УДК 615.07:615.322:543.51:582.923.1 https://doi.org/10.24959/uekj.17.27

Я. О. Проскурова, С. М. Губар, В. А. Георгіянц

Національний фармацевтичний університет

Визначення якісного складу біологічно активних сполук сировини золототисячника звичайного (*Centaurium erythraea Rafn.*) та золототисячника гарного (*Centaurium pulchellum (Sw.) Druce*) трави методом хромато-мас-спектрометрії

Встановлений якісний склад біологічно активних сполук (БАС) сировини золототисячника звичайного (*Centaurium erythraea Rafn.*) та золототисячника гарного (*Centaurium pulchellum (Sw.) Druce*) трави методом хромато-мас-спектрометрії. Ідентифіковано близько 30 сполук.

Метою роботи є висвітлення результатів експериментальних досліджень та проведення порівняльного аналізу якісного складу БАС двох видів вітчизняної лікарської рослинної сировини (ЛРС) золототисячника трави методом хромато-мас-спектрометрії.

Результати. За результатами експериментальних досліджень якісного складу БАС вітчизняної ЛРС золототисячника трави методом хромато-мас-спектрометрії ідентифіковано близько 30 БАС – секоіридоїдних глікозидів та фенольних сполук у золототисячника звичайного (*Centaurium erythraea Rafn.*) та золототисячника гарного (*Centaurium pulchellum (Sw.) Druce*) траві.

Висновки. Здійснений порівняльний аналіз підтверджує, що якісний склад БАС двох видів ЛРС має подібний профіль.

Ключові слова: біологічно активні сполуки; лікарська рослинна сировина; золототисячника трава; хромато-мас-спектрометрія

Ya. A. Proskurova , S. M. Gubar, V. A. Georgiyants

Qualitative composition determination of the biologically active compounds in raw material of *Centaurium erythraea Rafn.* and *Centaurium pulchellum (Sw.) Druce* herb by liquid chromatography-mass spectrometry method

The qualitative composition of the biologically active compounds (BAC) of the *Centaurium erythraea Rafn.* and *Centaurium pulchellum (Sw.) Druce* herb was determined by the method of Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). Approximately 30 compounds have been identified.

Aim. To overview the results of experimental studies and a comparative analysis of the qualitative composition of BAC of two types of domestic medicinal plant material (MPM) of Centaury herb by the method of LC-MS.

Results. According to the results of experimental studies of the qualitative composition of BAS of domestic MPM of Centaury herb by the method of LC-MS was identified about 30 BAC – secoiridoid glycosides and phenolic compounds in *Centaurium erythraea Rafn.* and *Centaurium pulchellum (Sw.) Druce* herb.

Conclusions. Comparative analysis confirms was conducted that the qualitative composition of BAC of two types of MPM have a similar profile.

Key words: biologically active compounds; medicinal plant material; Centaury herb; Liquid chromatography-mass spectrometry

Я. А. Проскурова, С. Н. Губарь, В. А. Георгиянц

Определение качественного состава биологически активных соединений в сырье золототысячника обыкновенного (*Centaurium erythraea Rafn.*) и золототысячника красивого (*Centaurium pulchellum (Sw.) Druce*) травы методом хромато-масс-спектрометрии

Установлен качественный состав биологически активных соединений (БАС) сырья золототысячника обыкновенного *(Centaurium erythraea Rafn.)* и золототысячника красивого (*Centaurium pulchellum (Sw.) Druce*) травы методом хромато-масс-спектрометрии. Идентифицировано около 30 соединений.

ISSN 2311-1127 (Print)
ISSN 2519-8807 (Online)

Целью работы является обзор результатов экспериментальных исследований и проведение сравнительного анализа качественного состава БАС двух видов отечественного лекарственного растительного сырья (ЛРС) золототысячника травы методом хромато-масс-спектрометрии.

Результаты. По результатам экспериментальных исследований качественного состава БАС отечественной ЛРС золототысячника травы методом хромато-масс-спектрометрии идентифицировано около 30 БАС – секоиридоидных гликозидов и фенольных соединений в золототысячника обыкновенного *(Centaurium erythraea Rafn.)* и золототысячника красивого *(Centaurium pulchellum (Sw.) Druce)* траве.

