

**РОЗРОБЛЕННЯ ПІДХОДІВ ДО СТАНДАРТИЗАЦІЇ ЦМИНУ ПІСКОВОГО (*HELICHRYSUM ARENARIUM* (L.) MOENCH.) В РОСЛИННИХ СУМІШАХ**

**Ключові слова:** квітки цмину піскового, стандартизація, апігенін, багатокомпонентні рослинні суміші, високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ)

Упродовж останніх років в світовій фітотерапії спостерігається тенденція до більш поширеного використання багатокомпонентних лікарських засобів рослинного походження (БЛЗРП). На фармацевтичному ринку України зареєстровано та добре зарекомендували себе більш ніж 200 полікомпонентних фітозасобів [1, 2]. Але існуючі на сьогодні методики аналізу вищезазначених фітозасобів здебільшого не відповідають сучасним фармакопейним вимогам, вони не є специфічними та не дають можливості ідентифікації та визначення кількісного вмісту окремих компонентів суміші.

Одним із перспективних напрямів подальшого удосконалення процедури стандартизації багатокомпонентних фітозасобів є використання так званих маркерних сполук або маркерів – речовин, присутність яких характерна лише для окремої лікарської сировини. Впровадження методик якісного та кількісного аналізу, заснованих на використанні маркерів, має не лише велике практичне значення, але й суттєву наукову доцільність.

Одним із найпоширеніших компонентів, що застосовують для виготовлення БЛЗРП, є квітки цмину піскового (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench.), які успішно використовують в медичній практиці як у вигляді монопрепаратів, так і у вигляді складових частин БЛЗРП [1, 2]. Цій лікарській сировині притаманний широкий спектр біологічної активності, зокрема жовчогінні, протизапальні, бактерицидні, спазмолітичні та антиоксидантні властивості [3, 4, 5].

Враховуючи те, що флавоноїдна фракція зумовлює антиоксидантні властивості рослини [6], вважалося за доцільне дослідити можливість використання флавоноїдів як маркерних сполук для визначення цмину піскового в рослинних сумішах, зокрема флавоноїда апігеніна, який є одним з мажоритарних компонентів цього класу біологічно активних речовин (БАР) в цміні пісковому і, за даними літератури, виявляє широкий спектр біологічної активності [4, 6–10].

**Мета роботи** – розроблення підходів до якісної та кількісної стандартизації квіток цмину піскового в рослинних сумішах за вмістом флавоноїда апігеніна.

**Матеріали та методи дослідження**

Об'єктами дослідження слугували квітки цмину піскового в пачках по 50 г (ЗАТ «Ліктрави», серії: 101111, 111211, 30212, 40212), квітки цмину піскового в пачках по 20 г (ЗАТ ФФ «Віола», серія 231110).

Також об'єктами дослідження були нижчезазначені суміші. Суміш із вмістом квіток цмину піскового: квіток цмину піскового – 1 г, плодів глоду колючого – 1 г, коренів алтеї лікарської – 1 г, коренів солодки голої – 1 г, коренів цикорію дикого – 1 г, коренів кульбаби лікарської – 1 г, шишок хмелю – 1 г, трави кропиви собачої – 1 г, листя та квіток глоду – 1 г, трави звіробою – 1 г, насіння льону – 1 г. Суміш без вмісту цмину піскового: плодів глоду колючого – 1 г, коренів алтеї лікарської – 1 г, коренів

солодки голої – 1 г, коренів цикорію дикого – 1 г, коренів кульбаби лікарської – 1 г, шишок хмелю – 1 г, трави кропиви собачої – 1 г, листя та квіток глоду – 1 г, трави звіробою – 1 г, насіння льону – 1 г.

Екстракцію біологічно активних речовин із досліджуваних об'єктів та аналіз одержаних екстрактів з використанням методу високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) здійснювали на хроматографі Shimadzu ser. 20 (Японія), обладнаному діодно-матричним детектором, в таких умовах: колонка Phenomenex Luna C18 (2) (250 мм × 4,6 мм, розмір частинок 5 мкм), температура колонки – 35 °С, довжина хвилі детектування – 330 нм, швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв, об'єм введеної проби – 5 мкл. Як рухому фазу використовували 0,1%-ні розчини трифтороцтової кислоти у суміші води й ацетонітрилу (градієнтне елюювання) [11].

