

Рекомендована д. фармац. наук, проф. В. М. Ковальовим

УДК 582.923.1-035.22:543.544.5.068.7:547.56

ВИЗНАЧЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У ТРАВІ *CENTAURIUM ERYTHRAEA* RAFN. МЕТОДОМ ВЕРХ

©С. М. Марчишин, Л. І. Стойко

Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського

Резюме: визначено фенольні сполуки в траві золототисячника звичайного (*Centaurium erythraea* Rafn.) методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з УФ-детектуванням. Встановлено наявність і кількісний вміст 4 флавоноїдів, 2 гідроксикоричних кислот і 1 кумарину.

Ключові слова: фенольні сполуки, флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, кумарини, *Centaurium erythraea* Rafn., ВЕРХ.

Вступ. Золототисячник звичайний (*Centaurium erythraea* Rafn.) – дворічна (рідше однорічна) трав'яниста рослина родини Тирличеві – *Gentianaceae*, який поширений на сонячних галявинах, узліссях, сухих луках, пагорбах в Європі, на Кавказі, у Середній Азії. Препарати золототисячника стимулюють секрецію залоз травного каналу, виявляють анестезуючі та жарознижувальні властивості, посилюють жовчовиділення. У народній медицині золототисячник звичайний застосовують при хворобах шлунка, печінки, нирок, цукровому діабеті.

Наукова медицина використовує золототисячник звичайний як засіб, що збуджує апетит при анацидному та гіпоацидному гастритах, а також при атонії кишечника [2, 6, 8].

Актуальним є дослідження біологічно активних речовин *Centaurium erythraea* Rafn., які обумовлюють його фармакологічну активність.

Флавоноїди та гідроксикоричні кислоти – найпоширеніші види фенольних сполук у вищих рослинах. Вони виявляють різноманітну фітотерапевтичну дію: зміцнюють стінки капілярів, діють синергічно з аскорбіновою кислотою, мають протипроменеву, спазмолітичну, ранозагоювальну, протизапальну, протипухлинну, естрогенну, бактерицидну дії, позитивно впливають на слизову оболонку, моторику, секреторну і всмоктувальну функції травного каналу, а також мають антиоксидантні, гіпоазотемічні та сечогінні властивості [1, 5]. Тому доцільно визначити їх якісний і кількісний вміст у траві золототисячника звичайного.

Мета роботи – визначення методом ВЕРХ якісного складу та кількісного вмісту флавоноїдів та гідроксикоричних кислот у траві *Centaurium erythraea* Rafn., заготовленої на околицях міста Зборів Тернопільської області у період цвітіння рослини в 2013 році.

Методи дослідження. Хроматографічне розділення проводили на рідинному хроматографі Agilent 1200 3 D LC System Technologies (США) з діодноматричним детектором G1315C, на колонці Supelco Discovery C18 HPLC column 5 мкм, при температурі термостата колонок 25 °С. Введення проби здійснювалося автосамплером, обсяг проби 10 мкл, швидкість потоку – 0,7 мл/хв, робочий тиск елюенту – 10000–12000 кПа.

Для приготування рухомої фази використовували ацетонітрил марки Chromasolv gradient grade, for HPLC, > 99,9 % (Sigma-Aldrich), ортофосфатну кислоту – Chromasolv gradient grade, for HPLC, > 99,9 % (Sigma-Aldrich), бідистильовану воду отримували на Simplicity SIMSV00 Water Purification System Millipore – (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). Для екстракції флавоноїдів та гідроксикоричних кислот застосовували метанол марки Chromasolv gradient grade, for HPLC, > 99,9 % (Sigma-Aldrich). Стандартні речовини – рутин, гіперозид, ізокверцитрин, лютеонін, кемферол, хлорогенова, кофейна, п-кумарова, ферулова, розмаринова кислоти, апігенін, скополетин, умбеліферон – виробництва Sigma Chemical Co.

Підготовка проб для аналізу: близько 1 г рослини сировини (точна наважка), екстрагували 50 мл 60 % розчину метанолу протягом 15 хв на водяній бані з зворотним холодильником при перемішуванні. Після цього фільтрували, кількісно перенесли в мірну колбу місткістю 100 мл і довели до мітки об'єм розчину 60 % метанолом. Отриманий розчин відфільтровували через мембранний фільтр з розміром пор 0,45 мкм.

Для поділу фенольних сполук застосовували такі умови: градієнтне елюювання сумішшю бідистильованої води підкисленої ортофосфатною кислотою до рН = 2,85 (А) і ацетонітрилу (В): 0 хв 5% «В», 8 хв 8% «В», 15 хв 10 % «В», 30 хв 20%

«В», 40 хв 40% «В», 41-42 хв 75% «В», 43-50 хв 5% при довжині детектування 330, 320 нм (гідроксикоричні кислоти) і 0 хв 12% «В», 30 хв 25% «В», 33 хв 25% «В», 38 хв 30% «В», 40 хв 40% «В», 41 хв 80% «В», 49 хв 12% при довжині детектування 255, 340 нм (флавоноїди). Загальний час аналізу – 50 хв [3, 4, 7].

