



А.В. Гудзенко, О.О. Цуркан, Т.В. Ковальчук

Дослідження препаратів та рослинних сумішей трави деревію звичайного (*Achillea millefolium* L.)

Державна лабораторія з контролю якості лікарських засобів
ДУ «Інститут фармакології та токсикології АМН України», м. Київ

Ключові слова: трава деревію звичайного, лютеолін, багатокomпонентні рослинні суміші, високоефективна рідинна хроматографія.

Ключевые слова: трава тысячелистника, лютеолин, многокомпонентные растительные смеси, высокоэффективная жидкостная хроматография.

Key words: herba *Achillea millefolium* L., luteolin, multicomponent plant composition, HPLC.

З використанням методу високоефективної рідинної хроматографії розроблено методику визначення флавоноїду лютеоліну в сировині деревію звичайного. З використанням розробленої методики проаналізовано 6 серій трави деревію звичайного різних виробників. Визначено, що за наявністю і вмістом лютеоліну траву деревію звичайного можна стандартизувати в сумішах з наступною рослинною сировиною: плодами глоду колючого, листям кропиви дводомної, шишками хмелю, коренями цикорію дикого, квітками бузини, квітками нагідок лікарських, плодами шипшини, коренями кульбаби лікарської, травою звіробою та насінням льону.

С использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии разработана методика определения флавоноида лютеолина в сырье тысячелистника. С использованием разработанной методики проанализировано 6 серий травы тысячелистника разных производителей. Определено, что по присутствию и количеству содержащему лютеолина траву тысячелистника возможно стандартизировать в смесях со следующим растительным сырьем: плодами боярышника, листьями крапивы двудомной, шишками хмеля, корнями цикория дикого, цветками бузины, цветками ноготков лекарственных, плодами шиповника, корнями одуванчика лекарственного, травой зверобоя и семенами льна.

The procedure of the HPLC analysis of luteolin in *Achillea millefolium* L. herba is offered. 6 series of product of *Achillea millefolium* L. herba from different manufacturers were analyzed by the developed procedure. Determined that by the presence and content of luteolin *Achillea millefolium* L. herba may be standardize in mixtures of following plant raw materials: *Crataegus sanguinea* Pall. fruits, *Urtica dioica* L. leaves, *Humulus lupulus* L. bumps, *Cichorium intybus* L. roots, *Sambucus nigra* L. flowers, *Calendula officinalis* L. flowers, *Rosa cinnamomea* L. fruits, *Taraxacum officinalis* Web. roots, *Hypericum perforatum* L. herbs and *Linum usitatissimum* seeds.

Відомо, що трава деревію звичайного широко використовується в медичній практиці як у вигляді монопрепаратів, так і у вигляді складових частин багатокomпонентних лікарських засобів рослинного походження (БЛЗРП) [1–4]. Цій лікарській сировині властивий широкий спектр біологічної дії, зокрема, кровоспинні, протизапальні, антиалергічні, бактерицидні властивості тощо [3,6,7,9].

Фармакологічна активність трави деревію звичайного зумовлена наявністю в її складі комплексу біологічно активних речовин, зокрема, флавоноїдів [3,6,9]. Основним представником цього класу сполук у траві деревію звичайного є лютеолін, що, за даними спеціальної літератури, має широкий спектр біологічної дії, зокрема, антиоксидантні, протизапальні, бактерицидні антиканцерогенні властивості тощо [6,8,10].

Виходячи з того, що приведення методик стандартизації БЛЗРП до сучасних фармакопейних вимог є одним з найактуальніших питань сучасної фармації, вважали за необхідне розглянути можливість проведення стандартизації трави деревію в рослинних сумішах за наявністю та вмістом флавоноїду лютеоліну.

Мета роботи

Визначення можливості проведення якісної та кількісної стандартизації трави деревію звичайного в

рослинних сумішах за наявністю та вмістом флавоноїду лютеоліну.