Выводы. Проведенный сравнительный анализ подтверждает, что качественный состав БАС двух видов ЛРС имеет подобный профиль.

Ключевые слова: биологически активные соединения; лекарственное растительное сырье; золототысячника трава; хромато-масс-спектрометрия

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ

Серед населення більшості розвинутих країн Європи дуже поширені захворювання шлунково-кишкового тракту та сечовидільної системи. В Україні у структурі неінфекційних захворювань хвороби сечостатевої системи склали 5,46 %, хвороби органів травлення – 9,93 % за даними медичної статистики за 2014 рік [1-3].

Поширеність хронічної хвороби нирок (ХХН) в Україні в 2012 р. за офіційними даними склала приблизно 900 випадків на 100 тис. населення. З урахуванням даних міжнародних епідеміологічних досліджень, згідно з якими поширення ХХН у світі складає 7-10 %, статистичні дані по Україні занижені як мінімум на порядок.

В Європі сечокам'яна хвороба зустрічається в 2 % населення, і спостерігається тенденція до зростання [2]. Питання профілактики, раннього виявлення і своєчасного лікування нефролітіазу, станів і захворювань, що призводять до розвитку сечокам'яної хвороби, гостро стоїть перед сучасною медициною [3].

На фармацевтичному ринку спостерігається зростання асортименту лікарських засобів для лікування захворювань шлунково-кишкового тракту, захворювань нирок та сечовидільних шляхів, до складу якого входить золототисячника трава.

До роду золототисячник (Centaurium) входить близько 20 видів, поширених в Євразії, Північній і Південній Америці та Австралії. Латинська назва – Centaurium; англійська – Centaury. Найбільш поширені представники цього роду – Золототисячник звичайний або зонтичний (*Centaurium erythraea Rafn.*) та Золототисячник гарний (*Centaurium pulchellum (Sw.) Druce*) [4].

Значний позитивний досвід використання препаратів на основі золототисячника трави для лікування хвороб нирок та сечовидільних шляхів запального генезу сприяє зростанню інтересу до цієї ЛРС. Встановлення основних БАС золототисячника трави є актуальним питанням як для розширення сфери медичного застосування, так і для стандартизації вітчизняної ЛРС золототисячника трави.

АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

З літературних джерел відомо, що золототисячника трава багата на різні класи БАС. Речовинами, що зумовлюють фармакологічну активність сировини, вважаються гіркоти – секоіридоїдні глікозиди (свертіамарин, генціопікрозид, центапікрин, еритаурин, генціофлавозид, сверозид і амарогентин).

Види роду золототисячник містять також алкалоїди, які вперше були виділені у 1946 р. з сухої трави у кількості 0,6-1 % (переважно генціанін); флавоноїди (апіїн, лютеолін, космозеїн, апігенін, скутеляреїн, рутин, астрагалін, кверцимеритрин, кемпферол, кверцетин, хризоеріол та інші); тритерпеноїди (переважно олеанолова кислота). Також трава містить фітостерини, фенолкарбонові кислоти, ефірну олію, слиз, дубильні речовини, барвники, солі органічних кислот, смоли, віск. У свіжій траві є аскорбінова кислота та каротиноїди, які при висушуванні майже повністю руйнуються [4, 5].

Фенольні сполуки – один з найбільш поширених класів рослинних БАС, до якого входять флавоноїди, лігнани, кумарини, ксантони та інші речовини. У рослинах фенольні сполуки містяться у вільному стані або у вигляді глікозидів. На сьогоднішній день доведені антиоксидантні, протизапальні, адаптогенні властивості фенольних сполук рослинного походження та їх здатність підвищувати міцність капілярів [6-8].

Це зумовлює доцільність проведення досліджень щодо якісного складу БАС секоїридоїдних глікозидів та фенольних сполук у золототисячника траві у більш широкому аспекті.

ВИЗНАЧЕННЯ НЕ ВИРІШЕНИХ РАНІШЕ ЧАСТИН ЗАГАЛЬНОЇ ПРОБЛЕМИ

Аналіз літературних джерел виявив недостатність сучасних методів контролю якості золототисячника трави. Це відкриває перспективи для розробки нових ефективних методів контролю якості та впровадження їх у практику для поліпшення контролю якості ЛРС.

