

Хортецька Т.В., Мазулін О.В., Буряк В.П., Єренко О.К., Мазулін Г.В.
Запорізький державний медичний університет

Накопичення аукубіну в листі видів роду *Plantago* L. флори України

Метою роботи було кількісне визначення аукубіну в листі досліджуваних видів роду *Plantago* L. і дослідження накопичення цієї сполуки під час цвітіння рослин в умовах України. Об'єктом дослідження була рослинна сировина (листя) *P. major* L., *P. lanceolata* L., *P. media* L. та *P. altissima* L., яку заготовлено в різних регіонах України (2010-2013 рр.) у період цвітіння. Ідентифікацію та визначення кількісного вмісту компонентів проводили за допомогою хромато-мас-спектрометрії. Встановлено присутність та кількісний вміст аукубіну в листі досліджуваних видів роду *Plantago* флори України. Методом газової хроматографії з мас-спектрометричним детектуванням вперше встановлено, що найвищі концентрації речовини характерні для листя *P. altissima* L. – до $(2.57 \pm 0.13) \%$. Листя *P. media* L., *P. altissima* L., *P. major* L. перспективні для отримання протизапальних лікарських засобів.

Ключові слова: подорожник, аукубін, іридоїд, газова хроматографія з мас-спектрометричним детектуванням, гепатопротективна дія, антиоксидантна дія.

Родина подорожникові (*Plantaginaceae* Juss.) налічує 4 роди та до 265 видів відносно невисоких трав'янистих рослин. Вони досить звичні в природних біоценозах, але також постійно зустрічаються в рослинних угрупованнях, порушених під впливом діяльності людини. Рід подорожник (*Plantago* L.) – найбільший за чисельністю видів (210), які поширені переважно в помірних областях обох півкуль і лише іноді – у тропіках. На території Росії та СНД зростають до 43 видів роду *Plantago* [9]. В сучасній флорі України налічують 15 найбільш розповсюджених видів [6]. Рослини досить звичні в регіонах з різними природними умовами: від болотистих місцевостей до пустель, гірських плато та морських берегів. Проростають на піщаних ґрунтах, по луках, степах, узліссях, пустирищах, пасовищах, а також навколо ставків, річок, уздовж доріг. Багато видів роду культивуються в країнах Європи, Азії, Північної Америки, Росії, України [5, 13].

На наш час в Україні офіційними видами роду є *P. major* L. (сировина – листя) і *P. psyllium* L. (син. *P. scabra* Moench., сировина – насіння). У країнах Європейського Союзу як фармакопейні використовують *P. lanceolata* L., *P. afra* L., *P. indica* L., *P. ovata* L. (монографії Європейської Фармакопеї (ЄФ)). У Російській Федерації листя *P. media* L. є офіційною лікарською рослинною сировиною (ЛРС) поряд з *P. major*, *P. lanceolata* та насінням *P. psyllium*. У деяких країнах світу офіційною ЛРС є коріння *P. major*, *P. lanceolata* та *P. media* [2, 3, 5, 7].

Рослинна сировина видів роду *Plantago* відома в багатьох країнах світу як важливе джерело біологічно активних речовин: іридоїдів, вітаміну К₁, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, полісахаридів, амінокислот, органічних кислот, які накопичуються переважно в надземній частині рослин [5, 7, 10, 11, 12, 13, 15].

У сучасній медицині застосовують численні препарати, до складу яких входять екстракти або сік з видів роду *Plantago*: «Гербіон сироп або сік з видів роду *Plantago*: «Гербіон сироп подорожника» (Словенія), «Сироп від кашлю Др. Тайсса» (Німеччина), «Сік подорожника» (Росія), «Дефенорм» (Україна), «Пекторал» (Швейцарія), «Тусавіт» (Австрія), «Агіолакс» (Німеччина), «Евкабал сироп» (Німеччина) та ін. [4, 5, 7, 8].

Для стандартизації рослинної сировини *P. major* в Україні до Державної Фармакопеї України (ДФУ) першого видання (Доповнення 3) введено монографію «Подорожника великого листя», яка вимагає проводити визначення вмісту полісахаридів (не менше 12%), суми похідних орто-дигідрокоричної кислоти (не менше 1.5% у перерахунку на актеозид), макро- та мікроскопічні дослідження. Проте ця монографія не передбачає встановлення кількісного вмісту іридоїдів, що не дає можливості провести повноцінну стандартизацію досліджуваної рослинної сировини [3, 5, 7].