Матеріали і методи дослідження

Досліджували наступні об'єкти: лікарські засоби деревію звичайного – трава деревію в пачках по 50 та 75 г (виробники ЗАТ «Ліктрави» (серії: 40310, 50310, 70510); ЗАТ КП «Фармацевтична фабрика» (серії 20709, 10208); ТзОВ «Чиста флора» (дата виробництва 26.07.2010)); рослинні суміші наступного складу (по 1 г): трави деревію звичайного, плодів глоду колючого, листя кропиви дводомної, шишок хмелю, коренів цикорію дикого, квіток бузини, квіток нагідок лікарських, плодів шипшини, коренів кульбаби лікарської, трави звіробою, насіння льону (досліджувана суміш з деревієм); плодів глоду колючого, листя кропиви дводомної, шишок хмелю, коренів цикорію дикого, квіток бузини, квіток нагідок лікарських, плодів шипшини, коренів кульбаби лікарської, трави звіробою, насіння льону (досліджувана суміш без вмісту деревію).

Екстракцію лютеоліну в досліджуваних об'єктах проводили наступним чином:

1 г (точна наважка) подрібненої сировини (монопрепарати деревію звичайного) або 5 г (точна наважка) рослинної суміші (рослинні суміші з деревієм і без нього) вносять в конічну колбу, обладнану зворотним

холодильником, додають 50 мл 50% етилового спирту та витримують на киплячому водяному огрівнику протягом 45 хвилин. Після цього екстракт охолоджують до кімнатної температури та фільтрують через фільтр «червона стрічка» в мірну колбу обсягом 100 мл. Екстракцію проводять ще раз та доводять об'єм витягів до 100 мл 50% етиловим спиртом. До 5 мл отриманого розчину додають таку кількість води, щоб концентрація спирту становила 25%, та пропускають отриманий зразок через попередньо активованій (метанол 5 мл) і промитий 10 мл води патрон для твердо-фазної екстракції «Superclean Ic-18 SPE Tubes 2 ml» виробництва фірми Supelco (США). Патрон промивають 10 мл 25% етилового спирту. Пробу з патрону вимивають 10 мл метилового спирту. Отриманий аналіт концентрують за допомогою випаровування до об'єму 5 мл і фільтрують через фільтр з діаметром пор 0,45 мкм.

Хроматографічне вивчення досліджуваних і стандартних зразків проводили на хроматографі Shimadzu ser. 20, обладнаному діодно-матричним детектором, за таких умов:

- колонка С18 X-Terra, розміром 150 мм x 4,6 мм, розмір частинок – 5 мкм;
- температура колонки – 34°C;
- довжина хвилі детектування – 350 нм;
- швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв;
- об'єм проби, що вводився, – 5 мкл;
- рухома фаза:

0–10 хв: ізократичне елювання 80% суміші ацетонітрил – 5% розчин ортофосфорної кислоти (10:90) (об/об) та 20% суміші ацетонітрил – 5% розчин ортофосфорної кислоти (90 : 10) (об/об); 10–16 хв: градієнтне елювання від 80% до 74% суміші ацетонітрил – 5% розчин ортофосфорної кислоти (10 : 90) (об/об) та від 20% до 26% суміші ацетонітрил – 5% розчин ортофосфорної кислоти (90 : 10) (об/об); 16–30 хв: ізократичне елювання 74% суміші ацетонітрил – 5 % розчин ортофосфорної кислоти (10 : 90) (об/об) та 26% суміші ацетонітрил – 5% розчин ортофосфорної кислоти (90 : 10) (об/об); 30–35 хв: градієнтне елювання від 74% до 10% суміші ацетонітрил – 5% розчин ортофосфорної кислоти (10 : 90) (об/об) та від 26% до 90 % суміші ацетонітрил – 5% розчин ортофосфорної кислоти (90 : 10) (об/об); 35–40 хв:

ізократичне елювання 10% суміші ацетонітрил – 5% розчин ортофосфорної кислоти (10 : 90) (об/об) та 90% суміші ацетонітрил – 5 % розчин ортофосфорної кислоти (90 : 10) (об/об); 40–55 хв: ізократичне елювання 80% суміші ацетонітрил – 5% розчин ортофосфорної кислоти (10 : 90) (об/об) та 20% суміші ацетонітрил – 5% розчин ортофосфорної кислоти (90 : 10) (об/об).

При виконанні роботи використовували реактиви: ацетонітрил для градієнтного хроматографування («FLUKA», Німеччина), 85% фосфорну кислоту («FLUKA», Німеччина); спирт етиловий ректифікований фармакопейної якості, воду бідистильовану.

