

УДК 615.322:582.998.16'19:547.631.4] (477)

Т. І. БАЛАНЧУК<sup>1</sup>, здобувач, О. В. МАЗУЛІН<sup>1</sup>, д-р фарм. наук, проф.,

Г. В. МАЗУЛІН<sup>1</sup>, канд. фарм. наук, Т. В. ОПРОШАНСЬКА<sup>2</sup>, канд. фарм. наук

<sup>1</sup> Запорізький державний медичний університет

<sup>2</sup> Національний фармацевтичний університет, м. Харків

## ДОСЛІДЖЕННЯ НАКОПИЧЕННЯ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У РОСЛИННІЙ СИРОВИНІ БУДЯКА ПОНИКЛОГО (*CARDUUS NUTANS* L.) ФЛОРИ УКРАЇНИ

**Ключові слова:** будяк пониклий, суцвіття, листя, флавоноїди, паперова, тонкошарова, високоефективна рідинна хроматографія, спектрофотометрія

Дослідження перспективної рослинної сировини на вміст діючих речовин під час вегетації, розроблення ефективних сучасних методів її стандартизації має велике теоретичне та практичне значення.

Широко відомий у народній медицині України та світу рід *Carduus* L. родини *Asteraceae* (айстрові) налічує до 120 видів, розповсюджених у країнах Європи, Азії, Туреччині, Північній Африці, США, Канаді, Китаї, Аргентині, Австралії, Новій Зеландії та ін. [5, 6, 7].

В умовах України зростає до 30 основних представників роду, але одним серед найпоширеніших на території країни слід вважати будяк пониклий (поникаючий) (*Carduus nutans* L.), синоніми: *C. coloratus* Tamamsch., *C. kondratjukii* Gorlacrova, *C. nutans* var. *armenus* Boiss., *C. schischkinii* Tamamsch., *C. songoricus* Tamamsch., *C. attenuates* Klok. [6].

Широко розповсюджений як звичайний бур'ян у східній та західній Україні до лівобережного Полісся, в Криму, південних та центральних регіонах Європи. Переважно росте по відкритих засмічених місцях, суходільних пасовищах, обочинах доріг, полів, пустирях, степових схилах, сухих луках, узліссях, вапняках, чорноземних ґрунтах, як бур'ян сільськогосподарських культур.

Це дворічна трав'яниста темно-зелена рослина заввишки від 80 до 120 см, із прямостоячим, міцним, слабо розгалуженим у верхній частині стеблом. Стебло з колючо-зубчастими крилами від низхідного листя, просте або з 1–2 видовженими гілками, з 1–5 кошиками, з яких деякі іноді розташовані на вкорочених гілочках і зменшені.

Листя з верхньої сторони голі, знизу по вилках волосисті, подовжено-ланцетні, перисто-виїмчасті, великі, з 4–5 лопатевими долями, пониклі, зелено-сірого кольору, почергові, дуже жорсткі, зубчасті, з колючими кінцями. Їхня довжина знижується від основи до верхівки рослини.

Кошки великі, до 12 см у діаметрі, нечисленні, округлі, дуже колючі, звичайно пониклі, рідше нахилені. Розташовані на верхівках стебел на довгих, 3–70 см, квітніжках, з округлою багаторядною обгорткою криючого листя. Суцвіття пурпурові, пахучі, складаються з трубчастих квіток.

Сім'янки довгасто-обернено яйцевидні, 3–3,2 мм завдовжки, 1,2–1,3 мм завширшки, коричневі, ребристі з поперечними зморшками, до основи ледь звужені, по краю зі зубчастим ободком, що закінчується багаторядним коротшим за вінчик чубуком із зазубрених волосків, коротших за вінчик. Чубук близько 18–22 мм завдовжки, білий. Нитки тичинок волохаті.

Рослина дуже теплолюбива. В умовах України цвіте з другої половини травня до липня, в інших регіонах – із середини червня по серпень [6, 10, 11].

