

СОДЕРЖАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ЦВЕТКАХ ТРЕХРЕБЕРНИКА ПРОДЫРЯВЛЕННОГО

З.Р. Велиханова¹, А.И. Марахова^{2*}, кандидат фармацевтических наук,
А.А. Сорокина¹, доктор фармацевтических наук, профессор

¹Первый Московский медицинский университет им. И.М. Сеченова;

Российская Федерация, 119991, Москва, ул. Б. Пироговская, д. 2, стр. 4;

²Российский университет дружбы народов, Институт биохимической технологии и нанотехнологии;

Российская Федерация, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

Введение. Трехреберник продырявленный, или ромашка непахучая широко распространен в Европейской части России и применяется в народной медицине и косметологии. Трехреберник продырявленный имеет геном, схожий с ромашкой аптечной, что позволяет предположить и схожий химический состав. Информации по химическому составу цветков трехреберника в литературе недостаточно.

Цель исследования – количественная оценка содержания в цветках трехреберника продырявленного флавоноидов, дубильных веществ и органических кислот в сравнении с цветками ромашки аптечной.

Материал и методы. Объект исследования – высушенные цветки трехреберника продырявленного и ромашки аптечной, заготовленные в Московской области. Для определения в лекарственном растительном сырье (ЛРС) биологически активных веществ использовали фармакопейные методики [6, 7].

Результаты. В цветках обоих видов определено количественное содержание суммы флавоноидов, свободных органических кислот и дубильных веществ. Установлено, что цветки трехреберника продырявленного и ромашки аптечной содержат практически одинаковое количество дубильных веществ и органических кислот. Содержание суммы флавоноидов существенно выше в цветках трехреберника продырявленного. Проведен сравнительный анализ дифференциальных спектров поглощения цветков обоих растений.

Заключение. Дана количественная оценка содержания в цветках трехреберника продырявленного флавоноидов, дубильных веществ и свободных органических кислот в сравнении с цветками ромашки аптечной. Показана возможность использования спектральной характеристики для установления подлинности цветков трехреберника продырявленного.

Ключевые слова: трехреберник продырявленный, *Tripleurospermum perforatum* (Merat.) M.Lainz., цветки, содержание, флавоноиды, дубильные вещества, органические кислоты, спектральные характеристики.

*E-mail: agentcat85@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Трехреберник продырявленный – *Tripleurospermum perforatum* (Merat.) M.Lainz. – северо-американское растение семейства астровых (*Asteraceae*), появилось в Европе более 599 лет назад и натурализовалось во многих районах как сорное. Внешний вид трехреберника очень напоминает ромашку, поэтому он более известен под своим вторым названием – ромашка непахучая – *Matricaria inodora* L. Растение широко распространено во всех областях Европейской части России. Растет в полях, огородах, садах, на пустырях, по обочинам дорог, в карьерах, на берегах рек и водоемов, на лугах. В России чаще всего трехреберник продырявленный упоминается как средство народной медицины. Траву и цветки трехреберника используют как маточное, кровоостанавливающее, спазмолитическое, обезболивающее, противовоспалительное и смягчительное средство [1]. Экстракты цветков ромашки непахучей широко

применяются при производстве косметологических средств в разных странах [2].

Публикаций, посвященных изучению химического состава цветков трехреберника, в отечественной и зарубежной литературе недостаточно. Известно, что в траве этого растения содержатся горечи, слизь, камеди, белки, немного эфирного масла [1]. Известно, что в цветках трехреберника продырявленного содержатся также флавоноиды, полисахариды, белки [3]. А.В. Амосов с соавт. [4] отмечают схожесть генома трехреберника продырявленного и ромашки аптечной, что объясняет их аналогичный состав.

В настоящее время сырье ромашки непахучей не входит в Государственный реестр лекарственных средств РФ, разрешенных к медицинскому применению [5]. Однако схожесть состава и фармакологических свойств цветков трехреберника с таковыми у ромашки аптечной, а также давние традиции применения растения в народной медицине указывают на перспективность использования цветков трехреберника в официальной медицине.

Цель исследования – количественная оценка содержания в цветках трехреберника продырявленного флавоноидов, дубильных веществ и органических кислот в сравнении с таковой в цветках ромашки аптечной.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили воздушно-высушенные цветки трехреберника продырявленного и ромашки аптечной, заготовленные в Московской области в июне–июле 2016 г.

