

ИЗУЧЕНИЕ ФЛАВОНОИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ТРАВЫ МАРЬЯННИКА СЕРЕБРИСТО-ПРИЦВЕТНИКОВОГО

Р.А. Бубенчиков*, доктор фармацевтических наук, Р.Е. Клоков, М.И. Соваренко

Курский государственный медицинский университет;
Российская Федерация, 305041, Курск, ул. К. Маркса, д. 3

Введение. Растения рода марьянник широко распространены в средней полосе Европейской части России. Основными группами биологически активных веществ растений являются флавоноиды и иридоиды. Достоверно известно только о наличии иридоидов в марьяннике серебристо-прицветниковом.

Цель исследования – изучение качественного и количественного состава флавоноидов в траве марьянника серебристо-прицветникового. **Материал и методы.** Объект исследования – воздушно-сухая трава марьянника серебристо-прицветникового. Качественный состав флавоноидов изучали с помощью бумажной и тонкослойной хроматографии, содержание флавоноидов определяли спектрофотометрически.

Результаты. В траве марьянника серебристо-прицветникового установлено содержание 6 флавоноидных соединений, идентифицированы лютеолин, апигенин, цинарозид, космоссиин. Разработана спектрофотометрическая методика количественного определения суммы флавоноидов, которая была использована для анализа сырья. Общее содержание флавоноидов в пересчете на цинарозид в траве марьянника серебристо-прицветникового колебалось от 2,52 до 3,03%.

Заключение. Установлен качественный состав и определено количественное содержание флавоноидов травы марьянника серебристо-прицветникового, произрастающего в Курской области.

Ключевые слова: марьянник серебристо-прицветниковый, *Melampyrum argyrocomum* Fisch.ex Lebed., трава, флавоноиды, качественный состав, содержание.

*E-mail: bubenhikova.ksmu@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

Марьянник серебристо-прицветниковый – *Melampyrum argyrocomum* Fisch.ex Lebed. – однолетнее травянистое растение семейства норичниковых (*Scrophulariaceae*), широко распространенное в черноземной зоне средней полосы Европейской части России. Произрастает в степях, среди зарослей кустарников [1]. Растения рода марьянник привлекают внимание исследователей как источники биологически активных веществ. В марьянниках найдены различные группы биологически активных веществ: углеводы, иридоиды, фенольные соединения (флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, дубильные вещества), тритерпеновые соединения, алкалоиды [2]. В результате фармакологических исследований разных видов марьянника установлены действующие вещества этих растений, а именно, фенольные соединения, в частности флавоноиды и иридоиды [3].

Химический состав марьянника серебристо-прицветникового изучен недостаточно, есть данные только о наличии в надземной части растения иридоидов – аукубина, ацетата аукубина и каталпола [2].

Цель настоящего исследования – изучение флавоноидных соединений марьянника серебристо-прицветникового.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служила трава марьянника серебристо-прицветникового, заготовленная в фазу цветения в 2015–2016 гг. в Курской области.

Качественный состав флавоноидных соединений травы марьянника серебристо-прицветникового изучали хроматографически в сравнении с достоверными образцами флавоноидов. При бумажной хроматографии (БХ) использовали 15% раствор уксусной кислоты, а при тонкослойной хроматографии (ТСХ) – систему растворителей: этилацетат – муравьиная кислота – вода (70:15:15) [4].

Содержание флавоноидов определяли спектрофотометрически, с использованием реакции комплексообразования флавоноидов с алюминия хлоридом в среде 70% спирта этилового [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При хроматографическом исследовании травы марьянника серебристо-прицветникового было установлено наличие 6 флавоноидных соединений с Rf 0,11; 0,17; 0,53; 0,63; 0,70 и 0,79 (при ТСХ-анализе) и с Rf 0,04; 0,10; 0,15; 0,19; 0,25 и 0,30 (при БХ-анализе). При сравнении с достоверными образцами установлено наличие в траве лютеолина, апигенина, цинарозида, космоссиина. Среди флавоноидных соединений марьянника серебристо-прицветникового преобладает цинарозид.

При разработке методики количественного определения флавоноидов в качестве стандартного образца (СО) был взят цинарозид. Максимумы поглощения комплексов СО цинарозида с алюминия хлоридом и извлечений из травы марьянника серебристо-прицветникового 70% спиртом этило-

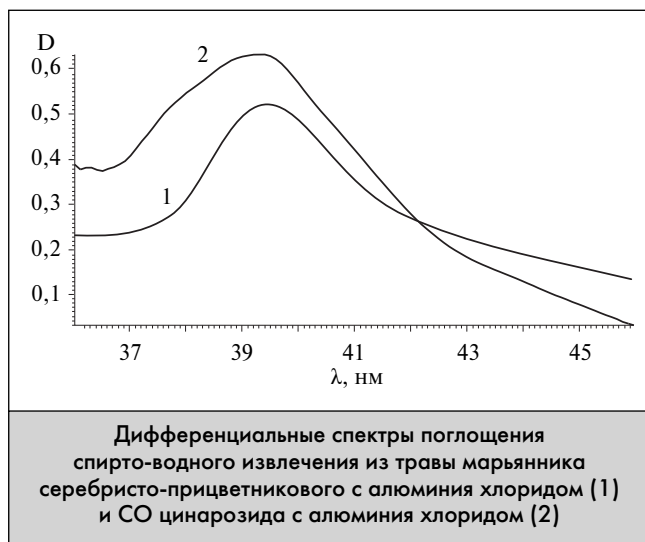


Таблица 1

**ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ЭКСТРАКЦИИ
НА СОДЕРЖАНИЕ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ**