Відомо, що суцвіття та листя будяка пониклого містить у своєму складі флавоноїди, гідроксикоричні, органічні кислоти, кумарини, неорганічні елементи, ефірну олію зі сесквітерпеновими лактонами в її складі [5, 9].

У сучасній народній медицині настій із трави рослини широко відомий як гепатозахисний, протизапальний, протипухлинний засіб. Відвар коренів (1:10) виявляє заспокійливу, протипухлинну дію, його також призначають при епілепсії [5, 8].

Практично необмежений біологічний сировинний запас рослинної сировини *Carduus nutans* L. є перспективним для її заготівлі, одержання сучасних ліків та медичного застосування в формі фітопрепаратів та лікарських засобів.

Встановлено, що гепатозахисна та антиоксидантна активність видів роду *Carduus* L. пов'язана з накопиченням у рослинній сировині насамперед біологічно активних флавоноїдів та гідроксикоричних кислот [8, 9].

В опублікованих наукових працях зазначено, що у зібраної під час цвітіння рослинної сировини *Carduus nutans* L. ідентифіковано до 6 флавоноїдів та 3 гідроксикоричні кислоти. Переважаючими компонентами були флавоноїди, похідні апігеніну, лютеоліну та кемпферолу: апігенін, апігенін-7-О-β-D-глюкопіранозид, лютеолін, лютеолін-7-О-β-D-глюкопіранозид, кемпферол-3-О-β-D-глюкопіранозид, кемпферол-3-О-β-D-рамноглюкозид [5, 9].

Дотепер не визначено кількісний вміст флавоноїдів у рослинній сировині *Carduus nutans* L. у вегетаційний період, що необхідно для її раціональної заготівлі та стандартизації сучасними фізико-хімічними методами аналізу.

**Метою** цієї роботи було дослідження накопичення поліфенольних сполук флавоноїдної природи в суцвіттях та верховому листі *Carduus nutans* L. флори України під час цвітіння.

### **Матеріали та методи дослідження**

Об'єктом дослідження були суцвіття та верхове листя будяка пониклого, заготовлені в різних регіонах України під час цвітіння (травень–серпень 2013–2015 рр.) відповідно до загальних вимог ДФУ (дод. 1.2) [4]. Сушіння виконано у сушильній шафі Termolab СНОЛ 24/350 (Україна) ( $t = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) упродовж 15 год.

Ідентифікацію сполук здійснювали специфічними хімічними реакціями, паперовою (ПХ) та тонкошаровою (ТШХ) хроматографією на пластинках Aluminium oxide 150 F 254 (0,20 мм) (MERCK, Німеччина) та високоефективною рідинною хроматографією (ВЕРХ) на приладі Agilent 1260 Infinity HPLC System, Open LAB CDS Software (Японія). Використовували системи: бензол–етилацетат–кислота оцтова–формамід (70:30:2:1), етилацетат–кислота мурашина–кислота оцтова–вода очищена (100:11:11:27), хлороформ–метанол–оцтова кислота–вода очищена (6:2:0,1:0,1), етилацетат–метилетилкетон–кислота мурашина–вода очищена (50:30:10:10). Паралельно виконували аналіз робочих стандартних зразків досліджуваних речовин (РСЗ). Одержані хроматограми висушували на сушарці УСП-2 ООО, ІМІД ( $t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), проглядали в УФ-промені [1]. Для методу ВЕРХ застосовували хроматографічну колонку ( $l = 150\text{ мм}$ ,  $d = 2,1\text{ мм}$ ), заповнену сорбентом ZORBAX-SB C-18 (30 мм × 4,6 мм;  $d = 1,8\text{ мкм}$ ). Рухомі фази: А –  $\text{H}_2\text{O}$ , 0,1% TFA; В –  $\text{CH}_3\text{CN}$ , 0,1% TFA. Кількісне визначення суми флавоноїдів робили методом прямої спектрофотометрії з перерахунком на апігенін-7-О-β-D-глюкопіранозид.

