

УДК 615.322

ВЛИЯНИЯ АНТРОПОГЕННОГО ФАКТОРА НА ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ТЫСЯЧЕЛИСТНИКА ОБЫКНОВЕННОГО

Ю.Г. Оленева, С.Д. Хижняк, П.М. Пахомов

Тверской государственный университет
Кафедра физической химии

Методами ИК- и УФ-спектроскопии исследован химический состав листьев и цветов тысячелистника обыкновенного, произрастающего в зонах с различным уровнем антропогенного загрязнения. Обнаружено изменение интенсивности ряда полос поглощения в ИК спектрах образцов тысячелистника в зависимости от местообитания. Методом УФ спектроскопии доказана зависимость содержания биологически активных веществ в образцах от степени антропогенного воздействия.

Ключевые слова: тысячелистник обыкновенный *Achillea millefolium*, ИК-спектроскопия, УФ-спектроскопия, флавоноиды.

Лекарственные растения способны накапливать различные химические соединения из окружающей среды, поэтому их сбор необходимо производить в местах с минимальной антропогенной нагрузкой. Вследствие этого анализ растительного сырья является важным этапом производства лекарственных препаратов.

Большой интерес в медицине представляет тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium*). Его цветы и листья используют для приготовления отваров и настойки как местное противовоспалительное, кровоостанавливающее и вяжущее средство. Траву тысячелистника используют для лечения желудочно-кишечных заболеваний, улучшения общего обмена веществ в организме и нормализации свертываемости крови [1]. Из литературных данных известно [2], что в составе лекарственного растения обнаруживаются флавоноиды (гликозиды апигенина и лютеолина), дубильные вещества, сапонины, фуранокумарины, азотистые основания (бетаин, холин, стахидрин). Поэтому применение ИК- и УФ-спектроскопических методов в изучении влияния поллютантов на химический состав и содержание биологически активных веществ в образцах тысячелистника имеет не только научное, но и прикладное значение.

Цель работы состояла в исследовании химического состава надземных частей (листья и цветы) тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium*), произрастающего в местах с различной антропогенной нагрузкой, с помощью методов оптической спектроскопии.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом исследования являлись листья и цветы *тысячелистника обыкновенного*, собранные в г. Твери в местах с различной степенью антропогенного загрязнения (табл. 1). Пробоподготовка проводилась согласно правилам заготовки лекарственных растений [1].

Таблица 1.

Места сбора *тысячелистника обыкновенного* *A. millefolium*

№ образца, экстракта		Местообитание
I	а	г. Тверь, центр города с оживленным транспортным движением (листья)
	б	г. Тверь, центр города с оживленным транспортным движением (цветы)
II	а	г. Тверь, 5 м от ограждения Центрсвармаш (листья)
	б	г. Тверь, 5 м от ограждения Центрсвармаш (цветы)
III	а	г. Тверь, 0,5 м от ограждения Центрсвармаш (листья)
	б	г. Тверь, 0,5 м от ограждения Центрсвармаш (цветы)
IV	а	г. Тверь, в 0,5 м от канала ТЭЦ-3 (листья)
	б	г. Тверь, в 0,5 м от канала ТЭЦ-3 (цветы)

Биоактивные вещества в водных экстрактах исследуемых образцов устанавливали с помощью качественных реакций. Дубильные вещества в исследуемых объектах определяли с помощью двух реакций: с раствором желатина и с раствором 1 % железо-аммонийных квасцов. В первой реакции во всех образцах наблюдается помутнение раствора, исчезающее при добавлении избытка желатина; во второй – черно-синее окрашивание, указывающее на присутствие гидролизуемых дубильных веществ [3].

Для записи ИК-спектров листьев и цветов растений по стандартной методике [4] были приготовлены таблетки с бромидом калия. Навеска образца составляла ~23 мг на 0,7 г КВг. Регистрация спектров осуществлялась на Фурье-ИК спектрометре «Equinox 55» фирмы «Bruker». Идентификация полос поглощения в ИК-спектрах образцов *тысячелистника обыкновенного* *A. millefolium* на основе литературных и собственных экспериментальных данных представлена в табл. 2.