Влажность и содержание в сырье дубильных веществ устанавливали по методикам ОФС Государственной фармакопеи РФ XIII издания (ГФ РФ XIII) [6]. Количественное определение суммы свободных органических кислот в пересчете на яблочную кислоту осуществляли по методике, приведенной в ст. 38 «Плоды шиповника» ГФ СССР XI изд., вып. 2 [7], модифицированной к объектам исследования. Содержание суммы флавоноидов определяли спектрофотометрически на приборе «Perkin Elmer» LAMBDA950 (США). Исследования выполняли на базе Института биохимической технологии и нанотехнологии РУДН.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для количественного определения суммы свободных органических кислот в цветках ромашки аптечной и трехреберника продырявленного около 25 г (точная навеска) сырья помещали в колбу вместимостью 500 мл, заливали 250 мл воды и выдерживали в течение 2 ч с обратным холодильником на кипящей водяной бане. Полученное извлечение фильтровали через складчатый бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 250 мл, доводили объем извлечения водой до метки и перемешивали. Отбирали 10 мл извлечения, помещали в мерную колбу вместимостью 250 мл, доводили водой до метки, прибавляли 1 мл 1% спиртового раствора фенолфталеина, 2 мл 0,1% раствора метиленового синего и титровали раствором натрия едкого (0,1 моль/л) до появления в пене лилово-красной окраски. Содержание свободных органических кислот в пересчете на яблочную кислоту

в процентах (X) в абсолютно сухом сырье вычисляли по формуле:

$$X = \frac{V \cdot 0,0067 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 10 \cdot (100 - W)},$$

где 0,0067 – количество яблочной кислоты, соответствующее 1 мл раствора натрия едкого (0,1 моль/л), г; V – объем раствора натрия едкого (0,1 моль/л), пошедшего на титрование, мл; m – масса сырья, г; W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Установлено, что цветки ромашки аптечной и трехреберника продырявленного (см. таблицу) содержат практически одинаковую сумму свободных органических кислот – 3,58±0,02 и 3,59±0,03% соответственно. Аналогичная картина наблюдалась и в отношении дубильных веществ (см. таблицу). Содержание этой группы биологически активных веществ в цветках ромашки аптечной и трехреберника продырявленного очень близкое – 5,11±0,03 и 4,80±0,02% соответственно.

Содержание суммы флавоноидов в 2 видах сырья рассчитывали спектрофотометрически, адаптируя методику, описанную ранее [8]. Около 2 г (точная навеска) сырья помещали в колбу со шлифом вместимостью 250 мл и заливали 100 мл 70% этилового спирта. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 мин периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Полученное извлечение охлаждали, фильтровали через складчатый бумажный фильтр в мерную колбу емкостью 100 мл (FILTRAK 90), доводили 70% этиловым спиртом до метки (раствор А). В мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 1 мл раствора А, 2 мл 2% спиртового раствора алюминия хлорида, 1 мл 8% уксусной кислоты и доводили объем раствора до метки 70% этиловым спиртом (раствор Б).

Через 40 мин после момента, когда оптическая плотность достигала максимума, снимали спектр поглощения раствора Б. Характер полученного абсорбционного спектра поглощения (рис.1), его пологость и неровность позволили предположить, что в максимум поглощения вносят вклад такие сопутствующие соединения, как фенолкарбоновые кислоты и фенолы с соседствующими фенольными гидроксильными группами.

Чтобы разделить эти соединения и флавоноиды на спектре, использовали разницу в кислотно-основных свойствах флавоноидов и фенолкарбоновых кислот. Для чего реакцию комплексообразования проводили в присутствии буферного раствора с pH=4 [8],

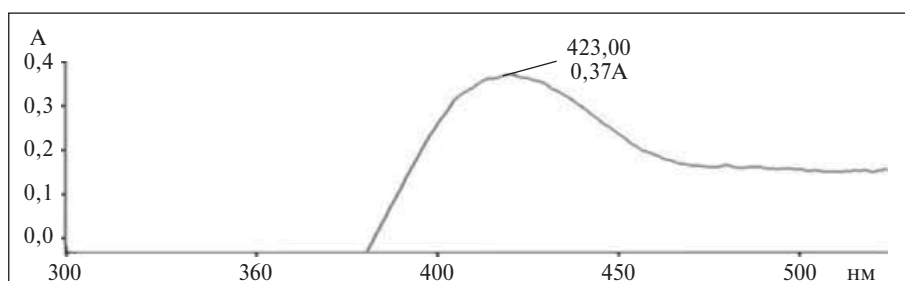


Рис. 1. Абсорбционный спектр комплекса флавоноидов цветков трехреберника с алюминия хлоридом без буферного раствора

добавляя в мерную колбу при получении раствора Б, помимо перечисленных компонентов, 10 мл буферного раствора с рН=4.

Буферный раствор с рН 4,0 готовили следующим образом: 10 мл 1М раствора натрия едкого помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 57 мл раствора уксусной кислоты, доводили объем раствора водой очищенной до метки и перемешивали.

