



# ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

http://ecobiotech-journal.ru



## СОСТАВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ЭКСТРАКТОВ ЦВЕТОВ ТЫСЯЧЕЛИСТНИКОВ АБОРИГЕННОЙ ФЛОРЫ БЕЛАРУСИ, КАЗАХСТАНА И РОССИИ, ИХ АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА И ТОКСИЧНОСТЬ

Курченко В.П.<sup>1</sup>, Сушинская Н.В.<sup>1</sup>, Чубарова А.С.<sup>1</sup>,  
Тарун Е.И.<sup>2</sup>, Куприянов А.Н.<sup>3</sup>, Хрусталева И.А.<sup>3</sup>,  
Бондарук А.М.<sup>4</sup>, Цыганков В.Г.<sup>4</sup>, Журихина Л.Н.<sup>4</sup>,  
Филонюк В.А.<sup>4</sup>, Шабуня П.Г.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь,  
E-mail: kurchenko@tut.by

<sup>2</sup>Международный государственный экологический институт  
им. А.Д.Сахарова, Минск, Беларусь

<sup>3</sup>Кузбасский ботанический сад, Кемерово, Россия

<sup>4</sup>Республиканское унитарное предприятие

«Научно-практический центр гигиены», Минск, Беларусь,

<sup>5</sup>Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Проведено сравнительное исследование состава биологически активных веществ спиртовых экстрактов из цветов 6 видов тысячелистников аборигенной флоры Сибири, Казахстана и Беларуси. По результатам ГХ-МС анализа можно заключить, что существует значительные отличия в составе и содержании терпеновых, фенилпропаноидных, стероидных и флавоноидных соединений, которые связаны с регионом произрастания и видовыми особенностями исследованных тысячелистников. Антиоксидантная активность экстрактов из цветов тысячелистников убывает в ряду: азиатский (Кемерово), мелкоцветный (Казахстан), щетинистый (Казахстан), азиатский (Хакасия), азиатский (Казахстан), каратавский (Казахстан), Биберштейна (Казахстан), обыкновенный (Казахстан), обыкновенный (Беларусь), что связано с особенностями состава БАВ. Токсикологическая гигиеническая оценка экстрактов цветов различных видов тысячелистников в остром и подостром экспериментах показала, что они относятся к 4 классу опасности (является малоопасным).

**Ключевые слова:** тысячелистники, сескви-терпеновые лактоны, флавоноиды, антиоксидантная активность, токсичность

## BIOLOGICAL ACTIVE SUBSTANCES OF DIFFERENT MILFOIL (*ACHILLEA*) SPECIES OF ABORIGINAL FLORA OF BELARUS, KAZAKHSTAN AND RUSSIA, THEIR ANTIOXIDANT PROPERTIES AND TOXICITY

Kurchenko V.P.<sup>1</sup>, Sushinskaya N.V.<sup>1</sup>,  
Chubarova A.S.<sup>1</sup>, Tarun E.I.<sup>2</sup>, Kupriyanov A.N.<sup>3</sup>,  
Khrustaleva I.A.<sup>3</sup>, Bondaruk A.M.<sup>4</sup>, Tsygankov V.G.<sup>4</sup>,  
Zhurihina L.N.<sup>4</sup>, Filonyuk V.A.<sup>4</sup>, Shabunya P.G.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Belarusian State University, Minsk, Belarus  
E-mail: kurchenko@tut.by

<sup>2</sup>A.D.Sakharov International State Ecological Institute, Minsk, Belarus

<sup>3</sup>Kuzbass Botanical Garden, Kemerovo, Russia

<sup>4</sup>Republican Unitary Enterprise "Scientific and Practical Center for Hygiene", Minsk, Belarus