Фенольные соединения являются доминирующими в изучаемом сырье, и на их долю приходится основной вклад ожидаемого фармакологического эффекта. Запись УФ-спектров проводилась на спектрометре Thermo Scientific Evolution Array UV-VIS. Готовились водные экстракты листьев и цветов *тысячелистника обыкновенного* *A. millefolium*. Спектры регистрировали в диапазоне 200–800 нм в кварцевых кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 мм.

Отнесение полос поглощения

Частота, см ⁻¹	
~1732	Валентные колебания карбонильной группы (C=O) в сложных эфирах ($\nu_{C=O}$)
~1693	Валентные колебания карбоновых кислот ($\nu_{C=O}$)
~1620	Деформационные колебания O–H, N–H групп, (δ_{OH} δ_{NH}), Амид I (C=O)
~1519	Амид II, (δ_{NH}), тритерпеновые соединения C=C
~1446	Деформационные колебания CH ₂ групп, (δ_{CH_2})
~1318	Ассиметричные валентные колебания сульфогруппы R–SO ₂ –R (ν_{SO_2})
~1073	Деформационные C–OH, (δ_{C-OH})
1040–1025	Скелетные колебания C–O, (ν_{CO})
~871	Деформационные колебания C–H (δ_{CH})
~778	Деформационные колебания сульфогруппы R–SO ₂ –R (δ_{SO_2})

Особенно ценно в УФ-спектральном анализе фенольных соединений использование комплексообразователей, которые позволяют идентифицировать некоторые соединения. Так, например, характерной для фенольных соединений является реакция с 5% водным раствором хлорида алюминия [6]. Эта реакция также использовалась в настоящей работе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Метод ИК-спектроскопии

Для определения общих изменений в химическом составе наземных частей *тысячелистника обыкновенного* *A. millefolium* из зон с различным типом загрязнения были записаны ИК-спектры собранных образцов, представленные на рис. 1 и 2. Обнаружено значительное сходство спектров образцов из разных местообитаний на частотах ~1736, ~1375, ~1250, ~1155 см⁻¹ (табл. 2), что указывает на некоторую устойчивость химического состава растения к антропогенному воздействию [5].

Во всех ИК-спектрах образцов имеются полосы поглощения, отражающие общий химический состав растения: (Клетчатка-целлюлоза) углеводы - ~1620, ~1054 и ~1458 см⁻¹ (деформационные колебания гидроксильных и метиленовых групп); карбоксильные кислоты присутствие жиров характеризуется частотами ~1739 ($\nu_{C=O}$), ~1421 (δ_{CH_2}); белкам соответствует полоса на частоте ~1510 см⁻¹ (Амид II) (рис. 1; 2) [5; 7].