ISSN 2311-1127 (Print)
ISSN 2519-8807 (Online)

Використання методу високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з мас-спектрометричним детектуванням дозволяє ідентифікувати та кількісно визначати індивідуальні БАС ЛРС [9].

Отримані дані можуть бути використані для розробки нових методів стандартизації вітчизняної ЛРС золототисячника трави і лікарських засобів на її основі.

ФОРМУЛЮВАННЯ ЦІЛЕЙ СТАТТІ

Мета роботи – експериментальні дослідження та порівняльний аналіз якісного складу БАС методом хромато-мас-спектрометрії вітчизняної ЛРС золототисячника трави, зібраної з різних регіонів України.

ВИКЛАДЕННЯ ОСНОВНОГО МАТЕРІАЛУ ДОСЛІДЖЕННЯ

В якості об'єктів дослідження було вибірково відібрано 10 серій вітчизняних зразків золототисячника звичайного та 3 серій золототисячника гарного трави, які були зібрані з різних регіонів України впродовж 2012–2014 років.

Хромато-мас-спектрометричне дослідження якісного складу БАС ЛРС проводили на хроматографі моделі Acquity H-class UPLC system (Waters, USA) з триквадрупольним мас-детектором (Xevo, Waters, USA) з іонізацією методом електростатичного розпилення; полярність негативна – (–ESI).

Методика розроблена та апробована на базі кафедр фармакогнозії та аналітичної і токсикологічної хімії Литовського університету наук про здоров'я під керівництвом професора Іванаускаса Людаса.

Умови хроматографування: колонка хроматографічна YMC Triart C18 100 x 2 мм з розміром зерен – 1,9 мкм; температура колонки – 40 °C; об'єм проби – 1 мкл; швидкість потоку – 0,5 мл/хв; температура джерела іонізації – 150 °C; температура десольватації – 500 °C; газ конусу – 20 л/год; швидкість потоку газу десольватації – 800 л/год; напруга на капілярі – 2,50 kV; конус – 30 V; енергія зіткнень – 20 V; вимірювання мас іонів у діапазоні від 10 до 2048 Да; моніторинг виділених фрагментів в режимі MRM.

В якості рухомої фази було використано систему розчинників: рухома фаза А – 0,1 % розчин мурашиної кислоти у воді; рухома фаза В – ацетонітрил. Хроматографування проводили у градієнтному режимі з використанням наступної програми градієнта: 0-1,0 хв 95 % А, 5 % В; 1,0-5,0 хв 95→70 % А, 5→30 % В; 5,0-7,0 хв 70→50 % А, 30→50 % В; 7,0-7,5 хв 50→0 % А, 50→100 % В; 7,5-8,0 хв 0 % А, 100 % В; 8,0-8,1 хв 0→95 % А, 100→5 % В; 95 % А, 5 % В.

Таблиця

ЯКІСНИЙ СКЛАД СЕКОІРИДОЇДНИХ ГЛІКОЗИДІВ ТА ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК ЛРС ДВОХ ВИДІВ ЗОЛОТИСЯЧНИКА ТРАВИ

Сполука, №	БАС	Золототисячника звичайного трава	Золототисячника гарного трава
1	Свертіамарин	+	+
2	Флоризин	+	+
3	Рутин	+	+
4	Генціопікрозид	+	+
5	Хлорогенова кислота	+	+
6	Кверцетин	+	+
7	Хінна кислота	+	+
8	Лютеолін	+	+
9	Неохлорогенова кислота	+	–
10	Ізокверцетин	–	+
11	Ізорамнетин-3-О-рутинозид	+	+
12	Ізорамнетин	+	+
13	Кемпферол-3-О-глікозид	+	+
14	Ферулова кислота	+	+
15	Лютеолін-7-О-глікозид	+	+
16	Апігенін	+	+
17	Діосметин	+	+
18	Лютеолін-4-глікозид	+	–
19	Гіперозид	–	+
21	Хризин	+	+
22	3,4-дигідрокси-бензойна кислота	+	+
23	Кофейна кислота	+	+
24	Кафтарова кислота	+	–
25	Ванілінова кислота	–	+
26	Піноцембрін	+	–
27	Нарінгенін	+	+
28	Еріодиктіол	–	+
29	Апігенін-7-глікозид	+	+
30	Кверцетин-3-О-а-L-арабінопіранозид	+	–
31	Скутелярин	–	+
32	Рейнутрин	+	–
33	Оріентин	–	+
34	Ізоорієнтин	+	+