Статистичну обробку отриманих даних проводили, використовуючи t-критерій Стьюдента [5].

Результати та їх обговорення

Для виявлення підходів до стандартизації трави деревію звичайного у багатокомпонентних рослинних сумішах за допомогою методу ВЕРХ розроблено методику визначення флавоноїду лютеоліну в рослинній сировині. Використання обернено-фазових колонок і водно-ацетонітрильних рухомих фаз дозволяє проводити селективне розділення піку лютеоліну з піками інших речовин за зазначених вище умов .

На *рис. 1* представлено хроматограми стандартного розчину лютеоліну (А) та екстракту трави деревію звичайного (Б).

Як видно з даних, наведених на *рис. 1*, час виходу піку лютеоліну за цих умов хроматографування складає близько 17,1 хвилини, і він наявний як на хроматограмі стандартного розчину лютеоліну (А), так і на хроматограмі екстракту трави деревію звичайного (Б).

За цією методикою визначено вміст лютеоліну в 6 серіях лікарських засобів трави деревію звичайного різних вітчизняних виробників, що наявні на фармацевтичному ринку України. В усіх досліджуваних препаратах ідентифіковано та кількісно визначено флавоноїд лютеолін. Дані щодо його вмісту в досліджуваних препаратах представлено в *табл. 1*.

Згідно даних, наведених у таблиці, в усіх пробах ідентифіковано та кількісно визначено флавоноїд лютеолін. Його вміст у досліджуваній сировині лежить у межах від 0,0098±0,0008% до 0,0210±0,0014% у перерахунку на висушену сировину.

За цих же умов проведено аналіз рослинної сировини,

Таблиця 1

Вміст лютеоліну в досліджуваних препаратах деревію звичайного

Препарат трави деревію звичайного	Виробник, № серії	Вміст лютеоліну (в %) в перерахунку на висушену сировину
Трава деревію в пачках по 50 г	КП «Фармацев-тична фабрика», серія 20709	0,0155±0,0013
Трава деревію в пачках по 50 г	КП «Фармацев-тична фабрика», серія 10208	0,0206±0,0011
Трава деревію в пачках по 50 г	ЗАТ «Ліктрави», серія 40310	0,0162±0,0009
Трава деревію в пачках по 50 г	ЗАТ «Ліктрави», серія 50310	0,0210±0,0014
Трава деревію в пачках по 50 г	ЗАТ «Ліктрави», серія 70510	0,0205±0,0017
Трава деревію в пачках по 75 г	ТзОВ «Чиста флора» дата виробництва 26.07.2010	0,0098±0,0008

