

Н.В. Корожан, Г.Н. Бузук

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА СПИРТОВЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ ТРАВЫ ВИДОВ ЧЕРЕДЫ МЕТОДОМ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет

Проведен сравнительный анализ компонентного состава спиртовых извлечений из травы видов череды методом жидкостной хроматографии. Основным компонентом извлечений из травы череды трехраздельной, травы череды олиственной и травы череды лучистой является лютеолин-О-7-глюкопиранозид, в извлечении из травы череды поникшей – неидентифицированный флавоноид с временем удерживания 22,6 мин.

Показано сходство компонентного состава травы череды трехраздельной и череды олиственной, трава череды поникшей значительно отличается от других исследуемых видов сырья.

Ключевые слова: череды трава, компонентный состав, жидкостная хроматография.

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия возрос интерес к изучению представителей рода череда, как растений, обладающих широким спектром фармакологической активности.

Для официального лекарственного растительного сырья – череды травы, источником которого является череда трехраздельная, установлена антиоксидантная, противомикробная, противогрибковая, гепатопротекторная, иммуностимулиру-

ющая и гипотензивная активность [1-5]. Указанные виды активности обусловлены наличием в траве череды флавоноидов (флавонов, халконов, ауранов), эфирного масла и полиацетиленов [1,2].

В настоящее время череда трехраздельная не введена в культуру, а места ее естественного обитания значительно сокращаются [6]. В связи с этим поиск альтернативных источников травы череды является актуальным. На территории Республики Беларусь, помимо указанного вида череды, встречаются череда поникшая, череда олиственная, череда лучистая и череда сrostнолопастная [7]. Череда лучистая и череда сrostнолопастная встречаются относительно редко, ареал череды поникшей значительно шире. Особое внимание привлекает череда олиственная, которая, являясь инвазионным видом, в значительной мере вытесняет в местах совместного произрастания череду трехраздельную [8].

Целью данной работы является изучение компонентного состава спиртовых извлечений из травы видов череды, произрастающих на территории Республики Беларусь, методом жидкостной хроматографии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлась трава череды трехраздельной, череды поникшей, череды олиственной и череды лучистой. Сырье было заготовлено в июле-августе 2012 года в местах ее естественного произрастания на территории Гродненской и Витебской областей.

Спиртовые извлечения из исследуемого сырья получали нагреванием на водяной бане в течение 30 минут, используя в качестве экстрагента спирт этиловый 70% (об/об), соотношение сырья и экстрагента 1 : 20. Извлечения охлаждали до комнатной температуры и центрифугировали при 5000 об/мин в течение 10 минут.

Изучение компонентного состава полученных спиртовых извлечений проводили на жидкостном хроматографе Agilent 1100 (Hewlett Packard, США – Германия), в комплекте с системой подачи и дегазации на четыре растворителя G1311A, диодно-матричным детектором G1315B, термостатом колонок G1316A, устройством для автоматического ввода образцов (автосэмплер) G1313A. Сбор и обработку данных осуществляли с помощью компьютерной программы Agilent ChemStation for LC 3D.

Условия хроматографирования использовали следующие. Хроматографическая колонка Zorbax SB-C18 длиной 250 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная октадецильным силикагелем с размером зерен 5 мкм (производитель Agilent Technologies), температура колонки 30°C; состав подвижной фазы: фосфатный буферный раствор с pH=3 и ацетонитрил. Режим элюирования – градиентный, скорость подачи подвижной фазы – 1 мл/мин. Схема изменения состава подвижной фазы с течением времени представлена в таблице 1.

Объем вводимой пробы составлял 10 мкл. В максимумах хроматографических пиков были записаны спектры поглощения в диапазоне длин волн от 190 до 400 нм, шаг 1 нм.

В качестве стандартных образцов флавоноидов использовали рутин, кверцетин, лютеолин, лютеолин-О-7-глюкозид. Идентификацию соединений проводили, сравнивая время удерживания и максимумы спектров поглощения пиков со стандартными образцами и литературными данными [9–11].

