ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ. МАТЕРИАЛЫ XI МЕЖДУНАРОДНОЙ СТУДЕНЧЕСКОЙ НАУЧНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ «СТУДЕНЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ 2019»

УДК 615.12

ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАВЫ ДЫМЯНКИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ (FUMARIA OFFICINALIS L.)

Дербенева Д.А., Мальцева Е.М., Сухих А.С.

ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет», Кемерово, e-mail: latsemu@yandex.ru

Растительные источники биологически активных соединений (БАС), оказывающих противовоспалительное действие, представляют значительный интерес в области создания фитопрепаратов для наружного применения с низкой токсичностью и отсутствием побочных реакций при длительном применении. Комплекс БАС дымянки лекарственной (Fumaria officinalis L.), согласно литературным данным, обладает выраженным спазмолитическим, противовоспалительным и антисептическим действием. В работе проведен фитохимический скрининг основных групп БАС травы дымянки лекарственной, проявляющих противовоспалительное действие (флавоноиды, алкалоиды и др.). С помощью специфических фитохимических реакций и метода ТСХ установлено наличие дубильных веществ гидролизуемого типа, агликонов и гликозидов флавоноидов, алкалоидов изохинолинового ряда и фумаровой кислоты. Определено общее содержание полифенольных соединений перманганатометрическим и спектрофотометрическим методом Folin-Ciokalteu. Установлено, что водные извлечения из травы дымянки лекарственной содержат до 2,80 ± 0,017% дубильных веществ. Разработаны хроматографические методы идентификации основных групп БАС дымянки. Результаты исследования могут быть использованы при выборе методов стандартизациифитопрепаратов из травы дымянки лекарственной.

Ключевые слова: дымянка лекарственная, полифенольные соединения, алкалоиды, флавоноиды, фумаровая кислота

PHYTOCHEMICAL RESEARCH OF HERBALS OF FUMARIA OFFICINALIS L.

Derbeneva D.A., Maltseva E.M., Sukhikh A.S.

Kemerovo State Medical University, Kemerovo, e-mail: latsemu@yandex.ru

Plant sources of biologically active compounds (BAC) that have an anti-inflammatory effect are of considerable interest in the field of creating herbal remedies for external use with low toxicity and the absence of adverse reactions with long-term use. The BAC complex Fumaria officinalis L., according to the literature, has a pronounced antispasmodic, anti-inflammatory and antiseptic effect. A phytochemical screening of the main BAC groups of the herb erysipelas, exhibiting anti-inflammatory action (flavonoids, alkaloids, etc.) was carried out. Using specific phytochemical reactions and the TLC method, the presence of tannins of the hydrolyzable type, aglycones and glycosides of flavonoids, isoquinoline alkaloids and fumaric acid has been established. The total content of polyphenolic compounds was determined by the Folgan-Ciokalteupermanganometric and spectrophotometric methods. It has been established that water extracts from the grass of a fumariae herb contain up to $2.80 \pm 0.017\%$ tannins. Chromatographic methods have been developed for identifying the main groups of BACFumaria herb. The results of the study can be used in the selection of methods for the standardization of phytopreparations from Fumaria herb.

Keywords: Fumaria officinalis L., polyphenolic compounds, alkaloids, flavonoids, fumaric acid

Род дымянка (Fumaria) сем. Fumariaceае представлен около 46 видами, наибольшее значение имеет дымянка лекарственная (F. officinalis L.). Она представляет собой однолетнее травянистое растениес прямостоячим ветвистым стеблем, высотой 20-40 см. Распространено повсеместно в Европейской части России, Кавказе, во всех районах Западной и Восточной Сибири. Растение сорное в посевах в районах северной и центральной лесостепи, растет у дорог и населенных пунктах [1].

Согласно литературным данным химический состав надземной части дымянки лекарственной представлен фенолкарбоновыми (кофейная, хлорогеновая) кислотами, фумаровой кислотой, флавоноидами до 1% (рутин, кверцетин), алкалоидами изохинолинового ряда до 1,6% [1]. Ее при-

менение в официальной медицине связано с наличием алкалоидов, производных изохинолина (протропина, фумарилина и др.), обладающих гепатопротекторной, спазмолитической и анальгезирующей активностью. Экстракт дымянки входит в состав лекарственного средства «Гепабене» Сырье дымянки лекарственной -Fumitory — включено в Европейскую и Британскую Фармакопеи.