Результати й обговорення. У результаті проведених досліджень були виявлені флавоноїди та гідроксикоричні кислоти. Показано, що в зазначених умовах можливе визначення їх якісного складу та кількісного вмісту.

За результатами ВЕРХ аналізу (табл. 1, рис. 1, 2) встановлено, що трава *Centaurium erythraea* Rafn. містить такі фенольні сполуки: аглікони флавоноїдів – лютеонін, апігенін, кверцетин; глікозиди апігеніну; глікозид флавоноїдів

Таблиця 1. Вміст фенольних сполук у траві *Centaurium erythraea* Rafn.

БАР	Кількісний вміст, %
Ізокверцитрин	$5,5 \cdot 10^{-2}$
Лютеонін	$3,2 \cdot 10^{-2}$
Кверцетин	$1,5 \cdot 10^{-2}$
Апігенін	$14,1 \cdot 10^{-2}$
Глікозиди апігеніну	$7,2 \cdot 10^{-2}$
Кофейна кислота	$3,1 \cdot 10^{-2}$
Розмаринова кислота	$20,3 \cdot 10^{-2}$
Умбеліферон	$1,9 \cdot 10^{-2}$

– ізокверцитрин, гідроксикумарин – умбеліферон; гідроксикоричні кислоти – кофейну і розмаринову, які й забезпечують фармакологічну активність досліджуваної рослини.

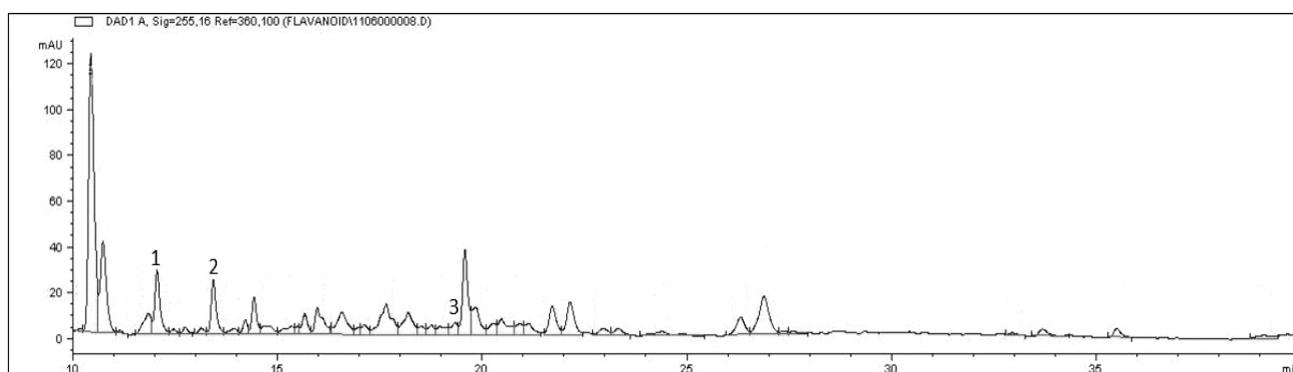


Рис. 1. Хроматограма водно-спиртового витягу трави *Centaurium erythraea* Rafn. при $\lambda = 255$ нм: 1 – ізокверцитрин, 2 – лютеонін, 3 – кверцетин.