Условия экстракции	Содержание суммы флавоноидов, %
Измельченность сырья, мм	
1,0	2,73
2,0	2,64
3,0	2,17
Экстрагент — этиловый спирт, %	
30	2,93
50	2,95
70	2,85
96	0,70
Время экстракции, мин (70% спирт этиловый, соотношение сырье—экстрагент 1:100)	
30	2,49
45	2,79
60	2,73

Таблица 2

**УСТОЙЧИВОСТЬ ОКРАСКИ ИЗВЛЕЧЕНИЯ
ИЗ ТРАВЫ МАРЬЯННИКА СЕРЕБРИСТО-
ПРИЦВЕТНИКОВОГО С АЛЮМИНИЯ ХЛОРИДОМ**

Время, мин	Оптическая плотность извлечения при λ 395 нм
15	0,778
30	0,761
45	0,752
60	0,744
75	0,744

вым с алюминия хлоридом совпадают и находятся при длине волны 395 нм (см. рисунок).

Был использован дифференциальный вариант спектрофотометрии, т.е. раствором сравнения служил исходный раствор извлечения без алюминия хлорида. Таким образом, удалось исключить влияние на результаты анализа сопутствующих растительных веществ, имеющих оптическую плотность в области максимума поглощения извлечений из сырья [5]. При проведении анализа пробы подкисляли 3% раствором уксусной кислоты для перевода флавоноидов и сопутствующих им веществ в недиссоциированную форму с целью улучшения воспроизводимости результатов [6].

На 1-м этапе исследования изучали влияние степени измельченности сырья на экстракцию флавоноидов [7]. Установлено, что максимальное извлечение флавоноидов достигается при измельчении сырья до размера частиц 1 мм (табл. 1). В качестве экстрагента использовали этиловый спирт различной концентрации. Наиболее полное извлечение флавоноидов достигалось при экстрагировании 30 и 50% этиловым спиртом (см. табл. 1). Дальнейшие исследования проводились со спиртом этиловым 50%.

Для обеспечения полноты извлечения суммы флавоноидов навеску сырья нагревали на кипящей водяной бане до наступления равновесия, т.е. в данном случае — через 45 мин [6]. Устойчивое окрашивание извлечений из травы марьянника с 5% спиртовым раствором алюминия хлорида наступало через 30 мин и сохранялось в течение 1 ч, что достаточно для проведения анализа (табл. 2).

Методика определения. В соответствии с требованиями (ТУ 23.2,2068-89) аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 100 мл 50% этилового спирта и взвешивают с погрешностью ±0,01 г. Колбу присоединяют к обратному водяному холодильнику, нагревают на кипящей водяной бане в течение 45 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Колбу с содержимым искусственно охлаждают до комнатной температуры, взвешивают и при необходимости доводят до первоначальной массы 50% спиртом этиловым. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр, смоченный тем же спиртом, отбрасывая первые 10 мл фильтрата.

2 мл извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 5 мл 5% раствора алюминия хлорида в 70% спирте этиловом и через 10 мин — 1 мл 3% раствора кислоты уксусной. Объем раствора доводят 70% спиртом этиловым до метки и оставляют на 30 мин. Оптическую плотность полученного раствора измеряют на спектрофотометре при длине волны 395 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Раствором сравнения служит раствор, состоящий из 2 мл извлечения, 1 мл 3% раствора кислоты уксусной, доведенный 70% спиртом этиловым до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов (X) в процентах в пересчете на цинарозид и абсолютно сухое сырье вычисляются по формуле:

$$X = \frac{D \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{345 \cdot V \cdot m \cdot 4 \cdot (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; 345 – удельный показатель поглощения цинарозида с алюминия хлоридом в 96% спирте этиловом; m – масса навески сырья, г; V – количество извлечения, мл; W – влажность сырья, %.

Статистическую обработку проводили по общепринятой методике [6]. Установлена ошибка единичного определения с 95% вероятностью – $\pm 3,15\%$

С помощью разработанной методики определяли содержание суммы флавоноидов в 3 образцах травы марьянника серебристо-прицветникового, которое колебалось от 2,52 до 3,03%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В траве марьянника серебристо-прицветникового, произрастающего в Курской области, установлено присутствие 6 соединений флавоноидной природы. При сравнении со стандартными образцами идентифицированы: лутеолин, цинарозид, апигенин, космоссиин.

