

**ЛОФАНТ АНИСОВЫЙ (*AGASTACHE FOENICULUM L.*)– ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК
ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

© 2013 Чумакова В.В., Попова О.И.

veronika.chumakova@gmail.com

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России,
г. Пятигорск

*Проведено фитохимическое исследование травы лофанта анисового (*Agastache foeniculum L.*) сем. яснотковые (*Lamiaceae*), широко применяемого в восточной медицине при простудных заболеваниях и воспалительных процессах желудочно-кишечного тракта и мочевыделительной системы. Наружно при дерматитах грибкового происхождения, себореи, для укрепления и роста волос. В ходе эксперимента использовались химические методы анализа: алкалометрия, перманганатометрия, комплексонометрия, а также физико-химические методы, такие как масс-спектрометрия в сочетании с ГЖХ, дифференциальная УФ спектрофотометрия, ВЭЖХ, планарная хроматография. Установленный комплекс биологически активных соединений, прежде всего эфирного масла, фенольных соединений, свидетельствует о возможности использования травы лофанта анисового в качестве источника сырья для создания лекарственных препаратов, обладающих антиоксидантным, противомикробным, антимикотическим и пилотропным действиями.*

Ключевые слова: лофант анисовый, эфирное масло, флавоноиды, галловая кислота.

Введение

Лофант анисовый – многолетнее травянистое растение высотой до 1,5 м семейства яснотковые (*Lamiaceae*). В литературе это растение можно встретить также под названием многоколосник фенхельный, анисовый иссоп, «мексиканская мята» (*Agastache foeniculum L.*, *Anise hyssop L.*, *Lophanthus anisatus Benth.*). В нашей стране встречается на Дальнем Востоке. На небольших площадях лофант анисовый возделывают в Молдавии, Румынии, Украине, Крыму, Саратовской и Астраханской областях и Ставропольском крае [6].

В восточной медицине лофант анисовый применяется при острых респираторных заболеваниях, функциональных расстройствах желудочно-кишечного тракта и воспалительных заболеваниях мочевыделительной системы. Наружно растение используют при дерматитах грибкового происхождения, себорее, для укрепления и роста волос [13]. Многими исследованиями подтверждены антимикробная и фунгицидная активности, а также антиоксидантное действие лофанта анисового [4,10,11].

В научной медицине лофант анисовый не используется, химический состав растения изучен недостаточно, а имеющиеся в литературе сведения не отражают фармакогностического представления о данном виде. В этой связи мы сочли целесообразным осуществить фитохимическое исследование, выделение и изучение групп биологически активных соединений (БАС) лофанта анисового. Это актуально как с позиций изыскания новых источников лечебно-профилактических средств, так и стандартизации сырья.

Материалы и методы исследования

В качестве материала для исследования использованы образцы травы лофанта анисового, заготовленные в фазу цветения в 2009-2011 г.г. на экспериментальном участке лаборатории лекарственных растений Ставропольского научно-исследовательского института сельского хозяйства (СНИИСХ) и ботанического сада Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России.

В ходе исследования травы лофанта анисового были использованы как химические (титриметрия), так и физико-химические методы исследования (хромато-масс-спектрометрия, ВЭЖХ, тонкослойная хроматография с денситометрическим детектором, дифференциальная УФ спектрофотометрия).

Определение эфирного масла проводили в лабораторных условиях методом I гидродистилляции [1]. Получено два образца эфирного масла (из свежего и сухого сырья) лофанта анисового. Для более детального изучения компонентного состава образцов эфирного масла исследование проводили на хромато-масс-спектрометре Agilent Technologies 5850/5973 (США) и газовом хромато-масс спектрометре (ГХ-МС) AT-5973 SMART фирмы Agilent Technologies (США). Хроматографическая колонка HP-5ms 30m (кварцевый капилляр, длина 30м, внутренний диаметр 0,25мм, толщина фазы 25мкм). Режим хроматографирования 80 – 220 град, программирование 5 град/мин. Идентификацию компонентов эфирного масла проводили по масс-спектрам с использованием штатной базы данных и программы NIST ГХ-МС си-

стемы. Количественные измерения осуществляли по площади хроматографического пика веществ, а состав выражали в процентном соотношении по отношению к сумме площадей целевых веществ.

