

УДК 633.88:615.07

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2022.59.69.001>

## ПОДХОДЫ К СТАНДАРТИЗАЦИИ ТРАВЫ ТОПИНАМБУРА

**О.Л. Сайбель**, канд. фарм. наук, руководитель Центра химии и фармацевтической технологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва, [olster@mail.ru](mailto:olster@mail.ru)

**Е.А. Коняева**, старший научный сотрудник отдела химии природных соединений ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва, [lepcon64@mail.ru](mailto:lepcon64@mail.ru)

**А.И. Радимич**, старший научный сотрудник отдела химии природных соединений ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва, [vilarnii.radimich@mail.ru](mailto:vilarnii.radimich@mail.ru)

**Т.Д. Даргаева**, доктор фарм. наук, профессор, главный научный сотрудник отдела химии природных соединений ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва, [dargaeva\\_td@mail.ru](mailto:dargaeva_td@mail.ru)

Приведены результаты изучения нового вида лекарственного растительного сырья – топинамбура травы, предложенной в качестве сырья для производства лекарственных средств. Установлены критерии подлинности (морфологические и анатомо-диагностические признаки, тонкослойная хроматография) и показатели качества (номенклатура числовых показателей) данного вида сырья. Разработана методика количественного определения содержания действующих веществ. Предложенные критерии качества включены в проект фармакопейной статьи.

**Ключевые слова:** топинамбур, трава, фенольные соединения, хлорогеновая кислота

В настоящее время разработка новых лекарственных средств остается одним из приоритетных направлений государственной политики в области лекарственного обеспечения Российской Федерации. Среди источников получения фармацевтических субстанций особое место занимает лекарственное

растительное сырье. Являясь веществом природного происхождения, вторичные метаболиты растений обладают выраженной фармакологической активностью при минимальном проявлении побочных реакций, что позволяет разрабатывать на их основе эффективные и безопасные препараты.

Создание нового лекарственного средства представляет собой многоэтапный последовательный процесс, включающий теоретическое обоснование выбора объекта исследования, изучение химического состава растительного сырья, биологический скрининг, разработку рациональных технологий получения субстанции, оценку ее эффективности и безопасности, а также решение вопросов стандартизации от сырья до препарата.

В качестве сырья для получения лекарственных средств используют различные части растений дикорастущих и культивируемых видов. Вместе с тем с позиции рационального природопользования особого внимания заслуживает возможность использования вторичного сырья пищевых растений.

Перспективным в этом отношении объектом является топинамбур (подсолнечник клубненосный, земляная груша) – *Helianthus tuberosus* L. – однолетнее (по некоторым данным, многолетнее) травянистое клубненосное растение семейства астровые (Asteraceae). Данное растение достигает высоты 1–5 м, характеризуется прямым олиственным, густо опушенным стеблем, яйцевидными листьями и желтыми соцветиями – корзинками.

Среди растений рода *Helianthus*, насчитывающего более ста видов, только два имеют производственное значение: подсолнечник (*H. annuus* L.) и топинамбур (*H. tuberosus* L.).

Родина топинамбура – Северная Америка. В России данная культура выращивается с XIX века, со временем она распространилась от северо-запада европейской части до Сахалина. В настоящее время топинамбур культивируется в промышленных масштабах в южных районах страны для получения клубней и в центральных, северо-западных нечерноземных зонах – для получения надземной части; активно выращивается на личных приусадебных участках [8,9].

Широкая распространенность топинамбура обусловлена возможностью его использования в качестве кормовой, пищевой и технической культуры [9,11].

Основным сырьем топинамбура являются клубни, которые используются в животноводстве в виде кормовых добавок, в пищевой промышленности – как пищевые добавки к хлебобулочным, кондитерским, молочным и другим продуктам; наряду с этим могут служить сырьем для получения биотоплива [10]. Лечебно-профилактические средства на основе инулина топинамбура в виде различных биологически активных добавок рекомендуются к использованию для больных сахарным диабетом [4], а также рассматриваются в качестве средств, увеличивающих рост лакто- и бифидобактерий [2,3], субстанций гипогликемического [12], гепатопротек-

торного [1,5], иммуностимулирующего [7] действия.

