

Рекомендована канд. хім. наук, доц. Л.В. Вронською

УДК 615.32 : 543.63

ХРОМАТОГРАФІЧНЕ ВИВЧЕННЯ ФЕНІЛЕТАНОЇДНИХ ГЛІКОЗИДІВ І ІРИДОЇДІВ ВИДІВ РОДУ *PLANTAGO* L.

© О.В. Середа, С.В. Філенко

Дослідна станція лікарських рослин Інституту агроекології УААН

Резюме: проведено порівняльне вивчення вмісту фенілетаноїдних глікозидів і іридоїдів у сировині різних видів подорожника методами ТШХ і ВЕРХ. Встановлено, що проаналізовані зразки подорожників великого, середнього, ланцетного і блошиного відрізняються за якісним і кількісним складом цих груп сполук. Сировину подорожника великого і подорожника ланцетного за цією ознакою не можна вважати рівноцінними заміниками один одного. Виявлено відмінності в хроматографічних профілях подорожників, які дозволяють їх ідентифікувати.

Ключові слова: подорожник, аукубин, актеозид, хроматографія.

Вступ. Види роду подорожник (*Plantago* L.) є популярними лікарськими засобами, але підхід до їх використання в офіційній медицині різний.

У вітчизняній фармації до фармакопейних видів відносять подорожник великий (ПВ) – *Plantago major* L. і подорожник блошиний (ПБл) – *Plantago psyllium* L. Лікарською сировиною є листя ПВ, насіння ПБл (“блошине насіння”), свіже листя ПВ і трава ПБл для одержання препарату “Сік подорожника”. Відповідно до Європейської Фармакопеї (ЄФ) заготовлюють листя подорожника ланцетного (ПЛ) – *Plantago lanceolata* L. [1], а як “блошине насіння” використовують насіння і лушпиння насіння подорожника овального. Найчастіше в медицині під назвою “подорожник” (“Plantain”) мають на увазі ПВ нарівні з ПЛ [2], у світовій практиці використовуються також *P. media*, *P. ovata*, *P. macrocarpa*, *P. asiatica* і *P. indica* [3, 4].

Сировина подорожників містить різноманітні біологічно активні речовини, найбільш характерними є полісахариди, кофеїльні похідні глікозидів 3,4-дигідроксифенілетанолу та іридоїди [3, 6].

На українському фармацевтичному ринку присутні імпорتنі препарати на основі ПЛ, відзначені факти використання сировини ПЛ замість ПВ і навпаки. У зв'язку з цим постає питання про рівнозначність сировини цих видів за хімічним складом і фармакологічними властивостями [2]. Мета даної роботи – провести порівняльне вивчення якісного і кількісного вмісту фенілетаноїдних глікозидів та іридоїдів у сировині різних видів подорожника.

Методи дослідження. Для досліджень використовували сировину ПВ і ПБл, які культивують у ДСЛР с. Березоточа Лубенського району Полтавської області, сировину подорожника середнього (ПС) – *Plantago media* L. з ботанічного розсадника і дикорослих ПВ і ПЛ.

ТШХ виконували за методикою ЄФ [1]. Похідні кавової кислоти виявляли за біло-блакитною флуоресценцією в УФ-світлі при довжині хвилі 366 нм, для виявлення іридоїдів використовували реактив Штала [1].

Рідинну хроматографію (ВЕРХ) проводили на приладі “Agilent 1100”, оснащеному діодматричним детектором і колонкою “Zorbax Eclipse XDB-C18” розміром 150×4,1 мм, з розміром часток сорбенту 5 мкм. Похідні кавової кислоти ідентифікували за характерним УФ-спектром з максимумом в ділянці 330 нм і “плечем” близько 300 нм.

Сума актеозиду та ізоактеозиду була виділена нами з насіння подорожника блошиного за методикою [9].

Кофеїльні похідні глікозидів 3,4-дигідроксифенілетанолу

Основними сполуками цієї групи є пари ізомерів плантамайозид – ізоплантамайозид і актеозид – ізоактеозид. Вміст їх як якісно, так і кількісно у різних видах подорожників сильно варіює [10]: подорожник великий, наприклад, може містити або плантамайозид, або актеозид, або обидві сполуки разом [11].

