

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ФЛАВОНОЇДІВ В ТРАВІ *CIRSIIUM VULGARE* (SAVI) TEN. ТА *CIRSIIUM ARVENSE* (L.) SCOP.

Попова Я.В., Мазулін О.В.

Запорізький державний медичний університет

Перспективним джерелом сучасних препаратів вважають нетоксичні рослини, які містять біологічно активні флавоноїди. Методом ВЕРХ встановлено накопичення в траві осоту звичайного (*Cirsium vulgare* (Savi) Ten.) та польового (*Cirsium arvense* (L.)) до 6 флавоноїдів та 2 гідроксикоричних кислот. Ідентифіковані: лютеолін, лютеолін-7-глікозид, рутин, кверцетин, лінарин, апігенін, хлорогенова та кавова кислоти. Рослинну сировину заготовлено під час цвітіння. Методом спектрофотометричного аналізу встановлено вміст суми флавоноїдів в траві *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. до $2,15 \pm 0,15\%$, *Cirsium arvense* (L.) – до $3,10 \pm 0,22\%$.

Ключові слова: флавоноїди, високоефективна рідинна хроматографія, спектрофотометрія, трава, осот звичайний (*Cirsium vulgare* L.), осот польовий (*Cirsium arvense* (L.)).

Постановка проблеми. Актуальною проблемою сучасної фармації є фітохімічне дослідження перспективних видів лікарських рослин, розробка сучасних методів ідентифікації та визначення вмісту біологічно активних сполук, впровадження в практику нових методів стандартизації рослинної сировини.

Перспективними для фармакогностичного дослідження та створення високоефективних фітопрепаратів є представники роду *Cirsium* L. (Осот) род. Asteraceae (Айстрові) що складають до 300 видів багаторічних трав'янистих рослин у світовій флорі.

Вони широко розповсюджені на території країн Європи, Північній Африці, Північній та Центральній Америці. В Україні на наш час ідентифіковано понад 30 видів цього роду [5, 6, 7, 9, 16, 23].

Найбільш розповсюдженими та перспективними для застосування в медицині України є осот звичайний (*Cirsium vulgare* (Savi) Ten.) та польовий (*Cirsium arvense* (L.)).

Настої та відвари з трави та коренів цих рослин та філогенетичне споріднені до них видів використовують в науковій та народній медицині багатьох країн в якості ефективних засобів проти-запальної, протипухлинної, гепатозахисної та гепатопротекторної дії [6, 7, 17, 18, 23].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Дослідженнями вітчизняних та закордонних вчених встановлено, що біологічна активність видів роду *Cirsium* L. пов'язана з накопиченням під час вегетації насамперед біологічно активних флавоноїдів та окремих гідроксикоричних кислот [17, 18, 19, 22].

Флавоноїди є найбільш поширеними в рослинах сполуками, які мають структуру діфенілпропану. Відомо, що глікозиди флавоноїдів мають добру розчинність у воді або розведеному спирті, аглікони речовин добре розчинні в розчинниках органічної природи [3, 8, 11, 12, 21].

Флавоноїди виявляють досить широкий спектр біологічної активності: Р-вітамінну, протіоксидантну, протититоксичну, репаративну, протизапальну, гіпоглікемічну, протимікробну, протисклеротичну, спазмолітичну, гепатопротекторну та ін. [3, 4, 10, 12, 14, 17, 18, 21].

У лікарських рослинах родини айстрові найчастіше ідентифікують похідні флавононів (лютеолін або апігенін та їх глікозиди), які виявляють проти-запальну, сечогінну та спазмолітичну активність, та флавонолів (рутин, кверцетин, кемпферол, квецетегетин), з Р-вітамінною, протизапальною, гіпоазотемічною та сечогінною дією [4, 8, 10, 14, 18, 19, 21, 22].

Однак слід зазначити, що на наш час практично не проведено досліджень стосовно нако-

пичення цих важливих речовин у вегетаційний період рослин.