При выращивании клубней трава топинамбура, имеющая значительную биомассу, является отходом производства и, как правило, утилизируется. Однако данные литературы и результаты наших исследований показали, что надземная часть этого растения содержит комплекс биологически активных веществ фенольного характера, представленный гидроксикоричными кислотами и флавоноидами. Данное обстоятельство определяет актуальность оценки возможности использования вторичного сырья (травы) топинамбура для получения фармацевтических субстанций.

В соответствии с требованиями Государственной фармакопеи РФ XIV издания качество лекарственного растительного сырья оценивается по следующим показателям: подлинность (внешние признаки, микроскопические признаки), определение основных групп биологически активных веществ (качественные реакции, тонкослойная хроматография, УФ-спектр), номенклатура показателей качества, количественное определение [6].

В связи с этим **целью** настоящей работы являлось установление критериев подлинности и показателей, позволяющих осуществлять контроль качества травы топинамбура.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служила высушенная трава топинамбура, заготовленная с 2018-го по 2021 год в Московской (Чеховский и Пушкинский районы) и Тверской (п. Сахарово) областях в фазу конца вегетации перед уборкой клубней.

Морфолого-анатомическое исследование проводили согласно общим фармакопейным статьям Государственной фармакопеи РФ XIV издания: ОФС.1.5.1.0002.15 «Травы»,

ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов». Микропрепараты изучали с помощью биологического микроскопа «Альтами БИО 2 LED» (Россия).

Подтверждение наличия хлорогеновой кислоты в сырье проводили методом хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ) на пластинках Kieselgel 60 (Merk, Германия) в системе растворителей «*n*-бутанол, насыщенный водой – муравьиная кислота» (100:1).

*Приготовление подвижной фазы:* 100 мл *n*-бутанола помещали в делительную воронку вместимостью 250 мл, добавляли 50 мл воды очищенной и встряхивали в течение 5 мин. Делительную воронку оставляли на 30 мин. до полного разделения фаз, затем нижний слой (водный) сливали, а в верхний (*n*-бутанольный) добавляли 1 мл муравьиной кислоты, перемешивали (срок годности системы – 30 суток).

*Приготовление раствора стандартного образца (СО) хлорогеновой кислоты (CAS №327-97-9) для ТСХ:* около 0,025 г СО хлорогеновой кислоты помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в спирте этиловом 70% и доводили до метки этим же растворителем (срок годности раствора – 14 суток).

Количественное определение суммы фенольных соединений в сырье осуществляли методом прямой спектрофотометрии по разработанной и валидированной нами методике.

*Приготовление раствора СО хлорогеновой кислоты (CAS № 327-97-9) для количественного определения:* около 0,0200 г (точная навеска) СО хлорогеновой кислоты помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл и растворяли в 40 мл спирта этилового 70%, объем раствора доводили тем же растворителем до метки, перемешивали. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещали 1 мл полученного раствора

и доводили его объем до метки спиртом этиловым 70%, перемешивали. Раствор использовали свежеприготовленным.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При макроскопическом исследовании опытных партий сырья выявлены морфологические признаки травы топинамбура. Установлено, что сырье представляет собой верхние части олиственных стеблей длиной до 50 см или их куски с листьями и цветками, отдельные листья, стебли, цветки. Стебли прямые, в верхней части ветвистые, округлые, продольно-бороздчатые, шершавые от коротких волосков. Листья супротивные, верхние очередные, черешковые, крупно пильчато-зубчатые, сердцевидно-яйцевидные, удлинено-яйцевидные или ланцетные, с тремя продольными жилками, с обеих сторон шершаво-коротковолосистые. Корзинки относительно мелкие, 2–5 см в диаметре (иногда больше); обертка двухрядная, листочки обертки ланцетные с отогнутой верхушкой, шероховатые или коротковолосистые; прицветники пленчатые трехзубчатые, на верхушке волосистые; краевые цветки язычковые, срединные – трубчатые обоюполюе. Цвет стеблей светло-зеленый, иногда с фиолетовым и черным оттенком; листьев с верхней стороны зеленый, с нижней – более светлый; листочков обертки зеленый; цветков желтый.