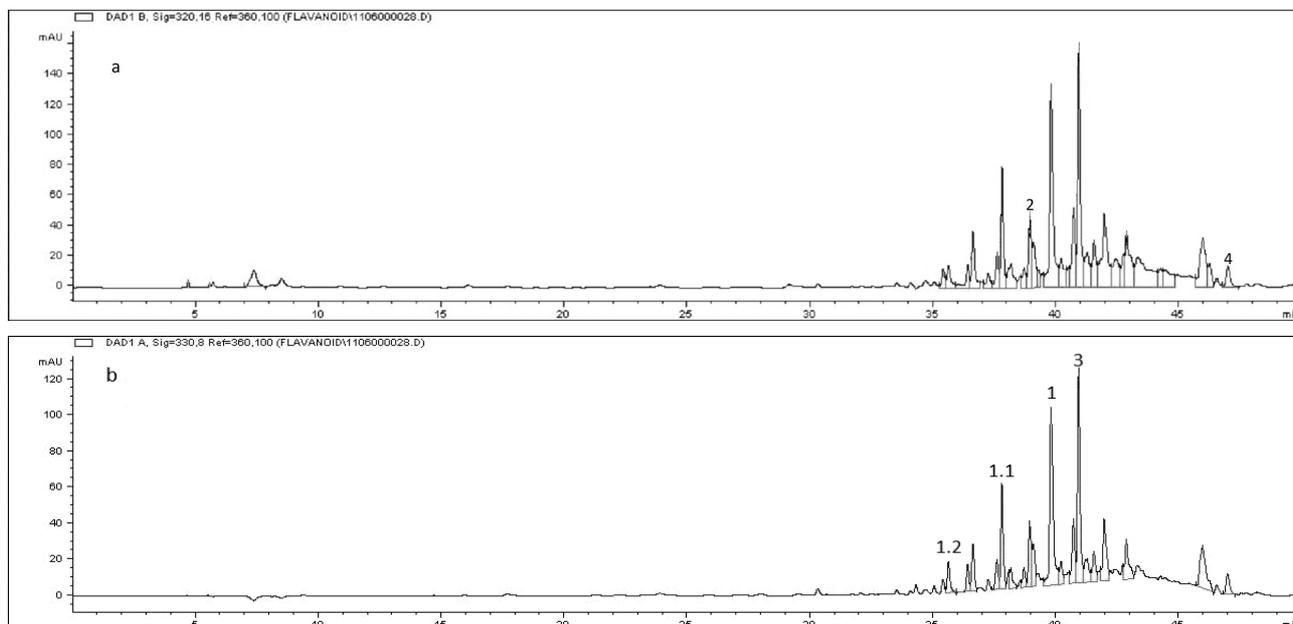


Рис. 2. Хроматограма водно-спиртового витягу трави *Centaurium erythraea* Rafn. при а) $\lambda = 320$ нм та б) $\lambda = 330$ нм: 1 – апігенін, 1.1, 1.2 – глікозиди апігеніну, 2 – кофейна кислота, 3 – розмаринова кислота, 4 – умбеліферон.

Висновки. Аналіз результатів ВЕРХ флавоноїдів і гідроксикоричних кислот золототисячника звичайного показав, що для стандартизації рослини можна рекомендувати розмаринову

кислоту та апігенін, вміст яких у досліджуваній траві золототисячника звичайного був найбільший і становив $20,3 \cdot 10^{-2} \%$ і $14,1 \cdot 10^{-2} \%$ відповідно.

Література

1. Фітотерапія хвороб дитячого віку / М. О. Гарбарець, В. Г. Западнюк, А. В. Захарія, Н. М. Гарбарець. – Тернопіль : ТДМУ “Укрмедкнига”, 2008. – 408 с.
2. Марчишин С. М. Лікарські рослини Тернопільщини / С. М. Марчишин, Н. О. Сушко. – Тернопіль : Навчальна книга – Богдан, 2007. – 312 с.
3. Марчишин С. М. Определение гидроксикоричных кислот в антиаллергическом сборе методом ВЭЖХ / С. М. Марчишин, С. С. Козачок // Сетевое научное издание : Медицина и образование в Сибири. – 2013. – № 4.
4. Определение гидроксикоричных кислот в лекарственном растительном сырье и объектах растительного происхождения / Ю. В. Медведев, О. И. Передеряев, А. П. Арзамасцев [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2010. – № 3. – С. 25–31.
5. Товстуха Є. С. Фітотерапевтичні засоби проти радіції / Є. С. Товстуха. – К. : Здоров'я, 1992. – 276 с.
6. Allen D. E. Medicinal Plants in Folk Tradition : An Ethnobotany of Britain and Ireland / E. D. Allen, G. Hatfield. – Portland : Timber Press, 2004. – 431 p.
7. Determination of caffeoylquinic acids and flavonoids in *Cynara scolymus* L. by high performance liquid chromatography / M. Hauser, M. Ganzera, G. Abel [et al.] // Chromatographia. – 2002. – Vol. 56, N 7/8. – P. 407–411.
8. Duke J. A. Handbook of medicinal herbs / J. A. Duke / 2-nd ed. – New York : CRC Press, 2002. – 896 p.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ТРАВЕ CENTAURIUM ERYTHRAEA RAFN. МЕТОДОМ ВЭЖХ

С. М. Марчишин, Л. И. Стойко

Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского

Резюме: определены фенольные соединения в траве золототысячника обыкновенного (*Centaurium erythraea* Rafn.) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с УФ-детектированием. Установлено наличие и количественное содержание 4 флавоноидов, 2 гидроксикоричных кислот и 1 кумарина.

Ключевые слова: фенольные соединения, флавоноиды, гидроксикоричные кислоты, кумарины, *Centaurium erythraea* Rafn., ВЭЖХ.

DEFINITION PHENOLIC COMPOUNDS IN HERBS CENTAURIUM ERYTHRAEA RAFN. HPLC

S. M. Marchyshyn, L. I. Stoyko

Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky

Summary: the phenolic compounds identified in the centaury (*Centaurium erythraea* Rafn.) by high performance liquid chromatography (HPLC) with UV detection. It is established presence and quantitative content of 4 flavonoids, 2 hydroxycinnamic acids and 1 coumarin.

Key words: phenolic compounds, flavonoids, hydroxycinnamic acids, coumarins, *Centaurium erythraea* Rafn., HPLC.

Отримано 15.02.14