

ПОИСК ИСТОЧНИКОВ РОЗМАРИНОВОЙ КИСЛОТЫ ВО ФЛОРЕ СЕВЕРНОГО КАВКАЗА

¹ Шамилов А.А., ² Попова Н.В., ¹ Ивашев М.Н.

¹Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ВолгГМУ, Минздрава России, (357532, Пятигорск, пр. Калинина, 11), e-mail: ivashev@bk.ru

²Национальный фармацевтический университет, Украина, г. Харьков

Впервые проведен анализ содержания розмариновой и кофейной кислот в видах черноголовки флоры Северного Кавказа. Образцы сырья (травы) собирались на территории Кабардино-Балкарской, Карачаево-Черкесской республик, республики Северной Осетии - Алании и Ставропольского Края на протяжении 3 лет (2009-2011гг.) в период массового цветения растения (июнь-август). Для идентификации и анализа содержания гидроксикоричных кислот в растительном сырье (образцы травы черноголовки обыкновенной, травы черноголовки ланцетной и черноголовки крупноцветковой) готовили извлечения путем экстракции спиртом этиловым 50% в соотношении сырья - экстрагент 1:6. В траве различных видов рода черноголовка содержание розмариновой кислоты колебалось от 1,0 до 2,9%, а уровень кофейной кислоты находится в близких пределах 0,012-0,015%. Наиболее перспективным видом по уровню розмариновой кислоты является трава черноголовки крупноцветковой. Показана возможность дальнейшего фитохимического исследования сырья видов рода черноголовка, а также перспективность фармакологического скрининга возможных препаратов на их основе.

Ключевые слова: розмариновая кислота, кофейная кислота, источники, биологическая активность.

SEARCH OF SOURCES OF ROSEMARY ACID IN FLORA OF THE NORTH CAUCASUS

¹ Shamilov A.A., ² Popova N.V., ¹ Ivashev M.N.

¹ PMFI-branch SEI HPE Volg LGU Russian Ministry of Health, Pyatigorsk, Russia (357532, Pyatigorsk, etc. Kalinina, 11), e-mail: ivashev@bk.ru

² National pharmaceutical university, Ukraine, Kharkov

For the first time the analysis of the content of rosemary and coffee acids in types of a chernogolovka of flora of the North Caucasus is carried out. Samples of raw materials (grass) gathered on the territory of the Kabardino-Balkarian, Karachay-Cherkess republics, the republics of North Ossetia - Alania and Stavropol Krai for 3 years (2009-2011) during mass flowering of a plant (June-August). For identification and the analysis of the content of gidroksikorichny acids in vegetable raw materials (samples of a grass of a chernogolovka ordinary, herbs of a chernogolovka lantsetny and chernogolovka krupnotsvetkovy) prepared extraction by extraction by alcohol of ethyl 50% in the ratio raw materials-ekstragent 1:6. In a grass of different types of a sort a chernogolovka the content of rosemary acid fluctuated from 1,0 to 2,9%, and level of coffee acid is in close limits of 0,012-0,015%. The most perspective view on level of rosemary acid is the grass of a chernogolovka krupnotsvetkovy. Possibility of further phytochemical research of raw materials of types of a sort a chernogolovka, and also prospects of pharmacological screening of possible preparations on their basis is shown.

Keywords: rosemary acid, coffee acid, sources, biological activity.

В последнее время отмечается интерес к производным кофейной кислоты, среди которых следует отметить розмариновую кислоту.

Ранее считалось, что розмариновая кислота вместе с ее производными относится к дубильным соединениям, ее характеризовали как депсид кофейной кислоты. До выделения и установления структуры розмариновой кислоты и ее производных они были известны под названием "Labiatergerbstoffe" – как таниноподобные соединения семейства яснотковых. В 1958г. итальянскими учеными. M.Scarpati (М. Скарпати) и G. Oriente (Г. Ориенте) удалось выделить из розмарина лекарственного (*Rosmarinus officinalis* L) эфир кофейной кислоты и 3 - (3,4-дигидроксифенил) молочной кислоты, который впоследствии, ими был назван

