

ГІДРОКСИКОРИЧНІ КИСЛОТИ ВИДІВ СУХОВЕРШКІВ

Н.В. Попова

Національний фармацевтичний університет (Харків)

Вступ

Останнім часом відзначається інтерес до похідних кофейної кислоти, серед яких слід відзначити розмаринову кислоту. Ряд авторів присвятили цим сполукам наукові огляди [1, 8, 14, 18]. Раніше вважалося, що розмаринова кислота разом з її похідними відноситься до дубильних сполук, її характеризували як депсид кофейної кислоти. До виділення і встановлення структури розмаринової кислоти та її похідних вони були відомі під назвою "Labiatergerbstoffe" - таніно-подібні сполуки родини ясноткових. У 1958 р. італійськими вченими M. Scarpati (М. Скарпаті) і G. Oriente (Г. Оріенте) вдалося виділити з розмарину лікарського (*Rosmarinus officinalis* L.) ефір кофейної кислоти та 3 - (3,4-дигідроксифеніл) молочної кислоти, який надалі авторами був названий розмариновою кислотою (Рис.1) [1, 14].

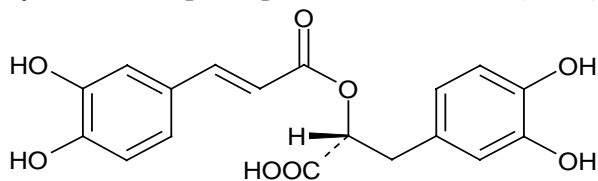


Рис. 1. Розмаринова кислота.

За результатами біогенетичних досліджень було встановлено, що дві амінокислоти - фенілаланін і тирозин беруть участь у синтезі цієї кислоти. Так кофейна кислота синтезується з фенілаланіну, а 3,4-дигідроксифенілмолочна кислота з тирозину. Встановлено набір ферментів і генів, що беруть участь на різних стадіях біосинтезу [1, 18]. Фенілпропанові кислоти, та розмаринова кислота зокрема, представляють інтерес для фармації і медицини як речовини з високою антиоксидантною, протівірусною (антигерпетичною), антиалергічною, протизапальною активністю з низькою токсичністю, встановлена висока активність при лікуванні хвороби Альцгей-

мера. Вона відповідає за протипухлинну (пригнічує синтез білка в ракових клітинах) і тиреоїд-регуляторну види активності. Під час лабораторних досліджень було виявлено, що екстракти лікарських рослин, які містять розмаринову кислоту, ефективні при лікуванні хвороби Грейвс. Вони блокують антитіла і дію тиреоїд-стимулюючого гормону, тим самим, перешкоджають збільшенню щитовидної залози [1, 8, 13, 14, 18, 19].

Серед рослин, багатих на розмаринову кислоту, найбільш характерними є представники родин ясноткових, бурачникових і селезових [1, 6, 13, 18].

Представниками таких рослин є види роду *Prunella* (суховершки), які зростають на Україні: с. звичайні, с. великоквіткові і с. ланцетні. Аналіз літературних даних показав, що перераховані вище об'єкти використовують як гемостатичний, ранозагоювальний, протизапальний, антимікробний, жарознижувальний, відхаркувальний, тонізуючий і антикомплемтарний засіб. Лікарську сировину цих рослин рекомендують: при раку щитовидної залози, середостінні, лімфогранульоматозі, лімфомі, бронхіті, респіраторних захворюваннях, кровохаркання, емпітіго, псоріазі, скрофулезе, себореї, ексудативному діатезі, ларингіті, нефриті, геморої, діарейі, туберкульозі (горла, шкіри, легенів), дифтерії, дизентерії, гіпертензії, артриті, ревматичному поліартриті, лімфаденіті, гіпертиреозі, тиреотоксикозі, гастралгії, епілепсії, цинзі, лейкоорею, маститі, митри, кольпіті, ударах, вивихах [2-8, 12, 16-19].

Метою даної роботи є пошук перспективних джерел розмаринової кислоти серед представників роду суховершки (*Prunella*, *Lamiaceae*) для подальшої розробки на їх основі вітчизняних фітопрепаратів з широким спектром фармакологічної дії.

Методи та матеріали дослідження

Для дослідження заготовляли зразки сировини роду суховершки (*Prunella*) - с. звичайні (*Prunella vulgaris* L.), с. ланцетні (*P. lanceolata* L.) та с. великоквіткові (*P. grandiflora* L.). Траву збирали у Харківській області, у ботанічному саду Національного фармацевтичного університету та ботанічному саду Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна у період масового цвітіння рослини (червень-серпень 2009-2011 рр.).

Для ідентифікації та аналізу вмісту гідроксикоричних кислот у рослинній сировині готували екстракти шляхом вакуум-фільтра-

ційної екстракції 50% спиртом етиловим у співвідношенні сировина-екстрагент 1:5 - 1:6.