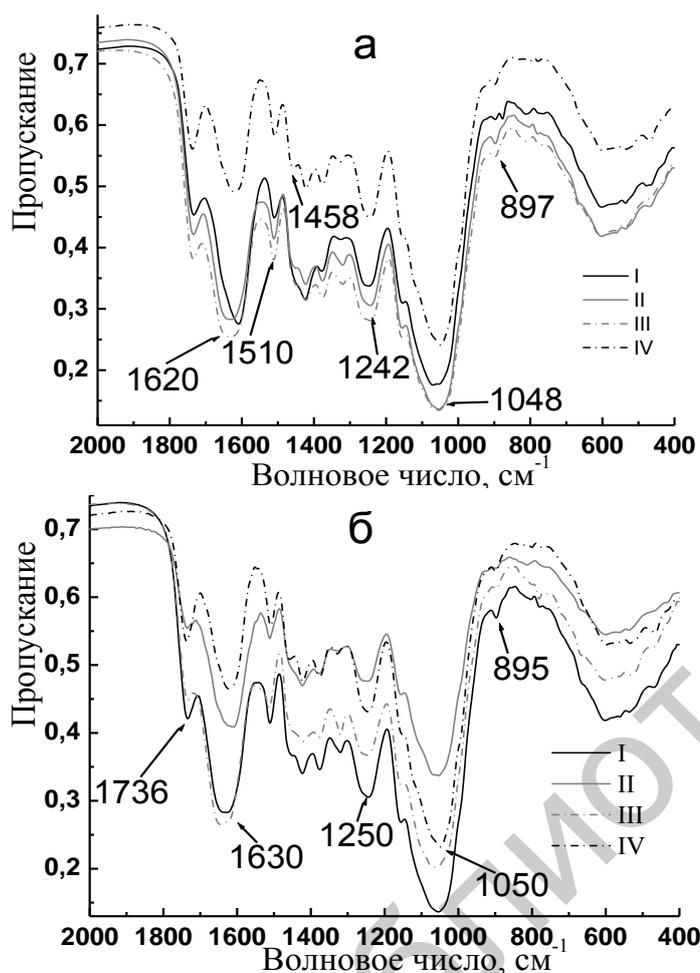


Рис. 1. ИК-спектры образцов листьев (а) и цветов (б) тысячелистника обыкновенного *A. millefolium*: 1–I; 2–II; 3–III; 4–IV

Основные изменения в ИК- спектрах под действием антропогенного фактора были установлены в диапазоне частот (400–1750 см⁻¹). В спектрах образцов из различных зон наблюдается смещение полосы ~1620 см⁻¹ до ~1608 см⁻¹, что может быть обусловлено увеличением содержания азота при воздействии нитратов на растения (рис. 1,а) [7].

Заметные различия ИК-спектров образцов тысячелистника, собранных в районе промышленного предприятия, имеются для характеристических полос с колебанием ~1320 см⁻¹ (валентные колебания сульфогруппы), наибольшая интенсивность, которой отмечается в спектрах образцов из II, III мест сбора. Также обнаружены изменения в интенсивности на частоте ~781 см⁻¹ (сульфогруппы) [5; 7].