Тому актуальною проблемою в фітохімічному дослідженні рослин є розробка доступних методів фізико-хімічного аналізу флавоноїдів та визначення їх накопичення в вегетаційний період.

Постановка задачі та її розв'язання. Метою наступної роботи є розробка ефективного та доступного методу контролю якості рослинної сировини *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. та *Cirsium arvense* (L.) за накопиченням біологічно активних флавоноїдів та визначення їх концентрації під час вегетації.

Виклад основного матеріалу дослідження. Осот звичайний (*Cirsium vulgare* (Savi) Ten.) та о. польовий (*Cirsium arvense* (L.) Scop.). Види ростуть як смітники по полях, городах, лісових галявинах, уздовж доріг, у чагарниках [5, 6, 7, 9, 13].

Осот звичайний це дворічна розвинута рослина, вишиною 70-120 см, з міцним стрижневим коренем та прямостоячим розгалуженим стеблом. Листя жорсткі, виімчасті, перисте розгалужені, колючі, низу сирувато-наволочні. Відтворює суцвіття-кошики: колючі, поодинокі, крупні, пурпурові, які складаються з трубчастих квітков. Розмножується рослина насінням та кореневими паростками. Цвіте в червні-серпні. Плід сім'янка, насіння обернено-яйцевидне (2,0-4,0 x 0,6-0,9 x 1,6 мм) [9].

Осот польовий це дворічна розвинута рослина, вишиною 90-160 см. Має пряме, розгалужене стебло, вкрите волосками. Листя цілокраї, зубчасті, з міцними колючками по краях, перисторозсічені. Коренева система стрижнева. Розмножується рослина насінням та кореневими паростками. Цвіте в червні – вересні. Відтворює суцвіття-кошики з рожевими квітками. Плід сім'янка, насіння обернено-яйцевидне (2,5-4,5 x 0,7-1,0 x 1,7 мм) [9].

Рослинну сировину (траву), що включала суцвіття та верхіві листя було заготовлено в різних регіонах України (червень-серпень) 2012-2014 рр. Сушіння проводили повітряно-тіньовим методом ($t = 25-30^{\circ}\text{C}$).

Присутність флавоноїдів у рослинній сировині підтверджували за допомогою специфічних хімічних реакцій (ціанідінова проба та її варіант по Бріанту), з розчинами лугів, солей неорганічних елементів (заліза, купрум, свинцю), реактивом борно-лимонним. Проводили також ідентифікацію методомом ПХ та ТПХ на пластинках «Silufol UF – 254» [11, 15]. Попередніми дослідженнями методом ВЕРХ встановлювали присутність, якісний склад та переважаючі компоненти.

Методика визначення: 0,50 г (точна наважка) подрібненої сировини вносили до конічної колби ем-

ністю 100 мл, обладнану зворотним холодильником, додавали 25 мл 50% спирту етилового та нагрівали на киплячому водяному огрівнику протягом 45 хв.

Отриманий екстракт охолоджували до кімнатної температури та фільтрували крізь фільтр «червона стрічка» в мірну колбу ємністю 25,00 мл. Об'єм витягу доводили до об'єму 25 мл 50% спиртом етиловим. Хроматографічне вивчення досліджуваних зразків проводили на ВЕРХ Shimadzu LC-20 Prominence.

Умови аналізу: колонка Phenomenex Luna C18 (2), довжиною 250 мм ($d = 4,6$ мм), розмір частинок 5 мкм; температура колонки – 35°C; довжина хвилі детектування – 330 нм; швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв; об'єм проби – 5 мкл.

Рухома фаза: елюент А: 0,1% розчин трифтороцтової кислоти в воді дистильованій; елюент Б: 0,1% розчин трифтороцтової кислоти в ацетонітрилі. Ідентифікацію компонентів проводили за часом утримування та відповідності УФ-спектрів відомим речовинам-стандартам [2]

За результатами попередніх досліджень було встановлено присутність флавоноїдів: лютеоліну, лютеолін-7-глікозиду, рутину, кверцетину, лінарину, апігеніну, хлорогенової та кавової кислот.

