

ПОЛИФЕНОЛЬНЫЙ СОСТАВ СОЦВЕТИЙ *ACHILLEA COLLINA* (BECKER EX RCHB.)

Дуюн И. Ф., Лукина И. А.

Научный руководитель: д.фарм.н., проф. Мазулин О. В.

*Запорожский государственный медицинский университет,
Кафедра фармакогнозии, фармхимии и технологии лекарств факультета
последипломного образования
г. Запорожье, Украина*

Ключевые слова: тысячелистник холмовой, *Achillea collina* (Becker ex Rchb.), полифенольный состав, соцветия, лекарственное растительное сырье.

Резюме: В данной статье предложены методы анализа этанольных и метанольных экстрактов, выделенных из соцветий *Achillea collina* (Becker ex Rchb.) на содержание флавоноидов и гидроксикоричных кислот с использованием ТСХ и ВЭЖХ. Целью исследования было изучение накопления, качественного и количественного содержания полифенольных соединений в соцветиях *Achillea collina* (Becker ex Rchb.). При этом было идентифицировано 12 биологически активных флавоноидов ($1,303 \pm 0,110\%$). Растительное сырье *Achillea collina* (Becker ex Rchb.) перспективно для получения фитопрепаратов противовоспалительного, ранозаживляющего, гепатопротекторного и антиоксидантного действия.

Resume: A scheme for analysis of ethanolic and methanolic extracts of *Achillea collina* (Becker ex rchb.) herbal raw material including of flavonoids and hydroxycinnamic acids by TLC and HPLC and their determination by high-performance liquid chromatography was proposed. The aim of the research was study the accumulation, qualitative and quantitative content of polyphenolic compounds in flowers of *Achillea collina* (Becker ex Rchb.). The 12 flavonoids are identified in *Achillea collina* (Becker ex Rchb.) flowers ($1,303 \pm 0,110\%$). The study proved the presence of biologically and pharmacologically important flavonoids and hydroxycinnamic acids making the plant *Achillea collina* (Becker ex Rchb.) beneficial for the preparation of phytodrugs.

Актуальность. Успехи современной органической химии безусловно имеют важное значение для развития фармации и медицины. Однако, в последние два десятилетия установилась устойчивая тенденция к использованию в комплексном лечении различных патологий лекарственных растительных средств и фитопрепаратов, которые, по сравнению со многими синтетическими препаратами, лучше переносятся больными и не вызывают существенных побочных явлений. Из общего арсенала лекарственных средств, применяющихся в мировой медицинской практике для профилактики и лечения болезней, третью часть составляют препараты растительного происхождения. Примерами могут служить широко применяемые стероиды, сердечные гликозиды, алкалоиды, каротиноиды, флавоноиды, витамины, цитостатики, эфирные масла и др. биологически активные вещества, изначально выделенные из природных источников [2, 4, 6].

Достижения физико-химического анализа в установлении структуры природных соединений современными методами ядерно-магнитного резонанса высокого разрешения, хромато-масс-спектрологии высокой чувствительности, инфракрасной и ультрафиолетовой спектроскопии, рентгеноструктурного анализа,

позволяют получить исчерпывающую информацию о биологически активных компонентах растений, их строении, химических и биологических свойствах.

Многие известные к настоящему времени растения можно отнести к мало изученным. При этом исследования с применением новых методов анализа позволяют идентифицировать и установить количественное содержание перспективных по действию биологически активных веществ на уровне субмикрочастиц. Важным фактом является то, что они зачастую являются минорными компонентами производящих растений.

Исследования, проведенные в последние годы свидетельствуют о том, что наиболее интересная и перспективная для фитохимического изучения является разнообразная и широко распространенная группа растений представителей семейства Астровых (Asteraceae), виды родов: Полынь, Ромашка, Тысячелистник. Они содержат полифенольные соединения (флавоноиды, гидроксикоричные кислоты) с наиболее выраженным противовоспалительным, ранозаживляющим, гепатопротекторным и антиоксидантным действием.