Велика увага до дослідження іридоїдів у останні роки пов'язана з встановленням їх вираженої біологічної активності, обумовленої структурою циклопентаноїдних монотерпнів різного ступеня окиснення. У рослинах ці сполуки синтезуються для захисту від комах-шкідників, внаслідок чого мають високу хімічну стабільність. Циклопентаноїдні монотерпени дуже розповсюджені в сировині родин *Plantaginaceae*, *Scrophulariaceae*, *Rubiaceae*, *Cornaceae*, *Eucommiaceae*, *Hobulariaceae*, *Gentianaceae* та підродин родини *Lamiaceae*: *Ajugoidae*, *Scutellarioidae*, *Stachyoidae* [5, 7, 10, 11, 14, 15]. Для найбільш відомого іридоїду аукубіну та його похідних встановлено виражену протизапальну, гепатопротекторну, антиоксидантну, протимікробну, ранозагоювальну дію [5, 10, 11, 13, 15].

Аукубін (син. аукубозид) ($C_{15}H_{22}O_9$) в індивідуальному стані представляє собою безбарвну кристалічну сполуку, М.м. 346.33, т. пл. 181 °С, $[\alpha]_D^{21} - 161.3^\circ$ (С = 1.6). Легко розчинний у воді та низькомолекулярних спиртах [5, 10, 11, 14].

Встановлено, що препарати з видів роду *Plantago* завдяки присутності аукубіну виявляють виражену протизапальну, стимулюючу, регулюючу обмін речовин, бактерицидну дію. В сучасній медицині такі препарати широко використовують при лікуванні гострого панкреатиту, циститу, пієлонефриту, в якості бактерицидних засобів при інфікуванні шлунка, кишкового тракту, нирок, січового міхура [5, 7, 13, 15].

Однак, слід зазначити, що стандартизація видів роду *Plantago* за вмістом аукубіну до нашого часу практично не проводилась. Відомі методи рідинної хроматографії і міцелярної електрокінетичної хроматографії досить складні у виконанні та некоректні через багатокомпонентний хімічний склад рослинної сировини та препаратів на її основі. До того ж вони потребують постійного використання стандартного зразка аукубіну [12, 14, 16].

Актуальною проблемою є впровадження в практику методу газової хроматографії з мас-спектрометричним детектуванням (ГХ-МС) для визначення вмісту іридоїдів у рослинній сировині та багатокомпонентних фітопрепаратах на її основі. Метод характеризується відносною швидкістю (35 хв), високою чутливістю (до 10^{-13} г), невеликим об'ємом проби

(0.1-0.5 мкл), невеликою відносною помилкою, можливістю широкого використання пошукових бібліотек [1].

Метою роботи було кількісне визначення аукубіну в листі досліджуваних видів роду *Plantago* і дослідження накопичення цієї сполуки під час цвітіння рослин в умовах України.

Експериментальна частина

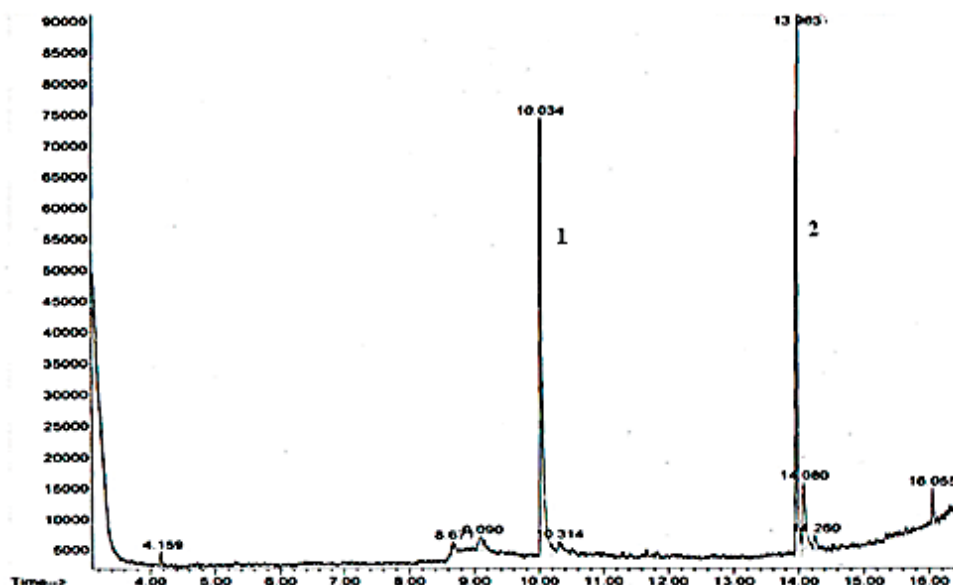
Об'єктом дослідження була рослинна сировина (листя) *P. major* L., *P. lanceolata* L., *P. media* L. та *P. altissima* L., яку заготовлено в різних регіонах України (2010-2013 рр.) у період цвітіння відповідно до вимог ГФ XI та ДФУ [2, 3].