Кількісне визначення суми флавоноїдів проводили запропонованим методом УФ-спектрофотометрії з перерахунком на переважаючий компонент лютеолін [1, 8, 11].

Для цього близько 0,5 г (точна наважка) подрібненої рослинної сировини ($d = 0,1$ мм) вносили у колбу ємністю 100 мл, додавали 30 мл сирту етилового 96%, нагрівали на киплячому водяному огрівнику ($t = 50-60^\circ\text{C}$) протягом 15 хв.

Одержані витяги фільтрували в мірну колбу ємністю 100 мл. Екстракцію повторювали ще двічі в таких же умовах, по 30 мл протягом 15 хв. Розчини охолоджували, фільтрували в ту ж колбу і доводили об'єм розчину тим же розчинником до позначки. 5 мл витягу вносили до мірної колби ємністю 50 мл і доводили тим же розчинником до позначки. Вимірювали оптичну густину на спектрофотометрії Specord-200 Analytic Jena UV-vis при $\lambda = 354$ нм в кюветі з товщиною шару 10 мм.

В якості розчину порівняння використовували спирт етиловий 96%. Паралельно визначали оптичну густину робочого стандартного зразку лютеоліну в ідентичних умовах (таблиці 1, 2).

Отримані дані свідчать про високий рівень накопичення флавоноїдів в траві досліджуваних видів *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. та *Cirsium arvense* (L.) Scop. При цьому слід зазначити, що більш високий вміст цих речовин був більш характерним для трави *Cirsium arvense* (L.) від 2,75+0,18% до 3,10+0,22%. Відповідно для трави *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. спостерігали декілька більш низькі концентрації: від 1,81+0,08% до 2,10+0,12%.

Список літератури:

1. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств / Под ред. член. – кор. НАН Украины В. П. Георгиевского. – Х.: НТМТ, 2011. – Т. 1. – 464 с.
2. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств / Под ред. член. – кор. НАН Украины В. П. Георгиевского. – Х.: НТМТ, 2011. – Т. 2. – 474 с.
3. Биологически активные вещества растительного происхождения / Б. Н. Головкин, Р. Н. Руденская, И. А. Трохимова, А. И. Шретер. – М.: Наука, 2001. – 764 с.
4. Доркина Е. Г. Изучение гепатопротекторного действия природных флавоноидных соединений [Текст] / Е. Г. Доркина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2004. – С. 41-44.
5. Коротченко І. А. Степова рослинність Київського плато [Текст] / І. А. Коротченко, Т. В. Фіцайло // Наукові записки. – 2003. – Т. 21: Біологія та екологія. – С. 20-25.
6. Кортиков В. Н. Полная энциклопедия лекарственных растений [Текст] / В. Н. Кортиков, А. В. Кортиков. – Ростов н/Д.: Изд-во дом «Проф-Пресс», 2002. – 800 с.
7. Кюсов П. А. Лекарственные растения: самый полный справочник / П. А. Кюсов. М.: Эксмо – Пресс, 2011. – 939 с.

Таблиця 1
Результати кількісного визначення суми флавоноїдів в траві *Cirsium vulgare* (Savi) Ten., ($\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$), % $\mu = 6$, (червень-серпень) 2012–2014 рр.

№ з/п	Місце заготівлі	Вміст суми флавоноїдів
1.	Запорізька обл, м. Токмак, 2012 р.	2,10 \pm 0,12
2.	Дніпропетровська обл, с. Троїцьке, 2013 р.	2,15 \pm 0,15
3.	Запорізька обл, с. Дубова балка, 2014 р.	1,87 \pm 0,09
4.	Донецька обл, м. Краматорськ, 2012 р.	1,81 \pm 0,08
5.	АР Крим, Никітський ботанічний сад, 2013 р.	2,00 \pm 0,09
6.	Запорізька обл, м. Васильківка, 2014 р.	1,88 \pm 0,09

Таблиця 2
Результати кількісного визначення суми флавоноїдів в траві *Cirsium arvense* (L.) Scop., ($\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$), % $\mu = 6$, (червень-серпень) 2012–2014 рр.

