collina* J. Becker et Reichenb.

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет

Ключові слова: деревій пагорбовий (*Achillea collina* J. Becker et Reichenb.), спектрофотометрія, поліфенольні сполуки, антиоксиданти

Важливим завданням сучасної фармакології та фармації є розробка та створення ефективних і малотоксичних лікарських засобів. Незважаючи на сучасну тенденцію розвитку органічної хімії та щорічну появу нових синтетичних речовин, актуальним є пошук лікарської рослинної сировини, що має низьку токсичність і завдяки високим показникам біологічної активності може стати основою для створення оригінальних лікарських засобів. Представники роду *Achillea* L. родини айстрові (*Asteraceae*) здавна використовують у народній та офіційній медицині як гемостатичні, ранозагоювальні та протизапальні засоби [1].

Рослини мають широкий ареал розповсюдження та відрізняються від офіціального виду *Achillea millefolium* не тільки терміном вегетації, а також хімічним складом біологічно-активних речовин (БАР) [2, 3].

Перспективним представником роду *Achillea* L. флори України є деревій пагорбовий *Achillea collina* J. Becker et Reichenb., який має достатню сировинну базу на теренах України та може успішно культивуватися в спеціалізованих господарствах [2].

Траві *Achillea collina* J. Becker et Reichenb. протягом вегетаційного періоду з червня по жовтень прита-

манне накопичення значної кількості БАР, особливу увагу серед яких повертають поліфенольні сполуки [4–7].

Відомо, що поліфенольні сполуки характеризуються наявністю антиоксидантної активності [8]. Радіація, УФ-опромінення, нездоровий спосіб життя, стреси та неякісне харчування призводять до збільшення концентрації вільних радикалів. Посилення вільнорадикального окиснення в організмі спостерігається при багатьох захворюваннях: ішемічній хворобі серця, атеросклерозі, злоякісних новоутвореннях, цукровому діабеті, ретинопатії, хворобі Альцгеймера та різноманітних неврологічних патологіях [9, 10]. За активації оксидативного стресу накопичуються вільні радикали, що спричиняє значні зміни в обмінних процесах клітини та порушення структурно-функціональної організації клітинних мембран і білкових структур [10]. Для гальмування реакцій оксидативно-нітрозативного стресу застосовують біофлаваноїди – катехіни, лейкоантоціанідини, халкони, флавоноли, які проявляють властивості скаведжерів активних форм кисню та оксиду азоту (NO), інгібують ліпопероксидацію фосфоліпідів мембран клітин органів-мішеней, підвищують експресію глутатіонпероксидази, гальмують синтез прозапальних факторів та апоптоз, що зумовлені вільними радикалами [11, 12].

Результати попередніх досліджень свідчать про перспективність і доцільність поглибленого експериментального

вивчення поліфенольних сполук пер-спективного виду *Achillea collina* J. Becker et Reichenb. [13, 14].

Мета дослідження – вивчити вміст біологічно активних поліфенольних сполук у траві *Achillea collina* J. Becker et Reichenb. і встановити можливість розроблення на її основі нових лікарських засобів.

Матеріали та методи. Рослинну сировину – траву пагонів довжиною 10–15 см, суцвіття та листя було заготовлено в Запорізькій області упродовж фенологічної фази (червень–жовтень 2017–2018 рр.). Сушіння проводили за кімнатної температури в добре провітрюваному приміщенні. Ідентифікацію компонентів поліфенольних сполук проводили хроматографуванням етилацетатних витягів з листя, суцвіть і трави досліджуваного виду методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) (2.2.27) ДФУ [15]. Для проведення дослідження використали ТШХ-пластинку «Merk silicagel F₂₅₄» з шаром силікагелю. Рухома фаза: н-бутанол – оцтова кислота льодяна – вода (4:1:2), етилацетат – кислота оцтова – кислота мурашина – вода (100:11:11:25). Об'єм проби 20 мкл наносили смугами. Відстань, що пройшла рухома фаза, становить 15 см від лінії старту. Висушували хроматограми за температури 100–105 °С. Для виявлення досліджуваних БАР хроматограми обризували розчином 10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти в метанолі; потім – розчином 50 г/л макроголу 400 у метанолі, сушили на повітрі протягом 30 хв і переглядали в УФ-світлі. Хроматографування екстрактів проводили порівняно з достовірними зразками рутину, кверцетину, апігеніну, лютеоліну.