В последнее время появились сообщения о противоэкзематической и противовоспалительной активности экстрактов *F. indica* и *F. parviflora*, основанной на комплексном действии суммы полифенольных соединений (флавоноиды, дубильные вещества и др.), алкалоидов и фумаровой кислоты [2, 3]. В этой связи обоснован интерес к изучению дымянки лекарственной в це-

CONFERENCE «STUDENT SCIENCE FORUM 2019»

лях получения новых фитопрепаратов для лечения дерматологических заболеваний.

Цель данного исследования заключалась в изучении качественного и количественного состава БАС травы дымянки лекарственной, обладающих противовоспалительной активностью.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования служила трава дымянки лекарственной, собранная в фазу цветения в июле-августе 2017 года в окрестностях г. Кемерово. Растительное сырье собирали в сухую, ясную погоду и сушили до воздушно-сухого состояния. Сырье упаковывали в пакеты из крафт-бумаги и хранили в сухом прохладном месте. Сырье представляет собой смесь цельных кусочков или частично измельченных веточек, листьев, кусочков стеблей толщиной до 0,3 мм и цветков. Образцы измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм.

Для проведения идентификации БАС получены водные и водно-спиртовые извлечения 40% и 70% растворами этанола. Водные извлечения использовали для выделениясуммы дубильных веществ методом колоночной хроматографии [4] и последующей идентификации, водно-спиртовые извлечения — для определения флавоноидов[5]. Фумаровую кислоту из растительного сырья экстрагировали 95% этанолом в соотношении 1:5 при нагревании на водяной бане в течение 30 минут.

Фракцию, содержащую алкалоиды, получали экстракцией 5,0 г измельченного сырья 5 мл разбавленного аммиака и 50 мл хлороформа в течение 15 минут. Хлороформное извлечение подкисляли 5 мл 5% раствора серной кислоты, водный слой отделяли и использовали для качественных реакций на алкалоиды.

Фитохимический анализ проводили общепринятыми методами [6].

TCX выполняли на пластинах Sorbfil ПТСХ-АФ-А. Использовали денситометр с осветительной камерой Сорбфил КС 4.00.000 в условиях освещения лампами DULUX 7W/21 840 OSRAM (белого света) с системой фотофиксации Sony (HandycamHDR-CX405) и ТВ тюнером EasyCap (ООО «ИМИД», Россия). Обработку изображения осуществляли с применением ПОSorbfilTLCView. Элюция осуществлялась в системах растворителей: для агликонов флавоноидов: толуол-этилацетатледяная уксусная кислота (70:25:5); для гликозидов флавоноидов: этилацетат-ледяная уксусная кислота-вода (5:1:1); для фумаровой кислоты: муравьиная кислота-хлороформ-бутанол-гептан (12:16:32:44); для алкалоидов изохинолинового ряда: хлороформ-метанол (8:2). Аппликацию стандартного раствора на линию старта осуществляли с помощью микрошприца МШ-10 (OOO Цвет, Дзержинск, Россия) используя объем нанесения 2,5-17,5 мкл применяя аппликатор механический Sorbfil совместно используя нагревательное устройство УСП-1. Проявление зон адсорбции осуществляли следующими способами: просматривали в УФ-свете и отмечали собственную флуоресценцию соединений; просматривали в видимом и УФ-свете после обработки 5% спиртовым раствором алюминия хлорида (флавоноиды); обрабатывали 1% спиртовым раствором метилового красного (фумаровая кислота); просматривали в видимом и УФ-свете после обработки реактивом Драгендорфа.

Для количественного определения дубильных веществ в водном извлечении из травы дымянки лекарственной использовали перманганатометрическое титрование и спектрофотометрический метод (метод Folin-Ciokalteu), основанный на восстановлении смеси фосфорновольфрамовой и фосфорномолибденовой кислот в щелочной среде по методикам 1 и 2 ОФС.1.5.3.0008.15 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». Расчет количественного содержания суммы полифенольных соединений проведен в пересчете на галловую кислоту. Измерения проводили на фотоэлектроколориметре КФК-3 (Россия).

УФ-спектры снимали на спектрофотометре СФ-2000 (Россия). Все измерения выполнены в трехкратной повторности. Статистическую обработку результатов измерения проводили согласно требованиям ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов эксперимента».

