

ФИТОХИМИЧЕСКИЙ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НАСТОЕВ ЛИСТЬЕВ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ РОДА *PLANTAGO L.*

Соснина С. А., Левинова В. Ф., Одегова Т. Ф., Бояршинов В. Д., Шаров А. В.

ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, Пермь, Россия (614990, Пермь, ул. Полевая; e-mail: lyf-dem2@yandex.ru)

Проведен фитохимический и микробиологический анализ настоев листьев различных видов рода подорожник (*Plantago L.*): подорожника большого (*Plantago major L.*), подорожника среднего (*Plantago media L.*), подорожника ланцетного (*Plantago lanceolata L.*). В настоях листьев определено содержание суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид, которое составило от 0,024 до 0,055 %, суммы окисляемых (дубильных) веществ – 0,17–1,00 %, сухого остатка – 2,21–4,62 %. Существенных различий в содержании определяемых веществ и сухого остатка между настоями листьев трех видов рода *Plantago L.* не выявлено. Показатели содержания суммы флавоноидов и суммы окисляемых веществ являются универсальными для сквозной стандартизации: лекарственное растительное сырье – настои. Содержание суммы окисляемых веществ в настоях коррелирует с содержанием сухого остатка. Настои листьев подорожника большого и ланцетного показали бактерицидное и бактериостатическое действие к *Staphylococcus aureus* в разведении 1/2–1/8 и не показали активности в отношении *Escherichia coli* и *Candida albicans*. Настой подорожника среднего не показал активности в отношении тест-штаммов *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Candida albicans* в условиях эксперимента.

Ключевые слова: фитохимический анализ, подорожника большого листья, подорожник средний, подорожник ланцетный, настои, флавоноиды, полисахариды, окисляемые (дубильные) вещества, антимикробное действие.

PHYTOCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF INFUSIONS OF *PLANTAGO SP.*

Sosnina S. A., Levinova V. F., Odegova T. F., Boyarshinov V. D., Sharov A. V.

Perm State Pharmaceutical Academy

Phytochemical and microbiological analysis of infusions of *Plantago sp.* (*Plantago major L.*, *Plantago media L.*, *Plantago lanceolata L.*) leaves was carried out. Flavonoid maintenance by cinnarozide (0.024-0.055%), oxidizable (tannic) compounds sum (0.17-1.00%), solid residue (2,21-4,62%) were determined in leaf infusions; significant differences between maintenance of assignable compounds and solid residue among distinct *Plantago sp.* were not detected. Flavonoid maintenance and oxidizable compounds sum indexes are universal for open-ended standartization: medicinal plant raw material – infusions. Oxidizable compounds sum correlates with solid residue in infusions. *Plantago major* and *P. lanceolata* leaf infusions (1/2-1/8 diluted) showed bactericidal and bacteriostatic activity to *Staphylococcus aureus* and didn't exhibit action to *Escherichia coli* and *Candida albicans*. *P. media* leaf infusion didn't display force to *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* test-strains in the experiment.

Key words: phytochemical analysis, leaves of *Plantago maior*, *Plantago media*, *Plantago lanceolata*, infusions, flavonoids, polysaccharides, oxidizable (tannic) compounds, antimicrobial activity.

Листья подорожника большого (*Folia Plantaginis majoris*) – официальное лекарственное растительное сырье, используемое как лекарственное средство отхаркивающего действия в виде настоя [1]. Достоинствами настоев является индивидуальность назначения и лечения для каждого конкретного пациента. Сорокиной С. А. с соавторами при разработке Проекта фармакопейной статьи «Настои» для Государственной Фармакопеи (ГФ) XII издания предложено проведение качественного и количественного анализа настоев [7], что соответствует международным требованиям стандартизации и является гарантией эффективности и безопасности применения.