При микроскопическом изучении выявлены анатомические признаки травы топинамбура. При рассмотрении листа с поверхности (рис. 1, фрагменты 1–8) видны клетки верхнего эпидермиса со слабоизвилистыми и извилистыми стенками, нижнего – с извилистыми и сильноизвилистыми стенками, стенки клеток имеют четковидные утолщения, кутикула продольно-складчатая; клетки у верхушки и основания листа вытянуты и имеют более прямые стенки. Устьица с обеих сторон листа,

овально-округлые, окружены 3–6 клетками эпидермиса (аномоцитный тип). По всей поверхности листа простые многоклеточные гусеницеобразные тонкостенные волоски, часто обломанные, простые 1–3 (5) – клеточные волоски с тонкими стенками и заостренной конечной клеткой, особенно много вдоль жилок. По краю и жилкам листа расположены простые 1–3-клеточные толстостенные остроконусовидные волоски с бородавчатой поверхностью, у места их прикрепления клетки эпидермиса нередко образуют розетку; волоски часто обламываются, оставляя обломки оснований (с местами их прикрепления) или большие места прикрепления (особенно на крупных жилках). У оснований таких волосков лежат несколько клеток эпидермиса, слегка приподнимающихся над поверхностью листа. Волоски по краю листа и жилкам слегка прижаты к поверхности. На обеих сторонах листа встречаются эфирномасличные железки, состоящие из 8 (реже 6) выделительных клеток, расположенных в 2 ряда и 4 (реже 3) яруса, нередко деформированные. Вдоль жилок проходят секреторные ходы с красновато-коричневым содержимым.

Клетки эпидермиса стебля (рис. 1, фрагмент 9) вытянутые по его длине, с прямыми четковидноутолщенными стенками и продольно-складчатой кутикулой, редко встречаются устьица аномоцитного типа. Волоски такие же, как на листе. Для стебля также характерны крупные простые многоклеточные волоски с сильноутолщенными стенками и очень большим основанием, чаще обломанные; после их опадения на поверхности остаются места прикрепления, нередко полуразрушенные и разрушенные.

Структура наружного листочка обертки (рис. 1, фрагменты 10а, 10б) похожа на таковую листа. Волоски такие же, как на листе (простые гусеницеобразные и 1–3-клеточные толстостенные остроконусовидные с бородавчатой поверхностью). По краю густо расположены