Визначення кількісного вмісту суми поліфенольних сполук у траві досліджуваного виду проводили мето-

дом диференціальної спектроскопії при одночасному гідролізі глікозидів флавоноїдів й їхньої екстракції 50 % етанолом, оскільки сировина містить значну кількість флавоноїдів саме в формі глікозидів. Визначення проводили за наступною методикою [16]: 1,0 г (точна наважка) подрібненої сировини вміщували в колбу зі шліфом об'ємом 100 мл, додавали 30 мл 50 % етанолу, який містить 1 мл 1 % розчину кислоти хлористоводневої концентрованої, і нагрівали на киплячій водяній бані протягом 30 хв, охолоджували, фільтрували в мірну колбу місткістю 100 мл. Екстракцію повторювали тричі вказаним вище методом. Об'єднані витяги доводили до позначки 50 % етанолом (розчин А). У мірну колбу місткістю 25 мл переносили 2 мл розчину А, 1 мл 1 % розчину алюмінію хлориду в 95 % етанолі та доводили об'єм 95 % етанолом до мітки. Через 40 хв вимірювали оптичну густину розчину на спектрофотометрі «Specord-200 UV/Vis Lambda 365 (Analytic Jena)» за довжин хвиль $\lambda = 390\text{--}490$ нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Для приготування розчину порівняння використали 2 мл розчину А, доведеного 95 % етанолом до позначки 25 мл. Вміст суми поліфенольних сполук у перерахунку на лютеолін і абсолютно суху сировину у відсотках (X) обчислювали за формулою:

$$x = \frac{A \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100}{A_{1\%}^{1\text{ см}} \cdot m \cdot 2 (100 - w)},$$

де А – оптична густина досліджуваного розчину;

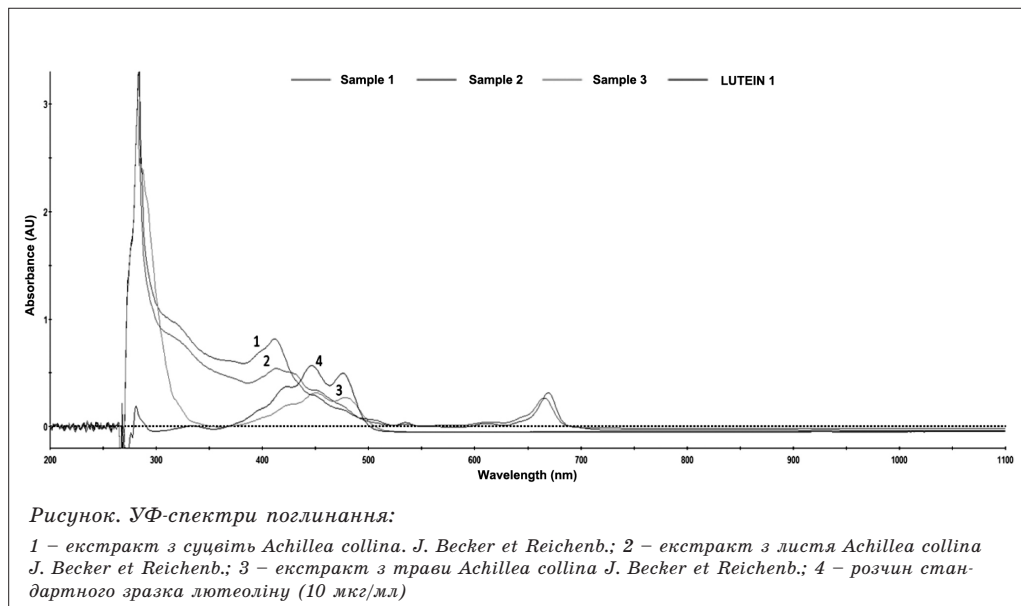
$A_{1\%}^{1\text{ см}}$ – питомий показник погли-

нання комплексу лютеоліну з алюмінію хлоридом у 95 % етанолі за довжини хвилі 400 нм, який дорівнює 549,41; m – маса сировини, г; w – втрата маси при висушуванні сировини, %.

Як розчин порівняння використовували 96 % етиловий спирт. Враховуючи, що попередні дослідження методом ВЕРХ визначили переважаючий компонент лютеолін [17], як стандартний розчин використовували саме розчин лютеоліну («LGC Standards», Англія). Визначали оптичну густину робочого стандартного зразка лютеоліну в ідентичних умовах. Окремо проводили вивчення етанольних екстрактів суцвіть, листя та трави. Результати дослідження розраховували зі застосуванням стандартного статистичного пакета ліцензійної програми STATISTICA® for Windows 6.0 (StatSoftInc., № AXXR712D833214FAN5), а також SPSS 16.0, Microsoft Office Excell 2003.