Для идентификации фенольных соединений травы лофанта анисового использован метод высокоэффективной газожидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Хроматографическая система «Стайер» (Аквилон, Россия-США-Чехия), снабженная колонкой Luna C 18 150×4,6 мм (Phenomenex, США) с размером зерен 5 мкм. В качестве растворителей использовали ацетонитрил и раствор кислоты муравьиной (20 г/л). Концентрацию ацетонитрила изменяли от 20 до 60% за 40 мин при расходе элюента 1 мл/мин. Детектирование проводили при длине волны 365 нм.

Для количественного определения суммы флавоноидов в траве лофанта анисового использовали метод дифференциальной УФ спектрофотометрии. Максимум светопоглощения комплексов флавоноидов спиртового извлечения из травы лофанта анисового и лютеолина с алюминия хлоридом находился при длине волны 393±3 нм [7].

Количественное содержание аскорбиновой и свободных органических кислот определяли по методике ГФ XI, т.2 [1], а дубильных (окисляемых) веществ проводили перманганатометрическим методом, рекомендованным ГФ XI и комплексонометрическим методом, согласно ГОСТа 4564-79 «Листья скумпии» [8].

Галловую кислоту определяли методом планарной хроматографии на пластинках марки «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ» в системе н-бутанол - кислота уксусная ледяная - вода (4:1:1) в присутствии стандартного образца кислоты галловой. По окончании процесса пластинки сушили на воздухе до полного удаления запаха растворителя, после чего обрабатывали детектирующим реагентом (1% водный раствор железозаммониевых квасцов). Пластинку сканировали с помощью планшетного сканера с разрешением 100 dpi. Для цифровой обработки хроматограмм использовали компьютерную программу «Видеоденситометр Sorbfil» (Краснодар). Количественное определение галловой кислоты проводили методом абсолютной калибровки (внешнего стандарта) с использованием градуировочной функции в координатах площадь пятна (S) – масса (m) (линейная аппроксимация) [5,9].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета программного обеспечения Statistica 6,0.

Результаты и обсуждение

В первую очередь было определено содержание эфирного масла травы лофанта анисового, которое традиционно применяется в дерматологии в качестве антимикробного и противовоспалительного средства, в том числе при лечении рубцовой алопеции.

Нами установлено, что содержание эфирного масла при высушивании сырья уменьшается, а именно: в свежесобранном сырье лофанта анисового оно составляет 2,58 ±0,19%, а в высушенном 2,20±0,18%. Полученные образцы масла различаются по цвету и компонентному составу.

Идентифицировано 22 компонента, среди которых доминирующими являются пулегон и ментон (рис.1, табл. 1)