розмариновой кислотой [1,10]. Благодаря биогенетическим исследованиям было установлено, что две аминокислоты – фенилаланин и тирозин принимают участие в синтезе этой кислоты, так кофейная кислота синтезируется из фенилаланина, а 3,4-дигидроксифенилмолочная кислота из тирозина. Установлен набор ферментов и генов, принимающих участие на разных ступенях биосинтеза [2,3,4,5,10]. Фенилпропановые кислоты, и розмариновая кислота в частности, представляют интерес для фармации и медицины как вещества с высокой антиоксидантной, противовирусной (антигерпетической), антиаллергической, противовоспалительной активностью с низкой токсичностью, показана ее высокая активность при лечении болезни Альцгеймера. Она отвечает за противоопухолевую (угнетает синтез белка в раковых клетках) и тиреоид-регуляторную виды активности. Во время лабораторных исследований было обнаружено, что экстракты лекарственных растений, содержащих розмариновую кислоту, эффективны при лечении болезни Грейвса. Они блокируют антитела и действие тиреоид-стимулирующего гормона, тем самым, препятствуют увеличению щитовидной железы; оказывают действие на сердечно-сосудистую систему [1,6,7,8,9]. Среди растений, богатых розмариновой кислотой, наиболее характерными являются представители семейства яснотковых, бурачниковых и сельдерейных [1,2,7,10]. Одними из таких растений являются виды рода *Prunella* (Черноголовка), произрастающие на территории Северного Кавказа: черноголовка обыкновенная, черноголовка крупноцветковая и черноголовка разрезная. Анализ литературных данных показал, что вышеперечисленные объекты используют как гемостатическое, ранозаживляющее, антимикробное, жаропонижающее, отхаркивающее, противовоспалительное, тонизирующее и антикомплементарное средство. Лекарственное сырье этих растений рекомендуют: при раке щитовидной железы, средостении, лимфогрануломатозе, лимфоме, бронхите, респираторных заболеваниях, респираторных инфекциях, кровохарканье, эмпиго, псориазе, скрофулезе, себорее, экссудативном диатезе, ларингите, нефрите, геморрое, диарее, туберкулезе (горла, кожи, легких), дифтерии, дизентерии, гипертензии, артрите, ревматическом полиартрите, лимфадените, гипертиреозе, тиреотоксикозе, гастралгии, эпилепсии, цинге, лейкорее, мастите, митрите, кольпите, ушибах, вывихах [2,3,4,5,7].

Цель исследования

Поиск перспективных источников розмариновой кислоты среди представителей флоры Северного Кавказа для дальнейшей разработки на их основе отечественных фитопрепаратов с широким спектром фармакологического действия.

Материалы и методы исследования

Для исследования заготавливались образцы сырья рода черноголовки (*Prunella*) семейство яснотковые (Lamiaceae) - черноголовка обыкновенная – (*Prunella vulgaris* L.), черноголовка ланцетная (*P.lanceolata* L.) и черноголовка крупноцветковая (*P.grandiflora* L.). Образцы сырья (травы) собирались на территории Кабардино-Балкарской, Карачаево-Черкесской Республик, Республики Северной Осетии - Алании и Ставропольского Края на протяжении 3 лет (2009-2011 гг.) в период массового цветения растения (июнь-август).

Для идентификации и анализа содержания гидроксикоричных кислот в растительном сырье (образцы травы черноголовки обыкновенной, травы черноголовка ланцетной и черноголовка крупноцветковой) готовили извлечения путем экстракции спиртом этиловым 50 % в соотношении сырья-экстрагент 1:6. Для обнаружения гидроксикоричных кислот в исследуемых объектах использовали 50% водно-спиртовые извлечения, которые подвергали хроматографическому анализу с применением бумажной и тонкослойной хроматографии (бумагу марки "Filtrak" разных номеров, хроматографические пластинки марки "Silufol", "Sorbfil" и "Merck"). На хроматограммы наносили микропипеткой 0,01 мл водно-спиртового извлечения исследуемых образцов растительного сырья. Анализ проводили в следующих системах растворителей: хлороформ- метанол- вода (24:14:3), толуол – этилформиат – муравьиная кислота (50:40:10), бутанол- уксусная кислота – вода (4:1:2), уксусная кислота 2% и 15%. Хроматограммы исследовали в УФ- свете до, и после обработки специфическими реактивами. Гидроксикоричные кислоты обнаруживали по специфической флюоресценции в УФ-свете (365 нм) с использованием соответствующих реактивов [9,10,]. Содержание гидроксикоричных кислот в образцах растительного сырья определяли методом ВЭЖХ на хроматографе Shimadzu LC 20 Prominence. В комплектацию хроматографа входили: проточный дегазатор, насосная станция с модулем градиента низкого давления, автосемплер, термостат колонок и диодно-матричный детектор. Для анализа использовали колонку фирмы Macherey-Nagel длиной 150 мм и диаметром 3мм, заполненную обращено-фазовым сорбентом Nucleosil C18 AB зернистостью 3мкм и пористостью 100Å. Объем пробы 2 мкл, детектирование при 280 нм, 330 нм, 360 нм с частотой сканирования 3Гц. Элюирование производили в градиентном режиме возрастания доли раствора В (смесь AcCN:MeOH:H₂O+HClO₄ в соотношении 40:40:20, pH 2,5) в смеси с раствором А (водный раствор HClO₄ pH 1,8) от 0% до 100% в течение 80 минут, при температуре 30°C. Идентификацию пиков производили по сопоставлению УФ спектров со спектрами из базы данных и по временам выхода в соответствии со стандартными образцами. Массовую концентрацию определяли по градуировочной характеристике стандартных образцов с использованием программы LC Solutions (Shimadzu). Статистическую обработку полученных результатов производили с использованием t-критерия Стьюдента, с поправкой

Бонферри для множественных рядов в пакете компьютерной программы Microsoft Excel 2000 [6].

Результаты исследования и их обсуждение

Хроматографическая характеристика идентифицированных соединений приведена в табл.1.