На дифференциальном абсорбционном спектре извлечения из цветков трехреберника продырявленного, полученном в присутствии ацетатного буфера (рис. 2, кривая 2), появился максимум поглощения в районе 340 нм и более четкий и острый максимум поглощения при длине волны 410 нм. Длина волны поглощения 410 нм характерна для максимума поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом (см. рис.2, кривая 3), что дает право использовать рутин в качестве стандартного образца.

Полученный в аналогичных условиях (масса сырья составила около 1 г) дифференциальный спектр поглощения для извлечения из цветков ромашки аптечной с алюминия хлоридом (см. рис.2, кривая 1), показал отсутствие коротковолнового максимума, что позволяет рекомендовать применение данного подхода при идентификации сырья трехреберника продырявленного от ромашки аптечной.

Содержание суммы флавоноидов в ЛРС в пересчете на рутин в процентах (X) в абсолютно сухом сырье рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 25 \cdot m_0 \cdot 100 \cdot (100 - W) \cdot 100}{A_0 \cdot 100 \cdot m \cdot 100 \cdot 25 \cdot a},$$

где А – оптическая плотность испытуемого раствора; А₀ – оптическая плотность раствора комплекса ГСО рутина с алюминия хлоридом; m – масса сырья, г; m₀ – масса ГСО рутина, г; W – влажность, %.

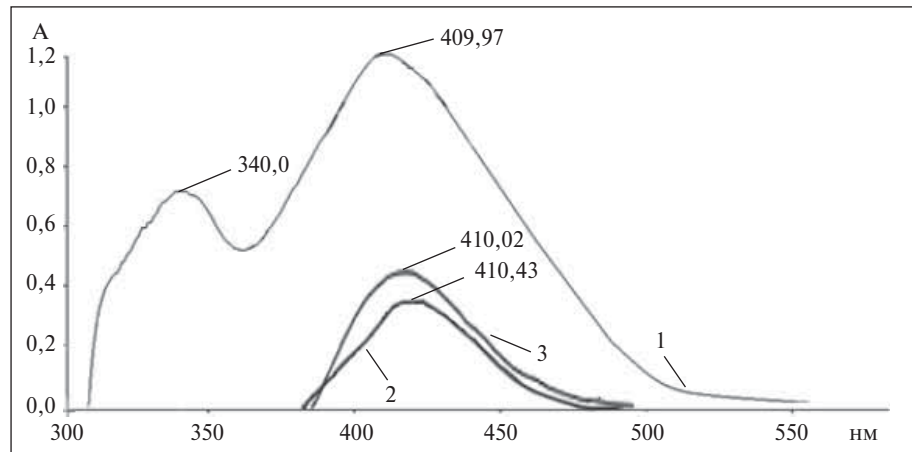


Рис. 2. Абсорбционные дифференциальные спектры комплексов флавоноидов в присутствии ацетатного буфера (рН=4) цветков трехреберника продырявленного (2), цветков ромашки аптечной (1) и ГСО рутина (3)

Установлено, что содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в цветках трехреберника продырявленного (6,06±0,04%) почти в 3 раза превышает содержание флавоноидов в цветках ромашки аптечной (1,75±0,02%).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного исследования дана количественная оценка содержания в цветках трехреберника продырявленного флавоноидов, дубильных веществ и свободных органических кислот. Сравнение цветков ромашки аптечной и трехреберника продырявленного по установленным показателям выявило, что эти 2 вида сырья содержат практически одинаковое количество дубильных веществ и органических кислот. Содержание суммы флавоноидов существенно выше в цветках трехреберника продырявленного.

Показана возможность использования спектральной характеристики для установления подлинности цветков трехреберника продырявленного. В дифференциальном спектре поглощения комплекса флавоноидов цветков трехреберника с алюминия хлоридом, полученном в присутствии буферного раствора с рН=4, присутствует максимум поглощения при длине волны 340 нм, не характерный для цветков ромашки.

СОДЕРЖАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ЦВЕТКАХ ТРЕХРЕБЕРНИКА ПРОДЫРЯВЛЕННОГО И РОМАШКИ АПТЕЧНОЙ (n=5; p=0,95)

Лекарственное растительное сырье	Содержание, %		
	сумма флавоноидов в пересчете на рутин	свободные органические кислоты в пересчете на яблочную кислоту	дубильные вещества
Цветки трехреберника продырявленного	6,06±0,04	3,59±0,03	4,80±0,02
Цветки ромашки аптечной	1,75±0,02	3,58±0,02	5,11±0,03

ЛИТЕРАТУРА

1. Егорова В. Н. Пойменные луга Средней Оки: мониторинг, проблемы сохранения и восстановления биоразнообразия и генофонда. М.: Европейские полиграфические системы, 2013; 412.
2. Дрибноход Ю.Ю. Косметика и косметология: все растительные средства по уходу за кожей. СПб: Весь, 2006; 314.
3. Велиханова З.Р., Сорокина А.А. Разработка характеристик подлинности трехреберника продырявленного. Материалы VI Международной научно-методологической конференции «Фармообразование-2016. Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ». Под ред. А.С. Беленовой. Воронеж: ВГУ, 2016; 208–11.
4. Амосова А.В., Быков В.А., Загуменикова Т.Н. и др. Сравнительное цитогенетическое изучение тетраплоидных форм