Для ідентифікації сировини подорожника ланцетного ЄФ пропонує метод ТШХ із використанням як свідка стандартного зразка актеозиду. У дослідженні, проведеному фірмою “Самаг”, де використовували пластинки для високоефективної тонкошарової хроматографії, в обох комерційних препаратах подорожника на рівні плями актеозиду видно лише слабке світіння, характерне для похідних кавової кислоти. Основна ж пляма розташовується трохи вище [12]. У вивчених нами зразках також жодна з основних плям на хроматограмах зразків ПВ, ПЛ, ПС і ПБл (трава) не відповідала основній плямі на хроматограмі насіння ПБл (актеозид) (рис. 1).

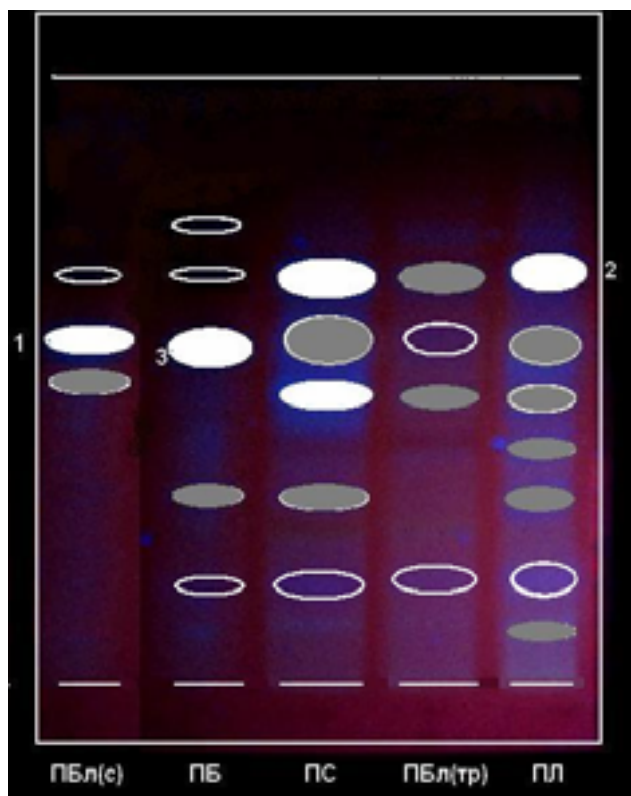


Рис. 1. Виявлення плям – в УФ-світлі (366нм).

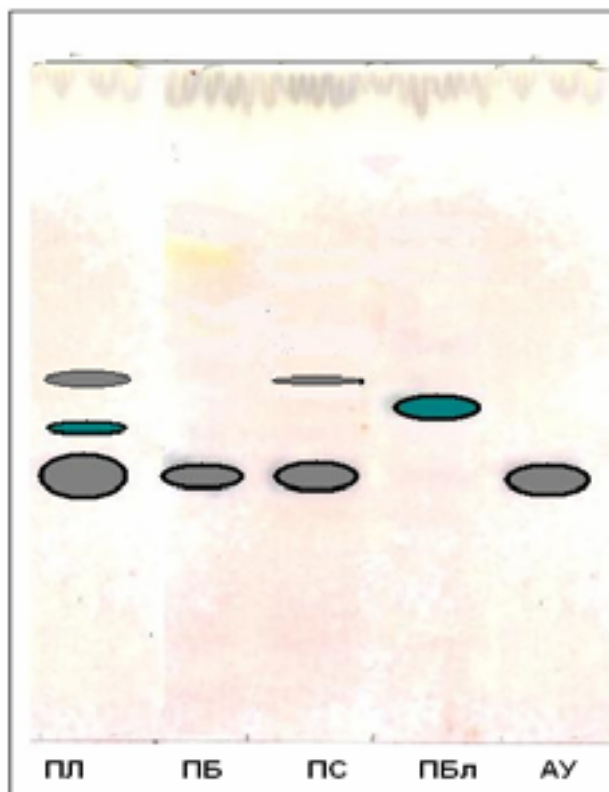


Рис. 2. Виявлення плям після обробки реактивом Шталя.

