УДК 615.322

ИЗУЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ЛИСТЬЕВ И ТРАВЫ *INULA VISCOSA* (L.) КАК ПЕРСПЕКТИВНЫХ ВИДОВ СЫРЬЯ

Р. Мусса[1]*, Н. В. Шинева[1], В. В. Вандышев[1], С. Н. Суслина[1]

Резюме. В статье рассматривается фрагмент комплексного исследования по введению в фармацевтическую практику девясила липкого (*Inula viscosa* L.). Девясил липкий (*Inula viscosa* L.) – растение, произрастающее в Сирии, водные извлечения из которого, а также порошок листьев используются этномедициной Средиземноморья при лечении дерматолокализованных патологий. Исходя из опубликованных научных данных по антимикробной активности и выявленных перспектив получения и использования препаратов на основе *Inula viscosa* L., проводится фармакогностическое и технологическое изучение сырья листьев и травы с использованием современных фармакопейных методов исследования и стандартизации. Представлены результаты исследования некоторых технологических и фармакогностических характеристик новых видов сырья: листьев и травы девясила липкого (*Inula viscosa* L.). Установлены показатели качества сырья: влажность листьев – не более 5%, травы – не более 8%, содержание золы общей в листьях и траве – не более 11%, а золы, нерастворимой в 10% растворе кислоты хлористоводородной, – не более 1% в обоих видах сырья, содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой, – около 32%. Изучены технологические характеристики измельченного сырья: насыпная масса, объемная масса, коэффициенты поглощения растворителей с различным содержанием этанола, на основании значений которых в качестве экстрагента для получения извлечения выбран 70% этанол, как извлекающий многокомпонентный целевой комплекс веществ, включающий фенольные кислоты, флавоноиды, танины, сесквитерпеноиды. Установлены коэффициенты поглощения этого экстрагента: 1,15 мл/г – для травы и 1,22 мл/г – для листьев. Для установления подлинности сырья предложено использование ТСХ водного и спиртового извлечения для обнаружения флавоноидов и фенолкарбоновых кислот – кофейной, хлорогеновой. В УФ-спектре спиртового извлечения из ЛРС девясила липкого выявлены два максимума поглощения при длинах волн 298 и 329 нм, что позволяет предполагать присутствие в извлечении фенолкарбоновых кислот других фенольных соединений, в том числе дубильных веществ и флавоноидов. Полученный спектр поглощения может служить специфичной характеристикой для установления подлинности лекарственного растительного сырья и из извлечения *Inula viscosa* L. Для разработки технологии экстрактов определен фракционный состав измельченного сырья девясила липкого. В измельченной траве девясила липкого основную массу (около 44%) составляет фракция, размеры частиц которой больше 2 мм, тогда как в измельченных листьях преобладает (около 45%) фракция более мелких частиц размером менее 2 мм, но более 1 мм. Полученные данные предполагается использовать для разработки проектов нормативной документации на сырье девясила липкого и технологии получения экстракционных препаратов на его основе.

Ключевые слова: *Inula viscosa* (L.), сырье, листья, трава, показатели качества, технологические характеристики, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды.

STUDY OF QUALITY INDICATORS AND TECHNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF LEAVES, STEMS AND FLOWERS OF *INULA VISCOSA* (L.) AS PROMISING RAW MATERIALS