Статистичне оброблення даних здійснювали, використовуючи t-критерій Стьюдента [12].

### Результати дослідження та обговорення

На рисунку наведено хроматограми розчину порівняння апігеніна (А) та екстракту квіток цмину піскового (Б).

Як можна бачити, час виходу піка апігеніна у вищезазначених умовах становить близько 33,3 хв. Цей пік присутній як на хроматограмі розчину порівняння апігеніна, так і на хроматограмі екстракту квіток цмину піскового.

Вміст апігеніну в різних серіях квіток цмину піскового подано в таблиці.

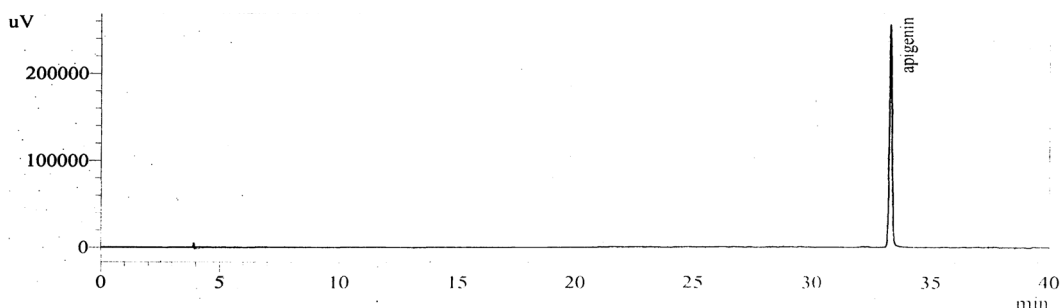
Т а б л и ц я 1

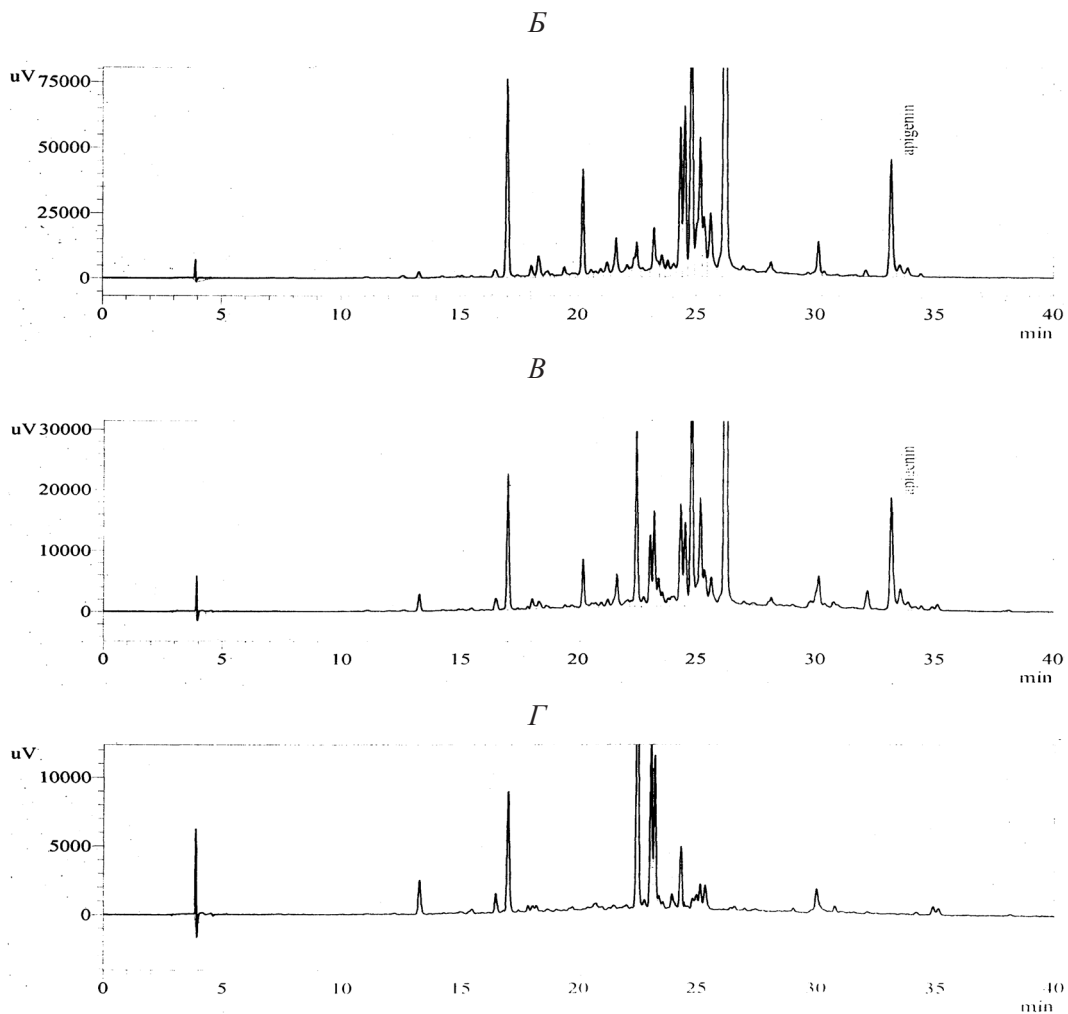
#### Вміст апігеніна в досліджуваних препаратах квіток цмину піскового