Сотрудниками ПГФА было проведено фармакогностическое исследование листьев подорожника большого и фитопрепаратов, разработан Проект фармакопейной статьи для Государственной Фармакопеи (ГФ) XII издания, показано, что листья подорожника среднего (*Plantago media L.*) и подорожника ланцетного (*Plantago lanceolata L.*) по качественному и количественному содержанию флавоноидов и полисахаридов близки к официальному сырью [8, 9, 10]. Флавоноиды как группа биологически активных веществ обладают слабым антимикробным действием, полисахариды усиливают это действие [3], и в то же время полисахариды могут быть объектом микробной контаминации, что необходимо учитывать при лечении заболеваний верхних дыхательных путей. Флавоноиды и полисахариды составляют водорастворимую фракцию суммы биологически активных веществ листьев подорожника, поэтому количественная оценка их содержания и изучение антимикробной активности настоев этих растений является актуальным.

Целью данной работы является фитохимический и микробиологический анализ настоев листьев подорожника большого и оценка возможности использования листьев подорожника среднего и подорожника ланцетного наравне с лекарственным сырьем подорожника большого для изготовления настоев.

Материал и методы. Объекты исследования – настои, которые готовили в соотношении 1:10 по методике статьи «Настои» проекта ГФ XII издания [7] из листьев подорожника большого, подорожника среднего и подорожника ланцетного, заготовленных в Пермском крае согласно «Инструкции по заготовке...» [6].

В настоях определили присутствие полисахаридов и флавоноидов качественными реакциями [2], органолептические показатели и рН (по универсальной индикаторной бумаге), содержание окисляемых (дубильных) веществ, сухого остатка и одной из основных групп биологически активных веществ – суммы флавоноидов [7].

Анализ исходного сырья для приготовления настоев проводили по содержанию полисахаридов гравиметрическим методом [1] по модифицированной методике [10]; суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид – методом дифференциальной спектрофотометрии, используя реакцию комплексообразования с алюминия хлоридом, на СФ-2000 при длине волны 385 нм [8, 10]; суммы окисляемых (дубильных) веществ – по методике ГФ XI издания [1].

В качестве биологических тестов использовали 24-часовые культуры *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, а также 48-часовую культуру *Candida albicans*; в качестве среды – мясопептонный бульон и жидкую среду Сабуро для *Candida albicans*. Концентрация культуры при определении антимикробной активности составила 10^4 микробных клеток. Исследование проводили методом серийных разведений. Контроль за размножением

бактерий осуществляли визуально и посевом на плотные питательные среды *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* через 24 ч, а *Candida albicans* через 48 ч. Бактериостатическое и бактерицидное действие оценивали по минимальной подавляющей концентрации и росту микроорганизмов на плотных питательных средах [2].

Результаты исследования и обсуждение

Исходные образцы листьев подорожника большого, используемые для получения настоя, соответствовали требованиям ГФ XI издания, вып.2 [2]. Показатели содержания флавоноидов в образцах официального сырья и в листьях подорожника среднего и подорожника ланцетного близки между собой, что согласуется с ранее проведенными исследованиями [8, 10]. Результаты анализа исходных образцов листьев трех видов рода *Plantago L.* представлены в табл. 1.

Таблица 1

Содержание биологически активных веществ в листьях различных видов рода *Plantago L.*

Наименование показателей	Номер образца	Подорожник большой	Подорожник средний	Подорожник ланцетный
Содержание флавоноидов в пересчете на цинарозид, %	1	0,85±0,03	0,84±0,01	1,07±0,02
	2	0,70±0,03	0,58±0,02	0,54±0,02
	3	1,02±0,01	1,12±0,03	0,85±0,03
Содержание суммы окисляемых (дубильных) веществ, %	1	4,23±0,04	6,41±0,09	18,29±0,07
	2	3,80±0,10	5,15±0,07	13,21±0,05
	3	5,95±0,04	9,16±0,04	14,41±0,07
Содержание полисахаридов, %	1	15,24±0,20	15,95±0,61	9,41±0,40
	2	15,12±0,65	16,68±0,76	8,72±0,30
	3	14,25±0,65	14,67±0,71	10,42±0,18

Настои из листьев подорожника большого и подорожника среднего – это жидкости коричневого цвета, подорожника ланцетного – темно-коричневого цвета; все настои горьковатого вкуса с неспецифическим запахом, рН настоев при комнатной температуре равен 6,0.