R. Mussa[1]*, N. V. Sineva[1], V. V. Vandyshev[1], S. N. Suslina[1]

Abstract. The article contains information about the fragment of the complex study on the introduction of *Inula viscosa L.* to the pharmaceutical practice. *Inula viscosa* L. is a plant growing in Syria. Its aqueous extraction and leaf powder is used in the Mediterranean traditional medicine for the treatment of dermatological pathologies. Based on the published scientific data on antimicrobial activity and the identified prospects for the production and use of preparations based on *Inula viscosa* L., a pharmacological and pharmacognostic study of leaf and herb raw materials is carried out using modern pharmacopoeial methods of research and standardization. The results of research of some pharmacognostic characteristics of new types of raw materials are presented for *Inula viscosa* L. leaves and herb. Quality indicators of raw materials are established: moisture content in leaves is not more than 5%, amount of herb is not more than 8%, ash content is not more than 11% in leaves and herb and ash, insoluble in 10% solution of hydrochloric acid is not more than 1% in both types of raw materials, content of substances extracted by water is about 32%. The technological characteristics of the crushed raw materials are studied: bulk density, bulk mass, absorption coefficients of solvents with different ethanol content, based on the values of which 70% ethanol is selected as extractant for extraction. 70% ethanol is able to extract a multicomponent target complex of substances including phenolic acids, flavonoids, tannins, sesquiterpenoids. The absorption coefficients of this extractant are 1,15 ml/g for herb and 1,22 ml/g for leaves. TLC is proposed for the identification of the plant raw materials and for the detection of flavonoids and phenolcarbonic acids (caffeic and chlorogenic acids) in aqueous and alcoholic extracts. There were identified two maxima of the absorption in the UV spectrum of the alcoholic extraction of *Inula viscosa* L. at wavelength 298 and 329 nm. It allows to assume the presence of phenolcarbonic acids and other phenolic substances including tanning substances and flavonoids in the extraction. The obtained absorption spectrum can serve as a specific characteristic for identification of medicinal plant material and extraction of *Inula viscosa* L. To develop the technology of extracts, the fractional composition of the *Inula viscosa* L. crushed raw material is determined. The majority of particles (about 44%) in the crushed herb of *Inula viscosa* L. have the size more than 2 mm, while the crushed leaves represent the fraction with majority of particles (about 45%) having size less than 2 mm but more than 1 mm. The obtained data is supposed to be used for the development of the draft normative documentation for *Inula viscosa* L. raw materials and for the development of technology for obtaining extraction preparations based on it.

Keywords: *Inula viscosa* (L.), medicinal plant raw materials, technological characteristics, phenol carboxylic acids, flavonoids.

1 – ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН), Россия, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

1 – Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), 6, Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117198, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: ramadan.musa@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

В этнофармации стран Средиземноморья, и в частности в Сирии, активно используют водное извлечение из листьев девясила липкого (*Inula viscosa* L.*)* в качестве противовоспалительного и ранозаживляющего средства для наружного применения. Опубликованные научные данные о биологической активности комплексов биологически активных соединений (БАС), содержащихся в этом растении, подтверждают целесообразность его углубленного изучения и применения [6, 341–354; 7, 20–26].

Девясил липкий (*Inula viscosa* (L.), или *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter), относящийся к семейству астровых (сложноцветных) (Asteraceae), – полукустарник или многолетнее травянистое растение, широко распространенное в Средиземноморье и образующее заросли в степной и полупустынной местности [5, 329–331]. Основными группам БАС, накапливаемых растением, являются флавоноиды, сесквитерпеновые соединения и эфирное масло [4, 27–35; 3, 124–127]. Сырьем девясила липкого обычно служат листья, собранные с облиственных цветоносных побегов, которые в условиях жаркого сухого климата можно собирать несколько раз за сезон. Однако в перспективе рассматривается использование и верхушечной травянистой части растения – побегов длиной до 30 см.

Следует отметить, что при широком применении в этномедицине девясил липкий и его сырье не являются официнальными, поэтому их стандартизация осуществляется не на должном уровне. В соответствии с требованиями Государственной фармакопеи (ГФ) Российской Федерации [1, Т. 1, ОФС.1.5.1.0001.15] для определения качества лекарственного растительного сырья (ЛРС) среди других показателей определяют: влажность, содержание зольного остатка (зола общая и зола, нерастворимая в 10% растворе кислоты хлористоводородной), тяжелых металлов и мышьяка. Определение содержания экстрактивных веществ с использованием различных растворителей и схем экстракции позволяет выявить наиболее подходящий экстрагент для извлечения БАС целевого фрагмента метаболома. Изучение технологических характеристик сырья, таких как насыпная масса, объемная масса, содержание экстрактивных веществ, коэффициенты поглощения экстрагентов сырьем, позволит разработать оптимальную технологию получения фитопрепарата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования явились два вида сырья девясила липкого – трава и листья. Цельное сырье заготавливали в течение 2015–2017 гг. в сирийской провинции Хомс: верхушечные облиственные цветоносные побеги длиной до 30 см – в период цветения растений, хорошо развитые листья – до цветения.