Разработана спектрофотометрическая методика количественного определения в сырье суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид, основанная на реакции комплексообразования с алюминия хлоридом. Содержание суммы флавоноидов в траве марьянника серебристо-прицветникового колебалось от 2,52 до 3,03%

ЛИТЕРАТУРА

1. Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. М.: Товарищество научных изданий КМК., 2006; 600.
2. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Том 4. Семейства *Caprifoliaceae* – *Lobeliaceae* (отв. ред. А.Л. Буданцев). СПб.–М.: Товарищество научных изданий КМК, 2011; 630.
3. Петриченко В.М. Фармакологические исследования и биологическая активность растений семейства норичниковые. Автореф. дисс. ... докт. фарм. наук. Пермь, 2005; 46.
4. Бубенчикова В.Н., Старчак Ю.А. Фенольные соединения растений рода тимьян флоры центрального Черноземья. Материалы докладов VIII Международного симпозиума «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты» (2–5 октября 2012 г., Москва). М.: ИФР РАН, РУДН, 2012; 31–5.
5. Бубенчикова В.Н., Логутев С.В., Малютина А.Ю. Стандартизация некоторых видов семейства *Asteraceae* по содержанию флавоноидов. Традиционная медицина. 2011; 5: 171–3.
6. Точкова Т.В., Бубенчикова В.Н. Спектрофотометрический метод количественного определения суммы флавоноидов в цветках липы. Ресурсоведческое и фитохимическое изучение лекарственной флоры СССР. Научные труды, том XXIX. М., 1991; 150–5.
7. Хасанова С.Р., Потанина А.П., Кудашкина Н.В. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в растительном сборе «Кардиофит». Башкирский химический журнал, 2013; 8 (5): 60–2.
8. Государственная фармакопея РФ XIII издание, том 3. Электронное издание: <http://femb.ru/feml>.

Поступила 9 ноября 2016 г.

INVESTIGATION OF FLAVONOID COMPOUNDS IN THE *MELAMPYRUM ARGYROCOMUM* Fisch.ex Lebed. HERB

R.A. Bubenichikov, PhD; R.E. Klokov; M.I. Sovarenko

Kursk State Medical University; 3, K. Marx St., Kursk 305041, Russian Federation

SUMMARY

Introduction. Plants of the genus *Melampyrum* are widespread in the central part of European Russia. Flavonoids and iridoids are major groups of biologically active substances. It is well known that only iridoids are present in *Melampyrum argycomun*.

Objective: to investigate the qualitative and quantitative composition of flavonoids in the *Melampyrum argycomun* herb.

Material and methods. The investigation object was air-dried *Melampyrum argycomun* herb. The qualitative composition of flavonoids was examined by paper chromatography and thin-layer chromatography; their content was determined spectrophotometrically.

Results. The *Melampyrum argycomun* herb was found to contain 6 flavonoid compounds; luteolin, apigenin, cynaroside, and cosmossiin were identified. A spectrophotometric procedure for the quantitative determination of the amount of flavonoids was developed and used to analyze raw materials. The total content of flavonoids calculated with reference to cynaroside in the *Melampyrum argycomun* herb ranged from 2.52 to 3.03%.

Conclusion. The qualitative composition and quantitative content of flavonoids were determined in the herb of *Melampyrum argycomun* growing in the Kursk Region

Key words: *Melampyrum argyrocomum* Fisch.ex Lebed., herb, flavonoids, qualitative composition, content.

REFERENCES

1. Majewski P.F. Flora of middle belt of the European part of Russia. Moscow: Association of scientific editions KMK, 2006; 600 (in Russian).
2. Plant resources of Russia. Wild flowering plants, their composition and biological activity. Tom 4. Family *Caprifoliaceae* - *Lobeliaceae* (exec. ed. A.L. Budantsev). Sant-Peterburg – Moscow: Association of scientific editions KMK, 2011; 630 (in Russian).
3. Petrychenko V.M. Pharmacological studies and biological activity plant family *Scrophulariaceae*. Author. Dis. doctor of pharmacy sciences. Perm, 2005; 46 (in Russian).
4. Bubenichikova V.N., Starchak Yu.A. Phenolic compounds thyme plants of the flora of the Central Black Soil Region. Phenolic compounds: fundamental and applied aspects. Materials of VIII Intern. Symposium (October 2–5, 2012. Moscow). Moscow: IFN RAN, RUDN, 2012; 31–5 (in Russian).
5. Bubenichikova V.N., Logutev S.V., Malyutina A.Y. Standardization of some kinds family *Asteraceae* on the content of flavonoids. Tradicinnaya medicina, 2011; 5: 171–3 (in Russian).
6. Tochikova T.V., Bubenichikova V.N. Spectrophotometric method for the quantitative determination of the sum of flavonoids in the flowers of *Tiliae*. Resursovedcheskoe and phytochemical study of medicinal flora of the USSR. Scientific works. T. XXIX. Moscow, 1991; 150–5 (in Russian).
7. Hasanova S.R., Potanina A.P., Kudashkina N.V. Development of the method of quantitative determination of the sum of flavonoids in the plant collection «Kardiofit». Bashkirsky himicheskiy zhurnal, 2013; 8 (5): 60–2 (in Russian).
7. State Pharmacopoeia RF XIII edition. Volume 3. The electronic edition <http://femb.ru/feml> (in Russian).