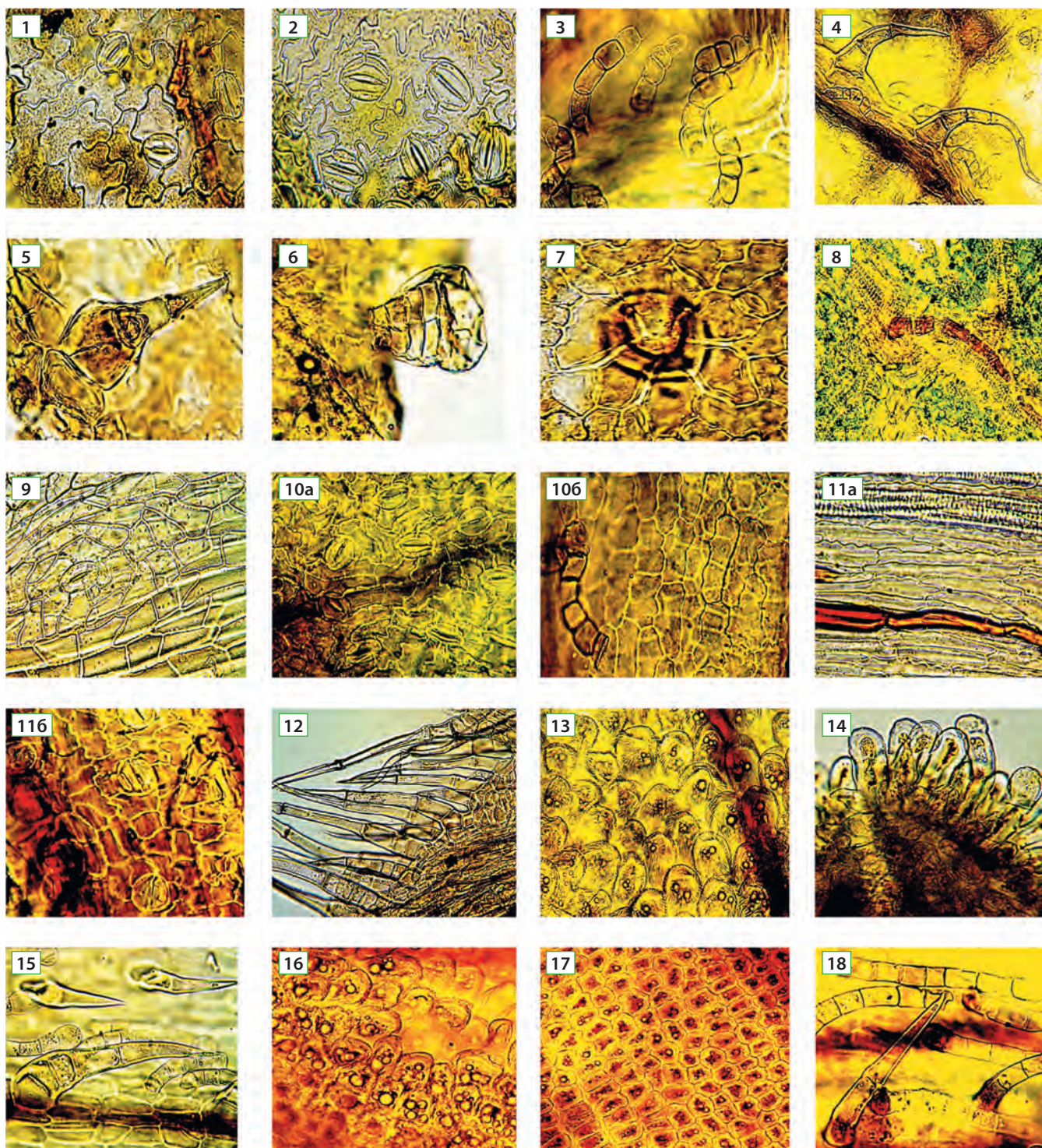
простые многоклеточные бородавчатые волоски, часто обломанные.

При рассмотрении прицветника (рис. 1, фрагменты 11а, 11б, 12) с внутренней и наружной стороны видны клетки эпидермиса, стенки которых от основания до его верхушки изменяются от прямых до извилистых, с внутренней – клетки длинные вытянутые. Устьица аномоцитного типа встречаются с наружной стороны прицветника и сосредоточены главным образом в верхней его части. От основания к верхушке проходят секреторные ходы с красновато-коричневым содержимым. Простые многоклеточные волоски с заостренной конечной клеткой и гусеницеобразные волоски расположены на верхушке прицветника, а также по центральной (более толстой) его части с наружной стороны.

Эпидермис внутренней стороны трубчатого цветка (рис. 1, фрагменты 13–15) состоит из вытянутых клеток, стенки которых у основания почти прямые, от середины и до верхушки извилистые, у самой верхушки клетки образуют сосочковидные выросты; с наружной стороны стенки клеток более прямые, сосочковидные выросты наблюдаются только по краю верхушки, встречаются устьица аномоцитного типа; кутикула продольно-складчатая. Волоски и железки такие же, как на листе, наибольшее скопление волосков наблюдается у основания и ближе к верхушке трубчатого цветка. Вдоль жилок проходят секреторные ходы с красновато-коричневым содержимым. Пыльца округлая и округло-трех-, четырехгранная, шиповатая, трех- и четырехпоровая.