Методика: близько 1,0 г (точна наважка) подрібненої рослинної сировини ( $d = 0,1\text{ мм}$ ) вносили в колбу ємністю 100 мл, додавали 30 мл спирту етилового 96%-го, нагрівали на водяному огрівнику ( $t = 50\text{--}60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) протягом 15 хв. Одержані витяги фільтрували в мірну колбу ємністю 100 мл. Екстракцію повторювали ще двічі по 30 мл в ідентичних умовах по 15 хв. Витяги охолоджували, фільтрували в мірну кол-

бу ємністю 100 мл та доводили до позначки. 2 мл вносили до мірної колби ємністю 50 мл і доводили тим самим розчинником до позначки. Вимірювали оптичну густину на спектрофотометрі Specord-200 Analytic Jena UV-vis (Німеччина) при  $\lambda = 330$  нм в кюветі з шаром завтовшки 10 мм. Як розчин порівняння використовували спирт етиловий 96%-й. Паралельно визначали оптичну густину робочого стандартного зразка апігенін-7-О- $\beta$ -D-глюкопіранозиду в ідентичних умовах.

Одержані результати оброблено методом математичної статистики зі застосуванням ліцензійної програми «Statistica 6.0 for Windows» (Stat.Soft.Inc., №АХХR712D833214FANS). Достовірність відмінностей величин концентрацій, оцінювали за t-критерієм Стьюдента ( $P > 95\%$ ) [2, 3].

### Результати дослідження та обговорення

Результати досліджень накопичення флавоноїдів в суцвіттях та листі *Carduus nutans* L. із різних місць зростання наведено на рисунку та в таблиці.

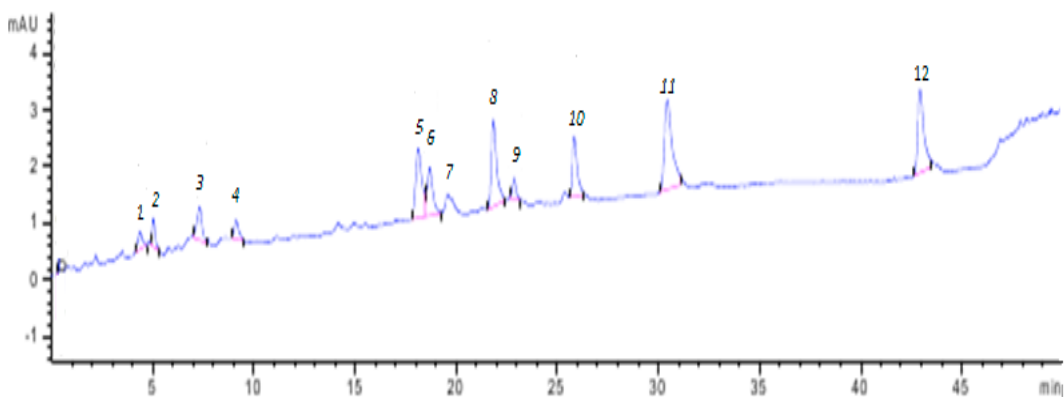


Рис. Поліфенольні сполуки суцвітть *Carduus nutans* L.:

1 – кафтарова кислота; 2 – п-катехова кислота; 3 – хлорогенова кислота; 4 – п-кумарова кислота; 5 – лютеолін-7-О- $\beta$ -D-глюкопіранозид; 6 – кемпферол-3-О- $\beta$ -D-глюкопіранозид; 7 – кемпферол-3-О- $\beta$ -D-рамноглюкозид; 8 – апігенін-7-О- $\beta$ -D-глюкопіранозид; 9 – апігенін-5-О- $\beta$ -D-глюкопіранозид; 10 – кемпферол; 11 – лютеолін; 12 – апігенін