Обработку данных проводили с использованием MS Excel и Statistica 6.1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ хроматограмм извлечений из травы видов череды проводили при двух

Таблица 1 – Схема изменения состава подвижной фазы с течением времени

Время (мин)	Буферный раствор pH=3 (% , об/об)	Ацетонитрил (% , об/об)
0	95	5
0→20	95→80	5→20
20→50	80	20
50→60	80→60	20→40
60→61	60→95	40→5
61→65	95	5

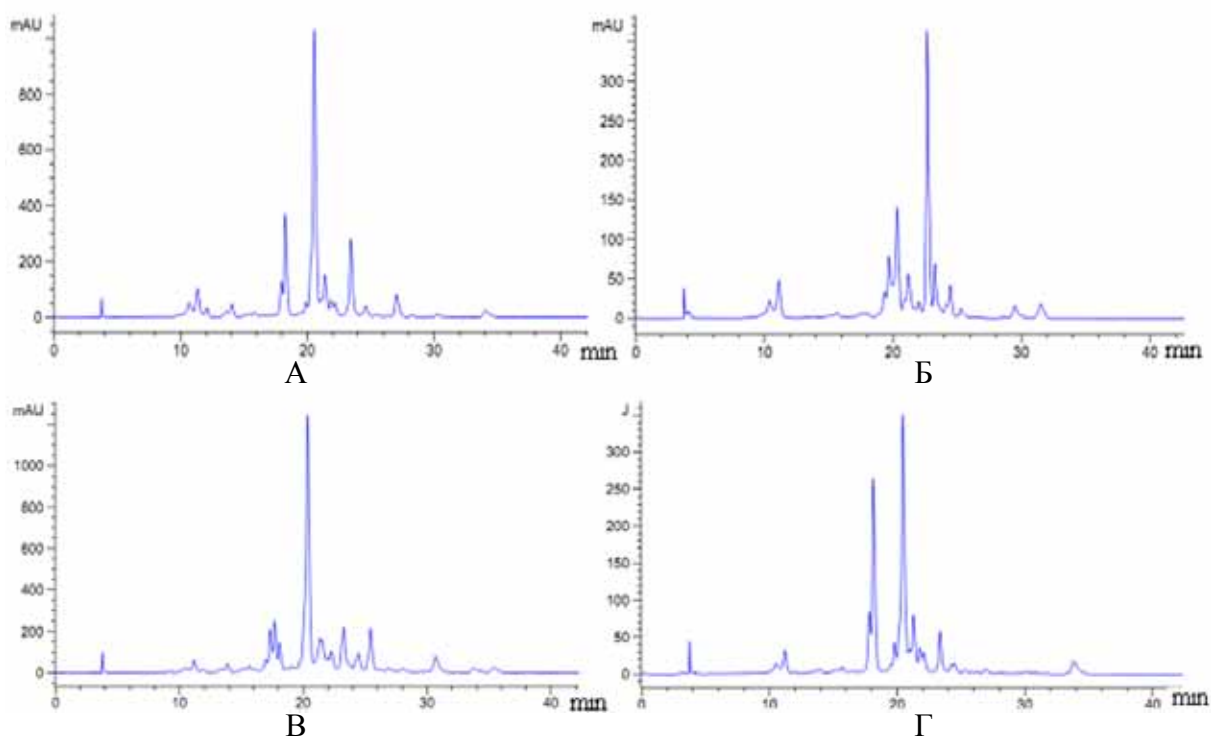
длинах волн детекции – 220 нм (полиацетилены) и 360 нм (флавоноиды и гидроксикоричные кислоты).

На рисунке 1 представлен вид хроматограмм спиртовых извлечений из травы четырех видов череды при длине волны детекции 360 нм.

Основным компонентом спиртового извлечения из травы череды трехраздельной (рисунок 1А) является соединение со временем удерживания 20,53 мин. Данное соединение идентифицировано нами как

лютеолин-О-7-глюкопиранозид (цинарозид), спектр поглощения и структурная формула которого представлены на рисунках 2 и 3, соответственно.

В спиртовом извлечении из травы череды трехраздельной также идентифицирован лютеолин (время удерживания 34,0 мин) и обнаружены его гликозиды (соединения 8 и 9, таблица 2). В сумме содержание этих соединений в извлечении составляет около 55% от содержания всех обнаруженных компонентов.



