

УДК [615.322:582.682.4'6]073:581.6

ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ КАВКАЗСКИХ ВИДОВ СЕМЕЙСТВА Asteraceae И ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОЙ ИХ АЛЛЕРГЕННОСТИ

© 2003 г. Д.А. Коновалов, Т.А. Нестерова

Воронежский государственный университет

Фитохимическое изучение некоторых кавказских видов семейства Asteraceae было выполнено с целью оценки аллергенности и безопасности использования растительного сырья. Произведен фитохимический анализ 29 растений – 7 родов: *Achillea*, *Ptarmica*, *Artemisia*, *Centaurea*, *Inula*, *Pyrethrum*, *Saussurea* на присутствие алергогенов производных α -метилена- γ -бутиролактона (ПБЛ), вызывающих при контакте аллергии. Для идентификации использован метод ТСХ, а для количественного определения – УФ-спектрофотометрия. Выделены и идентифицированы 6 ПБЛ.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время во всем мире и, прежде всего, в наиболее развитых промышленных центрах одно из ведущих мест среди различных заболеваний занимают аллергические болезни. В среднем % заболеваемости колеблется в разных странах от 1 до 50% [1].

Применяемые для лечения аллергических заболеваний гормональные и химиотерапевтические средства оказывают значительный оздоравливающий эффект, но, вместе с тем, они имеют много серьезных побочных эффектов, таких как нарушение обмена веществ, изменения со стороны иммунной и эндокринной системы и косметические дефекты. Число официальных растительных лекарственных средств, обладающих противоаллергическим действием, включенных в Государственный реестр 2001 г. из 215 возможных составляет только одно – траву череды трехразделенной.

Однако среди народных целителей существует такое мнение, что лекарственное растительное сырье не обладает алергезирующим действием.

Целью наших исследований было выявление среди наиболее часто используемых лекарственных растений представителей, содержащих алергогены.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Физико-химическое изучение состава.

Исследования проводились совместно с доктором фармацевтических наук Коноваловым Д.А.. Пятигорская государственная фармацевтическая академия, г. Пятигорск

В качестве образцов сырья использовали надземные части растений родов *Achillea*, *Ptarmica*, *Artemisia*, *Centaurea*, *Inula*, *Pyrethrum*, *Saussurea*, собранных в Предкавказье. Сравнительный ТСХ-

анализ проводили по известной методике [2]. При этом в качестве систем для проведения эксперимента использовали смеси растворителей: петролейный эфир – этилацетат, гексан – этилацетат, петролейный эфир – хлороформ, петролейный эфир – диэтиловый эфир в различных соотношениях. Идентификацию зон сканирования проводили по значению R_f и результатам проявления хроматограмм реактивами: анисовый альдегид – кислота серная; калия перманганат – кислота серная (1% раствор калия перманганата в 1% растворе кислоты серной); 50% кислота серная; ванилин – кислота серная разведенная (0,16 г ванилина, 16 мл воды дистиллированной и 30 мл кислоты серной концентрированной); кислота хлористоводородная – кислота уксусная (36:25), сравнимая с данными, полученными для ранее выделенных веществ-свидетелей.

Результаты анализа представлены в таблице 1.

Многочисленными исследованиями, проведенными в последние годы [3-6], установлено, что источниками контактных форм аллергии, характерных для некоторых лекарственных растений представителей семейства Asteraceae, являются α -метилена- γ -бутиролактоны, накапливающиеся в них. В числе этих растений виды родов *Artemisia*, *Achillea*, *Matricaria*, *Centaurea*. Существующие методы определения этих соединений в сырье и препаратах, приготовленных на его основе, с одной стороны, требуют достаточно сложную и дорогостоящую аппаратуру, а с другой – не позволяют определять всю сумму подобных соединений [7, 8].

