

Сухой экстракт листьев лофанта анисового: получение и анализ фенольных соединений

Е.А. Юртаева², И.П. Ремезова¹, А.Г. Тырков³, С.А. Лужнова², О.И. Попова¹

¹Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ВолгГМУ;
Российская Федерация, 357532, Пятигорск, пр. Калинина, д. 11,

²Научно-исследовательский институт по изучению лепры;
Российская Федерация, 414057, Астрахань, пер. Н. Островского, д. 3,

³Астраханский государственный университет;
Российская Федерация, 414000, Астрахань, пл. Шаумяна, д. 1

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Лужнова Светлана Алексеевна – заведующая кафедрой микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала Волгоградского государственного медицинского университета, кандидат биологических наук, доцент. Тел.: +7 (903) 417-09-45. E-mail: s.luzhnova@yandex.ru

Юртаева Екатерина Алексеевна – преподаватель кафедры микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии, Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала Волгоградского государственного медицинского университета. Тел.: +7 (968) 262-01-82. E-mail: huitre_88@mail.ru

Тырков Алексей Георгиевич – декан химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Астраханский государственный университет», доктор химических наук, профессор. Тел.: +7 (909) 374-10-95. E-mail: tyrkov@rambler.ru

Ремезова Ирина Петровна – профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала Волгоградского государственного медицинского университета, доктор фармацевтических наук, доцент. Тел.: +7 (909) 762-05-52. E-mail: i.p.remezova@pmedpharm.ru

Попова Ольга Ивановна – профессор кафедры фармакогнозии с курсом ботаники Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала Волгоградского государственного медицинского университета, доктор фармацевтических наук, профессор. Тел.: +7 (906) 472-42-16. E-mail: beegeeslover@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Введение. Лофант анисовый (*Lophantus anisatum* Benth.) – растение, интродуцированное в Астраханской области. Растение содержит эфирное масло, флавоноиды, дубильные вещества, тритерпеновые кислоты, органические кислоты, аскорбиновую кислоту и является ценным сырьем для получения эффективных лекарственных средств.

Цель работы – разработка способа получения сухого экстракта листьев лофанта анисового с использованием сверхкритической флюидной экстракции и изучение химического состава его фенольных соединений.

Материал и методы. Листья лофанта анисового предоставлены экспериментальным хозяйством Всероссийского научно-исследовательского института орошаемого бахчеводства РАСХН. Экстракт из листьев лофанта получали методом сверхкритической флюидной экстракции. Состав фенольных соединений экстракта изучали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектропии (ВЭЖХ-МС).

Результаты. В сухом экстракте листьев лофанта анисового идентифицированы галловая кислота, кумарин, умбеллиферон, лютеолин, кверцетин, таксифолин, рутин. Основные из них – лютеолин (47,80%), рутин (2,57%), кверцетин (3,61%). Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин в экстракте составляет 58,45–60,90%. В экстракте содержится 0,85–0,87% дубильных веществ.

Заключение. Разработан оптимальный способ получения экстракта из листьев лофанта анисового с использованием сверхкритической флюидной экстракции. Изучен состав фенольных соединений в полученном экстракте.

Ключевые слова: лофант анисовый, *Lophantus anisatum* Benth., сверхкритическая флюидная экстракция, фенольные соединения.

Для цитирования: Юртаева Е.А., Ремезова И.П., Тырков А.Г., Лужнова С.А., Попова О.И. Сухой экстракт листьев лофанта анисового: получение и анализ фенольных соединений. Фармация, 2019; 68 (2): 28–32. <https://doi.org/10.29296/25419218-2019-02-05>

DRY LEAF EXTRACT OF *LOPHANTUS ANISATUM* BENTH: OBTAINING AND ANALYSIS OF PHENOLIC COMPOUNDS

E.A. Iurtaeva², I.P. Remezova¹, A.G. Tyrkov³, S.A. Luzhnova², O.I. Popova¹

¹Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute of Volgograd Medical State University of the Ministry of Health Care of Russia; 11, Kaninina Pr., Pyatigorsk 357532, Russian Federation,

²Leprosy Research Institute; 3, N. Ostrovskogo Ln., Astrakhan 414057, Russian Federation,

³Astrakhan state University; 1, Shaumiana Sq., Astrakhan 414000, Russian Federation

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Svetlana A. Luzhnova – head of the Department of Microbiology and Immunology with a course in biological chemistry, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor. *Tel.:* +7 (917) 197-14-67. *E-mail:* s.luzhnova@yandex.ru