Тысячелистник холмовой (*Achillea collina* L.) – широко распространенный перспективный вид рода *Achillea* L. Это многолетнее травянистое растение высотой 60-80 см семейства Астровые (Asteraceae). Корневище горизонтальное, ползучее, голое или редко опушенное. Стебли многочисленные, многогранные и бороздчатые, густо опушенные, ветвящиеся в верхней части, хорошо облиственные. Листовые дольки ланцетовидные, плосковатые, шириной 0,5-1 мм. Цветки язычковые, белые. Корзинки собраны в относительно плотные щитковидные соцветия диаметром 5-10 см. Плод мелкая сероватая семянка. Масса 1000 семян составляет 0,1 г. [1, 3].

Цель: определить полифенольный состав соцветий *Achillea collina* (Becker ex Rchb.), произрастающего на территории Украины.

Задачи:

1. Подобрать и адаптировать методики, при проведении которых возможно получение максимально точных экспериментальных данных;
2. Изучить качественный состав полифенольных соединений в соцветиях тысячелистника холмового (*Achillea collina* (Becker ex Rchb.));
3. Изучить количественное содержание полифенольных соединений в соцветиях тысячелистника холмового (*Achillea collina* (Becker ex Rchb.)).

Материал и методы. Анализ растительного сырья методом ТСХ проводился в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Украины [5].

Пробоподготовка: точную навеску (0,1 г) измельчали до диаметра частичек 0,1-0,2 мм и добавляли 5 мл 96% этанола. Перемешивали и помещали на водяную баню при 80°C на 20 мин. Полученный экстракт центрифугировали при 3000 об./мин в течение 3 мин. и супернатант декантировали. Остаток повторно экстрагировали 5 мл 96% этанола. Оба супернатанта объединяли и хранили при температуре - 20 °C перед анализом. Вытяжку использовали для ТСХ анализа компонентов.

Тонкослойную хроматографию (ТСХ) проводили по методу, описанному в Государственной фармакопее Украины с небольшими изменениями. 5 мкл экстракта

и стандартные образцы были нанесены на пластинки для ТСХ («оксид алюминия 150 F 254 (0,20 мм) (MERCK, Германия)», «Sorbfil AF-A», «Sorbfil UF-254»). Образцы были исследованы на присутствие флавоноидов в системах растворителей: Бензол: этилацетат: уксусная кислота: формамид (70: 30: 2: 1); Бензол: этилацетат: уксусная кислота: дистиллированная вода (50: 50: 1: 1); Этилацетат: муравьиная кислота: уксусная кислота: дистиллированная вода (100: 11: 11: 27); Этилацетат: уксусная кислота: дистиллированная вода (10: 2: 3); Хлороформ: метанол: уксусная кислота: дистиллированная вода (6: 2: 0,1: 0,1); Этилацетат: метилэтилкетон: муравьиная кислота: дистиллированная вода (50: 30: 10: 10).

Количественное содержание компонентов определяли методом ВЭЖХ на хроматографе: “Shimadzu LC-20 Prominence” с УФ-детектором (Япония). Хроматографическая колонка “Phenomenex Luna C18(2)” (l=250 мм), с внутренним диаметром (d=4,6 мм) и размером частиц 5 мкм; температура колонки – 35⁰С; длина волны детектирования ($\lambda = 330$ нм); скорость потока подвижной фазы – 1 мл/мин.; объем пробы 5 мкл. Подвижная фаза: элюент А: 0,1% раствор трифторуксусной кислоты в воде очищенной; элюент Б: 0,1% раствор трифторуксусной кислоты в ацетонитриле. Идентификацию компонентов проводили по времени удерживания и соответствия УФ-спектров веществам – стандартам.

Пробоподготовка: 0,5 г (точная навеска) измельченного растительного сырья (d=0,1 мм), вносили в колбу вместимостью 100 мл, добавляли 25 мл спирта метилового 50%, нагревали с обратным холодильником на кипящей водяной бане 45 мин. Охлаждали, фильтровали в мерную колбу вместимостью 100 мл через тефлоновый мембранный фильтр (d=0,45 мкм) и доводили объем тем же растворителем до метки. 5 мкл полученного извлечения вводили в колонку прибора при комнатной температуре. Соединения идентифицировали по времени удерживания в сравнении со стандартными образцами (Sigma Chemical Company, США) и масс-спектрами библиотеки NIST02 (более 174 000 веществ).