Препарат цмину піскового	Виробник, № серії	Вміст апігеніна в перерахунку на висушену сировину, %
Квітки цмину піскового в пачці по 50 г	ЗАТ «Ліктрави», серія 111211	0,1575 ± 0,0073
Те ж саме	ЗАТ «Ліктрави», серія 101111	0,1570 ± 0,081
»	ЗАТ «Ліктрави», серія 30212	0,1657 ± 0,0085
»	ЗАТ «Ліктрави», серія 40212	0,1453 ± 0,0068
Квітки цмину піскового в пачці по 20 г	ЗАТ ФФ «Віола», серія 081011	0,1608 ± 0,0083

Згідно з даними, наведеними в таблиці, в усіх пробах було ідентифіковано та кількісно визначено флавоноід апігенін, вміст якого в досліджуваній сировині знаходиться в межах від 0,1453 ± 0,0068% до 0,1657 ± 0,0085% в перерахунку на висушену сировину.

А





**Рис. ВЕРХ-хроматограми досліджуваних розчинів:**

*A* – розчину порівняння апігеніна; *B* – екстракту квіток цмину піскового;  
*B* – екстракту модельної суміші зі вмістом квіток цмину; *Г* – екстракту модельної суміші без вмісту квіток цмину

За цих самих умов було проведено аналіз рослинної сировини, що найчастіше входить до складу багатокомпонентних препаратів із вмістом цмину піскового, а саме: плодів глоду колючого, коренів алтеї лікарської, коренів солодки голої, коренів цикорію дикого, коренів кульбаби лікарської, шишок хмелю, трави кропиви собачої, листя та квітки глоду, трави звіробою та насіння льону.

У джерелах доступної нам літератури дані про наявність апігеніна в іншій досліджуваній сировині, окрім цмину піскового, відсутні. З метою перевірки можливості стандартизації квіток цмину піскового у БЛЗРП за наявністю та вмістом флавоноїду апігеніна, було вивчено можливість стандартизації квіток цмину піскового у присутності кожного з досліджуваних рослинних компонентів.

В результаті досліджень можна дійти висновку, що за наявністю та кількісним вмістом апігеніна можливо стандартизувати квітки цмину піскового у сумішах з усією вищенаведеною сировиною.

Для підтвердження можливості стандартизації квіток цмину піскового за наявністю та вмістом апігеніна в присутності вищезазначеної сировини було виготовлено суміші зі вмістом та без вмісту цмину піскового.