<sup>5</sup>Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

A comparative study of the composition of the biologically active substances extracted from flowers and leaves of various milfoil species of the aboriginal flora of Siberia, Kazakhstan and Belarus was carried out. An assessment of the antioxidant activity and toxicity of water-alcohol extracts of the studied species was given. According to the results of GC-MS analysis, it can be concluded that there are significant intraspecific differences in the composition of phenylpropanoid and terpene compounds in the extracts of the studied milfoil species. Significant interspecies differences were found in the composition of biologically active substances of extracts. Antioxidant activity of the extracts decreases in the series of genus *Achillea* species: *A. millefolium* – *A. asiatica* – *A. biebersteinii* (*A. arabica*) – *A. micrantha* – *A. setacea* – *A. filipendulina* – *A. karatavica*. Toxicological and hygienic assessment of extracts of flowers and leaves of various types of milfoil in acute and subacute experiments showed that they belong to the 4<sup>th</sup> class of danger (is low-hazard).

**Keywords:** milfoil, sesquiterpene lactones, flavonoids, antioxidant activity, toxicity

Поступила в редакцию: 1.08.2019

## ВВЕДЕНИЕ

Род тысячелистники (*Achillea*) включает более 100 видов, которые в основном распространены в северном полушарии [Nemeth, Bernath, 2008]. Они широко используются в традиционной европейской медицине для лечения лихорадок, гипертонии, желудочно-кишечных расстройств и остановки кровотечения и заживления ран [Benedek, Kopp, 2007]. Ранее проведенными исследованиями показано, что различные виды тысячелистников обладают антиоксидантной и антипролиферативной активностью [Vitalini et al., 2011; Thorpill et al., 2013]. Фитохимические исследования показали, что многие виды рода *Achillea* содержат флавоноиды, флавонолы, флавоны и их производные. Ведутся работы по расширению объектов фитохимического анализа тысячелистников для изучения состава различных вторичных метаболитов - сесквитерпеновых лактонов, флавоноидов, эфирных масел [Trendafilova et al., 2007]. Широко изучены виды *Achillea*, включая *A. asplenifolia* и *A. collina* на содержание флавоноидов [Ivancheva, Stancheva, 1996; Valant-Vetschera, Wollenweber, 2001]. Необходимо отметить, что в зависимости от региона произрастания, климатических условий состав вторичных метаболитов будет иметь внутривидовые различия. Кроме того, большой интерес для получения биологически активных веществ представляют эндемические виды тысячелистников, произрастающие в различных регионах Казахстана и Сибири.

В связи с этим, представлялось целесообразным провести сравнительное фитохимическое исследование состава и содержания биологически активных вторичных метаболитов экстрактов из цветов различных видов тысячелистников, произрастающих в Беларуси, Кемеровской области и Казахстане. Кроме этого, важно исследовать биологическую активность полученных экстрактов и дать их токсико-гигиеническую оценку.

Целью работы являлось проведение сравнительного исследования состава биологически активных веществ (БАВ) экстрактов из цветов различных видов тысячелистников; оценка их антиоксидантной активности и токсичности.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

В качестве объекта исследования использовались биологически активные вещества экстрактов цветов 6 видов тысячелистников (см. табл. 1). Образцы растений собраны в июне 2016-2017 г.г., определены сотрудниками Кузбасского ботанического сада и депонированы в его гербарии. Состав и содержание БАВ в метанольных экстрактах цветов исследовалось с использованием газового хроматографа Agilent 6850, оснащенного масс-детектором Agilent 5975В. Антирадикальную активность БАВ экстрактов цветов проводили по ранее описанной методике [Тарун и др., 2016]. Токсиколого-гигиеническую оценку (острый, подострый эксперимент) экстрактов БАВ проводили на тест-объекте *Tetrahyena pyriformis* [Жарин и др., 2016].