А – череда трехраздельная; Б – череда поникшая; В – череда олиственная; Г – череда лучистая
Рисунок 1 – Хроматограммы спиртовых извлечений из травы видов череды при длине волны детекции 360 нм

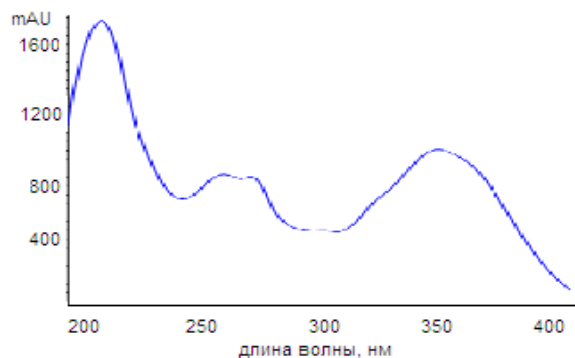


Рисунок 2 – Спектр поглощения лютеолин-О-7-глюкопиранозид

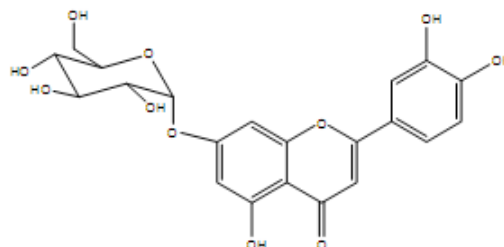


Рисунок 3 – Структурная формула лютеолин-О-7-глюкопиранозид

Около 20% от содержания всех соединений извлечения из травы череды трехраздельной приходится на гидроксикоричные кислоты – производные кофейной и хинной кислот и незамещенные халконы (вещества 1–5, 10, 14 и 15), и столько же – на халконы, имеющие гидроксильные радикалы в положениях 3' и 4' (вещества 18, 21–24, 31) (таблица 2). Для последних характерно наличие максимума поглощения в диапазоне длин волн 340–390 нм и мало выраженного максимума (часто в виде плато) – при длинах волн 220–270 нм.

Вещества 11,12 и 26 (таблица 2) идентифицированы как ауруны. Основным максимумом поглощения данных соединений отмечается в диапазоне 380–430 нм (на спектрах поглощения, снятых в исследуемом диапазоне длин волн, отмечался рост интенсивности поглощения при длине волны выше 370 нм).

При анализе хроматограммы спиртового извлечения из травы череды трехраздельной при длине волны детекции 220 нм нами обнаружено два полиацетилена (таблица 3), содержание которых в из-

Таблица 2 – Содержание флавоноидов (%*) в спиртовых извлечениях из травы видов череды

№ п/п	Время удерживания, мин	Содержание флавоноидов, %				Максимумы спектров поглощения, нм
		трава череды трехраздельной	трава череды поникшей	трава череды олиственной	трава череды лучистой	
1	10,4	3,00	3,98	1,07	1,96	218, 234, 303, 326
2	11,1	4,24	5,38	1,86	3,34	218, 234, 302, 326
3	12,1	1,03	-	0,32	0,17	218, 232, 301, 326
4	13,6	0,89	0,11	0,48	-	215, 232, 302, 324
5	14,0	1,56	-	1,02	0,55	218, 231, 303, 325
6	15,6	0,59	0,62	0,84	0,60	272, 332
7	17,3	-	0,23	5,02	-	260, 276, 350
8	17,6	3,77	0,51	5,81	8,71	254, 266, 348
9	18,3	10,97	0,44	3,49	22,20	254, 266, 348
10	19,3	0,34	3,52	0,76	0,69	218, 232, 294, 328
11	19,6	0,46	7,67	-	3,13	314, свыше 400
12	19,9	1,46	-	-	-	246, 278, 330, свыше 400
13	20,3	38,74	15,80	40,14	37,37	253, 264, 348
14	21,1	1,83	1,75	-	2,36	217, 234, 302, 327
15	21,3	5,45	6,67	5,70	-	218, 236, 302, 328
16	21,7	-	-	-	7,68	248, 296, 332
17	22,6	-	32,47	-	-	256, 348
18	23,2	10,25	7,53	8,82	5,48	244, 261, 382
19	24,3	2,09	-	-	0,80	250, 266, 348
20	24,4	-	3,78	3,98	1,39	258, 301, 380
21	25,4	0,58	1,34	6,75	-	206, 260, 375
22	26,4	0,23	-	1,12	-	266, 274, 380
23	27,0	3,75	-	-	0,84	258, 378
24	28,2	0,46	-	-	-	258, 262, 380
25	29,4	-	2,93	-	-	242, 258, 262, 379
26	30,2	0,73	-	3,86	-	258, 270, 394
27	31,5	-	3,06	-	-	244, 260, 310, 380
28	34,0	1,75	-	1,35	-	254, 266, 348
29	35,4	-	-	1,45	-	206, 250, 374
30	44,5	-	-	0,95	-	202, 260, 380
31	45,1	3,90	-	-	-	260, 380