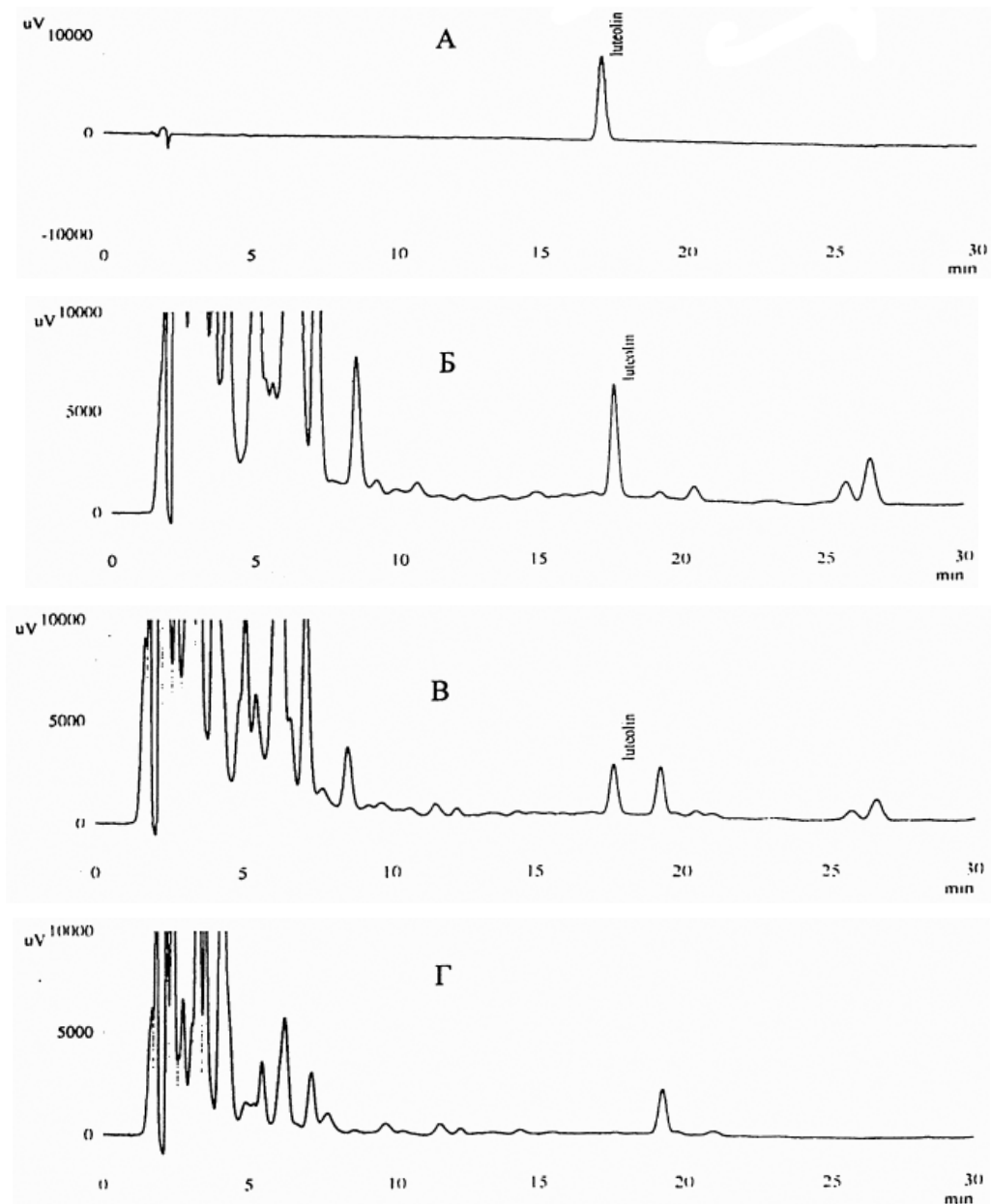


Рис. 1. Хроматограми досліджуваних розчинів:

А – стандартного розчину лютеоліну, Б – екстракту трави деревію звичайного, В – рослинної суміші з вмістом трави деревію звичайного; Г – рослинної суміші без вмісту трави деревію звичайного.

що найчастіше входить до складу багатокомпонентних препаратів трави деревію звичайного, зокрема, плодів глоду колючого, листя кропиви дводомної, шишок хмелю, коренів цикорію дикого, квіток бузини, квіток нагідок лікарських, плодів шипшини, коренів кульбаби лікарської, трави звіробою та насіння льону.

У результаті досліджень виявлено, що за наявності та кількісним вмістом лютеоліну можна стандартизувати траву деревію звичайного у сумішах з усією наведеною вище сировиною.

Для підтвердження можливості стандартизації трави деревію звичайного за наявності та вмістом лютеоліну за наявності зазначеної сировини виготовлено суміш наступного складу (по 1 г): трави деревію звичайного,

плодів глоду колючого, листя кропиви дводомної, шишок хмелю, коренів цикорію дикого, квіток бузини, квіток нагідок лікарських, плодів шипшини, коренів кульбаби лікарської, трави звіробою, насіння льону. Також виготовлено суміш, аналогічну за складом до попередньої, але без додавання трави деревію звичайного.

Зазначені суміші проаналізовано за розробленою хроматографічною методикою. Хроматограми екстрактів зазначених сумішей та екстракту трави деревію звичайного представлено на рис. 1 (Б,В,Г).

Як можна бачити з рис. 1, на хроматограмах багатокомпонентної суміші з вмістом деревію (В) та екстракту трави деревію звичайного (Б) наявний пік лютеоліну, тоді як на хроматограмі багатокомпонентної суміші без вмісту деревію (Г) він відсутній.