Зазначені суміші було проаналізовано за розробленою хроматографічною методикою. Хроматограми розчину порівняння апігеніна, екстракту квіток цмину пісового та екстрактів зазначених сумішей наведено на рисунку.

Як можна бачити з рисунку, як на хроматограмі екстракту квіток цмину пісового (Б), так і на хроматограмі рослинної суміші зі вмістом цмину (В) присутній пік апігеніна, тоді як на хроматографі рослинної суміші без вмісту цмину пісового (Г) цей пік відсутній.

Таким чином, виходячи з одержаних даних, у рослинних сумішах, до складу яких входять квітки цмину пісового, плоди глоду колючого, корені алтеї лікарської, корені солодки голої, корені цикорію дикого, корені кульбаби лікарської, шишки хмелю, трава кропиви собачої, листя та квітки глоду, трава звіробою та насіння льону, квітки цмину пісового можна стандартизувати за наявністю та вмістом флавоноїду апігеніна.

## **В и с н о в к и**

1. З використанням методу ВЕРХ розроблено методику, за якою можлива стандартизація квіток цмину пісового в рослинних сумішах за наявністю та вмістом флавоноїду апігеніна.

2. Досліджено можливість стандартизації цмину пісового за наявністю та вмістом апігеніна в присутності плодів глоду колючого, коренів алтеї лікарської, коренів солодки голої, коренів цикорію дикого, коренів кульбаби лікарської, шишок хмелю, трави кропиви собачої, листя та квіток глоду, трави звіробою та насіння льону.

## **Л І Т Е Р А Т У Р А**

1. Довідник лікарських засобів, зареєстрованих в Україні станом на 01. 01. 2014 [Електронний ресурс]. – Режим доступу: [www.Pharma-center.kiev.ua](http://www.Pharma-center.kiev.ua)

2. Справочник «Компендиум-2011 – лекарственные препараты» / Под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторова. – К.: Морион, 2011. – 2270 с.

3. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. Гродзінський А. М. – К.: Головна ред. УРЕ, 1989. – 544с.

4. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейство *Asteraceae* (*Compositae*) / Отв. ред. Соколов П. Д. – СПб.: Наука, 1993. – 351 с.

5. Radusiene J., Janulis V. Improvement of diversity, trade and conservation of medicinal and aromatic plants // *Medicina*. – 2004. – V. 40, Iss. 8. – P. 705–709.

6. Sroka Z., Kuta I., Cisowski W., Dryś A. Antiradical activity of hydrolyzed and non-hydrolyzed extracts from *Helichrysi inflorescentia* and its phenolic contents // *Z. Naturforsch.* – 2004. – V. 59, Iss. 5–6. – P. 363–367.

7. Clere N., Faure S., C.Martinez M. Anticancer properties of flavonoids: role in various stages of carcinogenesis // *Cardiovasc. Hematol. Agents Med. Chem.* – 2011. – V. 9, Iss. 2. – P. 62–77.

8. Cushnie T., Lamb A. Antimicrobial activity of flavonoids // *Int. J. Antimicrob. Agents*. – 2005. – V. 26, Iss. 5. – P. 343–356.

9. Sandhar H., Kumar B., Prasher S. et al. A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids // *Int. Pharm. Sci.* – 2011. – V. 1. – P. 25–41.

10. Shukla S., Gupta S. Apigenin: a promising molecule for cancer prevention. // *Pharm. Res.* – 2010. – V. 27, Iss. 6. – P. 962–978.

11. Гудзенко А. В. Разработка методики стандартизации коры дуба в растительных смесях по содержанию эллаговой кислоты с использованием метода ВЭЖХ // *Вопросы биол., мед. фарм. химии*. – 2013. – № 10. – С 9–12.

12. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: Морион, 2000. – 320 с.

Надійшла до редакції 10. 09. 2014.