Качественными реакциями в настоях листьев подорожника трех видов подтверждено присутствие полисахаридов – осаждением 95 %-ным этиловым спиртом; флавоноидов – реакциями окрашивания с 2 %-ным раствором алюминия хлорида в этиловом спирте, с 10 %-ным раствором натрия гидроксида, с 0,5 %-ным раствором железа окисного хлорида в этиловом спирте, цианидиновой пробой [1].

Для анализа настоев была адаптирована методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид в исходном сырье – листьях подорожника большого [10]. Подобраны объем аликвоты настоя, объем разведения, концентрация

этилового спирта, соотношение извлечения и раствора алюминия хлорида, время образования устойчивого комплекса. Затруднения в ходе анализа вызывали осаждение полисахаридов и сорбирование ими флавоноидов, что потребовало постепенного увеличения концентрации этилового спирта и использования 10 %-ного раствора алюминия хлорида для образования устойчивого комплекса.

Методика определения флавоноидов в настое листьев подорожника большого: 5 мл настоя листьев подорожника большого помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили до метки 70 %-ным этиловым спиртом; полученный раствор фильтровали через бумажный складчатый фильтр в колбу вместимостью 25 мл, фильтр промывали, доводили до метки 70 %-ным этиловым спиртом (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 5 мл раствора А и 5 мл 10 %-ного раствора алюминия хлорида, затем добавляли 10 мл 95 %-ного этилового спирта и доводили до метки водой очищенной. Через 40 мин измеряли оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 385 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В колбу вместимостью 25 мл для приготовления раствора сравнения добавляли 5 мл раствора А, 10 мл этилового спирта 95 %-ного, и доводили водой очищенной до метки.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид в % (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 25 \cdot 25}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot 5 \cdot 5}, \text{ где}$$

A – оптическая плотность испытуемого раствора; $A_{1\text{см}}^{1\%} = 361$ – удельный показатель поглощения комплекса цинарозида с алюминия хлоридом при 385 нм.

Методика была использована и для определения флавоноидов в настоях из листьев подорожника среднего и подорожника ланцетного. Результаты определений приведены в табл. 2.

Таблица 2

Показатели качества настоев из листьев различных видов рода *Plantago L.*

Наименование показателей	Номер образца	Подорожник большой	Подорожник средний	Подорожник ланцетный
Содержание флавоноидов в пересчете на цинарозид, %	1	0,034±0,000	0,053±0,001	0,048±0,001
	2	0,024±0,000	0,025±0,003	0,030±0,001
	3	0,043±0,001	0,055±0,001	0,042±0,001
Содержание суммы окисляемых (дубильных) веществ, %	1	0,26±0,00	0,40±0,00	1,00±0,00
	2	0,17±0,00	0,23±0,00	0,77±0,00
	3	0,27±0,00	0,76±0,00	0,80±0,00
	1	2,96±0,05	3,28±0,06	4,25±0,01

Подорожник ланцетный	1/2	- / +	- / +	+ / +	+ / +	+ / +	+ / +
	1/4	- / +	- / +	+ / +	+ / +	+ / +	+ / +
	1/8	- / +	- / +	+ / +	+ / +	+ / +	+ / +

Примечание: «-» задержка роста, «+» наличие роста; б/ст – бактериостатический эффект, б/ц – бактерицидный эффект.