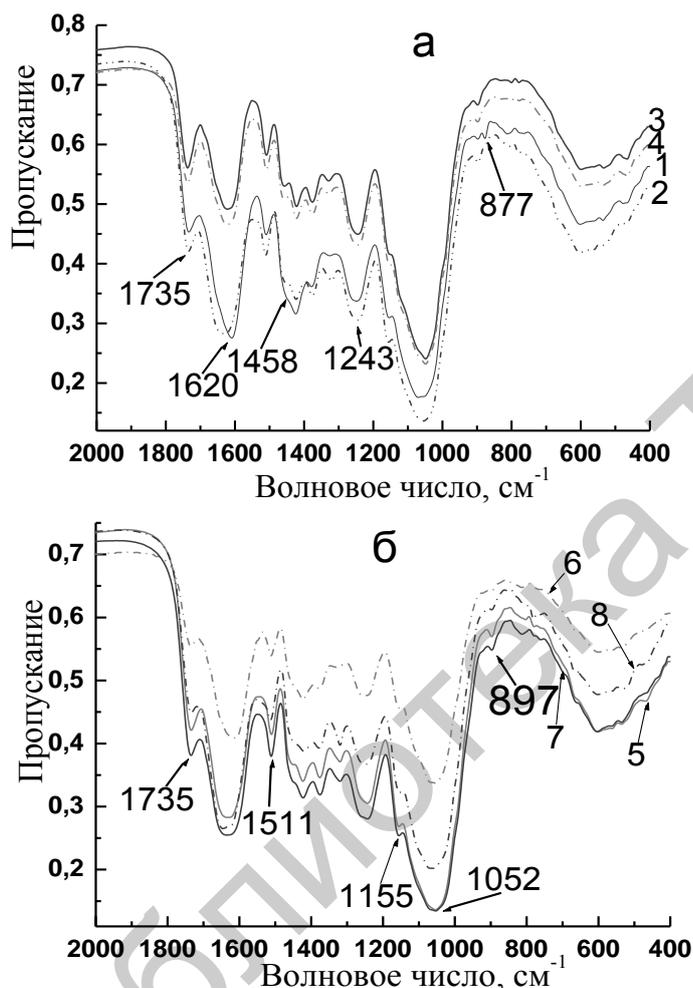


Рис. 2. ИК-спектры образцов листьев (а) и цветов (б) тысячелистника обыкновенного *A. millefolium* из зон различного антропогенного воздействия: а – нефтепереработка: 1–I(а); 2–I(б); 3–II(а); 4–II(б); б – металлургическое производство: 5–III(а); 6–III(б); 7–IV(а); 8–IV(б)

Из представленных на рис. 2,а ИК-спектров образцов тысячелистника видно, что концентрация поллютантов выше в листьях, чем в цветках. Из этого следует, что листья тысячелистника поглощают газообразные загрязнители вследствие наличия на их поверхности устьиц. В цветках же растений (рис. 2,б) обнаружена большая концентрация поллютантов, в отличие от листьев, которые могут быть получены через корневую систему из почвы. Имеются различия в полосах поглощения в области 1080 – 1020 см⁻¹, а именно в интенсивности полосы ~1073 см⁻¹ [7].

Метод УФ спектроскопии

Фенольные соединения являются доминирующими в изучаемом сырье, и на их долю приходится основной вклад фармакологического эффекта [6]. Поскольку эти вещества из-за наличия в них сопряженных связей поглощают в УФ-области спектра, при разработке методики анализа за основу предложен метод, основанный на образовании окрашенного комплекса с $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ [8].

Полученные данные свидетельствуют, что спектры водных экстрактов образцов *тысячелистника обыкновенного* имеют максимум поглощения на длинах волн $\lambda_{max} = 294-297$ нм и $\lambda_{max} = 328-335$ нм (рис. 3 и 4). Поскольку наличие полос поглощения при 290–320 нм характерно для соединений фенольного ряда (табл. 3), можно сделать вывод о наличии в экстрактах флавоноидов, дубильных веществ и фенолкарбоновых кислот, что согласуется с результатами из литературных источников [8].

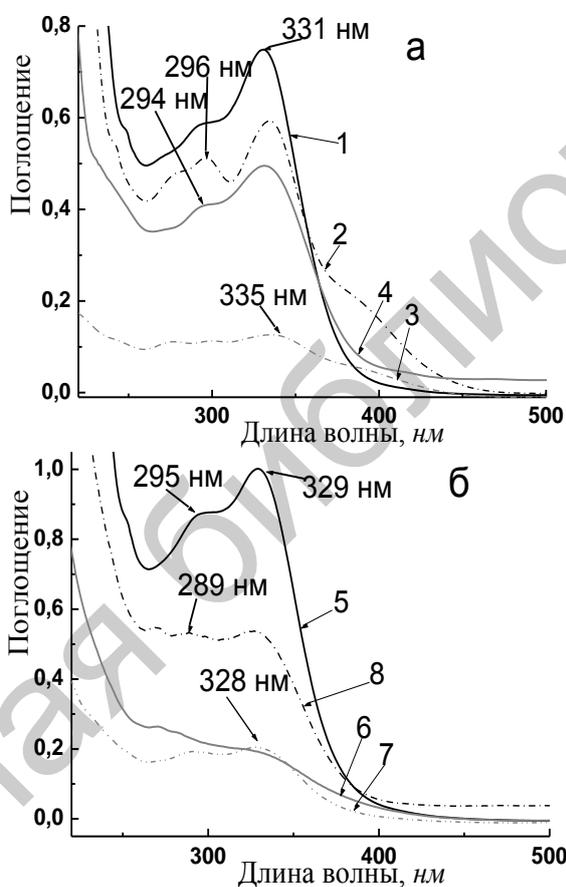
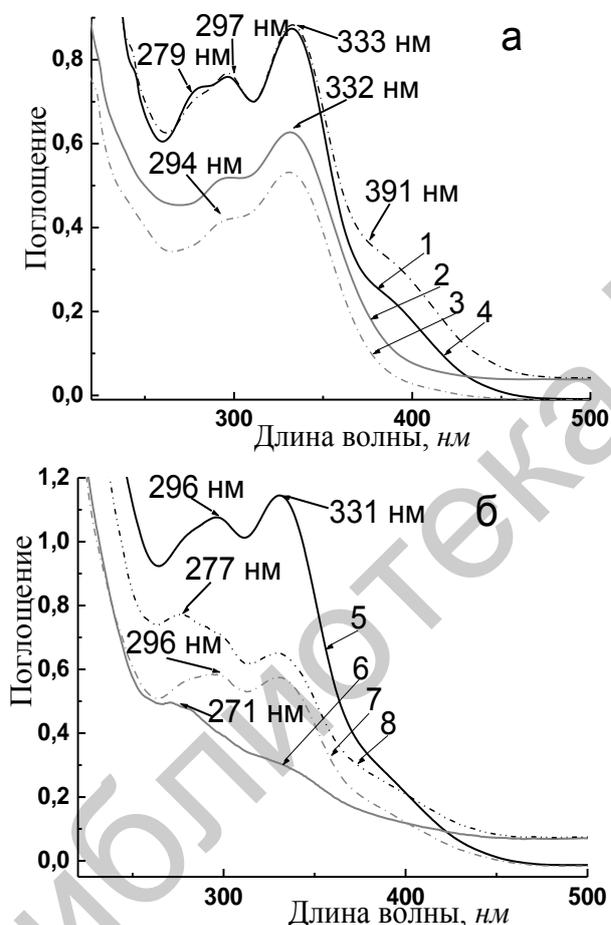