Тонкошарова хроматографія фенолетаноїдних глікозидів (рис.1) і іридоїдів (рис.2): **ПБ** – подорожник великий; **ПС** – подорожник середній; **ПЛ** – подорожник ланцетний; **ПБл** – подорожник блошиний; **АУ** – аукубин – стандарт (Carl Roth GmbH).

Результати ТШХ і ВЕРХ (рис.3) також показують, що усі вивчені зразки подорожника мають різний якісний і кількісний склад похідних кавової кислоти.

З хроматограми 3,1 видно, що в насінні ПБл переважає актеозид, тоді як у траві – ізоактеозид. Останній є присутнім у всіх вивчених нами видах і є основним компонентом похідних кавової кислоти подорожників ланцетного, середнього і блошиного (трава). Отримані нами результати відрізняються від опублікованих у літературі даних про переважний вміст актеозиду в сировині подорожників [13].

Переважаючим компонентом подорожника великого є речовина з часом утримання близько 12,8 хв і що є, очевидно, плантамайозидом (рис. 3,5). Як ТШХ, так і ВЕР-хроматограми ПБ за розташуванням плям (пиків) похідних кавової кислоти значно відрізняються від хроматограм інших подорожників, що може бути використане для ідентифікації. З іншого боку, це свідчить про те, що подорожник великий не можна вважати рівноцінним замінником ПЛ.

За даними кількісного визначення методом ЄФ [1], ПБ, ПЛ і ПС містять порівняльні між со-

бою кількості суми гідроксикоричних кислот (від 4,0 до 4,6%), ПБл – дещо менше (2,0 – 2,6%).

Іридоїди

Основними іридоїдами подорожників вважаються аукубин і катальпол, вміст яких, за літературними даними, значно коливається залежно від різних факторів [5]. Наприклад, концентрація в сировині ПЛ аукубину і катальполу мінлива як усередині популяції, так і в представників різних популяцій і коливається від слідів до 9 % [14, 15].

Для ТШХ іридоїдів був використаний метод ЄФ у нашій модифікації: для кращого їх виявлення наносили більш концентровані екстракти, а пластинки обробляли реактивом Шталя. Просте нагрівання пластинок після проходження хроматограми, як це рекомендує ЄФ, дає лише слабе забарвлення і непридатне для виявлення аукубину в подорожнику великому. Для напівкількісного визначення плями аукубину на хроматограмах досліджуваних зразків порівнювалися з плямами на хроматограмах стандартного розчину аукубину 3-х різних концентрацій.