Результати та їх обговорення. Методом ТШХ у досліджувальному об'єкті було ідентифіковано речовини, що належать до поліфенольних сполук. Плями на хроматограмах були жовтого та жовтувато-коричневого кольору, їхні значення R_f співпадали зі значеннями R_f стандартів зразків поліфенольних сполук. Для ідентифікації сполук проводили також диференціальну спектроскопію етанольних екстрактів з дослі-

джуваної рослинної сировини. Для порівняння використовували стандартний зразок лютеоліну (10 мкг/мл) та спостерігали ідентичність максимумів поглинання сполук (λ_{max} , nm) при 390–410 та 460–490 нм. Характер отриманих максимумів поглинання УФ-спектрів екстрактів підтверджує присутність лютеоліну (рисунок). Одержані дані щодо кількісного вмісту суми поліфенольних сполук *Achillea collina* J. Becker et Reichenb. наведено в таблиці. Встановлено, що кількісний вміст поліфенольних сполук був у межах 0,035–2,66 мг %. Найбільший вміст поліфенольних сполук спостерігали в екстракті, який містить траву деревію пагорбового (2,66 мг % \pm 0,24 мг %), найменший вміст – у екстрактах з листя (0,035 мг % \pm 0,020 мг %) досліджуваного об'єкта. Дослідження показали, що для максимального виходу БАР з сировини раціонально здійснювати екстракцію з трави досліджуваного об'єкта. За результатами проведеного дослідження рослинна сировина деревію пагорбового флори України може бути потенційною складовою нових фітопрепаратів.



Кількісний вміст суми поліфенольних сполук у екстрактах
Achillea collina J. Becker et Reichenb. ($x \pm \Delta x, \mu = 5$)

Об'єкт дослідження	Серія сировини	Сума поліфенольних сполук, мг %
Суцвіття	1	0,710 ± 0,070
	2	0,650 ± 0,070
	3	0,886 ± 0,090
	4	0,768 ± 0,080
	5	0,650 ± 0,070
Листя	1	0,577 ± 0,060
	2	1,005 ± 0,090
	3	0,060 ± 0,030
	4	0,532 ± 0,050
	5	0,035 ± 0,020
Трава	1	2,66 ± 0,24
	2	2,62 ± 0,24
	3	2,19 ± 0,21
	4	2,012 ± 0,230
	5	1,770 ± 0,115

Висновки

1. Методом ТПХ встановлено наявність поліфенольних сполук в екстракті трави *Achillea collina* J. Becker et Reichenb.
2. Спектрофотометричним методом визначений кількісний вміст суми поліфенольних сполук в досліджуваних екстрактах трави *Achillea collina* J. Becker et Reichenb., який був у межах 0,035–2,66 мг %.
3. Результати досліджень дозволяють зробити висновок, що раціонально

здійснювати екстракцію з трави *Achillea collina* J. Becker et Reichenb., де накопичується максимальна концентрація суми поліфенольних сполук (до 2,66 мг % ± 0,24 мг %).

4. *Achillea collina* J. Becker et Reichenb. можна вважати перспективною рослиною завдяки вмісту біологічно активних поліфенольних сполук і використовувати для розроблення складу нових фітопрепаратів комплексної дії.

1. Дослідження фенольних сполук трави деревію звичайного. О. А. Кисличенко, О. М. Кошовий, А. М. Комісаренко, Т. П. Осолодченко. *Мед. хімія*. 2011. Т. 3 (4). С. 129–132.
2. Определитель высших растений Украины. Д. Н. Доброчаева, М. И. Котов, Ю. Н. Прокудин и др.; под ред. Ю. Н. Прокудина. Киев : Наук. думка, 1987. 548 с.
3. Вміст летких речовин у водно-етанольних екстрактах *Achillea collina millefolium* L. та *Achillea collina* J. Becker ex Rchb. Г. В. Корнільєв, А. Є. Палій, В. Д. Работягов, Б. О. Виноградов. *Біологічні студії. Studia Biologica*. 2011. Т. 5 (3). С. 103–108.
4. Сербін А. Г., Сіра Л. М., Слободянюк Т. О. Фармацевтична ботаніка: підручник. Вінниця : Нова книга, 2015. 488 с.
5. Comparative investigation of *Achillea collina* Becker accessions concerning phenological, morphological, production features and active agent content. S. Kindlovits, B. Cserhati, K. Inotal et al. 6th International Symposium Breeding Research on Medicinal and Aromatic Plants, BREEDMAP 6, Quedlinburg, Germany, June 19–23. 2016. P. 76–78.
6. A review on phytochemistry and medicinal properties of the genus *Achillea*. S. Saeidnia, A. Gohari, N. Mokhber-Dezfuli, F. Kiuchi. *Daru : Journal of Faculty of Pharmacy*. 2011. V. 19 (3). P. 173–186.
7. Comparative studies on phenolic composition, antioxidant, wound healing and cytotoxic activities of selected *Achillea* L. species growing in Turkey. O. T. Agar, M. Dikmen, N. Ozturk et al. *Molecules*. 2015. V. 20 (10). P. 7976–8000.