Т а б л и ц я

### Результати кількісного визначення суми флавоноїдів у рослинній сировині *Carduus nutans* L. (червень–липень) із різних регіонів України

№ з/п	Місце заготівлі рослинної сировини <i>Carduus nutans</i> L.	Вміст суми флавоноїдів*	
		суцвіття	листя
1	Дніпропетровська обл., м. Нікополь, 2014 р.	6,11 ± 0,55	3,62 ± 0,31
2	Дніпропетровська обл., м. Солене, 2014 р.	6,18 ± 0,60	3,50 ± 0,33
3	Донецька обл., м. Краматорськ, 2015 р.	6,10 ± 0,59	3,66 ± 0,34
4	Запорізька обл., м. Токмак, 2014 р.	6,33 ± 0,61	3,78 ± 0,36
5	Київська обл., м. Пирятин, 2014 р.	6,23 ± 0,60	3,57 ± 0,33
6	М. Хмельницький (довк.), 2014 р.	5,96 ± 0,58	3,72 ± 0,35

Примітка: \* – в % ( $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$ ),  $\mu = 6$ .

Методом ПХ, ТШХ та ВЕРХ встановлено присутність 8 флавоноїдів та 4 гідроксикоричних кислот із переважаючим вмістом похідних апігеніну.

Одержані дані свідчать про високий рівень накопичення флавоноїдів у суцвіттях та більш низький у листі *Carduus nutans* L. Встановлено, що різниця в концентраціях суми визначених флавоноїдів між досліджуваними морфологічними частинами була достатньо високою, для суцвіть *Carduus nutans* L. із різних місць зростання – від  $5,96 \pm 0,58\%$  до  $6,33 \pm 0,61\%$ ; для листя рослини – від  $3,50 \pm 0,33\%$  до  $3,78 \pm 0,36\%$ .

Аналіз результатів досліджень свідчить про доцільність стандартизації рослинної сировини *Carduus nutans* L. за вмістом флавоноїдів, похідних апігеніну, методом УФ-спектрофотометрії.

При цьому слід зазначити, що заготівля трави рослини (суцвіття з прилеглим верховим листям) більш доцільна, оскільки дає змогу раціонально використовувати як загальний зібраний об'єм, так і його потенційний біологічний запас.

Трава *Carduus nutans* L. перспективна для одержання лікарських засобів із вираженою гепатозахисною, гепатопротекторною та антиоксидантною дією.

### Висновки

1. Методами хімічного аналізу, паперової, тонкошарової, високоефективної рідинної хроматографії та УФ-спектрофотометрії встановлено накопичення флавоноїдів у рослинній сировині *Carduus nutans* L.

2. Вперше запропоновано метод стандартизації рослинної сировини *Carduus nutans* L. за вмістом флавоноїдів, похідних апігеніну, з перерахунком на апігенін-7-О- $\beta$ -D-глюкопіранозид. Накопичення в суцвіттях – до  $6,23 \pm 0,60\%$ , листі – до  $3,78 \pm 0,36\%$ .

3. Заготівлю трави *Carduus nutans* L. доцільно здійснювати під час цвітіння (червень–липень).