Для виявлення гідроксикоричних кислот у досліджуваних об'єктах використовували 50% водно-спиртові витяги, які піддавали хроматографічному аналізу (ПХ, ТШХ) з застосуванням паперової і тонкошарової хроматографії (папір марки "Filtrak" різних номерів, хроматографічні пластинки марки "Silufol", "Sorbfil" і "Merck"). На хроматограми наносили мікропіпеткою 0,01 мл водно-спиртового витягу досліджуваних зразків рослинної сировини. Аналіз проводили в наступних системах розчинників: хлороформ-метанол-вода (24:14:3), толуол - етилформиат - мурашина кислота (50:40:10), бутанол-оцтова кислота - вода (4:1:2), 2% і 15% оцтова кислота. Хроматограми досліджували в УФ-світлі до, і після обробки специфічними реагентами. Гідроксикоричні кислоти виявляли за специфічною флюоресценцією в УФ-світлі (365 нм) з використанням відповідних реактивів та у порівнянні з вірогідними зразками речовин [9-11, 15].

Вміст гідроксикоричних кислот у зразках рослинної сировини визначали методом ВЕРХ на хроматографі Shimadzu LC 20 Prominence. У комплектацію хроматографа входили: проточний Дегазатор, насосна станція з модулем градієнта низького тиску, Автосемплер, термостат колонок і діод-матричний детектор. Для аналізу використовували колонку фірми Macherey-Nagel довжиною 150 мм і діаметром 3 мм, заповнену звернено-фазовим сорбентом Nucleosil C18 AB, зернистістю 3 мкм і пористістю 100 Å. Об'єм проби 2 мкл, детектування проводили при $\lambda=280$ нм, 330 нм, 360 нм з частотою сканування 3 Гц. Елюювання виробляли в градієнтному режимі зростання частки розчину В (суміш $\text{AcCN}:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O} + \text{HClO}_4$ у співвідношенні 40:40:20, рН 2,5) в суміші з розчином А (водний розчин HClO_4 , рН 1,8) від 0 % до 100 % протягом 80 хвилин, при температурі 30 °С.

Ідентифікацію піків виробляли в порівнянні УФ-спектрів зі спектрами з бази даних і за часами виходу (час утримання) у відповідності зі стандартними зразками. Масову концентрацію визначали за градуальною характеристикою стандартних зразків з використанням програми LC Solutions (Shimadzu).

Отримані результати та їх обговорення

За результатами хроматографічного аналізу (ПХ, ТШХ) встановлена наявність 20-23 речовин фенольної природи. Хроматографічна характеристика ідентифікованих фенольних кислот наведена в таблиці 1.

Хроматографічна характеристика гідроксикоричних кислот видів роду суховершки

Гідроксикоричні кислоти	Флюоресценція в УФ-світлі		Система, Rf		
	в УФ-світлі	+ NH ₃	2% оцтова кислота	хлороформ - метанол - вода 24:14:3	БОВ (4:1:2)
Розмаринова кислота	блакитна	зеленувато-блакитна	0,42	0,6	0,89
Хлорогенова кислота	блакитна	зеленувато-блакитна	0,59	0,50	0,92
Кофейна кислота	блакитна	блакитна	0,30	0,72	0,80

Порівняльний хроматографічний аналіз свідчить, що рівень розмаринової кислоти за величиною зон абсорбції має наступну послідовність: трава суховершків великоквіткових > трава суховершків звичайних > трава суховершків ланцетних.

Результати ВЕРХ аналізу визначення вмісту розмаринової та кофейної кислот наведені у таблиці 2 і на рис.2, 3, 4.

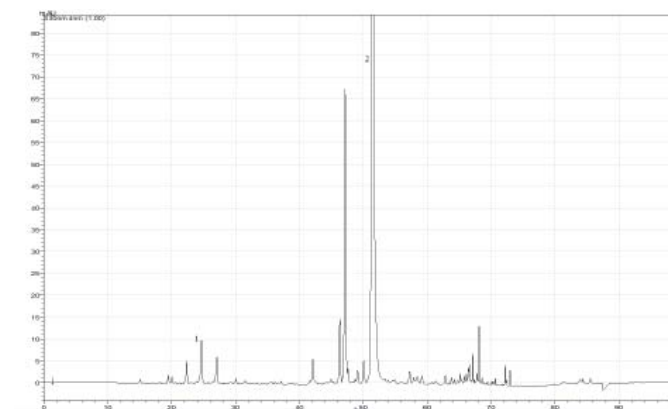


Рис. 2. ВЕРХ хроматограма спиртового екстракту трави суховершків крупноквіткових, де 1- кофейная кислота, 2- розмариновая кислота.

