

НАКОПЛЕНИЕ АУКУБИНА В ЛИСТЬЯХ PLANTAGO MEDIA L.**Хортецкая Т.В., Мазулин А.В., Еренко Е.К., Смойловская Г.П., Мазулин Г.В.**

Запорожский государственный медицинский университет, Запорожье

Растительное сырье видов рода подорожник (*Plantago L.*) известно как перспективный источник биологически активных веществ: иридоидов, витамина К, флавоноидов, гидроксикоричных кислот, полисахаридов, аминокислот, органических кислот, локализующихся преимущественно в надземных органах растений [2, 5].

Подорожник средний (*Plantago media L.*) — типичный мезофит. Он является одним из наиболее распространенных видов рода как во всех ботанико-географических регионах Украины, так и многих стран СНГ. Это многолетнее травянистое шерстисто-опушенное растение, высотой от 30 до 50 см. Произрастает на сухих лугах, степных склонах, травянистых местах и проросках. Является официальным лекарственным растением во многих странах [2, 3].

Пристальное внимание к изучению иридоидов в последние годы связано с их выраженной биологической активностью, обусловленной структурой циклопентаноидных монотерпенов различной степени окисления. В растениях эти соединения синтезируются как защитные от повреждения насекомыми и в связи с этим известны химической устойчивостью. Они распространены в семействах (подсемействах): *Plantaginaceae*, *Scrophulariaceae*, *Rubiaceae*, *Cornaceae*, *Eucommiaceae*, *Nobulariaceae*, *Gentianaceae*, *Ajugoidae*, *Scutellarioidae*, *Stachyoidae*, *Lamiaceae* [2, 3]. Из них у наиболее известного аукубина и его производных установлено выраженное противовоспалительное, геатопротекторное, антиоксидантное, антибиотическое и ранозаживляющее действие [4].

Аукубин (син. аукубозид) ($C_{15}H_{22}O_9$) в индивидуальном виде представляет собой бесцветное кристаллическое вещество, м.м. 346,33, т. пл. 181°C, $[\alpha]_{D21} - 161,3^\circ C$ ($c = 1,6$), хорошо растворимое в воде и низших спиртах [4].

Установлено, что препараты из видов рода *Plantago L.*, благодаря присутствию аукубина, проявляют выраженное противовоспалительное, стимулирующее, регулирующее обмен веществ, бактерицидное действие. В современной медицине широко применяют при лечении острого панкреатита, цистита, пиелонефрита, пищевых отравлений, как бактерицидные средства при инфицировании желудка, кишечника, почек, мочевого пузыря [1, 4].

Однако необходимо отметить, что стандартизация видов рода *Plantago L.* по содержанию аукубина до настоящего времени практически не проводится. Известные методики ВЭЖХ и мицелярной электрокинетической хроматографии достаточно трудоемки в выполнении и не всегда корректны ввиду сложного химического состава растительного сырья и препаратов на его основе. К тому же они требуют постоянного использования стандартного образца аукубина [2, 3].

Внедрение в практику метода ГЖХ-МС позволяет проводить идентификацию и количественное определение иридоидов в лекарственных растениях и многокомпонентных фитопрепаратах на их основе. Существенным преимуществом метода является возможность широкого использования данных поисковых библиотек. Метод характеризуется относительной непродолжительностью анализа (около 35 мин.), высокой чувствительностью (до 10^{-13} г), небольшим объемом анализируемой пробы (до 0,1-0,5 мкл), невысокой относительной ошибкой [1].

Целью работы являлась разработка ГЖХ–МС метода количественного определения аукубина в листьях *Plantago media* L. и изучение накопления вещества в период цветения растения. В качестве объектов исследования использовали растительное сырье (листья) *Plantago media* L., заготовленное в различных регионах Украины (2010-2013 гг.). Для качественного обнаружения аукубина в листьях растения применяли реакцию Трим-Хилла, а также с гидроксиламином и хлоридом железа (III). С этой целью навеску (1,0 г) растительного сырья, высушенного в соответствии с требованиями ГФУ, измельчали ($d = 1$ мм), заливали 10 мл 96% спирта этилового, нагревали на кипящей водяной бане 15 мин., охлаждали, добавляли 10 мл хлороформа, взбалтывали, растворитель отделяли. Извлечение упаривали до 1 мл, добавляли к 2 мл реактива Трим-Хилла. Определение методом ТСХ проводили на пластинках «Sorbfil АФ-А» в системах растворителей: этанол-ацетон (3:7) (I), этанол–этилацетат (1:1) (II). Хроматограммы высушивали на воздухе и опрыскивали реактивом Трим-Хилла. В качестве стандартного образца использовали аукубин фирмы «Fluka», Германия. Для количественного определения содержания аукубина в листьях исследуемых видов рода *Plantago* L. использовали метод ГЖХ–МС на хроматографе Agilent Technology 6890N/5973N с масс–спектрометрическим детектором 5973N, адаптированным для работы с капиллярными колонками в программном компьютерном режиме. Методика: 0,5 г (точная навеска) измельченного растительного сырья ($d = 0,1$ мм), вносили в мерную колбу вместимостью ($V = 5$ мл), добавляли спирт метиловый 90% до метки, выдерживали 24 час. ($t = 25^{\circ}\text{C}$). Раствор центрифугировали, фильтровали через тефлоновый мембранный фильтр (диаметр отверстий, $d = 0,45$ мкм) в пробирку для проведения анализа. Колонка кварцевая, капиллярная HP–5MS ($l = 30$ м, $d = 0,32$ мм). Температура термостата 50°C в программном режиме ($3^{\circ}\text{C}/\text{хв}$ до 220°C), газ-носитель — гелий. Температура детектора и испарителя 250°C . Скорость потока газа-носителя (гелий) — 1 мл/мин. Ввод пробы с разделением потока 1/50. Аукубин идентифицировали по результатам определения времени удерживания компонентов и стандартного образца, а также сравнения соответствующих масс-спектров из данных библиотеки NIST02 (более 174 000 веществ). Качественными реакциями Трим-Хилла и с гидроксиламином и хлоридом железа (III) было доказано присутствие иридоидов в листьях *Plantago media* L. Методом ТСХ на пластинках “Sorbfil АФ-А” в системах растворителей: этанол-ацетон (3:7) ($R_f = 0,58$), этанол-этилацетат (1:1) ($R_f = 0,56$) в листьях растения идентифицирован иридоид аукубина. Результаты количественного определения концентрации вещества методом ГЖХ-МС в исследуемых видах рода *Plantago* L. флоры Украины в период цветения (май-июль, 2011-2013 гг.) представлены в таблице 1.