8. Jokić N., Topalic-Trivunović L., Rodić-Grabovac B. Flavonoidna jedinjenja biliaka roda *Achillea* L. i njihova biološka aktivnost. *Glas. hem. tehnol. Repub. Srp.* 2017. V. 13. P. 21–29.
9. Antioxidant activity and phenolic contents of *Achillea wilhemsii*. H. Fathi, B. Lashtoo Aghae, M. A. Ebrahimzadeh et al. *Pharmacology online*. 2011. № 2. P. 942–949.
10. Головки М. П., Пенкіна Н. М., Колесник В. В. Антиоксидантні властивості деяких видів рослинної сировини. *East.-Eur. j. enterp. technol.* 2011. Т. 4 (6). С. 9–11.
11. Pharmacological properties of selenium and its preparations: from antioxidant to neuroprotector. I. F. Belenichev, N. O. Gorchakova, I. B. Samura et al. *Res. results pharmacol.* 2021. V. 7 (4). P. 29–40. <https://doi.org/10.3897/rrpharmacology.7.73051>.
12. Biochemical mechanisms of free-radical damage to the nuclear genome by cadmium. I. M. Trakhtenberg, Y. I. Gubsky, E. L. Levitsky, I. F. Belenichev. *Ukr. biochem. j.* 2018. V. 90 (3). P. 5–16. <https://doi.org/10.15407/ubj90.03.005>.
13. Expression of mRNA iNOS and mRNA eNOS in the liver of rats with chronic alcohol intoxication and with the introduction of *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka herb extract. I. Belenichev, I. Duyun, O. Kamyshnyi et al. *Biological markers in fundamental and clinical medicine*. 2020. V. 4 (1). P. 6–10. <https://doi.org/10.29256/v.04.01.2020.escbm02>.
14. Изучение эффективности липофильного экстракта травы *Achillea collina* J. Becker ex Reichenb. на модели термического ожога у крыс. И. Ф. Дуюн, А. В. Мазулин, И. Ф. Беленичев, А. В. Абрамов. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2019. Т. 13 (6). С. 399–406.
15. Державна Фармакопея України: у 3 т. Держ. п-во «Укр. науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.
16. Спектрофотометрическое определение флавоноидов в растительном сырье. А. В. Булатов, М. Т. Фалькова, М. О. Пушина и др. *Аналитика и контроль*. 2012. Т. 16, № 4. С. 358–362.
17. Дослідження накопичення поліфенольних сполук у траві деревію горбкового (*Achillea collina* J. Becker ex Reichenb.). І. Ф. Дуюн, О. В. Мазулін, Г. П. Смойловська, Т. В. Опрошанська, Г. В. Мазулін. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 1. С. 76–80.

Конфлікт інтересів відсутній.

І. Ф. Дуюн

Спектрофотометричне дослідження поліфенольних сполук у траві *Achillea collina* J. Becker et Reichenb.

Мета дослідження – вивчити вміст біологічно активних поліфенольних сполук у траві *Achillea collina* J. Becker et Reichenb. і встановити можливість розроблення на її основі нових лікарських засобів.

Перспективним представником роду *Achillea* L. флори України є деревій пагорбовий – *Achillea collina* J. Becker et Reichenb., який має достатню сировинну базу на теренах України. За вегетаційний період з червня по жовтень трава *Achillea collina* J. Becker et Reichenb. накопичує різноманітні за хімічним складом біологічно активні речовини (БАР), особливу увагу серед яких привертають поліфенольні сполуки. Поліфенольні сполуки проявляють властивості скаведжерів активних форм кисню і NO, гальмують ліпопероксидацію фосфоліпідів мембран клітин органів-мішеней, підвищують експресію глутатіонпероксидази, гальмують обумовлений вільними радикалами синтез прозапальних факторів та апоптоз.