Ekaterina A. Yurtaeva – lecturer at the Department of Microbiology and Immunology with a course in biological chemistry, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, a branch of Volgograd State Medical University. *Tel.:* +7 (917) 084-47-51. *E-mail:* huitre_88@mail.ru

Aleksej G. Tyrkov – dean of the Faculty of Chemistry of the Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Astrakhan State University», Doctor of Chemical Sciences, Professor. *Tel.:* +7 (909) 374-10-95. *E-mail:* tyrkov@rambler.ru

Irina P. Remezova – professor of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute - branch of Volgograd State Medical University, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor. *Tel.:* +7 (909) 762-05-52. *E-mail:* pharmacchemistry@mail.ru

Ol'ga I. Popova – professor of the Department of Pharmacognosy with a course in Botany, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, a branch of the Volgograd State Medical University, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor. *Tel.:* +7 (906) 472-42-16. *E-mail:* beegeeslover@mail.ru

SUMMARY

Introduction. *Lophantus anisatum* Benth. is a plant introduced by the Astrakhan region. The plant contains essential oil, flavonoids, tannins, triterpene acids, organic acids, ascorbic acid and is a valuable raw material for effective medicines.

Objective: development of a method for producing dry leaf extract of *Lophantus anisatum* using supercritical fluid extraction and studying the chemical composition of its phenolic compounds.

Materials and methods. The leaves of *Lophantus anisatum* are provided by the experimental farm of the State Russian Research Institute of Irrigated Melon-Growing of the Russian Academy of Agricultural Sciences. Leaf extract was obtained by supercritical fluid extraction. The composition of the phenolic compounds of the extract was studied by high performance liquid chromatography and mass spectroscopy (HPLC-MS).

Results. Gallic acid, coumarin, umbelliferone, luteolin, quercetin, taxifolin, rutin are identified in the dry extract of *Lophantus anisatum* leaves. The main ones are luteolin (47.80%), rutin (2.57%), quercetin (3.61%). The content of the total flavonoids in terms of luteolin in the extract leaves 58.45–60.90%. The extract contains 0,85–0,87% tannins.

Conclusion. An optimal method has been developed for the preparation of *Lophantus anisatum* leaf extract using supercritical fluid extraction and the composition of phenolic compounds in the resulting extract has been studied.

Key words: *Lophantus anisatum* Benth., supercritical fluid extraction, phenolic compounds.

For citation: Iurtaeva E.A., Remezova I.P., Tyrkov A.G., Luzhnova S.A., Popova O.I. Dry leaf extract of *Lophantus anisatum* Benth: obtaining and analysis of phenolic compounds. *Farmatsiya (Pharmacy)*, 2019; 68 (2): 28–32. <https://doi.org/10/29296/25419218-2019-02-05>

Введение

Лофант анисовый (*Lophantus anisatum* Benth.) – растение, интродуцированное в Астраханской области. В народной медицине его применяют как противовоспалительное и бактерицидное средство [1]. Настои и отвары лофанта анисового используются в народной медицине Тибета и Монголии как общеукрепляющее, противостудное, противоязвенное, а также как антигузивное средство [2]. Водные экстракты из листьев этого растения назначают при воспалительных процессах в желудочно-кишечном тракте, болезнях печени и мочевыводящих путей. Гель из листьев лофанта анисового оказывает антифунгальное действие [3]. Установлено, что в лофанте анисовом содержатся эфирное масло, флавоноиды, дубильные вещества, тритерпеновые кислоты, органические кислоты, аскорбиновая кислота [4, 5–10]. Таким образом, лофант анисовый является ценным сырьем для получения эффективных лекарственных средств.

Цель работы – разработка способа получения сухого экстракта листьев лофанта анисового с использованием сверхкритической флюидной экс-

тракции и изучение химического состава его фенольных соединений.

Материал и методы

Листья лофанта анисового предоставлены экспериментальным хозяйством Всероссийского научно-исследовательского института орошаемого бахчеводства РАСХН (г. Камызяк, Россия), которое интродуцировало это растение в Астраханской области. Сухое сырье получали в соответствии с правилами сбора и сушки лекарственных растений [11].

Получение экстракта из листьев осуществляли методом сверхкритической флюидной экстракции в экстракторе марки SFE-500 M1 с объемом экстрактора 200 мл.