Отже, виходячи з отриманих даних, у рослинних сумішах, до складу яких входять трава деревію звичайного, плоди глоду колючого, листя кропиви дводомної, шишки хмелю, корені цикорію дикого, квітки бузини, квітки нагідок лікарських, плоди шипшини, корені кульбаби лікарської, трава звіробою та насіння льону, траву деревію звичайного можна стандартизувати за наявністю та вмістом флавоноїду лютеоліну.

Висновки

1. За допомогою методу ВЕРХ розроблено методику визначення флавоноїду лютеоліну в сировині трави деревію звичайного.

2. Проаналізовано 6 серій лікарських засобів трави деревію звичайного різних вітчизняних виробників.

У всіх пробах ідентифіковано та кількісно визначено лютеолін, вміст якого складав у межах від $0,0098 \pm 0,0008\%$ до $0,0210 \pm 0,0014\%$ у перерахунку на висушену сировину.

3. За допомогою методу ВЕРХ розроблено методику визначення лютеоліну як маркера трави деревію звичайного у багатокомпонентних рослинних сумішах. Встановлено, що за наявністю і вмістом лютеоліну траву деревію звичайного можна стандартизувати в сумішах з такою рослинною сировиною: плодами глоду колючого, листям кропиви дводомної, шишками хмелю, коренями цикорію дикого, квітками бузини, квітками нагідок лікарських, плодами шипшини, коренями кульбаби лікарської, травою звіробою та насінням льону.

Література

1. Коваленко В.М. Компендиум. Лекарственные препараты: в 2-х т. / В.М. Коваленко, О.П. Вікторов. – К: Моріон, 2007. – Т. 1. – 1128 с.
2. Коваленко В.М. Компендиум. Лекарственные препараты: в 2-х т. / В.М. Коваленко, О.П. Вікторов. – К: Моріон, 2007. – Т. 2. – 1126 с.
3. Куцик Р.В. Тысячелистник обыкновенный. *Achillea millefolium* L. (Аналитический обзор) / Р.В. Куцик, Б.М. Зузук // Провизор. – 2002. – №14. – С. 28–33.
4. Куцик Р.В. Тысячелистник обыкновенный. *Achillea millefolium* L. (Аналитический обзор) / Р.В. Куцик, Б.М. Зузук // Провизор. – 2002. – №15. – С. 34–38.
5. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К.: «Морион», 2000. – 320 с.
6. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейство Asteraceae (Compositae). – СПб.: Наука, 1993. – 351 с.
7. Benedek B. *Achillea millefolium* L. s.l. revisited: recent findings confirm the traditional use / B. Benedek, B. Kopp. // Wien Med Wochenschr. – 2007. – Vol. 157. – P. 312–314.
8. Deqiu Z. Luteolin inhibits inflammatory response and improves insulin sensitivity in the endothelium / Z. Deqiu, L. Kang, Y. Jiali [at al.] // Biochimie. – 2011. – Vol. 93 (3). – P. 506–512.
9. Nemeth E. Biological activities of yarrow species (*Achillea* spp.) / E. Nemeth, J. Bernath // Curr. Pharm. Des. – 2008. – Vol. 14. – P. 3151–3167.
10. Wang Q. Antibacterial activity and mechanism of luteolin on *Staphylococcus aureus* / Q. Wang, M. Xie // Wei. Sheng. Wu. Xue. Bao. – 2010. – Vol. 50(9). – P. 1180–1184.

Відомості про авторів:

Гудзенко А.В., к. фарм. н., ст. наук. співробітник Державної лабораторії з контролю якості лікарських засобів ДУ «Інститут фармакології та токсикології АМН України».

Цуркан О.О., д. фарм. н., професор, зав. Державної лабораторії з контролю якості лікарських засобів ДУ «Інститут фармакології та токсикології АМН України».

Ковальчук Т.В., к. фарм. н., гол. наук. співробітник Державної лабораторії з контролю якості лікарських засобів ДУ «Інститут фармакології та токсикології АМН України».

Адреса для листування:

Гудзенко Андрій Вікторович. 04050, Київ, вул. Дегтярівська, 10, кв. 59.

Тел.: (044) 277 71 18, (044) 483 10 02, (063) 329 07 58.

E-mail: ganvi@yandex.ru