А. В. Гудзенко

ГУ «Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины», г. Киев

## РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ К СТАНДАРТИЗАЦИИ БЕССМЕРТНИКА ПЕСЧАНОГО (*HELICHRYSUM ARENARIUM* (L.) MOENCH.) В РАСТИТЕЛЬНЫХ СМЕСЯХ

**Ключевые слова:** цветки бессмертника песчаного, стандартизация, апигенин, многокомпонентные растительные смеси, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)

### АННОТАЦИЯ

Определен маркер, по наличию и количественному содержанию которого возможна качественная и количественная стандартизация в растительных смесях цветков бессмертника песчаного. В качестве маркера бессмертника песчаного может использоваться флавоноид апигенин. Апигенин имеет широкий спектр биологической активности (в частности апигенин обладает противовоспалительным, антиоксидантным, противораковым и многими другими фармакологическими свойствами).

С использованием метода жидкостной хроматографии разработана методика анализа апигенина в сырье и растительных смесях бессмертника песчаного. Хроматографическое исследование проводили с использованием хроматографа Shimadzu сер. 20, оборудованного диодно-матричным детектором в следующих условиях: колонка Phenomenex Luna C18 (2) (250 мм × 4,6 мм, размер частиц 5 мкм), температура колонки – 35 °С, длина волны детектирования – 330 нм, скорость потока подвижной фазы – 1 мл/мин, объем укола – 5 мкл. В качестве подвижной фазы использовали 0,1%-е растворы трифторуксусной кислоты в смеси воды и ацетонитрила (градиентное элюирование).

С использованием разработанной методики проанализировано содержание апигенина в пяти сериях бессмертника песчаного, содержание которого в сырье цветков растения лежит в пределах от  $0,1453 \pm 0,0068\%$  до  $0,1657 \pm 0,0085\%$  в пересчете на высушенное сырье. Показана возможность стандартизации бессмертника песчаного по наличию и количественному содержанию апигенина в присутствии плодов боярышника колючего, корней алтея лекарственного, корней солодки голой, корней цикория дикого, корней одуванчика лекарственного, шишек хмеля, травы пустырника, листьев и цветков боярышника, травы зверобоя и семян льна.

A. V. Gudzenko

State Institution «Institute of Pharmacology and Toxicology of National Medical Academy of Science of Ukraine», Kyiv

## DEVELOPMENT OF APPROACHES TO STANDARDIZATION OF *HELICHRYSUM ARENARIUM* (L.) MOENCH. IN MULTICOMPONENT PLANT COMPOSITION

**Key words:** *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. flowers, standardization, apigenin, multicomponent plant composition, HPLC

### ABSTRACT

Determined marker for qualitative and quantitative standardization of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. flowers in the plant mixtures. As a marker of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. flowers can be used apigenin. Apigenin has a wide range of biological activity (in particular, apigenin has anti-inflammatory, antioxidant, anti-cancer and many other pharmacological properties). The method for the analysis of apigenin in *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. flowers and its herbal mixtures using HPLC was developed.

Chromatographic study investigated extracts and reference solution of apigenin was carried out by chromatograph Shimadzu ser. 20, equipped with a diode array detector under the following conditions: column Phenomenex Luna C18 (2) (250 mm × 4.6 mm, 5 micron particle size), the column temperature – 35 °C, detection wavelength – 330 nm, the flow rate of the mobile phase – 1 ml/min, volume injection – 5 µl. As the mobile phase used a 0.1% solutions of trifluoroacetic acid in a mixture of water and acetonitrile (gradient elution).

With the developed methodology analyzed of 5 series *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. The analysis shows, that the content of apigenin in raw plant is between  $0,1453 \pm 0,0068\%$  to  $0,1657 \pm 0,0085\%$  in terms of the dried materials. It is shown, that the presence and content of apigenin *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. flowers can be standardized in the mixtures with the following plant: leaves and fruits of genus *Crataegus* L., roots of *Althaea officinalis* L., roots of *Glycyrrhiza glabra* L., roots of *Cichorium intybus* L., roots of *Taraxacum officinale* Webb., cones of *Humulus lupulus* L., grass of *Leonurus cardiaca* L., grass of *Hypericum perforatum* L. and seeds of *Linum usitatissimum* L.

Електронна адреса для листування з автором: [ganvi@yandex.ru](mailto:ganvi@yandex.ru)