Состав фенольных соединений экстракта изучали методом ВЭЖХ-МС (Agilent Technologies 1100 Series с гибридным квадрупольно-времяпролетным жидкостным хромато-масс-спектрометром ABSciex TripleTOF 4600) в режиме scan. Количественное определение фенольных соединений проводили на микроколоночном жидкостном хроматографе «Милихром А-02»



Таблица 1

Содержание суммы флавоноидов в сухом экстракте листьев лофанта

Table 1

Total content of flavonoids in *Lophanthus* dry leaf extract

Навеска сухого экстракта, г	Оптическая плотность испытуемого раствора	Содержание флавоноидов, %	Метрологические характеристики
0,0998	0,889	59,00	$\bar{x}=59,45\%$; $S^2=0,66$; $S=0,81$; $S_x=0,47$; $\Delta x=\pm 2,02$; $\Delta \bar{x}=\pm 1,17$; $\varepsilon=\pm 3,40\%$; $\bar{\varepsilon}=\pm 1,97\%$
0,1003	0,918	60,90	
0,1026	0,881	58,45	

Таблица 2

Содержание отдельных фенольных соединений в сухом экстракте листьев лофанта анисового (влажность 3,2%)

Table 2

Content of individual phenolic compounds in dry extract of *Lophanthus anisatum* leaves (moisture content 3,2%)

Вещество	Навеска, г		Площадь пика на хроматограмме		Метрологические характеристики
	СО	сухой экстракт	СО	сухой экстракт	
Кверцетин	0,0500	0,0998	138,564	9,377	$\bar{x}=3,61\%$; $S^2=0,003$; $S=0,06$; $S_x=0,03$; $\Delta x=\pm 0,15$; $\Delta \bar{x}=\pm 0,09$; $\varepsilon=\pm 4,05\%$; $\bar{\varepsilon}=\pm 2,49\%$
	0,0489	0,1003	132,276	9,578	
	0,0493	0,1026	135,479	10,011	
Лютеолин	0,0500	0,0998	9,402	8,534	$\bar{x}=47,80\%$; $S^2=0,25$; $S=0,50$; $S_x=0,29$; $\Delta x=\pm 1,24$; $\Delta \bar{x}=\pm 0,72$; $\varepsilon=\pm 2,59\%$; $\bar{\varepsilon}=\pm 1,50\%$
	0,0515	0,1003	9,632	8,814	
	0,0508	0,1026	9,567	8,956	
Рутин	0,0495	0,0998	50,125	2,426	$\bar{x}=2,57\%$; $S^2=0,003$; $S=0,05$; $S_x=0,03$; $\Delta x=\pm 0,14$; $\Delta \bar{x}=\pm 0,08$; $\varepsilon=\pm 5,26\%$; $\bar{\varepsilon}=\pm 3,15\%$
	0,0499	0,1003	51,327	2,651	
	0,0503	0,1026	53,244	2,718	
Кофейная кислота	0,0500	0,0998	115,492	1,117	$\bar{x}=0,49\%$; $S^2=0,0005$; $S=0,006$; $S_x=0,004$; $\Delta x=\pm 0,02$; $\Delta \bar{x}=\pm 0,01$; $\varepsilon=\pm 3,20\%$; $\bar{\varepsilon}=\pm 1,89\%$
	0,0505	0,1003	118,211	1,123	
	0,0497	0,1026	113,973	1,095	

с УФ-детектором («ЭкоНова», Россия). Для идентификации компонентов использовали стандартные образцы кверцетина, лютеолина, рутина и кофейной кислоты, согласно требованиям ВТУ 348-435-607 («Сигмабиосинтез»). Реактивы, используемые в работе, соответствовали требованиям ОФС 1.3.0001.15. Статистическая обработка результатов проводилась согласно указаниям ОФС 1.1.0013.15.

Результаты и обсуждение

Метод сверхкритической флюидной экстракции используется для получения как гидрофильных, так и гидрофобных веществ [12]. В ходе работы нами был получен сухой экстракт листьев лофанта анисового и определено содержание его основных фенольных соединений.

При изучении состава фенольных соединений экстракта листьев лофанта анисового масс-спектр показал достаточно выраженные молекулярные ионы галловой кислоты, кумарина, умбеллиферона, лютеолина, кверцетина, таксифолина, рутина, а также ионы различной интенсивности, характеризующие структуры этих веществ (см. рисунок).

Для количественного определения суммы флавоноидов в экстракте лофанта использовали дифференциальную спектрофотометрию по реакции комплексообразования флавоноидов с 5% раствором алюминия хлорида. Содержание суммы флавоноидов рассчитывали по лютеолину, так как максимум поглощения ком-

плекса извлечения флавоноидов из экстракта с раствором алюминия хлорида совпадал с таковым у лютеолина. Установлено, что в экстракте содержится 58,45–60,90% суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин (табл. 1).