Сушку сырья проводили воздушно-теневым способом (ГФ XIII, «Общие методы анализа»): при комнатной температуре с умеренной вентиляцией, разложив в один слой на подстилках и периодически переворачивая.

Сырье упаковывали и хранили при комнатной температуре в сухом, хорошо вентилируемом помещении, не зараженном вредителями запасов, не допуская попадания на сырье прямых солнечных лучей.

Измельчение высушенных травы и листьев *Inula viscosa* проводилось на электрической мясорубке (Nova Meat Grinder).

Для определения дисперсного состава частиц измельченное сырье просеивали через ряд сит с отверстиями различных размеров – от 2,50 мм до 0,25 мм. Использованные сита отвечают требованиям ТУ 23.2.2068-89. Оценка фракционного состава сырья девясила липкого осуществлялась в соответствии со статьей ГФ XIII ОФС.1.1.0015.15 «Ситовой анализ».

Определение сыпучести измельченного сырья девясила липкого проводили в соответствии с методикой ГФ XIII, приведенной в ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков». Для определения данной характеристики сырья использовали тестер для определния сыпучести гранулята ERWEKA Granulate Flow Tester GT (ERWEKA, Германия).

Определение насыпного объема измельченного сырья девясила липкого проводили в соответствии с методикой ГФ XIII, приведенной в ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков», на тестере насыпной плотности ERWEKA SVM 101/201 Tapped Density Tester (ERWEKA, Германия).

Определение влажности сырья девясила липкого проводили согласно методике, приведенной в ОФС.1.5.3.0007.15, с помощью влагомера термографи-

Тестер для определения сыпучести гранулята ERWEKA GT

Тестер насыпной плотности ERWEKA серии SVM

ческого инфракрасного «Аквилон АВ-50» (ЗАО «НПКФ Аквилон», Россия).

Изучение содержания общей золы и золы, нерастворимой в 10% хлористоводородной кислоте, проводили согласно ОФС.1.2.2.2.0013.15 и ОФС.1.5.3.0005.15 ГФ XIII.

Изучение коэффициентов поглощения различных экстрагентов (воды, водного спирта различной концентрации) и расходных коэффициентов видов сырья девясила липкого проводили по методике, изложенной в ОФС.1.5.3.0012.15. При исследовании коэффициентов поглощения различных экстрагентов сырье заливали растворителями в соотношении 1:10. После экстракции в соответствии с ОФС.1.4.1.0018.15 «Настои и отвары» и ОФС.1.4.1.0019.15 «Настойки» извлечения фильтровали и шрот отжимали в перфорированном стакане, после чего измеряли объем полученного извлечения.

При определении содержания экстрактивных веществ в сырье девясила липкого была применена многократная экстракция согласно ОФС.1.5.3.0006.15.

При установлении подлинности сырья по целевым группам БАС были использованы УФ-спектрофотометрия и ТСХ. Для экстракции и приготовления хроматографических систем использовали растворители марки «ч.» и «х.ч.», производства «Химмед» (Россия). Концентрирование извлечений и отгонку растворителей проводили с помощью ротационного испарителя Heidolph® Laboratory 4002, (Heidolph, Германия).

Спектры в УФ- и видимой области спектра регистрировали с помощью спектрофотометра Cary WIN UV (Varian, США) в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см.

Идентификацию и разделение веществ осуществляли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках Fluca (Merck, Германия) с силикагелем на алюминиевой подложке и флуоресцентным индикатором 254 нм. Испытание методом ТСХ проводили в системе н-бутанол – кислота уксусная ледяная – вода (4:1:1) – все растворители марки «ч» производства «Химмед», Россия. Обнаружение зон адсорбции в УФ-свете проводили при длине волны 365 нм до и после обработки хроматораммы последовательно растворами дифенилборилоксиэтиламина SigmaAldrich (Германия) и полиэтиленгликоля-400 (Ferak, Германия). В качестве испытуемого раствора использовали извлечения из ЛРС, в качестве стандартных растворов – таковые рутина (содержание 90,00%, Carl Poth GmbH, Германия, серия 250249-75-3, годен до 01.12.2019), кофейной кислоты (содержание 98,00%, Sigma, Швейцария, серия 047к1609, годен до 01.09.2019), галловой кислоты (содержание 98,00%, Sigma, Китай, серия 117к0057, годен до 01.09.2019) в этаноле (95% ОАО Флора Кавказа, Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты определения числовых показателей сырья девясила липкого приведены в таблице 1.

