

Д.С. Новаш

ЭКСТРАКЦИЯ ГИДРОКСИКОРИЧНЫХ КИСЛОТ ИЗ ТРАВЫ ЭХИНАЦЕИ ПУРПУРНОЙ И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

Научный руководитель: канд. фарм. наук, доц. Р.И. Лукашов

Кафедра фармацевтической химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

D.S. Novash

EXTRACTION OF HYDROXYCINNAMIC ACIDS FROM ECHINACEA PURPUREA HERB AND THEIR BIOLOGICAL ACTIVITY

Tutor: associate professor R.I. Lukashou

Department of Pharmaceutical Chemistry

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Подобраны оптимальные условия температурной обработки сырья (160 °С), экстрагент (40% ДМСО); антиоксидантный потенциал экстрактов эхинацеи близок к аскорбиновой кислоте; определена максимально переносимая доза кофейной кислоты фибробластами (100 мкМ).

Ключевые слова: эхинацея, экстракция, кофейная кислота, фибробласты.

Resume. The optimum conditions for temperature treatment of the raw material (160 °C) and the extractant (40% DMSO) have been selected; the antioxidant potential of the echinacea extracts is similar to that of ascorbic acid; the maximum tolerated dose of caffeic acid by fibroblasts has been determined.

Keywords: echinacea, extraction, caffeic acid, fibroblasts.

Актуальность. Эхинацея пурпурная является перспективным растением для изучения и разработки лекарственных средств и биологически активных добавок к пище, поскольку обладает выраженным противовоспалительным [3], иммуномодулирующим [1] и антиоксидантным действием [1], также есть сведения о повышении продукции и устойчивости к окислению коллагена [2]. Этот спектр активности преимущественно связан с наличием в составе сырья гидроксикоричных кислот и их производных (кофейной, каftarовой, цикориевой, хлорогеновой, феруловой, п-гидроксикумаровой и др) [1].

Цель: изучить влияние предварительной термической обработки эхинацеи пурпурной травы, природы и состава экстрагента на эффективность экстракции гидроксикоричных кислот, антиоксидантную активность полученных извлечений, оценить клеточную биодоступность кофейной кислоты через анализ антиоксидантных свойств культуральной жидкости и провести исследование морфофункциональных характеристик фибробластов.

Материал и методы. Оценку влияния предварительной термообработки на эффективность экстракции гидроксикоричных кислот и поиск для них оптимального экстрагента осуществляли по модифицированной фармакопейной методике для травы Melissa лекарственной с использованием реактива Арнова спектрофотометрическим методом [5]. Пересчет содержания гидроксикоричных кислот на кофейную кислоту осуществляли при помощи построенного калибровочного графика зависимости оптической плотности от концентрации растворов стандартов кофейной кислоты.

Для оценки антиоксидантной активности использовали спектрофотометрический метод с 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (DPPH) с последующим поиском зависимости антиоксидантного эффекта от концентрации для получения и последующего сравнения EC_{50} между собой и с растворами аскорбиновой и кофейной кислот [4].

Анализ влияния различных концентраций на морфофункциональные параметры культуры фибробластов дермы человека проводили прижизненно путем фазово-контрастной микроскопии, а также на фиксированных и окрашенных по Романовскому-Гимзе препаратах клеток при использовании световой микроскопии. Оценивали сохранность, плотность монослоя клеток, их морфологию (форма, размеры, состояние цитоплазмы, отростков, ядра, ядрышек).

Клеточную биодоступность для кофейной кислоты и способность фибробластов включать ее в свой метаболизм оценивали по изменению антиоксидантной активности культуральной жидкости в результате инкубации клеток в среде с добавлением различных концентраций кофейной кислоты.

Результаты и их обсуждение. Предварительная термообработка травы эхинацеи пурпурной оказывает значительное влияние на последующую экстракцию гидроксикоричных кислот. При 160 °С (в упаковке) выход гидроксикоричных кислот увеличивается почти на 30% относительно нативного сырья и является максимальным при данном способе предварительной обработки сырья. Растворитель с наилучшей экстрагирующей способностью – 40% диметилсульфоксид (ДМСО). При этом фармакопейные экстрагенты (50% и 70% этанол, вода) обладают в 1,81, 2,25 и 2,18 раз меньшей экстрагирующей способностью соответственно. Выход гидроксикоричных кислот выше для экстрагентов с низким и средним содержанием органического компонента, а для экстрагентов с высоким содержанием и для 100% растворителей наблюдается значительное ослабление экстрагирующей способности.

Антиоксидантные свойства экстрактов находятся на одном уровне с классическим антиоксидантом (аскорбиновой кислотой): аскорбиновая кислота = метанол (40%) = этанол (20%) = пропан-2-ол (20%) = пропиленгликоль (40%) > ДМСО (40%) = ацетон (40%) >> кофейная кислота.

Фибробласты дермы человека поглощают экзогенную кофейную кислоту из культуральной среды и включают ее в свой метаболизм. В концентрации 100 мкМ поглощение происходит практически полностью, без явных токсических эффектов (максимально переносимая концентрация), а при более высоких концентрациях (300 и 200 мкМ) кофейная кислота вызывает цитодеструктивные и морфологические изменения фибробластов кожи человека (уменьшение количества ядрышек, формы клеток), предположительно, за счет проявления в высоких концентрациях прооксидантных свойств.

Заключение. Подобраны экспериментально оптимальные условия предварительной температурной обработки (160 °С в упаковке), экстрагент (40% ДМСО), доказано наличие высокого антиоксидантного потенциала у жидких извлечений из травы эхинацеи пурпурной (на уровне аскорбиновой кислоты), определена максимально переносимая концентрация кофейной кислоты в культуре фибробластов (100 мкМ).

Информация о внедрении результатов исследования. По результатам настоящего исследования опубликовано 7 статей в сборниках материалов, 2 тезисов докладов, 1 статья в журнале, получено 2 акта внедрения в образовательный процесс (кафедры фармацевтической химии, организации фармации).

Литература

1. Assessment report on *Echinacea purpurea* (L.) Moench., herba recens / European medicines agency. – 2014. – P. 1 – 73.
2. Caffeic acid: a review of its potential use in medications and cosmetics / C. Magnani [et al.] // *Analytical Methods*. – 2014. – № 6 (10). – P. 1 – 9.
3. Effects of cichoric acid extract from *Echinacea purpurea* on collagen-induced arthritis in rats / L. Jiang [et al.] // *Am. J. Chin. Med.* – 2014. – № 42 (3). – P. 679 – 692.
4. The physical and chemical methods for testing antioxidative activity of herbal raw material and its conversion products / S. P. Zavadskiy [et al.] // *Drug development & registration*. – 2017 (2). – P. 214 – 221.
5. Государственная Фармакопея Республики Беларусь / Министерство здравоохранения Республики Беларусь; Республиканское унитарное предприятие «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении». – 2-е изд. – Т. 2: Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья. – Минск, 2016. – 1367 с.