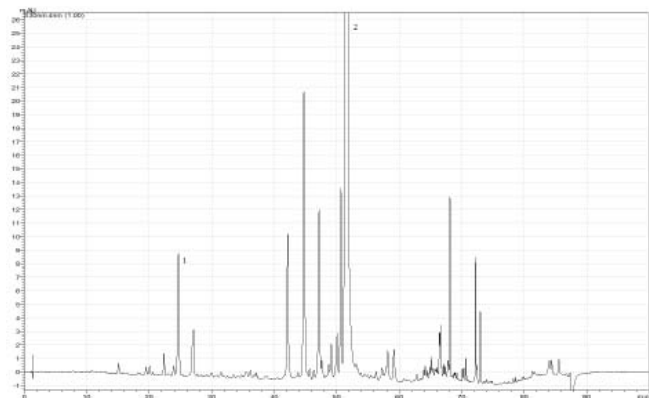


Рис. 3. ВЕРХ хроматограмма спиртового екстракту трави суховершків ланцетних, где 1- кофейная кислота, 2- розмариновая кислота.

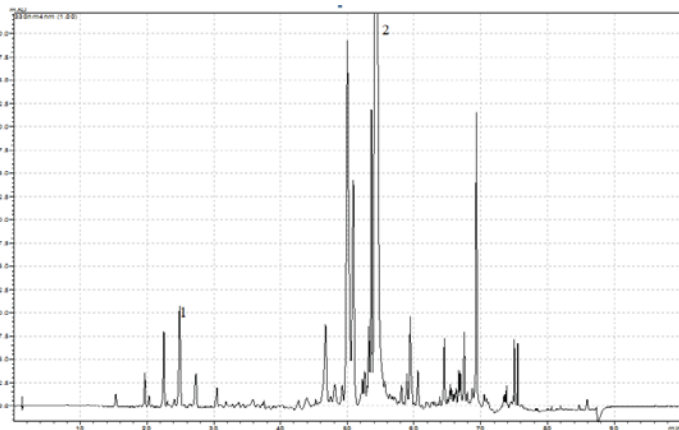


Рис. 4. ВЕРХ хроматограмма спиртового екстракту трави суховершків звичайних, где 1- кофейная кислота, 2- розмариновая кислота.

Європейська фармакопея проводить аналіз ряду видів рослинної сировини за вмістом розмаринової кислоти (листя меліси лікарської не менше 1,0%, сухий екстракт м'яги перцевої - не менше 0,5%) або за сумою гідроксикоричних кислот у перерахунку на розмаринову кислоту (листя розмарину лікарського - не менше 3,0%) [6]. Отримані експериментальні дані про рівень розмаринової кислоти (від 1,2 до 2,9 %) у видах суховершків свідчать про перспек-

тивність досліджуваної рослинної сировини у напрямку створення фітозасобів з широким спектром біологічної дії.

Таблиця 2

Вміст розмаринової та кофейної кислот у видах суховершків

Рослинна сировина	Вміст кислот, % (у перерахунку на суху сировину)	
	розмаринова кислота	кофейна кислота
Трава суховершків звичайних	2,0560	0,0159
Трава суховершків ланцетних	1,2132	0,0123
Трава суховершків великоквіткових	2,9126	0,0152

Висновки

1. Вперше проведено аналіз вмісту розмаринової і кофейної кислот у траві видів суховершків.
2. У траві різних видів роду суховершкі вміст розмаринової кислоти коливалося від 1,0 до 2,9%, а рівень кофейної кислоти знаходиться в близьких межах 0,012-0,016%.
3. Найбільш перспективним видом за рівнем розмаринової кислоти є трава суховершків великоквіткових.
4. Показано перспективність як подальшого фітохімічного дослідження сировини видів роду суховершків, так і фармакологічного скринінгу можливих препаратів на їх основі.

Література

1. Буданцев А.Л. Розмариновая кислота: источники и биологическая активность / А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская // Раст. ресурсы – 2012. – Т.48, вып. 3. – С. 453- 468.
2. Дикорастущие полезные растения России / Под. ред. А.Л. Буданцева, Е.Е. Лесиовской. – СПб.: Изд-во СПХФА, 2001. – 663 с.
3. Дмитрук С.И. Антипирическое действие сухого экстракта черноголовки / С.И. Дмитрук, Т.П. Прищеп // Решение актуальных задач фармации на современном этапе: тез. докл. науч. конф., посвящ. 50-летию НИИ фармации. – 1994. – С. 240.
4. Дмитрук С.И. Действие экстракта черноголовки на экспериментальный тонзиллит / С.И. Дмитрук, С.Е. Дмитрук // Природные ресурсы Сибири: тез. докл. 4-й Межд. науч. практ. конф. – Томск, 1998. – С. 210.