При рассмотрении язычковых цветков с поверхности (рис. 1, фрагменты 16–18) видны с внутренней стороны сосочковидные выросты (особенно у верхушки лепестка), у основания клетки со слабоизвилистыми стенками, часто сосочковидные выросты содержат капли масла желтого цвета. С наружной стороны лепестка клетки вытянуты по длине, стенки их изменяются от основания к его верхушке





**РИС. 1.** Диагностические признаки анатомического строения травы топинамбура:

1 – верхний эпидермис листа (400х), 2 – нижний эпидермис листа (400х), 3 – гусеницеобразные волоски (400х), 4 – простые волоски с тонкими стенками и заостренной конечной клеткой (200х), 5 – простые толстостенные остроконусовидные волоски (400х), 6 – эфирномасляная железа (400х), 7 – розетка (400х), 8 – секреторные ходы (400х), 9 – эпидермис стебля (400х), 10 – эпидермис наружного листочка обертки (400х): а – наружная сторона, б – внутренняя сторона, 11 – эпидермис прицветника (400х): а – внутренняя сторона, б – наружная сторона, 12 – простые многоклеточные волоски по краю верхушки прицветника (200х), 13 – внутренний эпидермис венчика трубчатого цветка (400х), 14 – сосочковидные выросты по краю верхушки (400х), 15 – простые многоклеточные волоски (200х), 16 – сосочковидные выросты (400х), 17 – эпидермис наружной стороны (400х), 18 – волоски на поверхности лепестка (400х)



от прямых до сильноизвилистых, кутикула продольно-морщинистая, устьица аномоцитного типа. На поверхности лепестка встречаются простые многоклеточные, гусеницеобразные волоски и железки такого же строения, как на листе, особенно много волосков у основания лепестка. По краю лепестка и жилкам волоски грубее, слегка согнутые по направлению к поверхности. По краю лепестка и вдоль жилок проходят секреторные ходы с красновато-коричневым содержимым.

Для подтверждения подлинности травы топинамбура также предложена тонкослойная хроматография (ТСХ) с СО хлорогеновой кислоты.

На хроматограмме (рис. 2) после обработки парами аммиака при просмотре в УФ-свете с длиной волны 365 нм должна обнаруживаться зона адсорбции с  $R_f$  около 0,37 зеленой флуоресценции, соответствующая аналогичной зоне СО хлорогеновой кислоты. Допускается наличие других зон с  $R_f$  около 0,47 синей флуоресценции,  $R_f$  около 0,52 желто-зеленой флуоресценции,  $R_f$  около 0,58 синей флуоресценции,  $R_f$  около 0,63 желто-зеленой флуоресценции,  $R_f$  около 0,71 голубой флуоресценции и  $R_f$  около 0,76 красно-оранжевой флуоресценции.

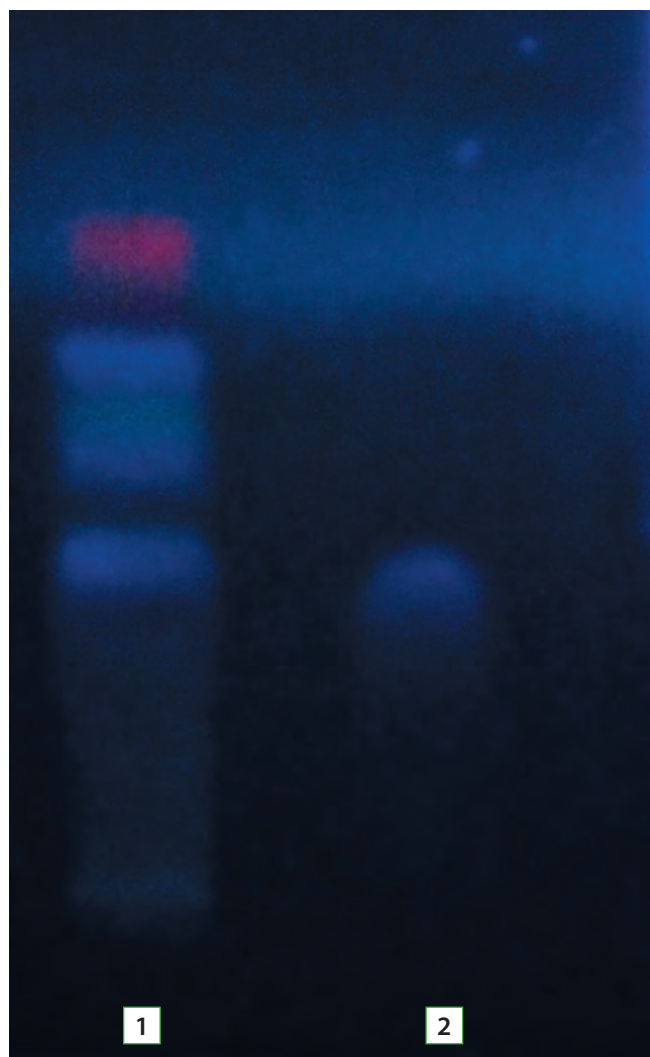
При фармакогностическом изучении опытных партий травы топинамбура для сырья топинамбура определена номенклатура числовых показателей и установлены их нормы: влажность – не более 14%; зола общая – не более 8%; зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте, – не более 1%; стебли диаметром более 5 мм – не более 40%; органическая примесь – не более 1%; минеральная примесь – не более 1%.