Приготування випробовуваного розчину проводили за наступною методикою: 0,100 г (точна наважка) здрібненої на порошок сировини (проходить крізь сито з діаметром отвору 355 мкм)

ISSN 2311-1127 (Print)
ISSN 2519-8807 (Online)

поміщали в мірну колбу місткістю 50 мл, додавали 15 мл метанолу, обробляли ультразвуком впродовж 5 хв та відстоювали до охолодження. Доводили об'єм розчину метанолом до позначки, перемішували та фільтрували крізь мембранний фільтр з діаметром пор 0,45 мкм.

Результати хромато-мас-спектрометричного дослідження двох видів золототисячника трави наведені у таблиці.

Ідентифікацію секоіридоїдних глікозидів та фенольних сполук проводили за мас-спектрами, що входять до бібліотеки мас-спектрів.

Таким чином, за результатами експериментальних досліджень встановлено якісний склад БАС двох видів ЛРС. Здійснений порівняльний аналіз ідентифікованих сполук золототисячника звичайного (*Centaurium erythraea Rafn.*) та золототисячника гарного (*Centaurium pulchellum (Sw.) Druce*) трави підтверджує, що якісний склад БАС двох видів ЛРС має подібний профіль.

Вказана сировина є перспективною для проведення подальших досліджень та розробки лікарських засобів на її основі.

ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

За результатами експериментальних досліджень встановлено якісний склад БАС двох видів золототисячника трави методом хромато-мас-спектрометрії. У досліджуваній сировині ідентифіковано близько 30 БАС секоіридоїдних глікозидів та фенольних сполук. Здійснено порівняльний аналіз ідентифікованих сполук золототисячника звичайного (*Centaurium erythraea Rafn.*) та золототисячника гарного (*Centaurium pulchellum (Sw.) Druce*) трави.

Перспективою подальших досліджень є визначення кількісного вмісту БАС двох видів золототисячника трави.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Глава «Хроническая болезнь почек» / под ред. Е. М. Шилова // Нефрология. – М. : ГЭОТАР–Медиа, 2007. – С. 599–612.
2. Папиш, Т. Г. Хроническая почечная недостаточность и современные методы ее лечения / Т. Г. Папиш, И. В. Ротаренко, Е. С. Ушакова // Материалы VI Междунар. студ. электронной научной конф. «Студенческий научный форум», 15 февраля – 31 марта 2014 г.
3. Щорічна доповідь про стан здоров'я населення, санітарно-епідемічну ситуацію та результати діяльності охорони здоров'я України. 2014 рік / за ред. О. Квіташвілі ; МОЗ України. – К., 2015. – 460 с.
4. Кортиков, В. Н. Полная энциклопедия лекарственных растений / В. Н. Кортиков, А. В. Кортиков // Золототысячник зонтичный. – Ростов н/Д. : Эврика, 2009. – С. 230–231.
5. Ідентифікація і кількісне визначення біологічно активних речовин трави золототисячника методом високоефективної рідинної хроматографії : інформ. лист № 318–2015 / Я. О. Проскурова, Н. В. Спиридонова, С. М. Губарь, О. А. Євтіфєєва. – К., 2015. (Рішення ПК «Фармація» Протокол № 93 від 28.10.2015).
6. Gas chromatography – mass spectrometry analysis of phenolic compounds from Carica papaya L. Leaf / A. Canini, D. Alesiani, G. D'Arcangelo et al. // J. of Food Composition and Analysis. – 2007. – Vol. 20, Issue 7. – P. 584–590. doi: 10.1016/j.jfca.2007.03.009
7. Bioactivity of secoiridoid glycosides fromCentaurium erythraea / Y. Kumarasamy, L. Nahar, P. J. Cox et al. // Phytomedicine. –2003. – Vol. 10, Issue 4. – P. 344–347. doi: 10.1078/094471103322004857
8. Mansion, G. A new classification of the polyphyletic genus Centaurium Hill (Chironiinae, Gentianaceae) : description of the New World endemic Zeltnera, and reinstatement of Gyrandra Griseb. and Schenkia Griseb / G. Mansion // Taxonomy. – 2004. – Vol. 53, Issue 3. – 719 p. doi: 10.2307/4135447
9. Toyo'oka, T. Determination Methods for Biologically Active Compounds by Ultra–Performance Liquid Chromatography Coupled with Mass Spectrometry : Application to the Analyses of Pharmaceuticals, Foods, Plants, Environments, Metabonomics, and Metabolomics / T. Toyo'oka // J. of Chromatographic Science. – 2008. – Vol. 46, Issue 3. – P. 233–247. doi: 10.1093/chromsci/46.3.233