Таблица 1

Хроматографическая характеристика гидроксикоричных кислот видов черноголовки

Идентифицированные соединения	Флюоресценция в УФ-свете		Система, значение Rf		
	в УФ - свете	+ NH ₃	2% уксусная кислота	хлороформ – метанол - вода 24:14:3	БУВ (4:1:2)
Розмариновая кислота	голубое	голубовато-зеленое	0,42	0,6	0,89
Хлорогеновая кислота	голубое	голубовато-зеленое	0,59	0,50	0,92
Кофейная кислота	голубое	голубое	0,30	0,72	0,80

Сравнительный хроматографический анализ свидетельствует, что уровень розмариновой кислоты по величине зон абсорбции имеет следующую последовательность: трава черноголовки крупноцветковой > трава черноголовки обыкновенной > трава черноголовки ланцетной. Европейская фармакопея проводит анализ ряда видов растительного сырья по содержанию розмариновой кислоты (лист мелиссы лекарственной не менее 1,0%, сухой экстракт мяты перечной – не менее 0,5%) или по сумме гидроксикоричных кислот в пересчете на розмариновую кислоту (лист розмарина лекарственного – не менее 3,0%) [10].

Таблица 2

Содержание розмариновой и кофейной кислот в видах черноголовки

Анализируемый объект	Содержание кислот, % (в пересчете на абсолютно сухое сырье)	
	Розмариновая кислота	Кофейная кислота
Трава черноголовки обыкновенной	2,0560	0,0139
Трава черноголовки ланцетной	1,2132	0,0123
Трава черноголовки крупноцветковой	2,9126	0,0152

Полученные экспериментальные данные об уровне розмариновой кислоты в видах черноголовки свидетельствуют о перспективности дальнейшего углубленного исследования представленного растительного сырья. Исследование фармакологической активности кофейной кислоты [6], показали существенное влияние оксикоричных кислот на сердечно – сосудистую систему.

Выводы

1. Впервые проведен анализ содержания розмариновой и кофейной кислот в видах черноголовки флоры Северного Кавказа.
2. В траве различных видов рода черноголовка содержание розмариновой кислоты колебалось от 1,0 до 2,9 %, а уровень кофейной кислоты находится в близких пределах 0,012-0,015 %.
3. Наиболее перспективным видом по уровню розмариновой кислоты является трава черноголовки крупноцветковой.

Список литературы

1. Буданцев, А.Л. Розмариновая кислота: источники и биологическая активность / А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская // Раст. Ресурсы. – 2012. – Т.48, вып. 3.- С. 453- 468.
2. Дикорастущие полезные растения России / Под. ред. А.Л. Буданцева, Е.Е. Лесиовской. – СПб.: Издательство СПХФА, 2001. – 663 с.
3. Дмитрук, С.И. Антипирическое действие сухого экстракта черноголовки // С.И.Дмитрук, Т.П.Прищеп // Решение актуальных задач фармации на современном этапе: тез. докл. науч. конф., посвящ. 50-летию НИИ фармации. – М., 1994. – С.240.
4. Дмитрук, С.И. Действие экстракта черноголовки на экспериментальный тонзиллит / С.И.Дмитрук, С.Е. Дмитрук // Природные ресурсы Сибири: тез. докл. 4-й Междунар. науч. практ. конф.-Томск, 1998. – С. 210.
5. Дмитрук С.И. Противовоспалительные свойства, антибактериальная и антифунгальная активности экстракта из надземной части *Prunella vulgaris* L. // Растит. ресурсы. – 2001. – Вып. 4. – С. 92-96.
6. Ивашев, М.Н. Влияние оксикоричных кислот на систему мозгового кровообращения / М.Н.Ивашев, Р.Е.Чуклин // Фармация и фармакология. 2013. – №1. – С.44 – 48.
7. Попова, Н. В. Лекарственные растения мировой флоры / Н. В. Попова, В. И. Литвиненко. – Харьков: СПДФО, 2008. – 510 с.

8. Репаративные свойства фенольного комплекса черноголовки обыкновенной / С.Т. Дмитрук [и др.] // Современные изыскания в области фармации. – Ярославль, 1996. – С. 122.
9. Фармакологическая активность розмариновой кислоты / О. В. Азарова, В. М. Брюханов, Я. Ф. Зверев и др. // Вопросы биол., мед. и фармац. химии. – 2010. – № 6 – С. 3–8.
10. Шаршунова М. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии: в 2-х ч. / М. Шаршунова, В. Шварц, Ч. Михалец. – М.: Мир, 1980. – 622 с.

Рецензенты:

Петров В.И., д.м.н., профессор, зав.кафедрой клинической фармакологии и интенсивной терапии с курсами клинической фармакологии ФУВ, клинической аллергологии ФУВ Волгоградского государственного медицинского университета, г.Волгоград.

Сулейманов С.Ш. д.м.н., профессор, зав. каф. клинической фармакологии и патофизиологии КГБОУ ДПО «Институт повышения квалификации специалистов здравоохранения» г.Хабаровск.