* Примечание: содержание флавоноидов (%) рассчитывалось как отношение площадей отдельных пиков на хроматограмме к суммарной площади всех хроматографических пиков при длине волны детекции 360 нм.

влечении составляло около 1,9%. Спектр основного полиацетилена представлен на рисунке 4 А.

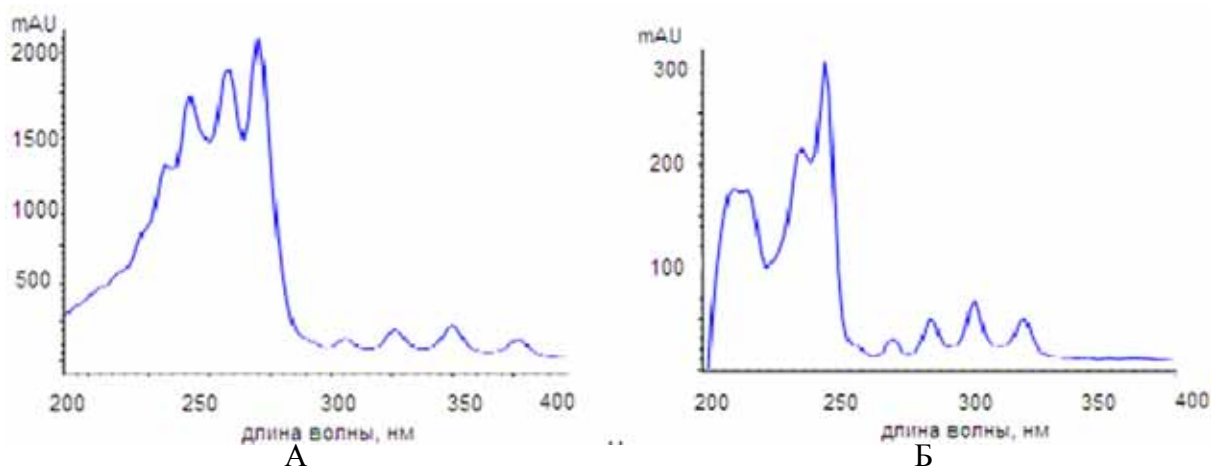
Основным компонентом спиртового извлечения из травы череды поникшей является неидентифицированный флавоноид группы флавона, предположительно, кверцетрин [12], с временем удерживания 22,65

мин (рисунок 1Б), спектр которого представлен на рисунке 5. Его содержание в полученном извлечении составляет 32,5%, тогда как на лютеолин-О-7-глюкозид приходится только 15,8%. Содержание других производных лютеолина в извлечении из травы череды поникшей составляет около 1% (таблица 2).

Таблица 3 – Содержание полиацетиленов (%*) в спиртовых извлечениях из травы видов череды

Время удерживания, мин	Содержание полиацетиленов, %			
	трава череды трехраздельной	трава череды поникшей	трава череды олиственной	трава череды лучистой
22,1	1,76	1,86	3,34	2,48
26,1	-	-	0,72	-
28,5	-	0,06	-	-
30,7	0,15	0,12	-	0,27
35,5	-	0,05	-	-
37,1	-	0,11	-	-
38,1	-	-	0,23	-
40,7	-	-	0,79	-
57,4	-	-	0,13	-

*Примечание: содержание флавоноидов (%) рассчитывалось как отношение площадей отдельных пиков на хроматограмме к суммарной площади всех хроматографических пиков при длине волны детекции 360 нм.