Таблица 1.

Числовые показатели двух видов сырья девясила липкого

Числовой показатель	Трава девясила липкого	Листья девясила липкого
Влажность, %	7,05±0,5	3,78±0,10
Зола общая, %	10,4±0,5	10,75±0,5
Зола, нерастворимая в 10% растворе HCl, %	0,997±0,03	0,645±0,03

Как видно из представленных в таблице данных, влажность образцов травы девясила не превышала 8%, а влажность листьев – 5%, что соответствует уровню значений для официнального сырья этих морфологических групп – не более 14%. Содержание золы общей в траве установлено порядка 10%, а золы, нерастворимой в 10% растворе HCl, в траве – до 1%, а в листьях – до 0,7%, что составляет не более 10% от золы общей. Сравнение показателей зольности свидетельствует о низком содержании в сырье девясила липкого элементов, не образующих с соляной кислотой растворимых в воде солей.

Исследования по выявлению приемлемого экстрагента, максимально извлекающего комплекс БАС из травы и листьев девясила липкого, проводили с использованием нескольких растворителей: спирта этилового различной концентрации (90, 70 и 40%) и воды очищенной. Результаты определения содержания экстрактивных веществ представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Содержание экстрактивных веществ в двух видах сырья девясила липкого

Экстрагент	Содержание экстрактивных веществ, %	
	трава	листья
Вода очищенная	31,22±1,5	31,18±1,5
Спирт этиловый 40%	31,27±1,5	32,70±1,5
Спирт этиловый 70%	27,28±1,5	32,42±1,5
Спирт этиловый 90%	23,61±1,5	29,89±1,5

Из данных таблицы 2 видно, что сопоставимо высокий выход (30–31%) экстрактивных веществ как из травы, так и из листьев достигается при экстракции этих видов сырья водой и водно-этанольным раствором с низким содержанием спирта. Содержание же гидрофобных веществ, переходящих в более крепкие спиртоводные смеси, в листьях несколько выше, чем в траве. Таким образом, учитывая уровень содержания экстрактивных веществ в сырье девясила липкого при извлечении их водой и 40% этанолом,

целесообразно использовать для стандартизации показатель «содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой».

Результаты изучения поглощающей способности сырья девясила липкого в отношении различных экстрагентов представлены в таблице 3.

Таблица 3.

Коэффициенты поглощения двух видов измельченного сырья девясила липкого в зависимости от растворителя

Экстрагент	Коэффициент поглощения, мл/г	
	травы девясила липкого	листьев девясила липкого
Вода очищенная	1,85±0,08	1,65±0,07
Спирт этиловый 40%	1,35±0,05	1,35±0,06
Спирт этиловый 70%	1,15±0,05	1,22±0,05
Спирт этиловый 90%	1,12±0,05	1,15±0,05

Как видно из данных таблицы 3, наибольшим коэффициентом поглощения как трава, так и листья (1,85–1,65 мл/г) девясила обладают в случае экстракции водой. В случае спиртоводных вариантов экстрагента трава и листья удерживают примерно в 2 раза меньше растворителя и коэффициент поглощения находится в интервале 1,12–1,35 мл/г. Такое различие может быть обусловлено наличием в исследованном сырье полисахаридного комплекса.

Для разработки технологии получения экстрактов нами определены фракционный состав и некоторые технологические параметры раздельно для каждого вида измельченного сырья девясила липкого. Результаты этих исследований приведены в таблицах 4 и 5.

Таблица 4.