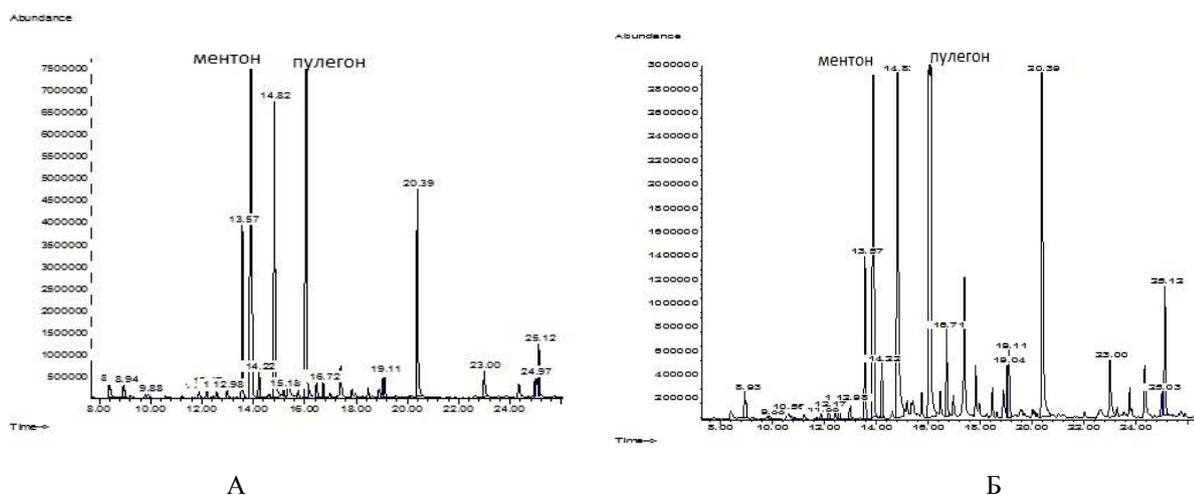


Рисунок 1 – Хроматограммы образцов масла из высушенного (а) и свежесобранного (б) сырья лофанта анисового

Таблица 1 – Компонентный состав эфирного масла травы лофанта анисового (в свежем и высушенном сырье)

Название компонента	Основные компоненты эфирного масла, %	
	Сухое сырье	Свежее сырье
2-гидрокси-пиперитон	0,49	1,19
Изоментон	2,26	2,26
Ментон	41,69	19,90
Метилхавикол	10,06	15,37
Пулегон	26,60	42,54
Метилэвгенол	6,76	10,89
Кариофиллен оксид	1,56	1,88

Ранее исследованиями Дмитриева Л.Б. с соавторами выявлено, что у растений с анисовым ароматом основным компонентом эфирного масла является фенол метилхавикол, а растения с мятным ароматом относятся к изоментонно-пулегоновому хемотипу [2]. Проведенный анализ показал, что у лофанта анисового, интродуцированного в Ставропольском крае, компонентный состав несколько отличается, но близок к изоментонно-пулегоновому хемотипу. В эфирном масле лофанта анисового мажорными компонентами являются пулегон и ментон, содержание которых в образце из свежего сырья составляет соответственно 42,54% и 19,90%, а в образце из сухого сырья – 26,60% и 41,69%. Биохимическая специфика лофанта анисового связана с биосинтезом терпеноидов группы ментона. Исходным соединением группы ментона является пиперитенон, из которого на первой стадии восстановления образуются пулегон и пиперитон. Дальнейшее восстановление приводит к ментону и изоментону, причем из пиперитона формируется ментон, а пулегона – изоментон. Можно предположить, что в условиях сушки в эфирном масле имеют место взаимопревращения компонентов.

Проведенный сравнительный анализ компонентного состава эфирного масла травы лофанта анисового показал, что при переходе от свежесобранного к высушенному сырью состав масла меняется. Эти изменения существенные, что в дальнейшем необходимо учитывать при нормировании качества сырья и при использовании компонентов эфирного масла в качестве химических маркеров в хемотаксономии и хемосистематике.

Далее был осуществлен анализ фенольных соединений.

Методом ВЭЖХ в траве лофанта анисового идентифицированы фенольные соединения, в том числе оксикоричные кислоты – хлорогеновая, галловая, кофейная, п-кумаровая, кумарин – умбеллиферон, флавонол – лютеолин, флавонол – кверцетин (рис.2, табл.2).