А – полиацетилен с временем удерживания 22,3 мин;
Б – полиацетилен с временем удерживания 30,7 мин

Рисунок 4 – Спектры поглощения полиацетиленов

Для спиртового извлечения из травы череды поникшей характерно наличие тех же гидроксикоричных кислот и незамещенных халконов, что и для извлечений из травы череды трехраздельной (таблица 2). В то же время, для извлечений из травы череды поникшей отмечается большее (почти в 15 раз) содержание аурана 11 (время удерживания 19,6 мин) и отсут-

ствие других представителей этой группы. Процентное содержание в извлечении халконов, имеющих гидроксильные радикалы в положениях 3' и 4', близкое к такому в извлечениях из травы череды трехраздельной. Однако компонентный состав данной группы в извлечениях этих видов сырья значительно отличается (таблица 2).

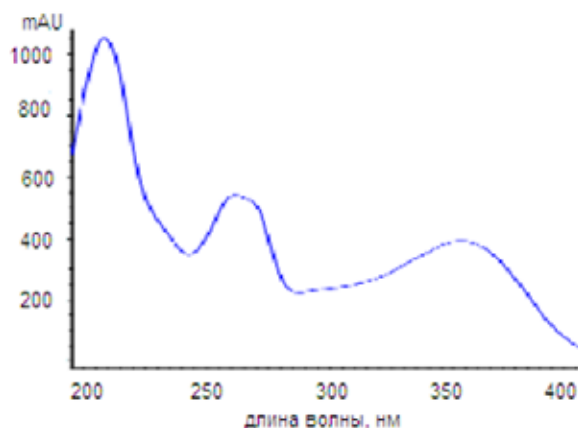


Рисунок 5 – Спектр поглощения флавоноида с временем удерживания 22,65 мин

Содержание полиацетиленов в извлечении из травы череды поникшей несколько выше, чем в извлечении из травы череды трехраздельной (2,2%), и значительная их часть представлена производными фенил-1,3,5,-гептатриина, о чем свидетельствует спектр поглощения, характерный для этого соединения [13] и полиацетиленов с временем удерживания 25, 5; 30,7; 35,5; 37,1 мин (рисунок 4 Б). Основным полиацетиленом в извлечении из травы череды поникшей также является полиацетилен с временем удерживания 22,3 мин (таблица 3).

В спиртовом извлечении из травы череды олиственной основным компонентом, как и в случае извлечения из травы череды трехраздельной, является лютеолин-О-7-глюкопиранозид (рисунок 1В). В данном случае также характерно наличие агликона – лютеолина и других его производных (вещества 8 и 9).

Для извлечения из травы череды олиственной отмечается меньшее содержание гидроксикоричных кислот и незамещенных халконов, компонентный же их состав сходен с таковым для череды трехраздельной и череды поникшей. Основным аураном, в отличие от указанных видов череды, является вещество 26, которое в меньших количествах обнаруживается в извлечении из травы череды трехраздельной. Содержание в извлечении халконов, имеющих гидроксильные радикалы в положениях 3' и 4', составляет 23%, что несколько выше по сравнению с извлечениями из травы череды трехраздельной и череды поникшей; их компонентный состав несколько различается (таблица 2).

Для извлечения из череды олиственной отмечено наибольшее содержание полиацетиленов (5,2%). В этих количествах они обнаруживаются не только при длине волны детекции 220 нм, как для большинства видов, но и при длине волны детекции 360 нм. Основным компонентом извлечения из группы полиацетиленов является вещество с временем удерживания 22,3 мин, как и для других видов череды.

Для извлечения из травы череды лучистой (рисунок 1Г) характерно значительное преобладание группы флавона – на нее приходится 76,7% от содержания всех обнаруженных соединений. При этом основным компонентом, как и для череды трехраздельной, является лютеолин-О-7-глюкопиранозид. Отмечено также наличие в извлечении из травы череды лучистой вещества 16 – неидентифицированного флавона, не обнаруженного в других исследуемых видах череды.