**Таблица 1. Виды исследованных цветов тысячелистников, места их сбора и каталожные номера в гербариях**

Каталожный № гербария	Вид	Место сбора
KUZ KEM 16466	Тысячелистник азиатский ( <i>Achillea asiatica</i> Serg.)	Кемеровская область, Беловский район, окр. с. Каракан (54,353912° с.ш., 86,77906° в.д.).
KUZ SIB	Тысячелистник азиатский ( <i>Achillea asiatica</i> Serg.)	Хакасия, Орджоникидзевский район, окр. оз. Сульфатное
KUZ KAZ 06526	Тысячелистник азиатский ( <i>Achillea asiatica</i> Serg.)	Казахстан, Восточно-Казахстанская область, хребет Саур (47,43306° с.ш., 85,27296° в.д., А=669 м.)
KUZ KAZ 07720	Тысячелистник Биберштейна ( <i>Achillea biebersteinii</i> Afan.)	Казахстан, Южно-Казахстанская область, хребет Каратау (42,86126° с.ш., 69,86825° в.д.).
KUZ KAZ 06524	Тысячелистник мелкоцветный ( <i>Achillea micrantha</i> Willd.)	Казахстан, Восточно-Казахстанская область, Кокпектинский район, (43,83109° с.ш., 83,38052° в.д., А=427 м).
KUZ KAZ 06521	Тысячелистник щетинистый ( <i>Achillea setacea</i> Waldst. & Kit.)	Казахстан, Восточно-Казахстанская область, Тарбагатайский район, хребет Манырак (47,49057° с.ш., 81,07756° в.д.).
KUZ KAZ 09113	Тысячелистник каратавский ( <i>Achillea karatavica</i> Kamelin)	Казахстан, Южно-Казахстанская область, хребет Каратау (42,86062° с.ш., 069,90652° в.д.).
KUZ KAZ 08322	Тысячелистник обыкновенный ( <i>Achillea millefolium</i> L.)	Казахстан, Восточно-Казахстанская область, Зайсанская впадина, (48,88318° с.ш., 83,35517° в.д.)
BSU RB 11.2017	Тысячелистник обыкновенный ( <i>Achillea millefolium</i> L.)	Беларусь, Дзержинский район, г. Фаниполь

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ.

**Состав биологически активных веществ спиртовых экстрактов цветов тысячелистников.** Проведено сравнительное исследования состава и содержания биологически активных веществ метанольных экстрактов 9 образцов тысячелистников, собранных в различных областях Казахстана, Кемеровской области, Хакасии и Беларуси. По результатам ГХ-МС анализа обнаружено 87 различных по строению биологически активных веществ. Относительное содержание основных БАВ в метанольных экстрактах цветов тысячелистников представлено в табл. 2. Анализ результатов показывает, что существуют значительные отличия в составе и содержании вторичных метаболитов в цветах тысячелистника азиатского, которые связаны с регионом произрастания. Для тысячелистника обыкновенного состав БАВ цветов, собранных в Казахстане и Беларуси практически не различается. В составе экстрагированных веществ из цветов этого вида отсутствуют соединения, характерные для других видов тысячелистников. В цветах этого вида тысячелистника отсутствуют: 2-карен, 2-изопропенил-5-метил-4-гексенил ацетат, альфа-бисаболол, 3,7,11-триметилдодека-1,6,10-триен-3,9-диол, сесквисабинен гидрат, хамазулен, ахиллицин, бицикло[2.2.1]гепт-2-ен, 2,3-диметил и др.

Практически для всех образцов характерно наличие в экстрактах цветов тысячелистников терпеновых соединений, фенилпропаноидных, стероидных и флавоноидных

**Таблица 2. Относительное содержание основных биологически активных веществ в метанольных экстрактах цветов тысячелистников**