Идентификацию состава фенольных соединений, а также количественное содержание отдельных компонентов в экстракте определяли с помощью ВЭЖХ. Детектирование стандартных образцов (СО) рутина, кверцетина, лютеолина и кофейной кислоты проводили при длинах волн 250, 254, 264, 320, 340 нм. В основном пики рутина, кверцетина, лютеолина, кофейной кислоты при детектировании имели наибольшую площадь в области длины волны 254 нм, что позволило выбрать ее в качестве аналитической при анализе этих веществ и извлечении их из экстракта.

Как свидетельствуют данные табл. 2 в экстракте лофанта содержится максимальное количество лютеолина (47,80±1,24%), а также значимое количество рутина (2,57±0,14%) и кверцетина (3,61±0,15%), наименьшее содержание фенольных соединений отмечено в кофейной кислоте (0,49±0,02%).

Для количественного определения суммы дубильных веществ в экстракте использовали классическую методику, рекомендованную Государственной фармакопеей РФ XIII издания – ГФ РФ XIII (метод 1), основанную на титровании извлечения из экстракта калия перманганатом (табл. 3). Определили, что в экстракте содержится 0,85–0,87% дубильных веществ.

С целью оптимизации способа получения сухого экстракта из листьев травы лофанта анисового исследовали зависимость выхода экстрак-

Таблица 3

Содержание дубильных веществ в сухом экстракте листьев лофанта анисового ($V_{\text{контр.оп.}}=0,1 \text{ мл}$)

Table 3

Content of tannins in dry extract of *Lophantus anisatum* leaves ($V_{\text{contr.vol.}}=0,1 \text{ ml}$)

Навеска сухого экстракта, г	Объем титранта, мл	Содержание дубильных веществ, %	Метрологические характеристики
0,1005	0,3	0,86	$\bar{x}=0,86\%$; $S^2=0,00004$; $S=0,006$; $S_x=0,004$; $\Delta x=\pm 0,02$; $\Delta \bar{x}=\pm 0,01$; $\epsilon=\pm 1,83\%$; $\bar{\epsilon}=\pm 1,16\%$
0,1007	0,3	0,85	
0,0986	0,3	0,87	

Таблица 4

Выход экстрактивных веществ из листьев лофанта анисового в зависимости от влияния различных факторов

Table 4

Yield of extractive substances from the *Lophantus anisatum* leaves, depending on the influence of various factors

Фактор	Значение	Выход экстрактивных веществ, % от сухого сырья	Содержание основных компонентов экстрактивных веществ, % от сухого сырья		
			лютеолин	кверцетин	рутин
Степень измельченности, мм	10	4,5	45,22	3,52	2,32
	7	4,8	45,17	3,55	2,36
	5	5,9	46,56	3,46	2,43
	3	6,0	47,80	3,61	2,57
	1	5,1	47,15	3,35	2,50
Продолжительность экстракции, мин	20	3,3	45,27	3,14	2,20
	30	4,2	45,05	3,25	2,16
	60	4,5	46,26	3,22	2,38
	120	6,0	47,80	3,61	2,57
	180	5,1	47,35	3,41	2,42
Величина давления, МПа	20	3,8	44,78	2,18	1,95
	30	4,1	45,85	2,45	2,15
	40	4,3	46,12	3,35	2,32
	55	6,0	47,80	3,61	2,57
	60	5,0	47,22	3,12	2,05
Температура, °С	32	4,5	44,95	2,05	1,88
	40	4,8	45,76	2,72	2,06
	45	5,2	46,12	3,15	2,38
	55	6,0	47,80	3,61	2,57
	60	5,7	46,55	3,37	2,23
Скорость потока диоксида углерода, мл/мин	10	5,5	46,12	3,22	1,77
	15	6,0	47,80	3,61	2,57
	20	5,8	46,56	3,28	2,29
	30	4,3	45,82	2,85	2,05

тивных веществ от степени измельченности листьев, продолжительности экстракции, величины давления, температуры, скорости потока CO₂ (табл. 4). Определяли основные действующие вещества, а именно, фенольные соединения. Согласно полученным данным, оптимальные режимы получения экстракта таковы: использование частиц размером 3–5 мм с последующей экстракцией в течение 120 мин при давлении 55 МПа, температуре 55°C и скорости потока диоксида углерода 15 мл/мин.