Результаты исследования и их обсуждение

При проведении качественных реакций в водном извлечении травы дымянки лекарственной установлено, что при взаимодействии с 1% раствором желатина появлялась опалесценция, исчезающая от избытка реактива; с 1% раствором хинина гидрохлорида возника ламорфный осадок; с 1% раствором железоаммониевыхквасцов — черно-синее окрашивание (гидролизуемые дубильные вещества) и осадок; при добавлении смеси разведенной хлористоводородной кислоты и 40% раствора формальдегида после кипячения осадок не образуется; с 10% раствором уксусной

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ. МАТЕРИАЛЫ XI МЕЖДУНАРОДНОЙ СТУДЕНЧЕСКОЙ НАУЧНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ «СТУДЕНЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ 2019»

кислоты и 10% раствором средней соли свинца ацетатаобразуется осадок (гидролизуемые дубильные вещества), осадок отфильтровывали, к фильтрату добавляли 1% раствор железоаммониевых квасцов и 0,1 г свинца ацетата — черно-синее окрашивание (гидролизуемые дубильные вещества); в извлечение прибавляли натрия нитрат и 0,1 М кислоты хлористоводородной — бурое окрашивание (гидролизуемые дубильные вещества). На основании проведенных качественных реакций в исследуемом извлечении травы дымянки обнаружена группа дубильных веществ гидролизуемого типа.

Количественное содержание суммы дубильных веществ, определенное методом перманганатометрии составило $3,955 \pm 0,49\%$, спектрофотометрическим методом Folin-Ciokalteu $-2,80 \pm 0,017\%$.

На основании проведенных качественных реакций сделано предположение о наличии в водно-спиртовом извлечении травы дымянки лекарственной флавоноидов, представленных группой флавонов, флавонолов, 5-оксифлавонов (таблица).

В результате проведения хроматографии в тонких слоях сорбента (TCX) в системе для гликозидов флавоноидов после обработки 5% раствором AlCl₃обнаружено 6 зон адсорбции имеющих ярко-желтую флуоресценцию. Зона адсорбции с Rf-0,45 совпала с PCO рутина. Для определения агликонов флавоноидов, содержащихся в извлечении травы дымянки, использовали подвижную фазу толуол-этилацетат-ледяная уксусная кислота (70:25:5). На хроматограмме после обработки 5% раствором AlCl₃ присутству-

ют 5 зон адсорбции с зеленовато-желтой флуоресценцией в УФ-свете. Зона адсорбции с Rf-0,27 совпадает с РСО кверцетина.

В УФ-спектре 70% водно-спиртового извлечения из травы дымянки наблюдалось два максимума поглощения при $\lambda = 288$ и 324 нм, характерных для флавонов и флавонолов. При использовании шифт-пробы с раствором алюминия хлорида наблюдался батохромный сдвиг второй полосы поглощения на 91 нм, что свидетельствует о наличии свободной гидроксильной группы в 5 положении флавонов и флавонолов.

Хроматография спиртового извлечения из травы дымянки лекарственной в системе растворителей муравьиная кислота-хлороформ-бутанол-гептан (12:16:32:44) после проявления 1% спиртовым раствором метилового красного показала наличие фумаровой кислоты (Rf-0,87).

В извлечении из травы дымянки лекарственной с помощью осадительных реактивов подтверждено наличие алкалоидов. При взаимодействии с 1% раствором танина появлялась желтоватая опалесценция, исчезающая от избытка реактива; с реактивом Драгендорфа возникал оранжевый осадок; с реактивом Вагнера-Бушарда — бурый осадок; с 1% раствором пикриновой кислоты — желтый кристаллический осадок; при добавлении раствора фосфорно-вольфрамовойкислоты выпадал беловатый аморфный осадок.

Из литературных данных известно, что алкалоиды дымянки лекарственной по химической структуре относятся к алкалоидам изохинолинового ряда (рис. 1), обладающим выраженной противовоспалительной активностью [7].

Результаты качественных реакций на флавоноиды в водно-спиртовом извлечении травы дымянки лекарственной

Реакция	Эффект реакции для различных групп флавоноидов	Эффект
Цианидиновая проба	Флавонолы, флавоны, флавононы— красное или оранжевое окрашивание	Оранжевое окрашивание
Реакция по Брианту	Агликоны флавонолов, флавонлов, флавононов – красное или оранжевое окрашивание слоя октилового спирта	Оранжевое окрашивание слоя октилового спирта
Реакция с раствором NaOH	Флавоны и флавонолы – желтое окрашивание	Желтое окрашивание
Реакция с реактивом Вильсона	5-оксифлавоны, 5-оксифлавонолы — ярко-желтое окрашивание с красно- ватой флуоресценцией	Желтое окрашивание с красноватой флуоресценцией
Реакция с 5% раствором алюминия хлорида	Флавоны, флавонолы, халконы – желтое окрашивание с ярко-желтой флуоресценцией	Желтое окрашивание и характерная флуоресценция