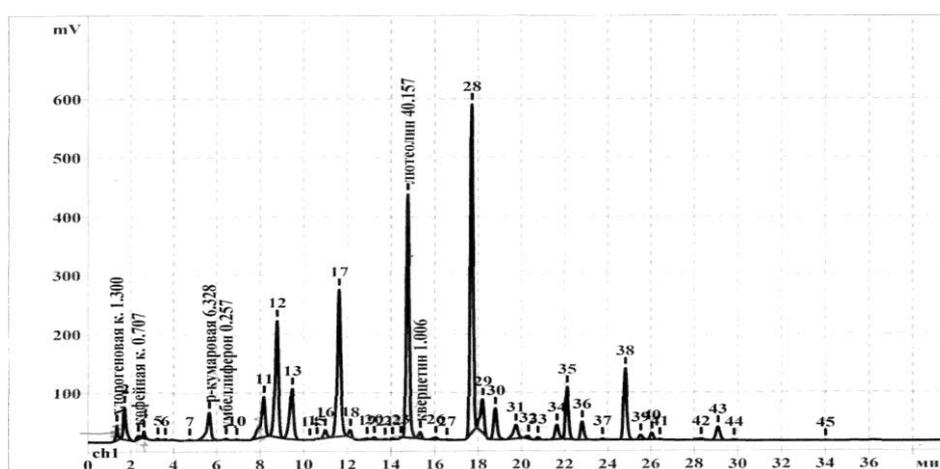


Рисунок 2 - Хроматограмма фенольных соединений травы лофанта анисового

Методом УФ спектрофотометрии установлено количественное содержание флавоноидов в пересчете на лютеолин. Содержание флавоноидов в пересчете на лютеолин составляет 5,50-6,00%.

Титриметрическими методами было установлено количественное содержание дубильных веществ и органических кислот, в том числе аскорбиновой (табл. 4).

Таблица 2 – Результаты анализа фенольных соединений травы лофанта анисового методом ВЭЖХ

Номер пика	Время, с	Площадь пика, мВ*с	Идентифицированное вещество
1	1,36	129,96	хлорогеновая кислота
3	2,37	70,72	кофейная кислота
4	3,426	126,70	галловая кислота
8	5,66	632,79	п-кумаровая кислота
9	6,44	25,66	умбеллиферон
24	14,77	4015,74	лютеолин
5	15,34	100,60	кверцетин

В ходе анализа количественного содержания галловой кислоты методом планарной хроматографии выявлены оптимальные условия проведения хроматографического процесса. Исследование проводили на пластинках марки «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ» в системе n-бутанол - кислота уксусная ледяная - вода (4:1:1) при температуре 20-25°C. Высота подъема фронта, достаточная для полного разделения, составляет 12 см. Чувствительность метода 1 мкг галловой кислоты в пятне. Интервал концентраций, при которых соблюдается линейная зависимость, составляет 1 – 4 мкг в пятне. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3- Содержание галловой кислоты в траве лофанта анисового

Номер определения	Количество галловой кислоты в траве лофанта, %	Метрологические характеристики
1	2,00	Хср.= 2,28 ε = 0,12%
2	2,32	
3	2,44	
4	2,15	
5	2,30	
6	2,50	

Правильность методики определяли методом «введено-найдено». На хроматограмме один из треков стандартного образца принимали за контрольный опыт, остальные 4 трека являлись стандартными. Ошибка составляет 7,18%.

Таблица 4 – Биологически активные соединения травы лофанта анисового

Группа БАС	Метод определения	Содержание, %
Эфирное масло (основные компоненты ментон, пулегон)	Гидродистилляция в аппарате Гинзберга А.С.	2,00-2,50
Флавоноиды (в пересчете на лютеолин)	Дифференциальная УФ спектрофотометрия	5,50-6,00
Дубильные вещества	Перманганатометрия	7,61 - 7,82
	Комплексонометрия	6,93 - 8,30
Галловая кислота	Планарная хроматография	2,00-2,50
Аскорбиновая кислота	Окислительно-восстановительное титрование	0,11-0,16
Органические кислоты	Алкалиметрия	0,90-1,07

Выводы

Фитохимическое исследование травы лофанта анисового позволило определить количественное содержание эфирного масла (2,00-2,50%), идентифицировать его компоненты – пулегон (26,60%) и ментон (41,69%), фенольные соединения – хлорогеновую, кофейную, галловую п-кумаровую кислоты, умбеллиферон, лютеолин, кверцетин; сумма флавоноидов (в пересчете на лютеолин) – 5,50-6,00%, дубильных веществ – 6,78 – 8,64% независимо от метода определения, галловая кислота – 2,00-2,50%, сумма органических кислот – 0,90-1,07%, в том числе аскорбиновая кислота – 0,11-0,16%.