Результаты и их обсуждение. Тонкослойная хроматография является широко используемым аналитическим методом в процессе стандартизации растительного сырья благодаря своей простоте, скорости и экономической эффективности. В данном исследовании мы установили присутствие до 8 основных флавоноидов в соцветиях ТСХ *Achillea collina* (Becker ex Rechb.) в присутствии стандартных образцов.

В результате химического анализа методом ВЭЖХ в соцветиях *Achillea collina* (Becker ex Rechb.) были идентифицированы 12 флавоноидов (1,303±0,110%) и 10 гидроксикоричных кислот. Флавоноидный состав характеризовался компонентами: изовитексин, сапонарин, лютеолин-7,3'-диглюкозид, лютеолин-6-С-глюкозид, кверцитин-3-рутинозид, кверцитин, рутин, апигенин-7,4'-ди-О-глюкозид, изорамнетин- О-ацетилгексозид, лютеолин-7-О-глюкозид, лютеолин, апигенин. Было установлено количественное содержание компонентов. В наивысших концентрациях присутствовали: лютеолин-7-О-глюкозид (0,154±0,004%), апигенин-7,4'-ди-О-глюкозид (0,304±0,004%), лютеолин-7,3'-диглюкозид (0,300±0,005%). В наименьших концентрациях определен кверцитин-3-0-рутинозид (0,019±0,002%).

Установлено присутствие гидроксикоричных кислот: хлорогеновой, п-кумаровой, феруловой, кофейной, криптохлорогеновой, неохлорогеновой, изохлорогеновой, 3,4-О-дикофеилхинной, 3,5-О-дикофеилхинной, розмариновой. Установлено, что среди гидроксикоричных кислот доминировали неохлорогеновая кислота ($0,174 \pm 0,004\%$) и криптохлорогеновая кислота ($0,088 \pm 0,007\%$), а количественное содержание п-кумаровой кислоты было наиболее низким ($0,010 \pm 0,001\%$).

Выводы:

1. Проведено исследование качественного и количественного содержания полифенольных соединений в соцветиях *Achillea collina* (Becker ex Rchb.) с использованием современных методов анализа (ТСХ и ВЭЖХ).

2. В соцветиях *Achillea collina* (Becker ex Rchb.) было идентифицировано 12 флавоноидов и 10 гидроксикоричных кислот.

3. Доминирующими компонентами были флавоноиды: лютеолин-7-О-глюкозид ($0,154 \pm 0,004\%$), апигенин-7,4'-ди-О-глюкозид ($0,304 \pm 0,004\%$), лютеолин-7,3'-диглюкозид ($0,300 \pm 0,005\%$).

4. Результаты исследований показали, что ТСХ эффективна для качественного анализа полифенольных соединений соцветий *Achillea collina* (Becker ex Rchb.). ВЭЖХ рационально использовать для их количественного определения.

5. Вид *Achillea collina* (Becker ex Rchb.) широко распространен на территории Украины и перспективен для разработки фитопрепаратов с противовоспалительной, ранозаживляющей, гепатопротекторной и антиоксидантной активностью.

Литература

1. 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 // *Studia Biologica*. – 2011. – V.5, №3. – С.103-108.

2. Кьосев П. А. Лекарственные растения: самый полный справочник / П. А. Кьосев. М.: Эксмо – Пресс, 2011. – 939 с.

3. Определитель высших растений Украины / Д. Н. Доброчаева [и др.] ; под ред. Ю. Н. Прокудина. – К. :Наук. Думка, 1987. – 548 с.

4. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М.: Медицина, 16-е издание 2012. – 495 с.

5. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Держ. п-во „Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. – 2-е вид. – Х. : Держ. п-во „Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”, 2014. – Т. 3. – 732 с.

6. Селлар В. Энциклопедия эфирных масел / В. Селлар. – М.: Гранд-Фаир, 2005. – 394 с.