### Список використаної літератури

1. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств / Под ред. чл.-кор. НАН Украины В. П. Георгиевского. – Харьков: НТМТ, 2011. – Т. 2. – 474 с.
2. Державна фармакопея України. / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». Перше вид. – Харків: РІРЕГ, 2004. – 556 с.
3. Державна фармакопея України. Доп. 1. / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». Перше вид. – Харків: РІРЕГ, 2004. – 520 с.
4. Державна фармакопея України. Доп. 2. / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». Перше вид. – Харків: РІРЕГ, 2004. – 617 с.
5. Кюсов П. А. Лекарственные растения: самый полный справочник. – М.: Эксмо-Пресс, 2011. – 939 с.
6. Доброчаева Д. Н. и др. Определитель высших растений Украины / Под ред. Ю. Н. Прокудина. – К.: Наук. думка, 1987. – 548 с.
7. Цвелев Н. Н. Определитель сосудистых растений Северо-Западной России. – СПб.: Изд-во СПУВА, 2000. – 781 с.
8. Dimitrova-Dyalgerova I., Zheley I., Mihaylova D. Phenolic profile and *in vitro* antioxidant activity of endemic Bulgarian *Carduus* species // Pharmacognosy Magazine. – 2015. – V. 11, N 4. – P. 575–579.
9. Jordon-Thaden I. E., Louda S. M. Chemistry of Cirsium and Carduus: A role in ecological risk assessment for biological control of weeds // Biochemical systematic and Ecology. – 2003. – V. 31, N 12. – P. 1353–1396.
10. Rauschert E. S. J., Shea K., Bjornstad O. N. Coexistence patterns of two invasive species, *Carduus nutans* and *C. acanthoides*, at three spatial scales // Biol. Invasions. – 2012. – V. 14, N 1. – P. 151–164.
11. Mirik M., Ansley R. J., Steddom K. et al. Remote Distinction of a Noxious Weed (Musk Thistle: *Carduus nutans*) Using Airborne Hyperspectral Imagery and the Support Vector Machine Classifier // Remote Sensing. – 2013. – V. 5, N 2. – P. 612–630.

Надійшла до реакції 28 жовтня 2016 року.

Т. И. Баланчук<sup>1</sup>, А. В. Мазулин<sup>1</sup>, Г. В. Мазулин<sup>1</sup>, Т. В. Опрошанская<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Запорожский государственный медицинский университет

<sup>2</sup> Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

## ИЗУЧЕНИЕ НАКОПЛЕНИЯ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ ЧЕРТОПОЛОХА ПОНИКШЕГО (*CARDUUS NUTANS* L.) ФЛОРЫ УКРАИНЫ

**Ключевые слова:** чертополох поникший, соцветия, листья, флавоноиды, бумажная, тонкослойная, высокоэффективная жидкостная хроматография, спектрофотометрия

### АННОТАЦИЯ

Изучение содержания действующих веществ в перспективном растительном сырье в вегетационный период, разработка эффективных методов его стандартизации имеет большое теоретическое и практическое значение. Выраженная биологическая активность видов рода *Carduus* L. связана с присутствием полифенольных компонентов.

Целью работы было изучение накопления полифенольных соединений в растительном сырье (соцветия, верховые листья) *Carduus nutans* L. в период цветения. Флавоноиды идентифицировали характерными химическими реакциями, применяя бумажную хроматографию, тонкослойную хроматографию на пластинах Aluminium oxide 150 F 254 (0,20 мм) (MERCK, Германия), высокоэффективную жидкостную хроматографию на приборе Agilent 1260 Infinity HPLC System, Open LAB CDS Software (Япония).

Использовали системы: бензол–этилацетат–кислота уксусная–формамид (70:30:2:1), этилацетат–кислота муравьиная–кислота уксусная–вода очищенная (100:11:11:27), хлороформ–спирт метиловый–кислота уксусная–вода очищенная (6:2:0,1:0,1), этилацетат–метилэтилкетон–кислота муравьиная–вода очищенная (50:30:10:10). Хроматограммы высушивали на сушилке УСП–2 ООО, ИМИД ( $t = 30$  °C) и просматривали в УФ-свете. Для высокоэффективной жидкостной хроматографии применяли хроматографическую колонку ( $l = 150$  мм,  $d = 2,1$  мм), заполненную сорбентом ZORBAX-SB C-18 (30 мм × 4,6 мм,  $d = 1,8$  мкм). Подвижные фазы: А – H<sub>2</sub>O, 0,1% TFA; В – CH<sub>3</sub>CN, 0,1% TFA. Количественное содержание суммы флавоноидов в растительном сырье *Carduus nutans* L. определяли на спектрофотометре Specord-200 Analytic Jena UV-vis (Германия) при  $\lambda = 330$  нм. В результате методами химического анализа, бумажной, тонкослойной, высокоэффективной жидкостной хроматографии и УФ-спектрофотометрии установлено накопление флавоноидов в соцветиях и листьях *Carduus nutans* L. Преобладающим компонентом были флавоноиды, производные апигенина.