5. Дмитрук С.И. Противовоспалительные свойства, антибактериальная и антифунгальная активности экстракта из надземной части *Prunella vulgaris* L. / С.И. Дмитрук // Растит. ресурсы. – 2001. – Вып. 4. – С. 92-96.
6. Попова Н.В. Лекарственные растения мировой флоры / Н.В. Попова, В.И. Литвиненко. – Харьков: СПДФО Мосякин В.Н., 2008. – 510 с.
7. Репаративные свойства фенольного комплекса черноголовки обыкновенной / С.Т. Дмитрук [и др.] // Современные изыскания в области фармации. – Ярославль, 1996. – С. 122.
8. Фармакологическая активность розмариновой кислоты / О.В. Азарова, В.М. Брюханов, Я.Ф. Зверев [и др.] // Вопросы биол., мед. и фармац. химии. – 2010. – № 6 – С. 3-8.
9. Хроматография на бумаге / Под ред. И.М. Хайса, К. Мацека. – М.: Иностран. лит-ра, 1962. – 851 с.
10. Шаршунуова М. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии : в 2-х ч. / М. Шаршунуова, В. Шварц, Ч. Михалец. – М.: Мир, 1980. – 622 с.
11. Куликов А.Ю. Тонкошарова хроматографія: теоретичні основи та практичне використання / А.Ю. Куликов. – Харків: ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2011. – 260 с.
12. Du D.A. A new unusual delta¹¹(12)-oleane triterpene and anti-complementary triterpenes from *Prunella vulgaris* spikes / D.A. Du, Z. Cheng, D. Chen // Nat. Prod. Commun. – 2012. – Vol.7, № 4. – P. 501-505.
13. Modnicki D. Potential sources of rosmarinic acid. / D. Modnicki, I. Matławska // Herba Polonica. – 2007. – Vol. 53, № 2. – P. 165-166.
14. Petersen M. Rosmarinic acid / M. Petersen, M.S.J. Simmonds // Phytochemistry. – 2003. – Vol. 62. – P. 121-125.
15. Wagner H. Plant drugs analysis: a thin layer chromatography atlas / H. Wagner, S. Bladt. - [2-nd ed.] - Berlin : Springer-Verlag, 1995. – 384 p.
16. Marková H. *Prunella vulgaris* L.-a rediscovered medicinal plant / H. Marková, J. Soušek, J. Ulrichová // Ceska Slov Farm. – 1997. – Vol. 46, № 2. – P. 58-63.
17. Murakami M. Considerations for the treatment of chronic fatigue syndrome // M. Murakami // Nihon Rinsho. – 2007. – Vol. 65, № 6. – P. 1089-1092.
18. Parnham M.J. Rosmarinic acid / M.J. Parnham, K. Kesselring // Drugs Future. - 1985. – № 10. – P. 756-757.
19. Permeability of rosmarinic acid in *Prunella vulgaris* and ursolic acid in *Salvia officinalis* extracts across Caco-2 cell monolayers / Z. Qiang [et al.] // J. Ethnopharmacol. – 2011. – Vol. 137, № 3. – P.1107-1112.

Резюме

Попова Н.В. Гідроксикоричні кислоти видів суховершків.

Проведено аналіз та ідентифіковані гідроксикоричні кислоти у сировині суховершків звичайних, с. ланцетних та с. великоквіткових. Вміст розмаринової кислоти коливався від 1,0 до 2,9 %, а рівень кофейної кислоти знаходиться в близьких межах 0,012-0,016 %. Перспективним видом за рівнем розмаринової кислоти є трава суховершків великоквіткових.

Ключові слова: види суховершків, аналіз та вміст розмаринової, кофейної та хлорогенової кислот, хроматографія.

Резюме

Попова Н.В. Гидроксикоричные кислоты видов черноголовки.

Проведен анализ и идентифицированы гидроксикоричные кислоты в сырье черноголовки обыкновенной, ч. ланцетной и ч. крупноцветковой. Содержание розмариновой кислоты колебалось от 1,0 до 2,9 %, а уровень кофейной кислоты находится в близких пределах 0,012-0,016 %. Перспективным видом по уровню розмариновой кислоты является трава черноголовки крупноцветковой.

Ключевые слова: виды черноголовки, анализ и содержание розмариновой, кофейной и хлорогеновой кислот, хроматография.

Summary

Popova N.V. Hydroxycinnamic acids of *Prunella* species.

It was carried out analysis and assay of hydroxycinnamic acids in the herb of *Prunella* species: *P. vulgaris*, *P. lanceolata*, *P. grandiflora*. The content of rosmarinic acid ranged from 1.0 to 2.9 %, and caffeic acid is in close range 0,012-0,016 %. Perspective species by the level of rosmarinic acid was established *Prunella grandiflora* herb.

Key words: *Prunella* species, analysis and assay of rosemaric, caffeic and chlorogenic acids, chromatography.

Рецензент: д.фарм.н., проф. В.М. Ковальов