Учитывая состав компонентов БАС, траву лофанта анисового можно предложить в качестве сырьевого источника для создания лекарственных препаратов, обладающих антиоксидантным, противомикробным, антимикотическим и пилотропным (то есть укрепление, стимуляция роста волос и предупреждение их выпадения) действиями.

Литература

1. Государственная фармакопея СССР: Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье/ МЗ СССР.- 11-е изд., доп. М.: Медицина, 1990. - Вып.2. – 400 с.
2. Динамика накопления и состав эфирного масла *Agastache foeniculum* в процессе вегетации растений и при хранении сырья/ Л.Б. Дмитриев и соавт // Изв. Тимирязевской с.-х. акад. – М.: Колос, 1981. – С. 86-91.
3. Ермакова В.П. Научное обоснование и практическая реализация комплексного применения биологически активных добавок и косметических средств функционального назначения: Автореф. дис. ... докт. техн. наук. – Кемерово, 2010. – 385 с.
4. Изучение химического состава и противогрибковой активности *Lophanthus anisatus* Benth. / А.В. Великородов и соавт //Химия раст. сырья – 2010. -№2. С. 143-146.
5. Красиков В.Д. Основы планарной хроматографии – СПб.: Химиздат, 2005. – 232 с.
6. Фурсов Н.В. Новое растение для Астрахани и России – лопфант анисовый. – Астрахань: Издательский дом «Астраханский университет», 2009. – С. 16-18.
7. Чумакова В.В., Попова О.И. Изучение фенольных соединений травы лопфанта анисового // Фармация. – 2011. - №3. - С. 20-22.
8. Чумакова В.В., Попова О.И. Определение содержания дубильных веществ в траве лопфанта анисового // Актуальные проблемы фармацевтической науки и практики: сб. науч. тр. - Владикавказ, 2009. - С. 70-73.
9. Чумакова В.В. , Попова О.И., Мезенова Т.Д. Определение галловой кислоты в траве лопфанта анисового // Химия раст. сырья. – 2011. - №4. – С. 269-271.
10. Antifungal Effects of Thyme, Agastache and Satureja Essential Oils on *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* and *Fusarium solani* / Abdulghaffar Ownagh et.al. // Veterinary Research Forum. – 2010. – Vol. 1, No 2. - P. 99 – 1053.
11. Antioxidant and antimicrobial activity of seed from plants of the Mississippi river basin / Joy R. Borchardt, [et.al.] // Journal of Medicinal Plants Research October. – 2009. - Vol. 3(10). - P. 707-718.
12. Screening of steroid 5-reductase inhibitory activity and total phenolic content of Thai plants / Kumar Thapana [et.al] // Journal of Medicinal Plants Research. – 2011. – Vol. 5(7). – P. 1265-1271.
13. The importance an usage of the *Agastache foeniculum* species (Pursh) Kuntze. // Matei C.F. et.al // Hop and Medicinal Plants. – 2010. – Vol. 18, No. 1-2. – P. 49-52.
14. Oluwatoyin A. Binutu, Cordell Geoffrey A. Gallic acid derivated from *Mezoneuron Benthamianum* leaves // Pharmaceutical Biology. – 2000. – Vol. 38, No. 4. – P. 284-286.

Чумакова Вероника Владимировна – аспирант кафедры фармакогнозии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: фитохимическое изучение эфирно-масличных видов растений семейства яснотковые (Lamiaceae).

Попова Ольга Ивановна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармакогнозии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: фитохимическое и ресурсоведческое исследование дикорастущих и культивируемых растений Северного Кавказа, стандартизация лекарственного растительного сырья.