Установлено, что аукубин в период цветения накапливается в растительном сырье *Plantago media* L. из всех исследуемых мест произрастания. Отмечена незначительная дифференциация в накоплении вещества в зависимости от года заготовки и места произрастания (от $1,14 \pm 0,05\%$ до $1,86 \pm 0,09\%$). Полученные результаты свидетельствуют о необходимости стандартизации листьев видов рода *Plantago* L. методом ГЖХ-МС по содержанию биологически активного иридоида аукубина для оценки качества растительного сырья.

Выводы

1. Методами качественного химического анализа и ТСХ установлено присутствие иридоида аукубина в листьях *Plantago media* L. из различных регионов произрастания флоры Украины.

Таблица 1 — Результаты определения содержания аукубина в листьях *Plantago media* L., заготовленных на Украине в период цветения (2010-2013 гг.)
($x \pm \Delta x$) %, $\mu = 6$

Вид растения	Место заготовки	Количественное содержание, %
<i>Plantago media</i> L.	с. Подстепное, Херсонская обл., 2013 г.	1,37±0,07
<i>Plantago media</i> L.	г. Пирятин, Киевская обл., 2011 г.	1,29±0,06
<i>Plantago media</i> L.	г. Изюм, Харьковская обл., 2012 г.	1,22±0,05
<i>Plantago media</i> L.	с. Соленое, Днепропетр. обл., 2012 г.	1,17±0,04
<i>Plantago media</i> L.	п. Кушугум, Запорожская обл., 2013 г.	1,15±0,05
<i>Plantago media</i> L.	г. Дружковка, Донецкая обл., 2011 г.	1,55±0,07
<i>Plantago media</i> L.	АР Крым, г. Армянск, 2012 г.	1,86±0,09
<i>Plantago media</i> L.	АР Крым, г. Бахчисарай, 2011 г.	1,38±0,07
<i>Plantago media</i> L.	г. Барвенково, Харьковская обл., 2012 г.	1,70±0,07
<i>Plantago media</i> L.	г. Токмак, Запорожская обл., 2011 г.	1,14±0,05

2. Разработан ГЖХ-МС метод количественного определения аукубина в листьях *Plantago media* L.

3. Содержание аукубина в период цветения растения составляло от 1,14±0,05% до 1,86±0,09% в зависимости от года заготовки и места произрастания.

4. Листья *Plantago media* L. являются перспективным источником получения фитопрепаратов противовоспалительного, ранозаживляющего, гепатопротекторного, антиоксидантного, антибиотического действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств / Под ред. член.-кор. НАН Украины В. П. Георгиевского. — Х.: НТМТ, 2011. — Т. 2. — 474 с.

2. 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.

3. Питання введення до ДФУ національної монографії «Подорожника великого листя» / Е. Е. Котова, А. Г. Котов, О. Г. Вовк и др. // Фармаком. — 2010. — № 2. — С. 5-13.

4. Aucubin prevents loss of hippocampal neurons and regulates antioxidative activity in diabetic encephalopathy rats / Н. Y. Xue, I. Jin, X. U. Li et al. // Phytother. Res. — 2009. — Vol. 23, N. 7. — P. 980-986.

5. A validation protocol for the HPLC standartization of herbal products: application to the determination of acteoside in leaves of *Plantago palmate* Hook. f. s. / G. Biringanine, M. T. Chiarelli, M. Faes et al. // Talanta. — 2006. — Vol. 69, N. 2. — P. 418-424.

УДК 553.973.004.14

ОРГАНИЧЕСКОЕ ВЕЩЕСТВО САПРОПЕЛЕЙ: ФРАКЦИОННЫЙ СОСТАВ И СПЕЦИФИКА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Хохлова О. Б.

ГБОУ ВПО ЯГМА Минздрава России, Ярославль

Достаточное обеспечение фармацевтической промышленности лекарственным растительным сырьем возможно посредством аграрного производства лекарственных растений, поскольку в его условиях появляется возможность влиять на качество и ко-