Ранее проведенные нами исследования методом высокоэффективной хромато-масс-спектрометрии (ВЭЖХ-УФ-МС/МС) позволили идентифицировать в траве топинамбура 18 соединений, среди которых хлорогеновая, неохлорогеновая, изохлорогеновая А,

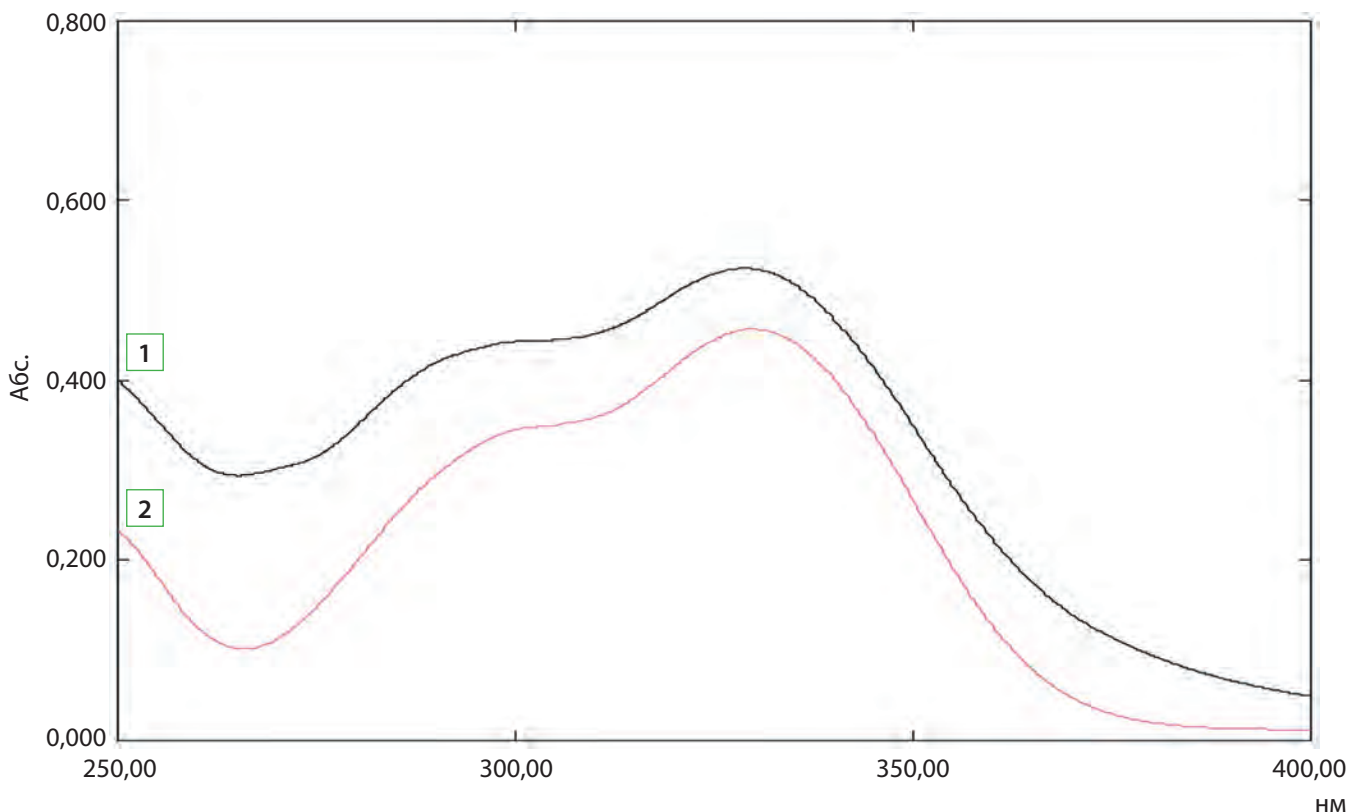
изохлорогеновая В, изохлорогеновая С, кофейная, ферулоилхинная кислоты, изомеры кофеилхинной, кумароилхинной кислот, рутин, изокверцетин, кверцетин-глюкоронид, лютеолин/кемпферол-глюкуронид, изорамнетин-глюкуронид.