Для ідентифікації аукубіну в досліджуваній рослинній сировині застосовували реакцію Трим-Хілла, а також реакцію з гідроксиламіном та хлоридом заліза(III). Для цього наважку (1.0 г) рослинної сировини, висушеної відповідно до вимог ДФУ, подрібнювали (d = 1 мм), додавали 10 мл 96 % спирту етилового, нагрівали на киплячій водяній бані протягом 15 хв, охолоджували, додавали 10 мл хлороформу, збовтували, розчинник відокремлювали. Витяг випаровували до 1 мл, додавали 2 мл реактиву Трим-Хілла.

В якості стандартного зразка використовували аукубін виробництва Fluka, Німеччина (> 99.0 %).

Кількісне визначення вмісту аукубіну в листі досліджуваних видів роду *Plantago* проводили методом ГХ-МС на хроматографі Agilent Technology 6890N/5973N з мас-спектрометричним де-

Рисунок 1



Хроматограма метанольного розчину аукубіну фірми Fluka (Німеччина)

1 — метанол, 2 — аукубін.

тектором 5973N, адаптованим для роботи з капілярними колонками в програмованому комп'ютерному режимі.

Методика: 0.5 г (точна наважка) подрібненої рослинної сировини ($d = 0.1$ мм) поміщали в мірну колбу місткістю 5 мл, додавали спирт метиловий 90 % до позначки, витримували 24 год ($t = 25$ °C). Розчин центрифугували, фільтрували крізь тефлоновий мембранний фільтр (діаметр отворів – 0.45 мкм) в пробірку для проведення аналізу.

Колонка кварцова, капілярна HP – 5MS розміром 30 м × 0.32 мм. Температура термостата – 50 °C у програмованому режимі (3 °C/хв до 220 °C), газ-носії – гелій. Температура детектора та випарювача – 250 °C. Швидкість потоку газу-носія (гелій) – 1.5 мл/хв. Введення проби з поділом потоку 1/50.

Аукубін визначали за результатами часу утримування піків компонентів і стандартного зразка, а також шляхом порівняння відповідних мас-спектрів з даними бібліотеки NIST02 (більше ніж 174000 сполук).

Результати досліджень та їх обговорення

Якісними реакціями Трим-Хілла та з гідроксиламіном і хлоридом заліза(III) було встановлено присутність іридоїдів у листі досліджуваного виду роду *Plantago*.

Результати кількісного визначення концентрації речовини методом ГХ-МС у досліджуваних видах роду *Plantago* флори України під час цвітіння (липень-червень, 2010-2013 рр.) наведено на Рис. 1 та в Табл. 1.

Встановлено, що аукубін під час цвітіння накопичується в листі всіх досліджуваних видів роду *Plantago* з різних місць зростання. Але при цьому спостерігали достовірно більш високі концентрації речовини в листі *P. altissima*. Відповід-

но в листі *P. lanceolata*, *P. media*, *P. major* ці показники були суттєво більш низькими. Різниця в концентраціях аукубіну в рослинній сировині, яку досліджували, в залежності від року її заготівлі та місця зростання була відносно невисокою та становила від (2.30±0.11) % до (2.57±0.13) %. Для рослинної сировини *P. lanceolata*, *P. major* та *P. media* відповідно: від (0.77±0.04) % до (0.91±0.04) %, від (1.22±0.05) % до (1.37±0.07) % та від (1.55±0.07) % до (1.86±0.09) %.

Отримані результати свідчать про необхідність стандартизації рослинної сировини видів роду *Plantago* методом ГХ-МС за накопиченням біологічно активного іридоїду аукубіну для всебічної оцінки її якості.

Висновки

1. Досліджено методом ГХ-МС визначення аукубіну в листі видів роду *Plantago* L.