REFERENCES

1. Shylov, E. M. (2007). *Nephrologiia.* Moscow: GEOTAR–Media, 599–612.
2. Papysh, T. G., Rotarenko, I. V., Ushakova. E. S. (2014). *Hronicheskaia pochechnaia nedostatochnost i sovremennye metody ee lecheniia.*
3. Kvitashvili, O (2015). *Shchorichna dopovid pro stan zdorovia naselennia, sanitarno–epidemichnu sytuatsiu ta rezultaty diialnosti okhorony zdorovia Ukrainy. 2014 rik.* K.: MOZ Ukrainy, 2015. – 460.
4. Kortikov, V. N., Kortikov, A. V. (2009). *214. Zolototysiachnik zontichnyi.* Rostov N/d.: Evrika, 230–231.
5. Proskurova, Ya. A., Spyrydonova, N. V., Hubar, S. M., Yevtifeieva, O. A. (2015). *Identyfikatsiia i kilkisne vyznachennia biolohichno aktyvnykh rechovyn travy zolototysiachnyka metodom vysokoefektyvnoi ridynnoi khromatohrafii.* Kyiv.

ISSN 2311-1127 (Print)
ISSN 2519-8807 (Online)

6. Canini, A., Alesiani, D., D'Arcangelo, G., Tagliatesta, P. (2007). Gas chromatography–mass spectrometry analysis of phenolic compounds from Carica papaya L. leaf. *Journal of Food Composition and Analysis, 20 (7),* 584–590. doi: 10.1016/j.jfca.2007.03.009
7. Kumarasamy, Y., Nahar, L., Cox, P. J., Jaspars, M., Sarker, S. D. (2003). Bioactivity of secoiridoid glycosides from Centaurium erythraea. *Phytomedicine, 10 (4),* 344–347. doi: 10.1078/094471103322004857
8. Mansion, G. (2004). A New Classification of the Polyphyletic Genus Centaurium Hill (Chironiinae, Gentianaceae): Description of the New World Endemic Zeltnera, and Reinstatement of Gyrandra Griseb. and Schenkia Griseb. *Taxon, 53 (3),* 719. doi: 10.2307/4135447
9. Toyo'oka, T. (2008). Determination Methods for Biologically Active Compounds by Ultra–Performance Liquid Chromatography Coupled with Mass Spectrometry: Application to the Analyses of Pharmaceuticals, Foods, Plants, Environments, Metabonomics, and Metabolomics. *Journal of Chromatographic Science, 46 (3),* 233–247. doi: 10.1093/chromsci/46.3.233

Адреса для листування:
61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4.
E-mail: ya.proskurova@gmail.com.
Національний фармацевтичний університет
Проскурова Я. О. (ORCID – http://orcid.org/0000-0001-9429-0149)
Губарь С. М. (ORCID – http://orcid.org/0000-0002-5434-9502)
Георгіянц В. А. (ORCID – http://orcid.org/0000-0001-8794-8010)

Надійшла до редакції 09.06.2017 р.

ISSN 2311-1127 (Print)
ISSN 2519-8807 (Online)