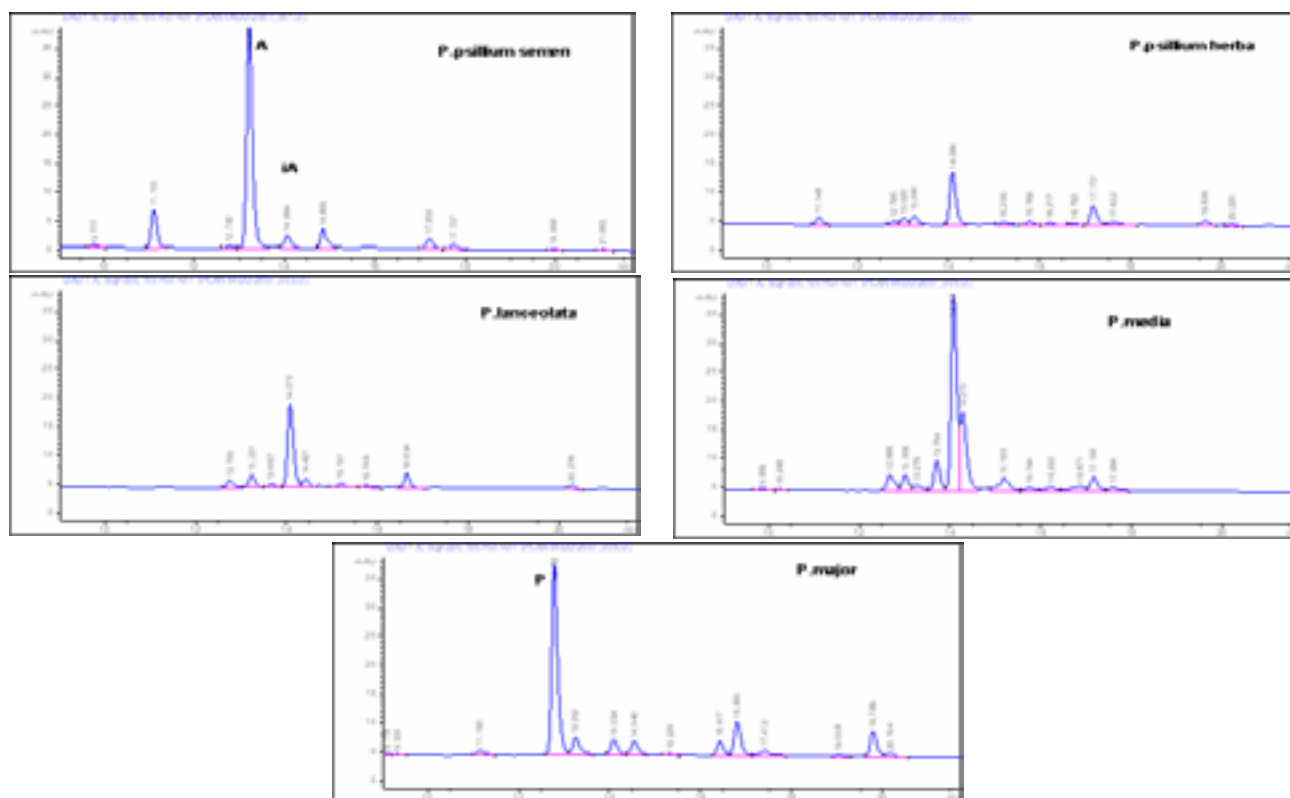


Рис. 3. ВЕР-хроматограми фенолетаноїдних глікозидів подорожників. **A** – актеозид; **iA** – ізоактеозид; **P** – плантамайозид.

Результати й обговорення. У результаті встановлено, що у всіх видах подорожника, крім ПБл, присутній аукубин. Попереднє ТШХ вивчення зразків подорожників різних зборів (дикорослі, культивовані, різні фази розвитку) показало, що вміст аукубіну в межах одного виду може сильно відрізнятися, проте простежується загальна закономірність нагромадження аукубіну: найбільша його міститься в ПЛ (1,5-2%), в середньому – у ПС (0,5-1%) і найменше – у ПВ (0,2-0,8%).

На ТШ хроматограмах подорожника блошиного аукубіну нами не виявлено, але є присутнім неідентифікований іридоїд, що дає зелене забарвлення з реактивом Штала (рис. 2). Дослідження іридоїдів показують, що вони можуть з успіхом застосовуватися в хемотаксономічних цілях [16]. У нашому випадку хроматографічний профіль ПБл дозволяє використовувати метод ТШХ для того, щоб відрізнити сировину цього виду від інших видів роду *Plantago* L.

Висновки. 1. Проведено порівняльне вив-

чення надземної частини 4 видів подорожника – подорожника ланцетного, подорожника великого, подорожника середнього і подорожника блошиного (насіння і трава), культивованих та місцевих популяцій за вмістом фенолетаноїдних глікозидів і іридоїдів.

2. Встановлено, що вивчені види відрізняються за якісним і кількісним складом цих груп сполук. Сировину подорожника великого і подорожника ланцетного за цією ознакою не можна вважати рівноцінними заміниками один одного.

3. Виявлено відмінності в хроматографічних профілях подорожників, які дозволяють їх ідентифікувати: подорожник великий – за вмістом фенолетаноїдного глікозиду плантамайозиду; подорожник ланцетний, подорожник блошиний (трава) і подорожник середній – за наявністю ізоактеозиду; насіння подорожника блошиного – за кількістю актеозиду; подорожник блошиний – за відсутністю іридоїду аукубіну.

Література

1. Деготь А.В., Фурса М.С., Литвиненко В.І. Методи виділення та дослідження іридоїдів // Фармацевтичний журнал – 1982. – № 3. – С. 42-46.
2. Литвиненко В.І., Попова Н.В., Окерт І.Л., Остря-

кова Т.Ю. К стандартизації растительного сырья видов подорожника // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. – 2006. – Вип. XV, Т.1. – С. 102-106.