Нами разработана методика количественного определения суммы алергогенных сесквитерпеновых лактонов, основанная на способности α -ме-

Сесквитерпеновые лактоны, обнаруженные в видах сем. Asteraceae

Таксон	Сесквитерпеновые лактоны										
	эстафиатин	леукомизин	артеканин	балханолит	артемизинин	β -сантонин	Тауремизин	артемин	гайлардин	изоалантолактон	стизолин
<i>Achillea biebersteinii</i> Afan		+	+								
<i>A. cuneatiloba</i> Boiss. et Buhse		+		+							
<i>A. filipendulina</i> Lam.		+									
<i>A. nobilis</i> L.	+										
<i>A. nobilis</i> subsp. <i>Neilreichii</i> (Kerner) Formanek	+		+								
<i>A. setacea</i> Walld. & Kit.		+	+	+							
<i>A. vermicularis</i> Trin.		+	+								
<i>A. wilhelmsii</i> C. Koch.		+									
<i>Ptarmica biserrata</i> (Bieb.) DC.				+							
<i>Ptarmica salicifolia</i> (Bess.) Serg.				+							
<i>Ptarmica ptarmicifolia</i> (Willd.) Galushko		+		+							
<i>Artemisia annua</i> L.					+						
<i>A. austriaca</i> Jacq.						+					
<i>A. incana</i> L. (Druce)						+	+	+			
<i>A. lerchiana</i> Web.						+	+	+			
<i>A. santonica</i> L.		+				+	+	+			
<i>A. splendens</i> Willd.		+									
<i>A. verlotiorum</i> Lamotte							+	+			
<i>A. vulgaris</i> L.					+		+	+			
<i>Centaurea solstitialis</i> L.											+
<i>Inula aspera</i> Poir.									+		
<i>I. britannica</i> L.									+		
<i>I. ensifolia</i> L.									+		
<i>I. magnifica</i> Lipsky										+	
<i>I. oculus-christi</i> L.									+		
<i>I. salicina</i> L.										+	
<i>Pyrethrum corimbosum</i> (L.) Scop.			+								
<i>P. macrophyllum</i> (Waldst. et Kit.) Will.			+								
<i>Saussurea salsa</i> (Pall. Ex Bieb.) Spreng.											+

тилен- γ -лактонного карбонила (составной части этих соединений) к характерному поглощению в области 200-215 нм УФ-спектра. Оптимальные условия выполнения методики (навеска, соотношение сырья и экстрагента, продолжительность экстракции и т.д.) установлены экспериментально.

Методика анализа. Измельченную пробу сырья около 10 г (точная навеска) экстрагируют горячей водой (70-80°C) (300-500 мл). Полученный водный экстракт несколько раз обрабатывают небольшими порциями хлороформа (1:20,

1:20, 1:50). Отделенное хлороформное извлечение затем дважды обрабатывают 50 мл 2%-ного раствора натрия гидроксида и промывают водой очищенной до нейтральной реакции (по универсальному индикатору). Хлороформный экстракт сгущают под вакуумом при температуре не выше 45°C. Полученный остаток при помощи спирта этилового 95% количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят до метки тем же растворителем. Измеряют оптическую плотность полученного раствора с помощью

спектрофотометра при длине волны (λ_{\max}) 210 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствором сравнения служит спирт этиловый 95%.

Содержание аллергогенов в сырье (%) рассчитывают по калибровочному графику в пересчете на изоалантолактон и абсолютно сухую массу по формуле:

$$x = \frac{a \times b \times 100 \times 100}{c \times (100 - W) \times 1000},$$

где a – количество суммы аллергогенов в 1 мл стандартного раствора, найденное по калибровочному графику, мг; b – объем анализируемого раствора, мл; c – навеска сырья, г; W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Для построения калибровочного графика 0,1 г (точная навеска) стандартного образца изоалантолактона, предварительно растертого и высушенного в течение 2 часов при температуре 60°C, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют и доводят до метки при помощи этанола (раствор А). Из раствора А готовят растворы, разбавленные в 2, 3, 4, 5, 6, 7 и 8 раз. Оптическую плотность полученных растворов измеряют на спектрофотометре при длине волны 210 нм. Калибровочный график строят, откладывая на оси абсцисс показатели содержания аллергогенов (в пересчете на изоалантолактон) (мг в 1 мл), а на оси ординат – соответствующие величины оптической плотности.

Метрологические характеристики методики: $f = 10$, $x = 0,066$; $S = 0,0018$; $P = 95$; $t_{(p,v)} = 2,23$; $\Delta x = 0,0033$; $\epsilon = \pm 5,5$. Таким образом, ошибка единичного определения с 95% вероятностью составляла 5,5%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как следует из данных таблицы, ТСХ-анализ позволил впервые идентифицировать сесквитерпеновые лактоны: леукомизин в *Achillea cuneatiloba*, *A. filipendulina*, *A. vermicularis*, *Ptarmica ptarmicifolia*, *Artemisia santonica*, *A. splendens*; артеканин в *Achillea nobilis* subsp. *neilreichii*, *A. biebersteinii*, *A. setacea*, *A. vermicularis*, *Pyrethrum corimbosum*, *P. macrophyllum*; балханолид в *Achillea cuneatiloba*, *Ptarmica ptarmicifolia*; артемин в *Artemisia santonica*, *A. verlotiorum*, *A. vulgaris*; гайллардин в *Inula aspera*, *I. britannica*, *I. ensifolia*; стизолин в *Centaurea solstitialis*, *Saussurea salsa*.

Предлагаемая методика количественного определения α -метилена- γ -бутиролактона позволяет определять содержание суммы аллергогенов в

растительном сырье и лекарственных препаратах. Было проанализировано 35 образцов сырья различных видов сем. Asteraceae, собранных в естественных местах обитания в регионе Северного Кавказа, а также образцы сырья и препараты из аптечной сети. Содержание α -метилена- γ -бутиролактонов в исследованных образцах варьировало от 0 до 0,15%. Разработанная методика позволяет совершенствовать контроль качества лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе, а также определять содержание суммы аллергогенных сесквитерпеновых лактонов. Лицам, склонным к аллергии, необходимо с осторожностью принимать БАД, содержащие растительные объекты.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пыцкий В.И., Андрианова Н.В., Артомасова В.В. Аллергические заболевания. – М., 1999. – с. 19-24.
2. Рыбалко К.С. Природные сесквитерпеновые лактоны. – М.: Медицина, 1978. – с. 320.
3. Rucker G., Manns D., Breuer J. Guaianolid-Peroxide aus der Schafgarbe, *Achillea millefolium* L., Ausloser der Schafgarbendermatitis // Arch. Pharm. Weinheim. – 1991. – Jg. 324, H. 12. – S. 979-981.
4. A murine in vitro model of allergic contact dermatitis to sesquiterpene alpha-methylene-gamma-butyrolactones / A.N. Blasi, R. Fragnals, J.P. Lepoittevin, C. Benezra // Arch. Dermatol. Res. – 1992. – Vol. 284, N 5. – P. 297-302.
5. Paulsen E., Andersen K.E., Hausen B.M. Compositae dermatitis in a Danish dermatology department in one year (I). Results of routine patch testing with the sesquiterpene lactone mix supplemented with aimed patch testing with ex-tracts and sesquiterpene lactones of Compositae plants // Contact Dermatitis. – 1993. – Vol. 29, N 1. – P. 6-10.
6. Alpha-Peroxyachifolid and other new sensitizing sesquiterpene lactones from yarrow (*Achillea millefolium* L., Compositae) / B.M. Hausen, J. Breuer, J. Weglewski, G. Rucker // Contact Dermatitis. – 1991. – Vol. 24, N 4. – P. 274-280.
7. Rucker G., Manns D., Breuer J. Peroxide als Pflanzeninhaltsstoffe. 8. Mitt. Guaianolid-Peroxide aus der Schafgarbe, *Achillea millefolium* L., Ausloser der Schafgarbendermatitis // Arch. Pharm. – 1991. – Vol. 324, № 12. – P. 979-981.
8. Rucker G., Neugebauer M., Kiefer A. Quantitative Bestimmung von alpha-Peroxyachifolid in der Schafgarbe durch HPLC mit amperometrischer Detektion // Pharmazie. – 1994. – Jg. 49, H. 2-3. – S. 167-169.