	Т. азиатский (Кемерово)	Т. азиатский (Хакасия)	Т. азиатский (Казахстан)	Т. мелкоцветный (Казахстан)	Т. щетинистый (Казахстан)	Т. каратавский (Казахстан)	Т. Биберштейна (Казахстан)	Т. обыкновенный (Казахстан)	Т. обыкновенный (Беларусь)
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
о-Цимен; 000527-84-4			2.19		1.59		2.33	1.29	1.40
4(10)-Туйен; 003387-41-5	12.90			2.76		8.98		9.61	8.21
Цинеол; 000470-82-6	6.39	2.69	13.31	2.13	10.83	10.99	0.56	12.69	11.60
Цис-бета-Терпинеол; 007299-41-4			2.78					1.99	2.30
(+)-2-Карен; 000554-61-0							22.92		
(-)-Камфор; 000464-48-2		1.18	13.61	2.38	11.65	11.30		15.72	14.12
Борнеокамфор; 000507-70-0		1.00	1.66					3.25	2.20
Альфа-Терпинеол; 000098-55-5			7.09		1.28	3.91		1.40	2.40
2-Изопропенил-5-метил-4-гексенил ацетат; 025905-14-0					6.29				
Бицикло[2.2.1]гептан-2-ол, 1,7,7-триметил; 005655-61-8		1.02						3.62	4.42
Бицикло[7.2.0]ундек-4-ен, 4,11,11-триметил-8-метилен; 000087-44-5	2.70	2.04	2.02		1.83			2.18	3.18
8-изопопил-1-метил-5-метилен-1,6-циклодекадиен; 023986-74-5	1.12	2.75			2.13			1.13	1.23
Альфа-Бисаболол; 000515-69-5		2.94			8.71				
3,7,11-триметилдодека-1,6,10-триен-3,9-диол; 2000281-51-0		5.22							
Сесквисабинен гидрат; 2000232-87-7			4.96						
(-)-5-Оксотрицикло [8.2.0.0(4,6)] додекан, 12-триметил-9-метилен; 001139-30-6	1.27		1.87	2.38	1.44			1.48	2.47
3-Изопропенил-6-метил-1-циклогексен; 005113-87-1								2.37	1.67
бета.-Эвдесмол; 000473-15-4			6.77	2.64	2.08	4.77			
Хамазулен; 000529-05-5	7.96	6.52	4.67		10.79	23.98			
Ахиллицин; 071616-00-7				6.42					
Бицикло[2.2.1]гепт-2-ен, 2,3-диметил; 000529-16-8		22.39							
Лимонен оксид; 006909-30-4		2.42							

Продолжение таблицы 2.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Гексадекановая кислота; 000057-10-3	3.72	2.96	1.42			1.09	1.87		
цис-Вакценовая кислота; 000506-17-2							6.14		
Трикозан; 000638-67-5		2.27						2.05	1.15
2-Оксо-3-фенил-2Н-пиран-6- карбоксиловая кислота, этиловый эфир; 2000298-76-9		4.05							
3-Бromo-1,1,2-триметил- циклопропан; 036617-00-2				14.21					
9,12-Октадекадиеновая кислота (Z,Z); 000060-33-3	4.94					1.45			
транс-Геранилгераниол; 024034-73-9	4.14								
6-(N-Алиламино)-7- метилхинолин-5,8-дион; 98217-14-2			5.60						
2Н-1-Бензопиран-2-он, 7- метокси-8-(3-метил-2- бутенил); 000484-12-8	4.75								
Артемисин; 000481-05-0	3.85		5.23					8.78	6.58
1,1'-Бифенил, 4,4'-диэтокси; 007168-54-9								1.33	
5-Эйкозен; 074685-30-6								5.09	4.11
1-Дотриаконтанол; 006624-79-9								2.31	3.21
1-Нонадецен; 018435-45-5			8.11						
Гамма.-Ситостерол; 000083-47-6	3.52		2.33		2.10			2.42	1.52
Гептпдекан; 000629-78-7	6.91	5.82			3.24	2.14			
1-[(диметил)метилен]-3-[(t- бутил)этинил]-5,5- диметилцикло-гекс-2-ен; 2000257-15-9		2.30							
Бета-ситостерол; 000083-46-5		3.79							
1-Нонадеканол; 001454-84-8						1.53			
.бета.-Амирин; 000559-70-6	4.33						1.71		
альфа.-Амирин; 000638-95-9							1.33		
5-Икозен; 074685-30-6							1.64		
.гамма.-Ситостерол; 000083-47-6							1.34		
2-Метилциклогексен-1-ил трифлат; 2000296-75-1					1.30			11.30	14.10