Фракционный состав частиц измельченного сырья девясила липкого

Частиц на сите с отверстиями размером:	Содержание фракции, %	
	трава	листья
3 мм	0,36	0,17
2 мм	43,84	29,60
1 мм	33,36	45,33
0,5 мм	11,12	14,43
0,1 мм	9,36	9,13
Частиц, прошедших сквозь сито 0,1 мм	1,96	1,34

Данные таблицы 4 показывают, что в измельченной траве девясила липкого основную массу (около 44%) составляет фракция, размеры частиц которой больше 2 мм, тогда как в измельченных листьях преобладает (около 45%) фракция более мелких частиц размером менее 2 мм, но более 1 мм.

Таблица 5.

Технологические характеристики измельченного сырья девясила липкого

Название технологической характеристики сырья	Вид сырья девясила липкого	
	трава	листья
Насыпной объем до уплотнения, мл	80	80
Насыпной объем после уплотнения (1250), мл	69,5	66,5
Насыпная плотность до уплотнения, г/см^3	0,36	0,37
Насыпная плотность после уплотнения, г/см^3	0,42	0,44
Коэффициент поглощения сырья при экстракции 70% этанолом, мл/г	1,15	1,22

На основании ранее полученных результатов [2, 93–99] в качестве растворителя для получения извлечения выбран 70% этанол как экстрагент многокомпонентного целевого комплекса БАС (фенольные кислоты, флавоноиды, танины, сесквитерпеноиды), коэффициенты поглощения которого составляют 1,15 мл/г и 1,22 мл/г для травы и листьев соответственно.

В спектре спиртового извлечения из ЛРС девясила липкого в УФ-области отмечается два максимума поглощения при длинах волн 298 и 329 нм. На основании этих данных можно предположить присутствие в извлечении фенолкарбоновых кислот, а также других фенольных соединений (дубильных веществ, флавоноидов). Полученный спектр поглощения может служить специфичной характеристикой для установления подлинности извлечения и ЛРС из *Inula viscosa* (рисунок 1).

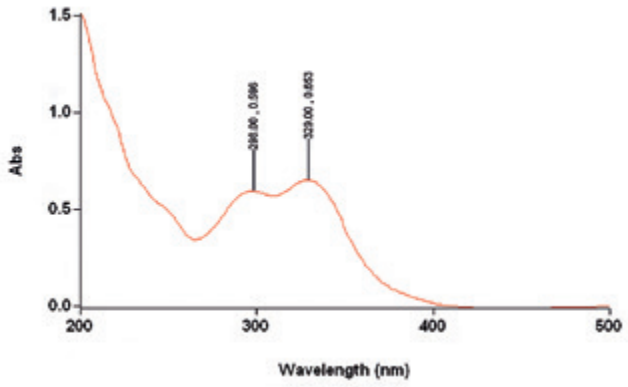

Рисунок 1. УФ-спектр поглощения извлечения 70% спиртом этиловым из сырья девясила липкого

При проведении ТСХ спиртоводного извлечения из листьев девясила липкого были получены данные, приведенные на рисунке 2.

На хроматограмме стандартных растворов видны зоны рутина с Rf около 0,58, кофейной кислоты с Rf около 0,75 и галловой кислоты с Rf около 0,76.

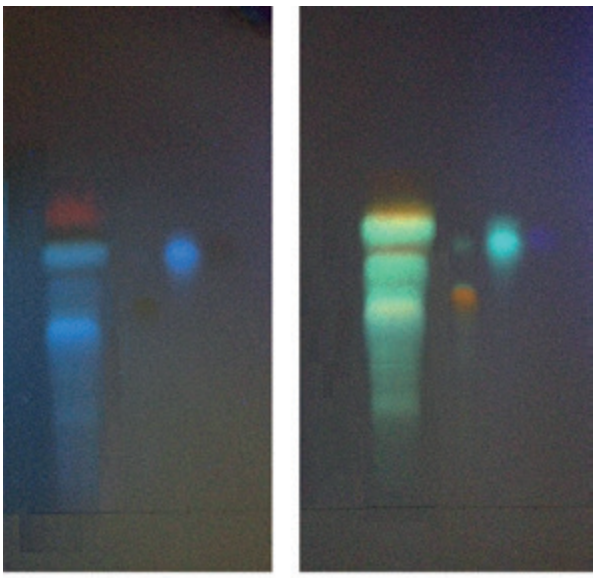

Рисунок 2. Результаты хроматографирования извлечения из листьев девясила липкого:

А – вид ТСХ в УФ-свете до обработки реактивами.