Выводы

1. Фитохимический анализ показал: содержание в настое листьев подорожника большого флавоноидов в пересчете на цинарозид составляет 0,024-0,043 %, суммы окисляемых веществ – 0,17–0,27 %, сухого остатка – 2,21–3,17 %; в настое листьев подорожника среднего – 0,025–0,055 %, 0,23–0,76 %, 3,21–3,35 % и в настое листьев подорожника ланцетного – 0,030–0,048 %, 0,77–1,00 %, 3,31–4,62 % соответственно. Существенных различий между содержанием флавоноидов, суммы окисляемых веществ и сухого остатка в настоях различных видов *Plantago L.* не выявлено.
2. Методики, рекомендованные в статье «Настои» проекта ГФ XII издания для определения суммы окисляемых веществ и сухого остатка, а также адаптированная нами методика определения флавоноидов в настоях листьев различных видов рода *Plantago L.* хорошо воспроизводимы. Между содержанием флавоноидов в листьях различных видов *Plantago L.* и содержанием их в настоях установлена прямая корреляционная зависимость; аналогично между содержанием суммы окисляемых веществ в соответствующих видах исходного сырья и настоях. Содержание суммы окисляемых веществ в настоях коррелирует с содержанием сухого остатка, что подтверждает объективность анализа.
3. Проведен микробиологический анализ настоев листьев различных видов рода *Plantago L.*. Настои листьев подорожника большого и подорожника ланцетного показали бактерицидное и бактериостатическое действие к *Staphylococcus aureus* в разведении 1/2-1/8.
4. Настои листьев различных видов *Plantago L.* по химическому составу и микробиологическому действию близки между собой и перспективны для дальнейшего изучения с целью введения в медицинскую практику.

Список литературы

1. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа. / МЗ СССР. – 11-е изд. – М.: Медицина, 1987. – 334 с.; Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.
2. XII государственная Фармакопея Российской Федерации: Часть I. – М.: Медицина, 2007. – 684 с.

3. Георгиевский В. П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В. П. Георгиевский, Н. Ф. Комисаренко, С. Е. Дмитрук. – Новосибирск: Наука, 1990. – 333 с.
4. Одегова Т. Ф. Изучение антимикробной активности настоев и отваров из лекарственного растительного сырья / Т. Ф. Одегова, С. В. Байшева, В. Ф. Левинова // Достижения современной фармацевтической науки и образования практическому здравоохранению. – Пермь: ПГФА, 1997. – С.227.
5. Олейников Д. Н. Подорожник большой (*Plantago major* L.). Химический состав и применение / Д. Н. Олейников, А. В. Samuelsen, Л. М. Танхаева // Химия растительного сырья. – 2007. – №2. – 37-50.
6. Правила сбора и сушки лекарственных растений (сборник инструкций). – М: Медицина, 1985. – 328 с.
7. Сорокина С. А. Разработка проекта общей фармакопейной статьи «Настои» / С. А. Сорокина, И. П. Рудакова, И. А. Самылина // Фармация. – 2010. – № 4. – С. 3-6.
8. Соснина С. А. Сравнительное фармакогностическое изучение, стандартизация сырья и фитопрепаратов видов рода *Plantago* L.: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. – Пермь, 2009. – 26 с.
9. Соснина С. А. Количественное определение полисахаридов в листьях подорожника большого, подорожника среднего и подорожника ланцетного / С. А. Соснина, Г. И. Олешко, В. Ф. Левинова, Л. Г. Печерская // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. – 2007. – № 2. – С. 285-288.
10. Соснина С. А. Виды подорожника: содержание действующих веществ / С. А. Соснина, Г. И. Олешко, Л. Г. Печерская, В. Ф. Левинова // Фармация. – 2008. – № 8. – С. 21-24.

Рецензенты:

Алексеева Ирина Владимировна, доктор фармацевтических наук, проректор по учебно-воспитательной работе, профессор кафедры фармацевтической технологии ГБОУ ВПО «Пермской государственной фармацевтической академии» Минздрава России, г. Пермь.

Хомов Юрий Александрович, доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической химии факультета дополнительного профессионального образования и факультета заочного обучения ГБОУ ВПО «Пермской государственной фармацевтической академии» Минздрава России, г. Пермь.