**Антиоксидантная активность биологически активных веществ спиртовых экстрактов цветов тысячелистников.** Определение антиоксидантной активности (АОА) проводили с использованием системы Фентона для генерации активных форм кислорода. В

качестве ловушки свободных радикалов использовался флуоресцеин, при их взаимодействии происходит тушение флуоресценции, восстановить которую можно при добавлении в систему веществ, проявляющих антиоксидантные свойства. Основными показателями антиоксидантной активности при сравнительном анализе являются:  $A_{max}$  - интенсивность флуоресценции, соответствующая максимальному ингибированию свободных радикалов, выраженная в %,  $C_{max}$  – концентрация экстракта, при которой достигается  $A_{max}$  и  $IC_{50}$  – концентрация экстракта, при которой достигается 50% ингибирования свободных радикалов. В таблице 3 представлены показатели антиоксидантной активности экстрактов цветов тысячелистника.

**Таблица 3. Показатели антиоксидантной активности экстрактов цветов тысячелистников.**

Название образцов тысячелистников	$A_{max}$ , %	$C_{max}$ , %	$IC_{50} \cdot 10^{-3}$ , %
Азиатский (Кемерово)	83	0,1	0,47
Азиатский (Хакасия)	81	0,1	2,14
Азиатский (Казахстан)	81	0,1	3,63
Мелкоцветный (Казахстан)	88	0,1	1,3
Щетинистый (Казахстан)	88	0,1	2
Каратавский (Казахстан)	76	0,1	4,5
Биберштейна (Казахстан)	87	0,1	5
Обыкновенный (Казахстан)	85	1	15,1
Обыкновенный (Беларусь)	84	1	16,5

Минимальный показатель  $IC_{50}$  получен для образца тысячелистника азиатского (Кемерово), что свидетельствует о его максимальной антиоксидантной активности. Показатель  $IC_{50}$  тысячелистника мелкоцветного в 2,8 раза выше. Показатели  $IC_{50}$  тысячелистника щетинистого, азиатского (Хакасия) близки по значениям и в 4,3-5 раз выше аналогичного показателя тысячелистника азиатского (Кемерово). Еще более высокие значения показателя  $IC_{50}$  получены для образцов тысячелистника азиатского (Казахстан), каратавского и Биберштейна, в 7,7 – 10,6 раз выше аналогичного показателя тысячелистника азиатского (Кемерово). Максимальный показатель  $IC_{50}$  определен для образцов тысячелистника обыкновенного. Он в 32 раза превышает  $IC_{50}$  тысячелистника азиатского (Кемерово), что может свидетельствовать о минимальной активности экстрактов из тысячелистника обыкновенного.

Таким образом, антиоксидантная активность экстрактов из цветов тысячелистников убывает в ряду: азиатский (Кемерово), мелкоцветный (Казахстан), щетинистый (Казахстан), азиатский (Хакасия), азиатский (Казахстан), каратавский (Казахстан), Биберштейна (Казахстан), обыкновенный (Казахстан), обыкновенный (Беларусь), что связано с особенностями состава БАВ.

#### **Токсиколого-гигиеническая оценка экстрактов исследуемых тысячелистников.**

Первичная токсиколого-гигиеническая оценка спиртовых экстрактов 9 образцов цветов тысячелистников в остром и подостром экспериментах с использованием тест-объекта *Tetrahymena pyriformis* показала, что острая токсичность для  $LD_{50}$  составляла не более  $26,9 \pm 0,6$  мг/мл, а в подострой токсичности  $LD_{50}$  была не выше  $23,6 \pm 0,1$  мг/мл. По среднесмертельной дозе и коэффициенту кумуляции спиртовые экстракты тысячелистников относятся к 4 классу опасности (является малоопасным). Параметры токсичности водных экстрактов цветов тысячелистников, установленные в остром экспериментах на тест-объекте *T. pyriformis*, составили для  $LD_{50} > 300$  мг/мл. По среднесмертельной дозе и коэффициенту

кумуляции они относятся к 5 классу опасности (являются неопасным). Аналогичные результаты получены при исследовании подострой токсичности.