- Matricaria chamomilla* L. и *Matricaria inodora* L. Известия РАН. Серия биологическая, 2014; 123–32.
5. Государственный реестр лекарственных средств. Т.2, ч. 1. М.: Медицинский совет, 2009; 4.
 6. Государственная фармакопея РФ XIII изд. (Электронное издание). Режим доступа: <http://femb.ru/feml>
 7. Государственная фармакопея СССР, XI изд., вып. 2. М.: Медицина, 1990; 400.
 8. Сорокина А.А., Марахова А.И., Ковалева Т.Ю., Станишевский Я.М. Фотометрические методы в анализе лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе. М.: РУДН; 2015: 155.

Поступила 19 апреля 2017 г.

THE CONTENT OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN THE FLOWERS OF SCENTLESS MAYWEED (TRIPLEUROSPERMUM PERFORATUM)

Z.R. Velikhanova¹; A.I. Marakhova², PhD; Professor A.A. Sorokina¹, PhD

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; 2, B. Pirogovskaya St., Build. 4, Moscow 119991, Russian Federation;

²Institute of Biochemical Technology and Nanotechnology, People's Friendship University of Russia; 6, Miklukho-Maklai St., Moscow 117198, Russian Federation

SUMMARY

Introduction. Scentless mayweed (*Tripleurospermum perforatum* or *Matricaria inodora*) is widely distributed in the European part of Russia and it is used in folk medicine and cosmetology. Scentless mayweed has a genome similar to that of chamomile (*Matricaria chamomilla*), which may suggest a similar chemical composition. The literature contains scarce information on the chemical composition of scentless mayweed flowers.

Objective: to quantify the content of flavonoids, tannins, and organic acids in the scentless mayweed flowers compared to the chamomile ones.

Material and methods. The investigation object was the dried scentless mayweed and chamomile flowers gathered in the Moscow Region. Biologically active substances in medicinal plant raw materials were detected using pharmacopoeial methods (6, 7).

Results. The sum of flavonoids, free organic acids, and tannins was determined in the flowers of both species. The flowers of scentless mayweed and chamomile were ascertained to contain almost equal quantities of tannins and organic acids. The sum of flavonoids was significantly higher in the flowers of scentless mayweed. The differential absorption spectra of the flowers of both plants were comparatively analyzed.

Conclusion. The content of flavonoids, tannins and free organic acids was quantified in the flowers of scentless mayweed and chamomile. It was shown that spectral characteristics could be used to establish the identity of scentless mayweed flowers.

Key words: scentless mayweed, *Tripleurospermum perforatum* (Merat.) M. Lainz., flowers, content, flavonoids, tannins, organic acids, spectral characteristics.

REFERENCES

1. Egorova V.N. Floodplain meadows of the Oka: monitoring, problems of preservation and restoration of biodiversity and genetic resources. Moscow, Evropejskie poligraficheskie sistemi. 2013; 412 (in Russian).
2. Dribnokhod Yu.Yu. Cosmetics and cosmetology: all herbal skin care products. SPb: Ves, 2006; 314 (in Russian).
3. Velikhanova Z.R., Sorokina A.A. The development characteristics of the authenticity of *Tripleurospermum perforatum*. Materials VI international scientific and methodological Conference «Farmobrazovanie-2016». Ways and means of improving the pharmaceutical education. Create a new physiologically active substances» (ed A.S. Belenova). Voronezh: VGU, 2016; 208–11 (in Russian).
4. Amosova A.V., Bikov V.A., Zagumennikova T.N. et al. Comparative cytogenetic study tetraploidnyh forms *Matricaria chamomilla* L. и *Matricaria inodora* L. Izvestija RAN. Seriya biologicheskaya, 2014; 123–32 (in Russian).
5. State Register of medicinal products. Vol. 2, part. 1. Moscow: Meditsinskij sovet; 2009; 4 (in Russian).
6. The State Pharmacopoeia of The Russian Federation, XIII-ed. (Electronic resource). Access mode: <http://femb.ru/feml> (in Russian).
7. The State Pharmacopoeia of The USSR, XI-ed., vol.2. Moscow: Meditsina, 1990; 400 (in Russian).
8. Sorokina A.A., Marakhova A.I., Kovaleva T.Yu., Stanishevskij Ja.M. Photometric methods in the analysis of medicinal vegetative raw material and products based on it. Moscow: izd.RUDN; 2015: 155 (in Russian).