2. Вміст аукубіну під час цвітіння рослин найбільший у листі *Plantago altissima* L.: від (2.30±0.11) % до (2.57±0.13) %, в залежності від року заготівлі та місця зростання.

3. Листя *P. media* L. та *P. altissima* L. найбільш перспективні для отримання фітопрепаратів протизапальної, ранозагоювальної, гепатопротекторної, антиоксидантної та протимікробної дії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств / Под ред. чл.-корр. НАН Украины В.П. Георгиевского. – Харьков: НТМТ, 2011. – Т. 2. – 474 с.
2. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырьё / МЗ СССР. – [11-е изд., доп.]. – М.: Медицина, 1990. – 400 с.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 1-е вид. – Доповнення 3. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2009. – 280 с.

Таблиця 1

Вміст аукубіну в листі видів роду *Plantago*

Вид рослини	Місце заготівлі	Кількісний вміст, %, $(\bar{X} \pm \Delta\bar{X}), \mu = 6$
<i>P. major</i> L.	с. Підстепне, Херсонська обл., 2010 р.	1.37±0.07
<i>P. major</i> L.	м. Пириятин, Київська обл., 2011 р.	1.29±0.06
<i>P. major</i> L.	м. Ізюм, Харківська обл., 2012 р.	1.22±0.05
<i>P. media</i> L.	м. Барвінкове, Харківська обл., 2013 р.	1.70±0.07
<i>P. media</i> L.	м. Дружківка, Донецька обл., 2011 р.	1.55±0.07
<i>P. media</i> L.	м. Армянськ, АР Крим, 2012 р.	1.86±0.09
<i>P. lanceolata</i> L.	смт. Кушугум, Запорізька обл., 2010 р.	0.91±0.04
<i>P. lanceolata</i> L.	с. Солене, Дніпропетровська обл., 2012 р.	0.77±0.04
<i>P. lanceolata</i> L.	м. Василівка, Запорізька обл., 2013 р.	0.80±0.04
<i>P. altissima</i> L.	м. Бахчисарай, АР Крим, 2011 р.	2.57±0.13
<i>P. altissima</i> L.	м. Кривий ріг, Дніпропетровська обл., 2012 р.	2.30±0.11
<i>P. altissima</i> L.	м. Краматорськ, Донецька обл., 2012 р.	2.44±0.11

4. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. / М.Д. Машковский. — М.: Новая волна, 2002. — Т. 1. — 540 с.
5. Оленников Д.Н. Подорожник большой (*Plantago major* L.) Химический состав и применение / Д.Н. Оленников, А.В. Samuelsen, Л.М. Танаева // Химия растительного сырья. — 2007. — № 2. — С. 37-50.
6. Определитель высших растений Украины / Доброчаева Д.Н. [и др.]; под ред. Ю.Н. Прокудина. — К.: Наук. думка, 1987. — 548 с.
7. Питання введення до ДФУ національної монографії «Подорожника великого листя» / Е.Е. Котова [та ін.] // Фармаком. — 2010. — № 2. — С. 5-13.
8. Пронченко Г.Е. Лекарственные растительные средства / Под ред. А.П. Арзамасцева, И.А. Самылиной. — М.: ГЭО-ТАР — МЕД, 2002. — 288 с.
9. Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР) / С.К. Черепанов. — СПб., 1995. — 992 с.
10. Aucubin prevents loss of hippocampal neurons and regulates antioxidative activity in diabetic encephalopathy rats / H.Y. Xue, I. Jin, X.U. Li et al. // Phytother. Res. — 2009. — Vol. 23, № 7. — P. 980-986.
11. Chang I.M. Liver — protective activities of aucubin derived from traditional oriental medicine / I.M. Chang // Res Commun Mol Pathol Pharmacol. — 1998. — Vol. 102, № 2. — P.189-204.
12. Comparative analysis of phenolic profile, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activity of two closely — related Plantain species: *Plantago altissima* L. and *Plantago lanceolata* L. / I.N. Beara, M.M. Lesjak, Z.O. Dejan et al. // Food Science and Technology. — 2012. — Vol. 47, № 1. — P. 64-70.
13. Constituents of *Plantago major* subsp. *intermedia* with antioxidant and anticholinesterase capacities / U. Kolak, M. Boga, E. Akalin Urusak et al. // Turk. J. Chem. — 2011. — № 35. — P. 637-645.
14. Determination of aucubin and catalpol in *Plantago* species by micellar electrokinetic chromatography / R. Jurisic, Z. Debeljak, S. Vladimir — Knezevic et al. // Z. Naturforsch. — 2004. — Vol. 59, № 1-2. — P. 27-31.
15. Immunomodulatory activities of flavonoids, monoterpenoids, triterpenoids, iridoid glycosides and phenolic compounds of *Plantago* species / L.C. Chiang, L.T. Ng, W. Chiang et al. // Planta Med. — 2003. — Vol. 69, № 7. — P. 600-604.
16. Risher M. Quantitative determination of the iridid glycosides aucubin and catapol in *Plantago lanceolata* L. / M. Risher, M. Adamchuk, H. Rats // J. of Planar Chromatography. — 1998. — № 11. — P.374-378.

