

## ДОСЛІДЖЕННЯ ІРИДОЇДІВ ВІТЕКСУ СВЯЩЕННОГО (*VITEX AGNUS-CASTUS* L.) ТА ВІТЕКСУ КОНОПЛЕВИДНОГО (*VITEX CANNABIFOLIA* SIEB.)

**Ключові слова:** *Vitex agnus-castus* L., *Vitex cannabifolia* Sieb., іридоїди, аукубін, агнузид

Вітек священний (*Vitex agnus-castus* L.) та вітек коноплевидний (*V. cannabifolia* Sieb.) – ендемічні рослини Індії, Китаю та інших країн Сходу, де їх здавна використовують у народній медицині [1]. Проте на території помірної кліматичної зони України ці види інтродуковано нещодавно і особливості хімічного складу біологічно активних речовин (БАР) вітчизняної сировини вивчено недостатньо. Відомо, що серед БАР цих рослин важливу фармакологічну роль мають іридоїди та іридоїдні глікозиди, що зумовлюють дофаміноміметичну дію [2, 3]. До сьогодні досліджували якісний та кількісний склад окремих іридоїдів у рослинній сировині (листі та плодах), зібраній на територіях з тропічним та субтропічним кліматом, проте в доступних джерелах відсутня інформація про вміст іридоїдів у суцвіттях та стеблах цих видів, не вивчався й іридоїдний склад сировини, вирощеної на території помірної кліматичної зони [1, 4]. Тому актуальним є вивчення якісного та кількісного складу БАР (у тому числі іридоїдів) різних видів сировини *V. agnus-castus* та *V. cannabifolia*, вирощених на території України. Ми припускаємо, що скринінгові дослідження вмісту суми цих БАР дадуть змогу обрати нову потенційну лікарську рослинну сировину – джерело іридоїдів.

### Матеріали і методи дослідження

Об'єктом дослідження були листя, суцвіття та стебла вітексу священного та вітексу коноплевидного, заготовлені з рослин колекції Національного ботанічного саду ім. М. М. Гришка влітку 2012 р. у фазу цвітіння. Для досліджень використовували водно-спиртові витяги (модуль екстракції 1:50, екстрагент – 70%-й етанол).

Для якісного визначення іридоїдів застосовували метод тонкошарової хроматографії (ТШХ) на пластинках з силікагелем 60 F<sub>254</sub> 10 x 10 см, рухома фаза – етилацетат, метанол, вода (77:15:8). Як стандартні зразки використовували 0,05%-ні спиртові розчини агнузиду та аукубіну. Пластинку обприскували анісальдегід-сульфатним реактивом і термостатували за температури 100 °С протягом 5 хв. Детекцію здійснювали у видимому світлі.

Кількісне визначення суми іридоїдів виконували методом УФ-спектрофотометрії [5] на спектрофотометрі Hewlett Packard 8453 (США). По 3 мл водно-спиртових витягів переносили в мірні колби ємністю 25 мл і доводили до мітки водою очищеною і перемішували. До 5 мл одержаного розчину додавали 5 мл лужного розчину гідроксиламіну і залишали на 20 хв. Через 20 хв додавали 10 мл 1 М розчину кислоти хлористоводневої і 5 мл 1%-го розчину заліза (III) хлориду в 0,1 М розчині хлористоводневої кислоти. Перемішували. Негайно вимірювали оптичну густину розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 370–386 нм в кюветі з шаром завтовшки 1 см. Для приготування компенсаційного розчину в мірну колбу на 25 мл додавали 5 мл лужного розчину гідроксиламіну, 10 мл 1 М розчину кислоти хлористоводневої і 5 мл 1%-го розчину заліза (III) хлориду в 0,1 М розчині хлористоводневої кислоти і доводили розчин до мітки 70%-м етанолом. Аналогічно вимірювали оптичне поглинання розчину стандарту аукубіну.

Якісне та кількісне визначення окремих сполук здійснювали методом вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) на рідинному хроматографі Shimadzu LC-20 (Японія), обладнаному діодно-матричним детектором за таких умов: колонка Luna 5U C 18(2) 100A розміром 250x4,60 мм (Phenomenex, США), температура колонки 35 °С, об'єм введення проби – 5 мкл, швидкість потоку розчинника – 1 мл/хв, режим елюювання – градієнтний. Досліджувані витяги попередньо розводили у 10 разів та фільтрували через мембранний фільтр Millipore (Merck Millipore, США) з розміром пор 0,45 мкм. Детекцію здійснювали за довжини хвилі 254 нм.

Т а б л и ц я 1

**Схема режиму елюювання для визначення іридоїдів методом ВЕРХ**

Час, хв	Елюент А	Елюент В
5	95	5
35	75	25
40	75	25
60	50	50
62	20	80
65	20	80
65,01	95	5
80	95	5

П р и м і т к а: елюент А – 0,1%-й водний розчин трифтороцтової кислоти, елюент В – 0,1%-й розчин трифтороцтової кислоти в ацетонітрілі.

**Результати дослідження та обговорення**

Результати якісного та кількісного визначення іридоїдів подано в табл. 2 та 3. Результати кількісного визначення сумарного вмісту іридоїдів у різних видах сировини вітексу священного та вітексу коноплевидного представлено на рис. 2.

Т а б л и ц я 2

**Наявність та інтенсивність плям, що відповідають окремим сполукам, на хроматограмах витягів залежно від виду сировини**

R <sub>f</sub>	Колір плями	Сполука	Інтенсивність плями на хроматограмі досліджуваного зразка					
			суцвіття ВС	листя ВС	стебла ВС	суцвіття ВК	листя ВК	стебла ВК
0,27	Темно-сіра	Аукубін	+	+	+	+	++	+
0,43	Темно-коричнева	Агнузид	+++	++	+	+	++	+
0,55	Фіолетова	NI	+	+	+	-	+	-
0,79	Фіолетова	NI	++	+++	+	++	+++	++

П р и м і т к а: NI – неідентифікована сполука; тут і далі: ВС — вітекс священний, ВК — вітекс коноплевидний.

На ТШХ-хроматограмах усіх досліджуваних зразків спостерігали різні за інтенсивністю забарвлення плями, що за кольором та величиною R<sub>f</sub> відповідають аукубіну та агнузиду. Також виявлено плями неідентифікованих сполук на R<sub>f</sub>=0,55 (виявлена на хроматограмах усіх досліджуваних зразків) та R<sub>f</sub>=0,79 (відсутня на хроматограмах суцвіть та стебел вітексу священного).

На усіх ВЕРХ-хроматограмах знайдено піки, характерні для аукубіну та агнузиду, а також шести неідентифікованих сполук, які за характером УФ-спектрів можуть належати до класу іридоїдів. Характерним для агнузиду є переважне його накопичення у листі обох видів (його вміст у листі на 10–78% більший, ніж у суцвіттях), аукубін у сировині вітексу священного переважає (на 62%) у суцвіттях, у сировині вітексу коноплевидного його вміст у листі та суцвіттях приблизно однаковий. У стеблах обох видів вміст аукубіну та агнузиду найменший (рис. 1).

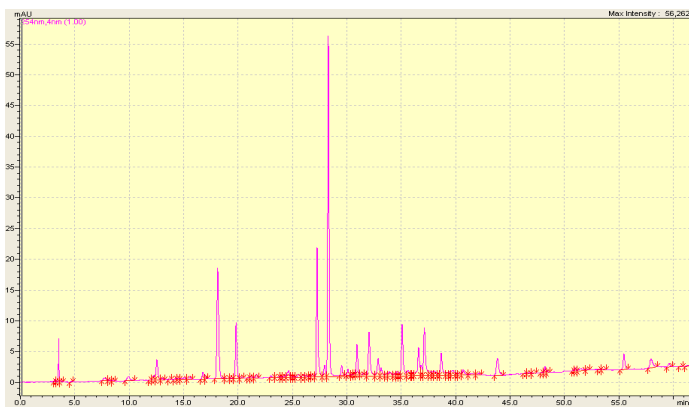


Рис. 1. ВЕРХ-хроматограма витягу листя вітексу коноплевидного ( $\lambda=254$  нм)

Т а б л и ц я 3

**Залежність величини площі піків та вмісту окремих іридоїдів на ВЕРХ-хроматограмах від виду сировини**

№ п/п	Сполука	$R_f$	Кількісний вміст у перерахунку на суху сировину, мг/100 г					
			суцвіття ВС	листя ВС	стебла ВС	суцвіття ВК	листя ВК	стебла ВК
1	НІІ	9,93	+	+	+	++	++	+
2	НІІ	12,26	++	++	++	++	++	++
3	НІІ	12,55	+++	+++	++	+++	+++	++
4	НІІ	16,78	+	+	+	++	++	+++
5	Аукубін	18,19	4,31±0,12	2,65±0,08	0,57±0,03	3,95±0,11	3,97±0,07	0,79±0,04
6	Агнузид	28,25	6,88±0,11	12,26±0,14	2,95±0,05	8,17±0,08	9,00±0,13	2,51±0,09
7	НІІ	32,03	+++	++++	+	++++	++++	+++

Примітка: НІІ – неідентифікований іридоїд.

Визначення сумарного кількісного вмісту іридоїдів здійснювали у перерахунку на аукубін, оскільки його наявність у всіх досліджуваних видах сировини було підтверджено хроматографічними методами. Результати визначення свідчать про переважне накопичення іридоїдів у листі обох видів та суцвіттях вітексу коноплевидного, у стеблах же воно помітно менше (на 78–84%).



Рис. 2. Відсотковий вміст суми іридоїдів у перерахунку на аукубін у різних видах сировини вітексу священного та вітексу коноплевидного

Оскільки найвищий вміст іридоїдів знайдено у листі обох видів та у суцвіттях вітексу коноплевидного, та у зв'язку з доступністю значної кількості біомаси листя, порівняно з можливими об'ємами заготівлі суцвіть, було запропоновано використовувати як джерело іридоїдів листя вітексу священного та листя вітексу коноплевидного.

**Висновки**

1. Методами ТШХ та ВЕРХ здійснено якісне та кількісне визначення окремих іридоїдів у різних видах сировини вітексу священного та вітексу коноплевидного, виявлено 7 сполук іридоїдної природи, з них ідентифіковано та визначено кількісний вміст аукубіну та агнузиду.

2. За допомогою методу УФ-спектрофотометрії здійснено порівняння сумарного кількісного вмісту іридоїдів у перерахунку на аукубін у досліджуваних зразках.

3. На основі отриманих результатів запропоновано використання листя вітексу священного та листя вітексу коноплевидного як лікарську рослину сировину – джерело іридоїдів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Iwagawa T., Nakahara A., Miyauchi A. et al. Constituents of the leaves of *Vitex cannabifolia* // Repository of Faculty of Science Kagoshima University (Math., Phys. & Chem.). – 1993. – N 26. – P. 57–61.
2. Jarry H., Spengler B., Porzel A. et al. Evidence for estrogen receptor beta-selective activity of *Vitex agnus-castus* and isolated flavones // *Planta Medica*. – 2003. – V. 69, N 3. – P. 945–947.
3. Chen S., Friesen J. B., Webster D. et al. Phytoconstituents from *Vitex agnus-castus* fruits // *Fitoterapia*. – 2011. – V. 82, N 4. – P. 528–533.
4. Raama Murthy J., Venkataraman S., Meera R. et al. Phytochemical investigation and Antipyretic activity of leaf extract of *Vitex negundo* Linn // *Inter. J. Pharm. Tech. Res.* – 2010. – V. 2, N 2. – P. 1068–1073.
5. Иванова Л. П., Бутенко Л. И., Лугай Л. В., Сбежнева В. Г. Определение иридоидов в траве татарника колчого (*Onopordum acanthium* L., род *Onopordum*) // *Химия раст. сырья*. – 2010. – № 4. – С. 131–133.

Надійшла до редакції 27. 01. 2014.

А. А. Цуркан<sup>1</sup>, И. В. Ниженковская<sup>2</sup>, О. В. Ющишена<sup>2</sup>, Н. П. Ковальская<sup>2</sup>, О. А. Кораблева<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ГУ «Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины», г. Киев

<sup>2</sup>Національний медичинський університет ім. А. А. Богомольця, г. Київ

<sup>3</sup>Національний ботаничний сад ім. Н. Н. Грешко НАН України, г. Київ

ИССЛЕДОВАНИЕ ИРИДОИДОВ ВИТЕКСА СВЯЩЕННОГО (*VITEX AGNUS-CASTUS* L.) И ВИТЕКСА КОНОПЛЕВИДНОГО (*VITEX CANNABIFOLIA* SIEB.)

**Ключевые слова:** *Vitex agnus-castus* L., *Vitex cannabifolia* Sieb., иридоиды, аукубин, агнузид

#### АННОТАЦІЯ

Известно, что дофаминиметическая активность витекса священного и витекса коноплевидного обуславливается содержащимися в этих растениях иридоидами. В то время как иридоидный состав листьев и плодов этих растений, заготовленных в условиях тропического климата, изучен, соцветия и стебли, а также сырье, выращенное на территории умеренного климата Украины, остается малоизученным.

В статье приведены результаты качественного и количественного исследования иридоидов в листьях, стеблях и соцветиях витекса священного (*Vitex agnus-castus* L.) и витекса коноплевидного (*Vitex cannabifolia* Sieb.), выращенных на территории Украины.

Качественные исследования проводились хроматографическими методами (тонкослойная и высокоэффективная жидкостная хроматографии), суммарное содержание иридоидов – УФ-спектрофотометрией после реакции с гидросиламином и железом (III) хлоридом.

Во всех исследуемых образцах найдено 7 иридоидов, из них идентифицированы агнузид и аукубин. Наивысшее содержание агнузида найдено в листьях (12,26 мг/100 г), аукубина – в соцветиях (4,31 мг/100 г) витекса священного. Наибольшее суммарное содержание иридоидов обнаружено в соцветиях витекса коноплевидного и листьях обоих видов (2,58–2,87%). Как сырье иридоидов были предложены листья витекса священного и витекса коноплевидного.

O. Tsurkan<sup>1</sup>, I. Nizhenkovska<sup>2</sup>, O. Yushchishena<sup>2</sup>, N. Kovalska<sup>2</sup>, O. Korablova<sup>3</sup>

<sup>1</sup>State Institution «Institute of Pharmacology and Toxicology of National Medical Academy of Sciences of Ukraine», Kyiv

<sup>2</sup>Bohomolets National Medical University, Kyiv

<sup>3</sup>Gryshko National Botanical Garden of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

DETERMINATION OF IRIDOIDS IN *VITEX AGNUS-CASTUS* L. AND *VITEX CANNABIFOLIA* SIEB.

**Key words:** *Vitex agnus-castus* L., *Vitex cannabifolia* Sieb., iridoids, aucubin, agnuside

#### ABSTRACT

Leaves and fruits of *Vitex agnus-castus* L. and *Vitex cannabifolia* Sieb are reported to be a source of iridoids exhibit dophaminomimetic activity, but iridoid content in their inflorescences and stems is not discovered enough. Also information about iridoids of these plants growing in Ukraine (temperate climate) has not been reported yet.

The aim of this study is qualitative and quantitative determination of iridoids in leaves, stems and inflorescences of *V. agnus-castus* L. and *V. cannabifolia* Sieb. growing in Ukraine.

Each component was determined by methods of thin-layer chromatography (TLC) and high performance liquid chromatography (HPLC). The total iridoid content expressed as aucubin was estimated by UV-spectrophotometric method after reaction with hydroxylamine and iron (III) chloride.

By TLC and HPLC methods eight iridoids were found and among them aucubin and agnuside were identified. The highest aucubin content (4,31 mg/100 g) was determined using HPLC method in *V. agnus-castus* inflorescences, the highest agnuside content (12,26 mg/100 g) – in its leaves. It was estimated by spectrophotometric method that *V. cannabifolia* inflorescences and leaves of both species have the higher total iridoid content (2,58–2,87%), expressed as aucubin. This is the reason we recommend leaves of *V. agnus-castus* and leaves of *V. cannabifolia* as a new source of iridoids.

Електронна адреса для листування з авторами: [yuov@meta.ua](mailto:yuov@meta.ua)