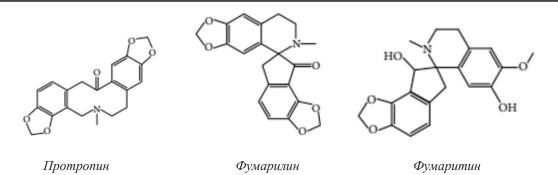


Рис. 1. Структура алкалоидов, выделенных из травы дымянки лекарственной [1]

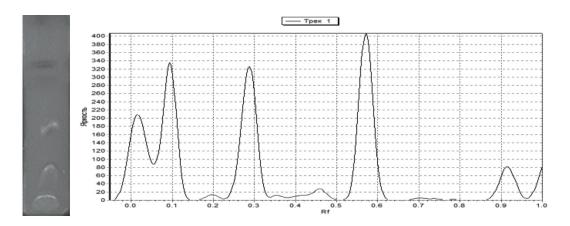


Рис. 2. Хроматограмма извлечения из травы дымянки лекарственной и профиль ее денситометрического сканирования после обработки реактивом Драгендорфа в УФ-свете при $\lambda=366$ нм

Нами была изучена возможность использования специальных реактивов для идентификации данной группы алкалоидов. При взаимодействии с концентрированной серной кислотой при нагревании наблюдалось фиолетовое окрашивание; с концентрированной азотной кислотой появлялось желтое окрашивание; при добавлении реактива Эрдмана — сине-фиолетовое окрашивание при нагревании; с реактивом Марки наблюдали образование оранжево-красного окрашивания; реактив Манделина окрашивал извлечение в синезеленый цвет.

Хроматографическое разделение извлечения, полученного для определения алкалоидов травы дымянки, проводили методом ТСХ. Результаты оценивали до и после обработки реактивом Драгендорфа при просмотре в УФ – свете с применением программной обработки сканированных изображений хроматограмм с помощью компьютерной программы SorbfilTLCView[8]. На хроматограмме обнаружено 4 доминирующих зоныадсорбции алкалоидов, окрашенные

в оранжево-красный цвет, с Rf 0,02; 0,09; 0,29 и 0,57 (рис. 2).

Таким образом, в результате проведенного исследования, подтверждено наличие основных групп БАС травы дымянки лекарственной, проявляющих противовоспалительную активность — флавоноиды, дубильные вещества, фумаровая кислота и алкалоиды изохинолинового ряда. Перспективным для получения фитопрепатратов противовоспалительного действия на основе травы дымянки является использование экстрагентов с высоким содержанием этанола, позволяющих получить весь спектр БАС дымянки и максимально повысить фармакологическое действие.

Список литературы

- 1. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 1 / Отв. ред. А.Л. Буданцев. СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. С. 87–88.
- 2. Jowkar F., Jamshidzadeh A., Mirzadeh Yazdi A., Pasalar M. The effects of *Fumaria parviflora L* extract on chronic hand eczema: A randomized double-blind placebo controlled clinical trial. Iranian Red Crescent Medicial Journal. 2011. vol. 13. no 11. P. 824-828.

- 3. Rizvi W., Fayazuddin M., Singh O., Syed S.N., Moin S., Akhtar K., Kumar A. Antiinflammatory effect of *Fumaria parviflora* leaves based on TNF- α , IL-1, IL-6 and antioxidant potential. Avicenna J. Phytomed. 2017. vol. 7(1). P. 37–45.
- 4. Антипенко Е.М., Кузнецов П.В. Полимерные адсорбенты аффинного типа в исследовании физиологически активных веществ. Сообщение VI. Перспективы жидкостной колоночной хроматографии дубильных веществ (обзор). Химико-фармацевтический журнал. 1995. Т. 29. № 9. С.53.
- 5. Мальцева Е.М., Егорова Н.О., Егорова И.Н. Количественное определение суммарного содержания флавоноидов
- в траве кровохлебки лекарственной // Вестник уральской медицинской академической науки. 2011. N 3/1. С. 68.
- 6. Гринкевич Н.И., Сафронич Л.Н. Химический анализ лекарственных растений. М., 1983. 176 с.
- 7. Bae D.S., Kim Y.H., Pan C.H., Nho C.W., Samdan J., Lee JY&JK. Protopine reduces the inflammatory activity of lipopolysaccharide-stimulated murine macrophages. BMB Rep. 2012. vol. 45. P. 108–113.
- 8. Сухих А.С., Поморцева Л.С., Чистохин Ю.Г., Большаков В.В. Сравнительная оценка методов извлечения биологически активных веществ из Звездчатки средней // Медицина в Кузбассе. 2010. № 3. С. 15–17.