Б – вид ТСХ в УФ-свете 365 нм после опрыскивания реактивами

На хроматограмме испытуемого извлечения в УФ-свете при 365 нм обнаруживается ряд зон с голубой флуоресценцией (фенолкарбоновые кислоты), самые интенсивные из которых имеют Rf около 0,30 (эта растянутая зона относится к хлорогеновой кислоте), 0,52 и 0,76 (соответствует кофейной кислоте). Видны также зоны коричневатого цвета (сливаются с зонами голубого цвета), одна из которых на уровне пятна стандарта рутина, другая – чуть выше зоны стандарта галловой кислоты. Ближе к фронту подвижной фазы присутствует зона красного цвета, обусловленная хлорофиллом.

После опрыскивания хроматограммы метанольными растворами дифенилборилоксиэтиламина и полиэтиленгликоля-400 зоны, относящиеся к фенолкарбоновым кислотам, приобретали сине-зеленоватую флуоресценцию, зоны флавоноидов с Rf около 0,58, 0,68 и 0,77 – оранжевую, а пятно галловой кислоты – фиолетовую. Последнюю трудно различить на ТСХ испытуемого раствора из-за наложения на нее зон фенолкарбоновых кислот.

Таким образом, определение качественного состава БАС показало наличие фенольных веществ, среди которых превалируют фенолкарбоновые кислоты, в частности хлорогеновая и кофейная.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований нами были определены некоторые числовые показатели, характеризующие качество двух новых видов сырья (трава и листья) девясила липкого, произрастающего в Сирии. Установлены технологические параметры измельченных видов сырья, предназначенных для экстракции БАС. Определен качественный состав фенольных соединений в сырье, среди которых преобладают хлорогеновая и кофейная кислоты. Использование полученных данных позволит разработать проект нормативной документации на сырье девясила липкого и технологию получения экстракционных препаратов на его основе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея, XIII изд. Т. 1 / МЗ РФ. М., 2015. 1470 с. [Gosudarstvennaya farmakopeya, XIII izd. [State Pharmacopoeia, XIII ed.]. T. 1. M., 2015. 1470 p.].
2. *Мусса Р., Шинева Н. В., Суслина С. Н.* Фармакогностическая характеристика сырья и целевого фрагмента метаболома *Inula viscosa* // Пятая научно-практическая конференция с международным участием: «Молодые учёные и фармация XXI века» / Сб. науч. трудов, М., ВИЛАР, 2017 г. С. 93–99. [Mussa R., Shineva N. V., Suslina S. N. Farmakognosticheskaja harakteristika syr'ja i celevogo fragmenta metaboloma *Inula viscosa* // Pjataja nauchno-prakticheskaja konferencija s mezhdunarodnym uchastiem: «Molodye uchjonye i farmacija XXI veka» / Sb. nauch. trudov. [Pharmacognostic characteristics of raw materials and the target fragment of the metabolite *Inula viscosa* // The fifth scientific and practical conference with international participation: «Young Scientists and Pharmacy of the XXI Century» / Collection of scientific papers]. M., VILAR, 2017. P. 93–99.].
3. *Fontana G., La Rocca S., Passannanti S.* Sesquiterpene compounds from *Inula viscosa* // Natural Product Research. 2007. № 4. P. 124–127.
4. *Parolin P., Ion Scotta M., Bresch C.* Notes on the phenology of Dittrichia viscosa // Journal of Mediterranean Ecology. 2013. V. 12. P. 27–35
5. *Máñez S., Hernández V., Giner R. M.* Inhibition of pro-inflammatory enzymes by inuviscolide, a sesquiterpene lactone from *Inula viscosa* // Fitoterapia. 2007. № 78. P. 329–331.
6. *Brullo S., De Marco G.* Taxonomical revision of genus Dittrichia (Asteraceae) // Portugaliae Acta Biol. 2000. № 19. P. 341–354.
7. *Amin S., Kaloo Z. A., Singh S., Altaf T.* Medicinal importance of genus Inula- a review // Int. J. Cur. Res. Rev. 2013. № 5. P. 20–26.