УДК 581.19:547.918:582.933(477)

Резюме

Хортецька Т.В., Мазулін А.В., Буряк В.П., Еренко Е.К., Мазулін Г.В.
Запорізький державний медичний університет

Накопление аукубина в листьях видов рода *Plantago* L. флоры Украины

Целью работы было количественное определение аукубина в листьях исследуемых видов рода *Plantago* L. и исследование накопления этого вещества в период цветения растений в условиях Украины. Объектом исследования было растительное сырье (листья) *P. major* L., *P. lanceolata* L., *P. media* L. и *P. altissima* L., которое заготовлено в разных регионах Украины (2010-2013 гг.) в период цветения. Идентификацию и определение количественного содержания компонентов проводили с помощью хромато-масс-спектрометрии. Установлено присутствие и количественное содержание аукубина в листьях исследуемых видов рода *Plantago* L. флоры Украины. Методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием впервые установлено, что наивысшие concentra-

ции вещества характерны для листьев *P. altissima* L. — до (2.57±0.13) %. Листья *P. media* L., *P. altissima* L., *P. major* L. перспективны для получения противовоспалительных лекарственных средств.

Ключевые слова: подорожник, аукубин, иридоид, газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием, гепатопротекторное действие, антиоксидантное действие.

UDC 581.19:547.918:582.933(477)

Summary

ChortECKa T.V., Mazulin O.V., Burak V.P., Yerenko O.K., Mazulin G.V.
Zaporizhzhia state medical university

Aucubin accumulation in leaves of species of the genus *Plantago* L. of Ukrainian flora

The aim of the work was quantitative determination of aucubin in the leaves of species of the genus *Plantago* L. and study of its accumulation during the flowering period in Ukraine. The objects of study were the leaves of *P. major* L., *P. lanceolata* L., *P. media* L. and *P. altissima* L., which were harvested in 2010-2013 in different regions of Ukraine during flowering. As a standard sample aucubin produced by «Fluka», Germany, was used. Identification and quantitative determination of components were performed by chromatography-mass-spectrometry. Analysis was conducted on chromatograph «Agilent Technology 6890N/5973N». The spectra of the components were compared to those in mass-spectral library database NIST02 (more than 174000 substances). It was found that aucubin during flowering accumulates in the leaves of all studied species of the genus *Plantago* from different habitat. The difference in aucubin concentrations in the investigated herbal drugs, depending on the year of harvesting and habitat was relatively low and ranged from (2.30±0.11) % to (2.57±0.13) %. For herbal drugs *P. lanceolata* L., *P. major* L. and *P. media* L., the results were respectively, from (0.77±0.04) % to (0.91±0.04) %; from (1.22±0.05) % to (1.37±0.07) % and from (1.55±0.07) % to (1.86±0.09) %. These results provide the need for standardization of herbal drugs of species of the genus *Plantago*. Leaves of *Plantago* L. is a valuable plant material to produce antimicrobial and anti-inflammatory drugs.

Keywords: plantago, aucubin, iridoids, gas chromatography with mass-spectrometry, hepatoprotective action, antioxidative action.

Хортецька Тая Володимирівна. Асистент кафедри фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків ФПО Запорізького державного медичного університету (2011).

Еренко Олена Костянтинівна. К.фарм.н. (2013), асистент кафедри фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків ФПО Запорізького державного медичного університету (2011).

Мазулін Олександр Владиленич. Д.фарм.н. (1994), професор (2008), зав. кафедрою фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків ФПО Запорізького державного медичного університету.

Буряк Валерій Прокопович. Д.фарм.н. (1990), професор (1992), професор кафедри токсикологічної та неорганічної хімії Запорізького державного медичного університету.

Мазулін Георгій Владиленич. К.фарм.н. (2004), асистент кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету.