

МЕТАБОЛОМИКА БИООБЪЕКТОВ

УДК 615.322

DOI: 10.52101/9785870191003_2021_190

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОСТАВА ЭКСТРАКТОВ ЦВЕТКОВ БЕССМЕРТНИКА ПЕСЧАНОГО В РАЗЛИЧНЫЕ ФЕНОЛОГИЧЕСКИЕ ФАЗЫ

Адамцевич Н. Ю.^{1, а)}, к.т.н. Феськова Е. В.¹, чл.-корр. НАН Беларуси, д.б.н. Титок В. В.²

1 - Учреждение образования «Белорусский государственный технологический университет», (Республика Беларусь, г. Минск, ул. Свердлова, 13а), 220006

2 - Государственное научное учреждение «Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси», (Республика Беларусь, г. Минск, ул. Сурганова, 2в) 220012

а) автор для переписки – natallia.adamtsevich@mail.ru

Аннотация. Цель данной работы заключалась в сравнительном анализе состава экстрактов цветков бессмертника песчаного в различные фенологические фазы. Бессмертника песчаного цветки являются фармакопейным растительным сырьем в различных странах, в том числе в Республике Беларусь и Российской Федерации. К преобладающему классу биологически активных веществ, которые содержатся в данном растительном сырье, относят флавоноиды. Одним из флавоноидов, идентифицированном в цветках бессмертника песчаного, является кемпферол-3-β-D-глюкопиранозид, который обладает ранозаживляющим действием. В работе представлен сравнительный анализ хроматограмм экстрактов цветков бессмертника песчаного в фазе бутонизации и в фазе цветения. Установлено, что компонентный состав полученных экстрактов практически идентичен, однако количественное содержание кемпферол-3-β-D-глюкопиранозида в фазе бутонизации выше, чем в период цветения. Проведена сравнительная оценка элементного состава золы цветков бессмертника песчаного в зависимости от фенологической фазы, определено количественное содержание 11 макро- и микроэлементов. В каждой фазе развития растения отмечено высокое содержание кальция и калия.

Ключевые слова: бессмертник песчаный (*Helichrysum arenarium* L.), фенологическая фаза, кемпферол-3-β-D-глюкопиранозид, высокоэффективная жидкостная хромато-масс-спектрометрия, сканирующая электронная микроскопия, макроэлементы, микроэлементы.

ВВЕДЕНИЕ

Бессмертник песчаный (*Helichrysum arenarium* L.) – многолетнее травянистое растение, вид рода Цмин (*Helichrysum*) семейства Астровые (*Asteraceae*) – произрастает на юге и в средней полосе Европейской части, реже встречается в северных областях, степной части Западной Сибири и на Кавказе.

Бессмертника песчаного цветки (*Helichrysi arenari flores*) являются фармакопейным растительным сырьем в Республике Беларусь, Российской Федерации, Украине, Казахстане, Польше, Германии и др. странах [1, 2]. Из данного вида растительного сырья производится лекарственное средство «Фламин», которое применяется для лечения хронических форм холецистита, гепатохолецистита и болезней желчного пузыря.

В цветках бессмертника песчаного встречаются флавоноиды, кумарины, гидроксикоричные кислоты, дубильные вещества, каротиноиды, витамины, полисахариды, следы эфирного масла, соли калия, кальция и марганца [3–5].

Преобладающим классом биологически активных веществ (БАВ) в цветках бессмертника песчаного являются флавоноиды. В Государственной Фармакопее Республики Беларусь (ГФ РБ) общее содержание флавоноидов определяют в пересчете на рутин, при этом

их содержание в сырье не должно быть ниже 2,5 % [6]. В Государственной Фармакопее Российской Федерации определение общего содержания флавоноидов в экстракте цветков бессмертника песчаного выполняют относительно изосалипурпоза [7]; в Государственной Фармакопее Украины – относительно гипероза [8].

При изучении химического состава некоторых видов лекарственных растений из коллекции Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси (ЦБС НАН Беларуси) в экстракте цветков бессмертника песчаного обнаружен кемпферол-3-β-D-глюкопиранозид [9]. Данный флавоноид обладает ранозаживляющим действием [10].

Синтез и накопление БАВ в растениях является динамическим процессом, который изменяется в онтогенезе растения и зависит от многочисленных факторов окружающей среды. При изучении динамики накопления флавоноидов в цветках бессмертника песчаного установлено, что наибольшее содержание данного класса БАВ наблюдается в фазу бутонизации [11].

Известно, что лекарственные растения, содержащие различные группы органических БАВ, обладают избирательной способностью к накоплению определенных макро- и микроэлементов, которые участвуют в их биосинтезе или сочетаются с их действием.

Цель работы – сравнительный анализ состава экстрактов цветков бессмертника песчаного в фазе бутонизации и цветения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Объектом исследования являлись цветки бессмертника песчаного из коллекции лекарственных растений ЦБС НАН Беларуси (урожай 2020 г).

Сырье экстрагировали 50 %-ным этиловым спиртом, для приготовления которого использовали 96 %-ный этиловый спирт (ГФ РБ, Т.1, стр. 699) и воду дистиллированную (ГФ РБ, Т.1, стр. 616).

Для анализа экстрактов методом высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС) использовали ацетонитрил (CARLO ERBA Reagents, партия P9I107, годен до 01.12.2022 года, Германия, Standard certificate of analysis 412390000; ГФ РБ, Т.1, стр.607) и муравьиную кислоту безводную (Sigma-Aldrich, партия SHBM 1877, годен до 31.05.2021, Германия, Certificate of analysis; ГФ РБ, Т.1, стр. 667). Для качественного и количественного определения кемпферол-3-β-D-глюкопираноза использовали стандартный раствор коммерческого препарата кемпферол-3-β-D-глюкопираноза (Sigma-Aldrich, партия DCCD 3647, годен до 22.05.2025, Германия, Certificate of analysis PhytoLab GmbH & co.KG). Все реактивы приобретены кафедрой биотехнологии БГТУ.

Методы. Растительное сырье собирали вручную на различных этапах развития растения, раскладывали тонким слоем и сушили естественным путем без доступа прямых солнечных лучей. Влажность сырья определяли согласно методике, приведенной в ОФС 2.2.32 «Потеря в массе при высушивании» (ГФ РБ).

Сухие цветки бессмертника песчаного экстрагировали методом трехкратной экстракции, которая заключалась в получении отдельных водно-спиртовых вытяжек 40%-ным, 70%-ным и 96%-ным этиловым спиртом с последующим их объединением. Продолжительность экстрагирования каждой порции составляла 30 мин при 70–75 °С, соотношение массы сырья к объему экстрагента – 1 : 50 – для первой порции, 1 : 25 – для последующих.

Анализ экстрактов методом ВЭЖХ-МС проводили с помощью хромато-масс-спектрометра жидкостного (Waters, США), колонка – BDS HYPERSIL C₁₈ 250×4,6 мм, 5 мкм (Thermo Electron Corporation, США). В качестве подвижной фазы использовали ацетонитрил : вода с 1 %-ной муравьиной кислотой в соотношении 20 : 80 в изократическом режиме при скорости элюирования 1 мл/мин. Регистрацию хроматографического разделения осуществляли с помощью диодно-матричного детектора в диапазоне длин волн 200–700 нм и масс-детектора с электроспреей ионизацией (ESI). Регистрацию масс-спектров проводили в области

отрицательных и положительных ионов при следующих параметрах: напряжение на капилляре – 3 кВ, напряжение на конусе – 20 В, напряжение на экстракторе – 3 В, температура десольватации – 350 °С, температура источника – 130 °С, общий расход инертного газа (азота) – 480 л/ч. Обработку результатов осуществляли при помощи программного обеспечения Mass Lynx.

Определение количества общей золы выполняли согласно методике, приведенной в ОФС 2.4.16 «Общая зола» (ГФ ГБ). Элементный состав образцов золы изучали с помощью сканирующего электронного микроскопа JSM-5610 LV с системой химического анализа EDX JED-2201 (JEOL, Япония).

Все анализы проводили в трехкратной повторности. Для статистической обработки полученных результатов использовали программу Microsoft Office Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке представлены хроматограммы экстрактов цветков бессмертника песчаного в периоды бутонизации и цветения.

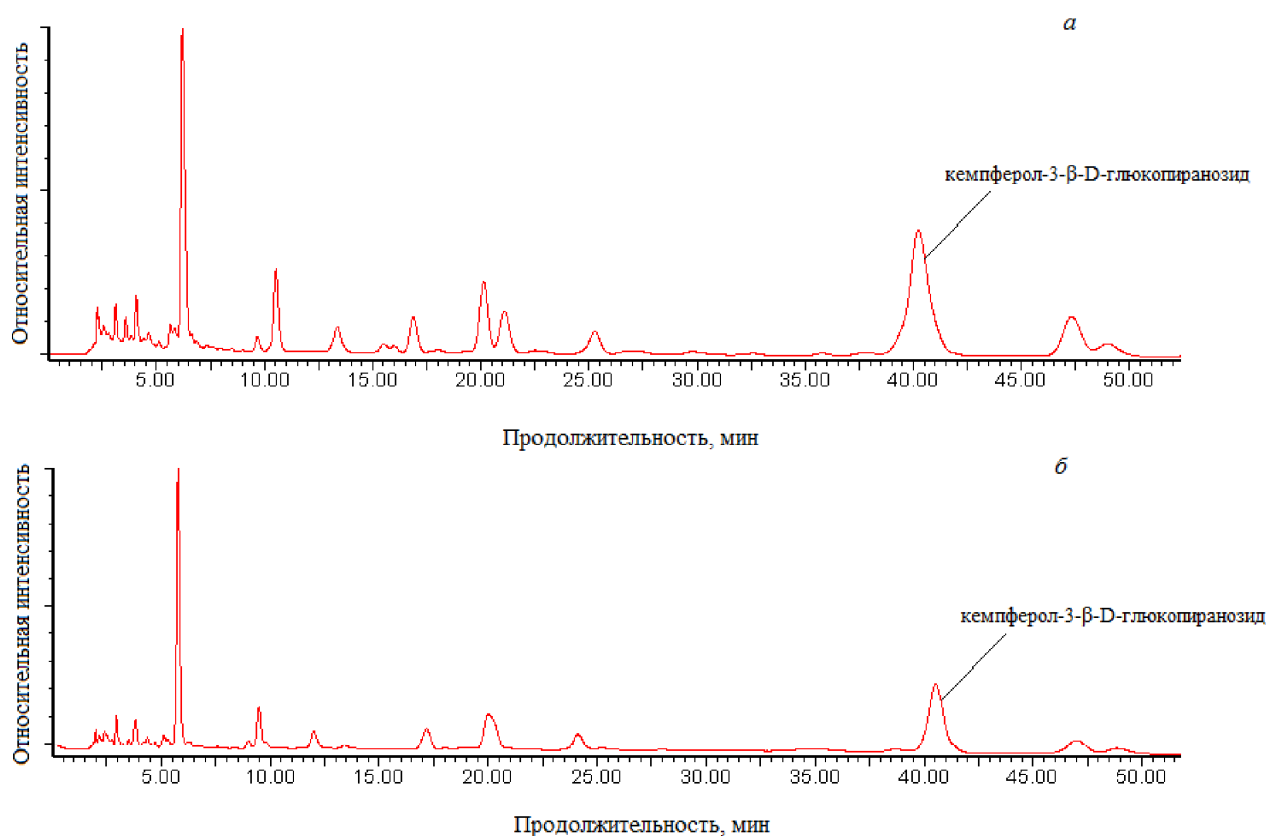


Рисунок – Хроматограммы экстрактов цветков бессмертника песчаного
a – фаза бутонизации; *б* – фаза цветения

Как видно из рисунка, компонентный состав полученных экстрактов практически идентичен, однако на хроматограмме экстракта цветков бессмертника песчаного в фазе бутонизации наблюдается пик с временем удерживания 21.33 мин, который отсутствует в фазе цветения. Отличие наблюдается и в интенсивности пиков. В каждом из исследуемых экстрактов идентифицирован кемпферол-3-β-D-глюкопиранозид, количественное содержание которого в экстракте цветков бессмертника песчаного в фазе бутонизации составило $(4,06 \pm 0,11)$ мг/г сырья, в фазу цветения – $(3,86 \pm 0,09)$ мг/г сырья.

В золе цветков бессмертника песчаного определено количественное содержание 11 макро- и микроэлементов (таблица). При сравнительном анализе исследуемых образцов наряду с

идентичностью качественного состава отмечено варьирование количественного содержания элементов в зависимости от фазы развития растения.

Согласно данным, приведенным в таблице, преобладающими элементами в цветках бессмертника песчаного являются кальций и калий.

Калий – один из наиболее важных элементов растений, который необходим при синтезировании крахмала, жиров, белков и сахарозы, защищает от обезвоживания, укрепляет ткани, предупреждает преждевременное увядания цветков, повышает сопротивляемость культур к различного рода патогенам [12].

Таблица – Содержание макро и микроэлементов в золе цветков бессмертника песчаного в различные фенологические фазы

Элемент	Фенологическая фаза	
	Бутонизация	Цветение
	Содержание элемента, г/100 г золы	
Натрий	не обнаружен	0,06±0,00
Магний	2,69±0,06	3,18±0,07
Алюминий	0,42±0,01	1,01±0,02
Кремний	1,17±0,02	0,89±0,03
Фосфор	3,06±0,08	3,93±0,11
Сера	1,22±0,03	1,80±0,05
Хлор	1,93±0,05	3,08±0,07
Калий	42,79±1,02	45,66±1,21
Кальций	16,75±0,53	13,49±0,49
Медь	4,26±0,12	3,35±0,07
Цинк	2,84±0,05	1,95±0,07

Кальций участвует в углеводном и белковом обмене растений, в образовании хлоропластов. Данный элемент необходим для нормального усвоения растением аммиачного азота, затрудняет восстановление в растениях нитратов до аммиака. От кальция в высокой степени зависит построение клеточных оболочек.

Важным элементов является медь – принимает участие в белковом, углеводном и фенольном обменах, активизирует пероксидазу. Накопление данного элемента проявляется влиянием на содержание различных фенольных соединений, в том числе флавоноидов [13]. Наибольшее количество меди в цветках бессмертника песчаного наблюдалось в фазе бутонизации. Ранее проведенными исследованиями установлено, что в данном растительном сырье максимальное накопление флавоноидов происходит также в период бутонизации [11].

ВЫВОДЫ

Проведен сравнительный анализ состава экстрактов цветков бессмертника песчаного в фазе бутонизации и в фазе цветения. Установлено, что компонентный состав полученных экстрактов практически идентичен, однако количественное содержание кемпферол-3-β-D-глюкопиранозида в фазе бутонизации выше, чем в период цветения.

Проведена сравнительная оценка элементного состава золы цветков бессмертника песчаного в зависимости от фенологической фазы, определено количественное содержание 11 макро- и микроэлементов. В каждой фазе развития растения отмечено высокое содержание кальция и калия.

Согласно полученным результатам исследований можно сделать вывод о том, что оптимальным периодом сбора цветков бессмертника песчаного является период бутонизации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Попова, Н. В. Лекарственные растения мировой флоры / Н. В. Попова, В.И. Литвиненко. – Харьков: Диска-плюс, 2016. – 540 с
2. К вопросу об изосалипурпозиде-стандарте в контроле сырья и фито препаратов из бессмертника песчаного / В. И. Литвиненко [и др.] // Фармаком. – 2016. – № 3. – С. 23–27.
3. Полифенольные соединения новой биологически активной композиции из цветков бессмертника песчаного (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench.) / В. С. Гринёв [и др.] // Химия растительного сырья. – 2015. – № 2. – С. 177–185.
4. Sandy Everlasting (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench): Botanical, Chemical and Biological Properties / D. Pljevljakusi [et al.] // Frontiers in Plant Science. – 2018. – Vol. 9. – P. 1123–1135.
5. Куркина, А. В. Исследование компонентного состава цветков *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. / А. В. Куркина // Химия растительного сырья. – 2011. – №2. – С. 113–116.
6. Государственная Фармакопея Республики Беларусь II. В 2 Т. Т.2. Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья / М-во здравоохранения Республики Беларусь, РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении», 2016. – 1367 с.
7. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIX. В 4 Т. Т.4. / М-во здравоохранения Российской Федерации, 2018. – 1833 с.
8. Державна Фармакопея України 2-е вид. Доповнення 1. / М-во охорони здоров'я України, Державна служба України з лікарських засобів та контролю за наркотиками, 2016. – Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. – 360 с.
9. Условия экстракции и идентификации флавоноидов, стимулирующих регенерацию тканей / Е. В. Феськова [и др.]. // Труды БГТУ. Сер. 2, Химические технологии, биотехнологии, геоэкология. – 2019. – №1. – С. 49–53.
10. Evaluation of wound healing activity of flavonoids from *Ipomoea Carnea* Jacq. / S. Ambiga [et al.] // Ancient Science of Life. – 2007. – Vol. 3. – P. 45–51.
11. Адамцевич, Н. Ю. Динамика накопления флавоноидов в цветках бессмертника песчаного в различные фенологические фазы / Н. Ю. Адамцевич, В. С. Болтовский, В. В. Титок // Технология органических веществ: материалы 85-ой науч.- технич. конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов (с международным участием) (БГТУ, 1–13 февраля 2021 г.) – Минск, 2021. – С. 355–356.
12. Жукова, В. Г. Изучение влияния ионов калия, кальция и магния на рост и развитие растений / В. Г. Жукова, М. С. Светличная // Достижения науки и образования. – 2018. – № 14 (36). – С.13–15.
13. Кузьмичева, Н. А. Влияние микроэлементов на накопление флавоноидов в проростках гречихи посевной / Н. А. Кузьмичева, А. В. Руденко, Е. А. Мозолевская // Вестник фармации. – 2005. – № 2. – С. 17–24.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE COMPOSITION OF FLOWER EXTRACTS OF THE EVERLASTING IN DIFFERENT PHENOLOGICAL PHASES

Adamtsevich N. Yu.^{1, a)}, Ph.D. in Engineering Feskova A.¹,

corresponding Member of the NAS of Belarus, D.Sc. in Biology Titok V. V.²

¹Belarusian State Technological University (Republic of Belarus, Minsk, Sverdlov Str., 13a) 220006

²Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (Republic of Belarus, Minsk, Surganov Str., 2v) 220012

a) corresponding author – natallia.adamtsevich@mail.ru

Abstract. The purpose of this work was the comparative analysis of the composition of the extracts of the flowers of the everlasting in various phenological phases. Flowers of the everlasting are pharmacopoeial plant raw materials in various countries, including the Republic of Belarus and the Russian Federation. The predominant class of the biologically active substances that are contained in this plant material is flavonoids. One of the flavonoids identified in the flowers of the everlasting is kaempferol-3- β -D-glucopyranoside, which has a wound-healing effect. The paper presents a comparative analysis of the chromatograms of the extracts of the everlasting flowers in the budding stage and in the flowering stage. It was found that the component composition of the obtained extracts is practically identical, however, the quantitative content of kaempferol-3- β -D-glucopyranoside in the budding stage is higher than in the flowering stage. A comparative assessment of the elemental composition of the ash of the everlasting flowers is carried out, depending on the phenological phase, the quantitative content of 11 macro- and microelements was determined. In each phase of plant development, a high content of calcium and potassium is noted.

Keywords: everlasting (*Helichrysum arenarium* L.), phenological phase, kaempferol-3- β -D-glucopyranoside, high performance liquid chromatography-mass spectrometry, scanning electron microscopy, macroelements, microelements.