Рис. 3. УФ спектры водных экстрактов листьев (а) и цветов (б) *тысячелистника*: 1-И(а), 2-II(а), 3-III(а), 4-IV(а), 5-И(б), 6-II(б), 7-III(б), 8-IV(б).

Полученные спектры характеризуются смещением максимума поглощения в пределах 2–3 нм, что, вероятно, связано с изменением содержания действующего вещества.



Р и с . 4. УФ-спектры водных экстрактов листьев (а) и цветов (б) тысячелистника с комплексом $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 1–I(а); 2–II(а); 3–III(а); 4–IV(а); 5–I(б); 6–II(б); 7–III(б); 8–IV(б)

Результаты анализа УФ-спектров, представленных на рис. 3 и 4, иллюстрирует табл. 4. Оптическая плотность (D) в УФ-спектрах исследуемых экстрактов изменяется в определенных пределах. Высокие значения D получены для образцов из зон I и IV, что свидетельствует о большом содержании в них фенольных соединений. В спектрах образцов из мест обитания II и III оптическая плотность имеет меньшие значения, следовательно, фармакологическое действие образцов из указанных мест менее эффективно (рис. 3, 4).

Таблица 3.

Результаты УФ спектроскопического анализа растворов стандартных образцов (PCO).

PCO	Химическое строение	Максимум поглощения, нм
Арбутин, гликозид фенольного типа		221, 284
Галловая кислота, Фенолкарбоновая кислота		260
Гидрохинон, бензол-1,4-диол		224, 293
Пирокатехин, 1,2-дигидроксibenзол		216, 278
Резорцин, мета-дигидроксibenзол		218, 275, 281
Рутин, «витамин Р» кверцетин-3-рутинозид		257, 360
Кверцетин, Флавонол, Входит в группу «витамин Р»		256, 374

Фенольные соединения при добавлении $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ образуют окрашенные комплексы, λ_{max} которых сдвигается по сравнению с УФ-спектрами исходных экстрактов, что свидетельствует о присутствии незамещённой оксигруппы в молекулах флавонов, а также флавонолов с замещённой C_3 -оксигруппой (рис. 3 и 4) [8].