3. Оленников Д.Н., Samuelsen A.B., Танхаева Л.М. Подорожник большой (*Plantago major* L.). Химический состав и применение // Химия растительного сырья. – 2007. – № 2. – С. 37–50.
4. Ribwort plantain (*Plantaginis lanceolatae folium*) 01/2005:1884/ European Pharmacopoeia 5.0.- P.2368-2369. Electronic version.
5. Herb & Supplement Encyclopedia // www.florahealth.com/flora/home/canada/healthinformation/encyclopedias/PlantainLeaf.asp.
6. www.toddcaldecott.com/plantain.html.
7. Semen *Plantaginis* // WHO monographs on selected medicinal plants. – Geneva, WHO, 1999. – Vol. 1. – P. 202-212.
8. Duke J. Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases. Agricultural Research Services // <http://www.ars-grin.gov/duke/>.
9. Lia L., Tsaob R., Liua Z. et al. Isolation and purification of acteoside and isoacteoside from *Plantago psyllium* L. by high-speed counter-current chromatography // Journal of Chromatography A. – 2005. – 1063. – P. 161-169.
10. Ronsted N., Gobel E., Franzyk H. et al. Chemotaxonomy of *Plantago*. Iridoid Glycosides and Caffeoyl Phenylethanoid Glycosides // Phytochemistry. – 2000. – Vol. 55. – P. 337-348.
11. Molgaard P. Population Genetics and Geographical Distribution of Caffeic Acids Esters in Leaves of *Plantago major* in Denmark // Journal of Ecology. – 1986. – V. 74. – P. 1127-1137.
12. http://www.camag.com/downloads/protected/herbals/F-27_plantago.pdf.
13. Tamura Y., Nishibe S. Changes in the concentrations of bioactive compounds in plantain leaves // J. Agric. Food Chem. – 2002. – Vol. 50, № 9. – P. 2514-2518.
14. Bowers M.D. Iridoid glycosides // Rosenthal G.A., Berenbaum M.R. (eds.). Herbivores: Their Interaction with Plant Secondary Metabolites, 2nd ed. Academic Press, Orlando, 1991. – P. 297-325.
15. Marak H.B., Biere A., Van Damme J.M.M. Direct and correlated responses to selection on iridoid glycosides in *Plantago lanceolata* L. // J. Evol. Biol. – 2000. – Vol. 13. – P. 985-996.
16. Taskova R., Evstatieva L., Handjieva N., Popov S. Iridoid patterns of genus *Plantago* L. and their systematic significance // Z. Naturforsch. – 2002. – Vol. 57. – P. 42-50.

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФЕНИЛЭТАНОИДНЫХ ГЛИКОЗИДОВ И ИРИДОИДОВ ВИДОВ РОДА *PLANTAGOL*

А.В. Серeda, С.В. Филенко

Опытная станция лекарственных растений Института агроэкологии УААН

Резюме: проведено сравнительное изучение содержания фенолэтанойдных гликозидов и иридоидов в сырье разных видов подорожника методами ТСХ и ВЭЖХ. Установлено, что проанализированные образцы подорожников большого, среднего, ланцетного и блошного отличаются по качественному и количественному составу этих групп соединений. Сырье подорожника большого и подорожника ланцетного по этому признаку нельзя считать равноценными заменителями друг друга. Выявлены отличия в хроматографических профилях подорожников, позволяющие их идентифицировать.

Ключевые слова: подорожник, аукубин, актеозид, хроматография.

CHROMATOGRAPHIC INVESTIGATION OF PHENYLETHANOID GLYCOSIDES AND IRIDOIDS IN SEVERAL *PLANTAGO* SPECIES

O.V. Sereda, S.V. Filenko

Research Station of Medicinal Plants of Institute of Agroecology of UAAS

Summary: HPLC and TLC investigation was used for determination of phenylethanoid glycosides and iridoids in raw material of several *Plantago* species growing in Poltava region: *Plantago major* L., *P. lanceolata* L., *P. psyllium* L. and *P. media* L. Significant differences appeared between phenylethanoid and iridoid contents in examined species. It is impossible to consider the herbal drug "Ribwort plantain" (*Plantaginis lanceolatae folium*) as equivalent substitute of *Plantago major* by this characteristics. Specific chromatographic differences of *Plantago* species were identified.

Key words: plantago, aucubine, acteoside, chromatography.