№ з/п	Місце заготівлі	Вміст суми флавоноїдів
1.	Дніпропетровська обл, м. Солоне, 2012 р.	3,10 \pm 0,22
2.	Дніпропетровська обл, м. Дніпродзержинськ, 2013 р.	2,75 \pm 0,18
3.	Запорізька обл, м. Оріхів, 2014 р.	2,80 \pm 0,18
4.	Донецька обл, м. Дружковка, 2012 р.	3,00 \pm 0,20
5.	АР Крим, Никітський ботанічний сад, 2013 р.	2,90 \pm 0,19
6.	Запорізька обл, м. Володимирівка, 2014 р.	3,05 \pm 0,20

Висновки:

1. Методом високоефективної рідинної хроматографії в траві осоту звичайного (*Cirsium vulgare* (Savi) Ten. та осоту польового (*Cirsium arvense* (L.)) встановлено присутність до 6 флавоноїдів та 2 гідроксикоричних кислот.

2. Розроблено спектрофотометричний метод кількісного визначення суми флавоноїдів в траві видів досліджуваних видів.

3. Накопичення флавоноїдів під час вегетації складало в траві *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. від 1,81+0,08% до 2,10+0,12%, *Cirsium arvense* (L.) від 2,75+0,18%.

4. За високим вмістом суми флавоноїдів трава (*Cirsium vulgare* (Savi) Ten. та (*Cirsium arvense* (L.)) перспективна для отримання лікарських засобів протизапальної, протипухлинної, гепатозахисної та гепатопротекторної дії.

8. Лобанова А. А. Исследование биологически активных флавоноидов в экстрактах из растительного сырья [Текст] / А. А. Лобанова, В. В. Будаева, Г. В. Сакович // Химия раст. сырья. – 2004. – № 1. – С. 47-52.
9. Определитель высших растений Украины [Текст] / Д. Н. Доброчаева [и др.]; под ред. Ю. Н. Прокудина. – К.: Наук. Думка, 1987. – 548 с.
10. Севастьянова Т. В. Характеристика сучасних гепатозахисних засобів (огляд літератури) [Текст] / Т. В. Севастьянова // Вісн. Харк. нац. ун-ту. – Серія «Медицина». Вип. 9. – 2004. – № 639. – С. 82-90.
11. Сур С. В. Методы идентификации и количественного определения флавоноидов в растительных сборах [Текст] / С. В. Сур, О. Г. Макаренко, Т. В. Герасимчук // Фармац. журн. – 2001. – № 4. – С. 85-87.
12. Филиппова Г. Г. Основы биохимии растений [Текст] / Г. Г. Филиппова, И. И. Смолин. – Минск.: БГУ. – 2004. – 136 с.
13. Цвелев Н. Н. Определитель сосудистых растений Северо – Западной России [Текст] / Н. Н. Цвелев. – СПб.: Изд-во СПУВА, 2000. – 781 с.
14. Чекман І. С. Флавоноїди – клініко-фармакологічний аспект [Текст] / І. С. Чекман // Фітотерапія в Україні. – 2000. – № 2. – С. 3-5.
15. Chemical Fingerprint and Quantitative Analysis of *Cirsium setosum* by LC / L. Yauhua, S. ei, L. Xiahua, W. Dongzhiw, Z. Xiaoli // Chromatographia. – 2009. – V. 70, № 1-2, p. 125-130.
16. Gordon E. D. Tiley. Biological Flora of the British Isles: *Cirsium arvense* (L.) Scop. / E. D. Tiley Gordon // J. of Ecology. – 2010. – Vol. 98, № 4. – P. 938-983.
17. In vitro antimicrobial activity of the Chemical Constituents of *Cirsium arvense* (L.) Scop. / Ul Zia, K. Haq, K. Shafiullah, C. Yongmei et al. // J. of medical plant research – 2013. – Vol. 7, № 25. – P. 1894-1898.
18. Jordon-Thaden I. E. Chemistry of *Cirsium* and *Carduus* / I. E. Jordon-Thaden, S. M. Louda // Biological Systematic and Ecology. – 2003. – Vol. 31, № 12. – P. 1353-1396.
19. Nazaruk J. Components and antioxidant activity of fruits of *Cirsium palustre* and *Cirsium rivulare* / J. Nazaruk, A. Wajs-Bonikowska, R. Bonikowski // Chemistry of Natural Compounds – 2012. – Vol. 48, № 1. – P. 9-10.
20. Quantitative HPLC determination of phenolic compounds in yarrow / R. Benetis, J. Radusiene, V. Jakstas etc. // Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2008. – Vol. 42, № 3. – P. 51-54.
21. Structure – antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species / P. Montoro, A. Braca, C. Pizza, N. De Tommasi // Food Chemistry. – 2005. – Vol. 92, № 2 – P. 349-355.
22. Studies on chemical components of *Cirsium segestum* / Q. Zhou, L. Chen, Z. P. Liu, Q. I. Deng // J. of Chinese Medical Materials. – 2007. – V. 30, № 1, p. 45-47.
23. Wright B. R. Canada thistle (*Cirsium arvense* (L.) Scop.) dynamics in young, post fire forest in Yellowstone National Park, Northwestern Wyoming / B. R. Wright, O. B. Tinker // Plant Ecology – 2012. – Vol. 213, № 4. – P. 613-624.