Проведенный ГХ-МС анализ состава БАВ экстрактов из цветов 6 видов тысячелистников аборигенной флоры Сибири, Казахстана и Беларуси показал наличие в их составе терпеновых, фенилпропаноидных, стероидных и флавоноидных соединений. Показаны значительные внутривидовые отличия в составе и содержании вторичных метаболитов между тысячелистником азиатским, произрастающим в различных регионах. Обнаружены значительные различия в составе БАВ между аборигенными видами тысячелистников Беларуси, Казахстана и России. Антиоксидантная активность экстрактов из цветов тысячелистников определяется составом биологически активных веществ и имеет существенные внутри и межвидовые различия. Токсиколого-гигиеническая оценка экстрактов цветов различных видов тысячелистников в остром и подостром экспериментах показала, что они относятся к 4 классу опасности (является малоопасным).

Таким образом, сравнительное исследование состава БАВ цветов различных тысячелистников, их антиоксидантной активности и токсичности позволило определить виды и места их произрастания, перспективные для получения экстрактов и их применения в пищевой и фармакологической промышленности. Среди них тысячелистники: азиатский (Кемерово), мелкоцветный (Казахстан) и щетинистый (Казахстан).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Жарин В.А., Федорович С.В., Цыганков В.Г., Бондарук А.М., Курченко В.П., Головач Т.Н., Сыса А.Г. Инновации при пищевой аллергии в клинической практике. // Военная медицина. 2016. № 1 (38). С. 141-143.
2. Тарун Е.И., Зайцева М.В., Кравцова О.И., Курченко В.П., Головач Т.Н. Влияние пептидов сывороточных белков молока на восстановление уровня флуоресценции в системе с активированными формами кислорода // Труды Белорусского государственного университета. 2016. Т. 11, ч. 1. С. 231-236.
3. Benedek B., Kopp B. *Achillea millefolium* L. s. l. revisited: recent findings confirm the traditional use // Wien. Med. Wochenschr. 2007. V. 157. P. 312-314.
4. Ivancheva, S., Stancheva, B. Exudate flavonoid aglycones of *Achillea* sp. Sect. Millefolium and sect. Ptarmica // Phytologia Balcanica. 1996. № 2. P. 102-105.
5. Nemeth E, Bernath J. Biological activities of yarrow species (*Achillea* spp.) // Curr. Pharm. Des. 2008. No 14. P. 3151-3167.
6. Thoppil RJ, Harlev E, Mandal A, Nevo E, Bishayee A. Antitumor activities of extracts from selected desert plants against HepG2 human hepatocellular carcinoma cells // Pharm. Biol. 2013. V. 51. P. 668-674.
7. Trendafilova, A., Todorova, M., Mikhova, B. Duddeck H. Flavonoids in flower heads of three *Achillea* species belonging to *Achillea millefolium* group // Chemistry of Natural Compounds. 2007. V. 43(2). P. 212-213.
8. Valant-Vetschera, K., Wollenweber, E. Leaf flavonoids of the *Achillea millefolium* group part II: distribution patterns of free aglycones in leaf exudates // Biochemical Systematics and Ecology. 2001. V. 16 (7-8). P. 605-614.
9. Vitalini S, Beretta G, Iriti M, Orsenigo S, Basilico N, Dall'Acqua S, Iorizzi M, Fico G. Phenolic compounds from *Achillea millefolium* L. and their bioactivity // Acta Biochim. 2011. V. 58. P. 203-209.