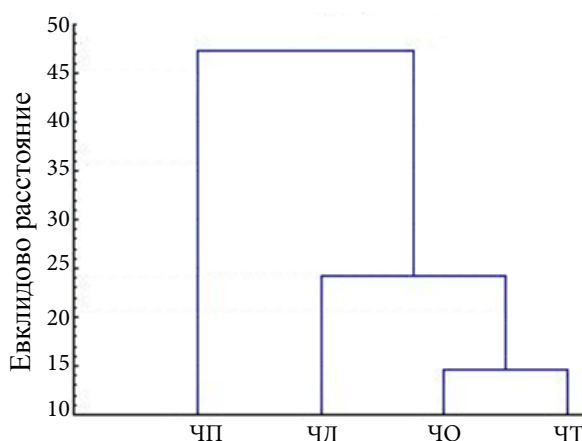
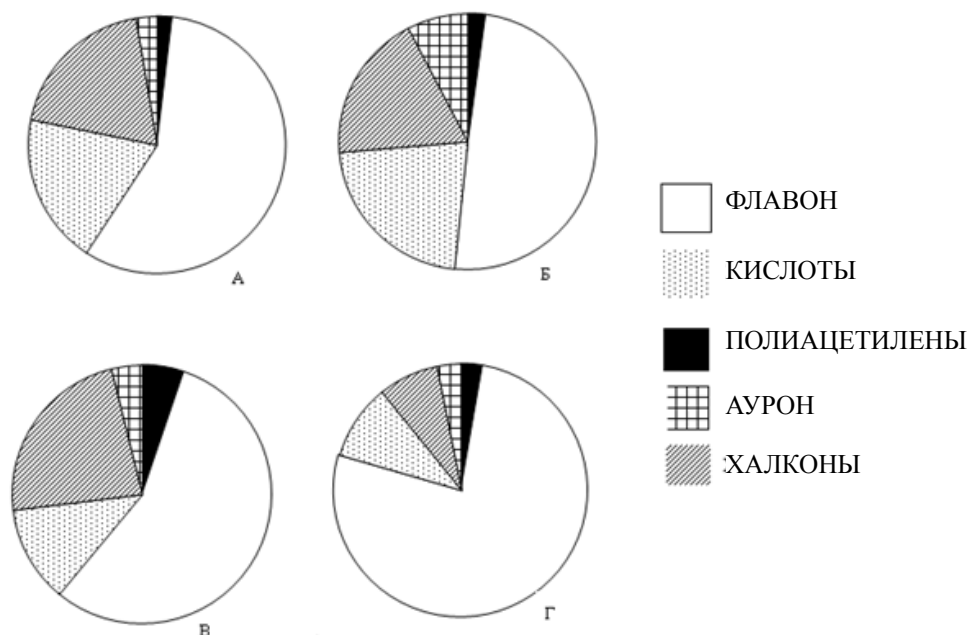
Содержание гидроксикоричных кислот, халконов и ауранов в извлечении из травы череды лучистой меньше, чем для других видов, компонентный состав данных групп немногочислен (таблица 2). Содержание полиацетиленов достаточно велико (3,1%), компонентный состав сходен с таковым для извлечения из травы череды трехраздельной.

Соотношение гидроксикоричных кислот, различных групп флавоноидов и полиацетиленов для извлечений из травы исследуемых видов череды представлено на рисунке 6.

Из рисунка 6 видно, что наибольшее содержание флавонов отмечается в извлечениях из травы череды трехраздельной, череды олиственной и череды лучистой, ауранов – из травы череды поникшей, полиацетиленов – из травы череды олиственной.

Сходство компонентного состава спиртовых извлечений из травы исследуемых видов череды анализировали кластерным методом, оценивая Евклидово расстояние, что представлено на рисунке 7.

Из рисунка 7 видно, что в наибольшей мере близки по компонентному составу спиртовых извлечений трава череды трехраздельной и череды олиственной, трава череды поникшей в наибольшей мере отличается от других исследуемых видов сырья. На основании приведенных данных можно предположить, что трава череды



олиственной может рассматриваться как возможный дополнительный источник получения лекарственного растительного сырья – череды травы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведен сравнительный анализ компонентного состава спиртовых извлечений из травы видов череды методом жидкостной хроматографии. Установлено, что в спиртовых извлечениях травы череды трехраздельной, череды олиственной и череды лучистой основным компонентом является

лютеолин-О-7-глюкопиранозид, а для спиртового извлечения из травы череды поникшей характерно преобладание неидентифицированного флавоноида с временем удерживания 22,6 мин, не обнаруженного в извлечениях из других видов череды.

Отмечено сходство компонентного состава спиртовых извлечений из травы череды трехраздельной и череды олиственной, что позволяет предположить, что трава череды олиственной может рассматриваться как возможный дополнительный источник получения лекарственного растительного сырья – череды травы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований, договор M13M-098 от 16 апреля 2013 года.