Попова Я.В., Мазулин А.В.

Запорожский государственный медицинский университет

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В ТРАВЕ *CIRSIUM VULGARE* (SAVI) TEN. И *CIRSIUM ARVENSE* (L.) SCOP.

Аннотация

Перспективным источником современных препаратов являются нетоксичные растения, содержащие биологически активные флавоноиды. Методом ВЭЖХ установлено накопление в траве осота обыкновенного (*Cirsium vulgare* (Savi) Ten.) и полевого (*Cirsium arvense* (L.)) до 6 флавоноидов и 2 гидроксикоричных кислот. Идентифицированы: лютеолин, лютеолин-7-гликозид, рутин, кверцетин, апигенин, линарин, хлорогеновая и кофейная кислоты. Методом спектрофотометрического анализа установлено содержание суммы флавоноидов в траве *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. до $2,15 \pm 0,15\%$, *Cirsium arvense* (L.) – до $3,10 \pm 0,22\%$.

Ключевые слова: флавоноиды, высокоэффективная жидкостная хроматография, спектрофотометрия, трава, осот обыкновенный (*Cirsium vulgare* L.), осот полевой (*Cirsium arvense* (L.)).

Popova Ya.V., Mazulin O.V.

Zaporizhzhia State Medical University

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF FLAVONOID CONTENT IN THE HERBS OF *CIRSIUM VULGARE* (SAVI) TEN. AND *CIRSIUM ARVENSE* (L.)

Summary: Promising source of modern drugs are nontoxic plants containing biologically active flavonoids. By HPLC of herbs *Cirsium vulgare* (Savi) Ten., *Cirsium arvense* (L.) presence of 6 flavonoids and 2 phenolcarboxylic acids were found. The authors identified: luteolin, luteolin-7-glycoside, rutin, quercetin, apigenin, linarin, chlorogenic and caffeic acids. Spectrophotometric analysis revealed total flavonoids content in *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. herb – up to $2,15 \pm 0,15\%$, and in *Cirsium arvense* (L.) herb – up to $3,10 \pm 0,22\%$.

Keywords: flavonoids, HPLC, spectrophotometric analysis, herb, *Cirsium vulgare* (Savi) Ten., *Cirsium arvense* (L.).