Ідентифікацію компонентів поліфенольних сполук проводили хроматографуванням етилацетатних витягів з листя, суцвіть і трави досліджуваного виду методом тонкошарової хроматографії на пластинках з силікагелем. Для визначення кількісного вмісту суми поліфенольних сполук застосовували метод УФ-спектроскопії, вимірюючи оптичну густину на спектрофотометрі «Spectrum-200 UV/Vis Lambda 365 (Analytic Jena)» за довжини хвилі $\lambda = 390\text{--}490$ нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як стандартний зразок використовували лютеолін.

За результатами проведеного дослідження в екстрактах деревію пагорбового виявлені речовини, що належать до поліфенольних сполук. Найбільший вміст поліфенольних сполук спостерігається в екстрактах, які містять траву деревію пагорбового (2,66 мг % \pm 0,24 мг %), найменший вміст – в екстрактах з листя (0,035 мг % \pm 0,020 мг %) досліджуваного об'єкта. Результати аналізу дають підстави зробити висновок, що раціонально використовувати екстракцію БАР саме з трави деревію пагорбового.

Таким чином, виходячи з вмісту біологічно активних поліфенольних сполук, траву *Achillea collina* J. Becker et Reichenb. можна вважати перспективною рослинною сировиною й використовувати її для розроблення складу нових фітопрепаратів.

Ключові слова: *деревій пагорбовий (Achillea collina J. Becker et Reichenb.), спектрофотометрія, поліфенольні сполуки, антиоксиданти*

I. F. Dyyun

Spectrophotometric study of polyphenolic compounds in the grass of *Achillea collina* J. Becker et Reichenb.

The aim of the study is to research the content of biologically active polyphenolic compounds in the grass of *Achillea collina* J. Becker et Reichenb. and assess the possibility of developing new medicines based on it.

A promising representative of the genus *Achillea* L. In flora of Ukraine is *Achillea collina* J. Becker et Reichenb., which has a sufficient raw material base in Ukraine. During the growing season from June to October, the grass of *Achillea collina* J. Becker et Reichenb. accumulates a variety of biologically active substances of broad-ranging chemical composition, among which polyphenolic compounds attract special attention. They belong to the group of antioxidants and suppress free radical oxidation. Polyphenolic compounds exhibit the properties of scavengers of reactive forms of oxygen and NO, inhibit lipoperoxidation of phospholipids in biological membranes of the of target organs, enhance the expression of glutathione peroxidase, inhibit the synthesis of pro-inflammatory factors and apoptosis caused by free radicals.

Identification of the polyphenolic compounds was carried out by the method of thin layer chromatography of ethyl acetate extracts from leaves, inflorescences and grass of the studied plant. To determine the quantitative content of the sum of polyphenolic compounds, the method of UV spectroscopy was used, measuring the optical density of the extracts on the spectrophotometer «Specord-200 UV/Vis Lambda 365 (Analytic Jena)» at wavelength of 390–490 nm in a 10 mm cuvettes with luteolin as a standard sample.

Polyphenolic compounds were found in the extracts of *Achillea collina* J. Becker et Reichenb. The highest content of polyphenolic compounds was observed in the extract obtained from the grass of *Achillea collina* J. Becker et Reichenb. (2.66 mg % \pm 0.24 mg %), the lowest content – in extracts from the folia (0,035 mg % \pm 0,020 mg %).

Thus, the results of the analysis allow us to consider the grass of *Achillea collina* J. Becker et Reichenb. as a promising raw material for developing the composition of new herbal remedies of complex action due to the content of biologically active polyphenolic compounds.

Key words: *Achillea collina* J. Becker et Reichenb., spectrophotometry, polyphenolic compounds, antioxidants

ORCID ID автора:

Дуюн І. Ф. – ORCID ID 0000-0003-1134-2543.

Надійшла: 20 січня 2023 р.

Прийнята до друку: 22 березня 2023 р.

Контактна особа: Дуюн І. Ф., доктор філософії, асистент, кафедра клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, буд. 26, пр. Маяковського, м. Запоріжжя, 69035.
Тел.: + 38 0 61 239 68 90. Електронна пошта: dyyun77@ukr.net