Впервые предложен метод стандартизации растительного сырья *Carduus nutans* L. по содержанию флавоноидов, производных апигенина, с пересчетом на апигенин-7-О-β-D-глюкопиранозид. Накопление в соцветиях – до  $6,23 \pm 0,60\%$ , листьях – до  $3,78 \pm 0,36\%$ . Заготовку растительного сырья *Carduus nutans* L. рационально проводить в период цветения (июнь–июль).

Т. І. Баланчук<sup>1</sup>, О. В. Мазулін<sup>1</sup>, Г. В. Мазулін<sup>1</sup>, Т. В. Опрошанська<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Запорізький державний медичний університет

<sup>2</sup> Національний фармацевтичний університет, м. Харків

## THE INVESTIGATION ACCUMULATION OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS IN HERBS OF *CARDUUS NUTANS* L. OF UKRAINE FLORA

**Key words:** *Carduus nutans* L., flavonoids, flowers, leaves, paper, thin layer, high performance liquid chromatography, spectrophotometry method

### АБСТРАКТ

The study of promising plant raw materials during the growing period and development of effective modern methods of standartization are great theoretical and practical significance. The biological activity of the species of the genus *Carduus* L. is associated with polyphenolic compounds.

The aim of the work was to study the accumulation and quantitative content of flavonoids in flowers and upper leaves of *Carduus nutans* L. grass of Ukrainian flora in flowering period. A detection was

conducted by chemical reactions, paper and thin layer chromatography on Aluminium oxide 150 F 254 (0.20 mm) (MERCK) (Germany) plates, HPLC on Agilent 1260 Infinity HPLC System, Open LAB CDS Software (Japan). The systems: benzol–ethyl-acetate–acetic acid–formamide (70:30:2:1), ethyl-acetate–methane acid–acetic acid–water distilled (100:11:11:27), chloroform–methanol–acetic acid–water distilled (6:2:0,1:0,1), ethyl-acetate–methyl-ethyl ketone–methane acid–water distilled (50:30:10:10) were applied. The chromatograms were dried on the device УСП-2 ООО ИМИД ( $t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) and viewed in UV light. For HPLC method chromatographic column ( $l = 150\text{ мм}$ ), ( $d = 2,1\text{ мм}$ ) with sorbent ZORBAX-SB C-18 (30 мм × 4,6 мм;  $d = 1,8\text{ мкм}$ ) was applied. Liquid chromatographic fases: A – H<sub>2</sub>O, 0.1% TFA; B – CH<sub>3</sub>CN, 0.1% TFA.

The identification of flavonoids and their quantitative content was conducted by spectrophotometer Specord-200 Analytic Jena UV-vis (Germany) up  $\lambda = 330\text{ нм}$ . Prevailing content there were flavonoids derivates of apigenine. The spectrophotometry method *Carduus nutans* L. grass plant raw material standardization by content of the apigenine-7-O- $\beta$ -D-glycoside was proposed.

In the result by methods of chemical analysis, paper, thin layer, high pressure liquid chromatography the accumulation of flavonoids in herbal raw materials of *Carduus nutans* L. it was determined. For the first time a method of standartization of herbal raw material with contents of apigenin flavonoid derivates, apigenine-7-O- $\beta$ -D-glycoside was proposed. The plant raw materials of *Carduus nutans* L. rationally harvested in june-july month of the year.

*Електронна адреса для листування з авторами: balti-ka@yandex.ua*