С помощью методов ИК и УФ спектроскопии установлено, что химический состав образцов *тысячелистника обыкновенного* *A. millefolium* чувствителен к антропогенному воздействию (к загрязнению от промышленных предприятий), что важно учитывать при изготовлении из него различных фармакологических препаратов. Данные, полученные с помощью методов ИК и УФ спектроскопии, взаимно дополняют друг друга, что дает наиболее полную картину о характере воздей-

ствия внешних факторов на химический состав лекарственных растений.

Таблица 4.

Максимумы поглощения водных экстрактов листьев (а), цветков (б) и полученных комплексов с хлоридом алюминия в ультрафиолетовой области

№ образца экстракта	Водные экстракты		Водные экстракты с комплексом $AlCl_3 \cdot 6H_2O$		
	Максимум поглощения, <i>нм</i>	$D_{max}, \text{см}^{-1}$	Максимум поглощения, <i>нм</i>	$D_{max}, \text{см}^{-1}$	
I	а	294,15	0,59	297,05	0,76
	б	295,12	0,87	296,09	1,07
II	а	296,09	0,51	293,18	0,52
	б	283,50	0,24	-	-
III	а	298,98	0,11	294,15	0,42
	б	291,25	0,19	296,08	0,58
IV	а	294,15	0,41	297,05	0,77
	б	289,31	0,53	298,98	0,70

Работа выполнена при поддержке гранта Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере по программе «Участник Молодежного Научно-инновационного Конкурса» («У.М.Н.И.К.»), государственный контракт № 11706р/17152 от 05.04.2013 года.

Список литературы

1. Лекарственное растительное сырье. М.: Издательство стандартов, 1980. С. 143–148.
2. Ушанова В.М., Воронин В.М., Репях С.М. // Химия растительного сырья. 2001. №3. С. 105–110.
3. Duraees N., Bobos I. and Ferreira Da Silva E.. // Portugal Mineralogical Magazine. February 2008, Vol. 72(1). P. 405–409.
4. Socrates G. Infrared characteristic group frequencies. Tables and Charts. London, 1994.
5. Оленева Ю.Г., Ильяшенко Н.В., Соловьева Н.А., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Физико-химия полимеров: Синтез, свойства и применение, Тверь, 2012.
6. Запрометов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений. Учебное пособие для биол. специальностей ун-тов. М.: Высшая школа, 1974.
7. Оленева Ю.Г., Ильяшенко Н.В. // Тез. докл. XVIII Региональных Каргинских чтений. Областная научно-техническая конференция молодых учёных «Физика, химия и новые технологии». Тверь, 2011. С. 34.
8. Ilyashenko N.V., Khizhnyak S.D., Pakhomov P.M. // International Conference «Renewable Wood and Plant Resources: Chemistry, Technology,

Pharmacology, Medicine» Book of abstracts, 21–24 June, 2011. Saint-Petersburg, 2011. P. 265–266.

EFFECT OF THE ANTHROPOGENIC FACTORS ON THE CHEMICAL COMPOSITION OF THE YARROW ORDINARY

Yu.G. Oleneva, S.D. Khizhnyak, P.M. Pakhomov

Tver State University

Chemical composition of leaves and flowers of the yarrow ordinary samples collected in various industrially contaminated sites is investigated by means of IR and UV spectroscopy. Dependence of intensity of certain absorption bands in IR spectra of the yarrow samples on contamination level of the sites of their growth is discovered. UV spectroscopic data proved that content of biologically active compounds in the samples depends on anthropogenic factors.

Keywords: Yarrow *Achillaea millefolium*, IR spectroscopy, UV spectroscopy, flavonoids.

Об авторах:

ОЛЕНЕВА Юлия Георгиевна – аспирант кафедры физической химии Тверского государственного университета, e-mail: sidorova.july@yandex.ru

ХИЖНЯК Светлана Дмитриевна – кандидат химических наук, зав. лаб. спектроскопии Тверского государственного университета, e-mail: sveta_khizhnyak@mail.ru

ПАХОМОВ Павел Михайлович – доктор химических наук, профессор кафедры физической химии Тверского государственного университета, e-mail: pavel.pakhomov@mail.ru