SUMMARY

N.V. Karazhan, G.N. Buzuk
THE COMPARATIVE ANALYSIS
OF COMPONENT COMPOSITION
OF THE SPIRIT EXTRACTS FROM
BIDENS SPECIES HERB BY LIQUID
CHROMATOGRAPHY METHOD

The comparative analysis of component composition of the spirit extracts from *Bidens* species herb is carried out by liquid chromatography method. The basic component of extracts from *Bidens tripartita* herb, *Bidens frondosa* herb and *Bidens radiata* herb is luteolin-O-7-glucopyranoside, in extract from *Bidens cernua* herb – non-identified flavonoid with time of keeping of 22,6 minutes.

Similarity of component composition of *Bidens tripartita* herb and *Bidens frondosa* herb is shown, *Bidens cernua* herb considerably differs from other investigated species of raw materials.

Keywords: bur marigold herb, component composition, liquid chromatography.

ЛИТЕРАТУРА

1. Antiinflammatory activity of a HPLC-fingerprinted aqueous infusion of aerial part of *Bidens tripartita* L. / O.N. Pozharitskaya [et al.] // *Phytomedicine*. – 2010. – Vol. 17, № 6. – P. 463–468.

2. Antimicrobial and antifungal activities of the extracts and essential oils of *Bidens tripartita* / M. Tomczykowa [et al.] // *Folia histochemica et cytobiologica*. – 2008. – Vol. 46, № 3. – P. 389–393.

3. Изучение фармакологической активности суммарных комплексов череды трехраздельной / А.С. Микаэлян [и др.] // *Кубанский научный медицинский вестник*. – 2006. – № 10. – С. 62–66.

4. Влияние суммарных фракций череды трехраздельной на гемодинамику нормотензивных крыс / Э.Ф. Степанова [и др.] // *Современные проблемы науки и образования*. – 2006. – № 2. – С. 105–107.

5. Жидкий экстракт череды – новый перспективный иммуностимулятор / О.С. Борсук [и др.] // *Тихоокеанский медицин-*

ский журнал. – 2009. – № 3. – С. 137–138.

6. Государственная народнохозяйственная программа развития сырьевой базы и переработки лекарственных и пряно-ароматических растений на 2005–2010 годы «Фитопрепараты» – инновации в действии / В.Н. Решетников, В.Н. Гапанович, И.К. Володько // *Труды БГУ*. – 2010. – Т. 5. – С. 10–15.

7. Биологическое разнообразие белорусского поозерья / под редакцией Л.М. Мержвинского. – Витебск: УО «ВГУ им. П.М. Машерова». – 2011. – 413 с.

8. Васильев, Н.В. Механизмы воздействия инвазионной *Bidens frondosa* L. на аборигенные виды череды / Н.В. Васильева, В.Г. Папченко // *Российский журнал биологических инвазий*. – 2011. – № 1. – С. 15–21.

9. Isolation and characterization of new plant pigment along with three known compounds from *Butea monosperma* petals / S. Oberoi, L. Ledwani // *Archives of Applied Science Research*. – 2010. – Vol. 4, № 2. – P. 68–71.

10. Shibata, S. Antitumorogenic chalcones / S. Shibata // *Stem cells*. – 1994. – № 12. – P. 44–52.

11. New evidences of antimalarial activity of *Bidens pilosa* roots' extract correlated with polyacetylene and flavonoids / F.Q. Oliveira [et al.] // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2004. – № 93. – P. 39–42.

12. Флавоноиды и полисахариды видов *Bidens* / Т.И. Исакова [и др.] // *Растительные ресурсы*. – 1986. – Т. 22, № 4. – С. 517–523.

13. HPLC method development and validation of cytotoxic agent phenyl-heptatriyne in *Bidens pilosa* with ultrasonic-assisted cloud point extraction and preconcentration / P. Trivedi [et al.] // *Biomed. Chromatogr.* – 2011. – № 25. – P. 697–706.

Адрес для корреспонденции:

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,
УО «Витебский государственный
ордена Дружбы народов
медицинский университет»,
кафедра фармакогнозии
с курсом ФПК и ПК,
тел. раб.: 8 (0212) 37-09-29,
Корожан Н.В.

Поступила 19.11.2013 г.