Заключение

Разработан оптимальный способ получения сухого экстракта из листьев лопанта анисового с использованием сверхкритической флюидной экстракции. Изучены фенольные соединения в экстракте, идентифицированы галловая кислота, кумарин, умбеллиферон, лютеолин, кверцетин, таксифолин, рутин. Из идентифицированных фенольных соединений основными являются лютеолин (47,80%), рутин (2,57%), кверцетин (3,61%) и кофейная кислота (0,49%). Установлено, что полученный сухой экстракт листьев лопанта анисового содержит 58,45–60,90% суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин и 0,85–0,87% дубильных веществ.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Литература

1. Фурсов Н.В., Фурсов В.Н., Фурсов В.В., Соколова Г.Ф., Великородов А.В., Тырков А.Г., Ионова Л.П. Новое растение для Астрахани и России - лопант анисовый. Астрахань: 2009; 124.
2. Либусь О.К., Работягов В.Д., Кутько С.П., Хлыпенко Л.А. Эфирномасличные и пряноароматические растения. Фито- и ароматерапия. Херсон: 2004; 139–43.
3. Великородов А.В., Ковалев В.Б., Тырков А.Г., Дегтярев О.В. Изучение химического состава и противогрибковой активности эфирного масла *Lophanthus anisatum* Benth. Химия растительного сырья. 2010; 2: 143–6.
4. Чумакова В.В., Попова О.И. Изучение фенольных соединений травы лопанта анисового. Фармация. 2011; 3: 20–2.
5. Воронкова О.С., Писарев Д.И., Новиков О.О. и др. Изучение флавоноидного состава травы лопанта анисового. Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация. 2011; 4(99): 186–91.

6. Чумакова В.В., Попова О.И., Дмитриев А.Б., Мезенова Т.Д. Тритерпеновые кислоты в траве лопанта анисового. Фармация, 2013; 4: 39–44.

7. Tyrkov A., Samotrueva M., Yurtaeva E. The flavonoids of *Lophanthus anisatus*. XV-th Conference on Heterocycles in Bioorganic Chemistry; 2013 май 27–30; Рига, Латвия: ИХР РАН; 2013: 199.

8. Великородов А.В., Тырков А.Г., Абделаал Х.А.А., Фурсов В.И. Выделение эфирного масла из лопанта анисового и изучение его химического состава. Вестник Алтайского государственного аграрного университета, 2009; 85(10): 66–71.

9. Могилюк В., Добровольный А. Сверхкритическая флюидная экстракция растительного сырья: перспективная технологическая платформа для фармацевтической промышленности. Фармацевтическая отрасль, 2015; 48. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://promoboz.com/uploads/articles/185.pdf>

References

1. Fursov N.V., Fursov V.N., Fursov V.V. et al. A new plant for Astrakhan and Russia – anise lofant. Astrakhan': 2009; 124 (in Russian).
2. Libus' O.K., Rabotjagov V.D., Kut'ko S.P., Khlypenko L.A. Essential oil and spicy aromatic plants. Herbal and aromatherapy. Kherson: 2004; 139–43 (in Russian).
3. Velikorodov A.V., Kovalev V.B., Tyrkov A.G., Degtjarev O.V. The study of the chemical composition and antifungal activity of the essential oil *Lophanthus anisatum* Benth. Khimiya rastitel'nogo syr'ya. 2010; 2: 143–6 (in Russian).
4. Chumakova V.V., Popova O.I. Study of phenolic compounds of anise-lofant herb. Farmatsiya. 2011; 3: 20–2 (in Russian).
5. Voronkova O.S., Pisarev D.I., Novikov O.O. et al. The study of the flavonoid composition of anise lofant herb. Nauchnye vedomosti Bel GU. Seriya: Meditsina. Farmatsiya. 2011; 4 (99): 186–91 (in Russian).
6. Chumakova V.V., Popova O.I., Dmitriev A.B., Mezenova T.D. Triterpenic acids in the grass of anise lofanta. Farmatsiya, 2013; 4: 39–44 (in Russian).
7. Tyrkov A., Samotrueva M., Yurtaeva E. The flavonoids of *Lophanthus anisatus*. XV-th Conference on Heterocycles in Bioorganic Chemistry; 2013 may 27–30; Riga, Латвия: IkhR RAN; 2013: 199 (in Russian).
8. Velikorodov A.V., Tyrkov A.G., Abdelaal H.A.A., Fursov V.I. Isolation of an essential oil from an anise lofant and study of its chemical composition. Vestnik Altajskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta, 2009; 85(10): 66–71 (in Russian).
9. Mogiljuk V., Dobrovol'nyj A. Supercritical fluid extraction of vegetable raw materials: a promising technological platform for the pharmaceutical industry. Farmatsevticheskaya otrasl', 2015; 48. [Electronic resource]. Access mode: <http://promoboz.com/uploads/articles/185> (in Russian).

Поступила 28 июня 2018 г.

Received 28 June 2018

Принята к публикации 28 июня 2018 г.

Accepted 28 June 2018