В связи с этим для определения содержания биологически активных веществ в траве топинамбура нами предложено оценивать содержание суммы фенольных соединений, используя при этом метод прямой спектрофотометрии.

При изучении УФ-спектра водно-спиртового извлечения установлено, что в диапазоне



**РИС. 2.** ТСХ хроматограмма водно-спиртового извлечения из травы топинамбура: 1 – испытуемый раствор, 2 – СО хлорогеновой кислоты



**РИС. 3.** *УФ-спектры водно-спиртового извлечения из травы топинамбура (1) и раствора хлорогеновой кислоты (2)*

длин волн 200–400 нм наблюдается максимум поглощения при длине волны  $327 \pm 2$  нм (рис. 3), соответствующий аналогичному максимуму хлорогеновой кислоты. Данное вещество является одним из доминирующих соединений среди метаболитов фенольного характера, идентифицированных в траве топинамбура. Содержание в исследуемых образцах сырья хлорогеновой кислоты составило от  $1,67 \pm 0,05$  до  $2,08 \pm 0,06\%$ .

Таким образом, в качестве аналитической предложено выбрать длину волны  $327 \pm 2$  нм и проводить определение суммы фенольных соединений в пересчете на хлорогеновую кислоту.

В соответствии с современными требованиями методика валидирована по показателям: специфичность (максимум поглощения испытуемого раствора и СО хлорогеновой кислоты составляет  $327 \pm 2$  нм); линейность (коэффициент корреляции 0,993), правильность (диапазон процента восстановления – от 97,1%

до 103,2%), сходимость (относительное стандартное отклонение (RSD) составляет 4,2%); воспроизводимость (совпадение результатов между двумя аналитиками 98%); аналитический диапазон (от 5 до 12% суммы фенольных соединений в сырье).

Результаты проведенной валидации позволили считать ее пригодной для количественного определения суммы фенольных соединений в траве топинамбура.

Анализ образцов опытных партий позволил установить норму по этому показателю не менее 4%.

## ВЫВОДЫ

В результате проведенных исследований были установлены морфологические и анатомо-диагностические признаки сырья, разработана методика подтверждения подлинности методом ТСХ со стандартным образцом

хлорогеновой кислоты, определена номенклатура числовых показателей и их норм. Для количественной оценки биологически активных веществ разработана и валидирована методика определения суммы фенольных соединений в пересчете на хлорогеновую кислоту.

Проведенные исследования являются неотъемлемым этапом разработки лекарственного средства на основе вторичного сырья – травы топинамбура. Полученные данные позволили разработать и оформить нормативный документ – проект фармакопейной статьи «Топинамбура трава» с целью обеспечения контроля качества сырья, используемого для производства лекарственных средств.

Работа выполнена согласно плану научно-исследовательской работы ФГБНУ ВИЛАР по теме «Фитохимическое обоснование ресурсосберегающих технологий переработки лекарственного растительного сырья и рационального использования биологически активных веществ растительного происхождения» (FGUU-2022-0011).

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Han-Sup Kim. Hypoglycemic and hepatoprotective effects of Jerusalem artichoke extracts on streptozotocin-induced diabetic rats / Han-Sup Kim, Gi Dong Han // *Food Sci. Biotechnol.* – 2013. – V. 22(4). – P. 1121–1124. DOI: 10.1007/s10068-013-0192-8.
2. Elaheh Mansouri, Ali Mohamadi Sani, Elnaz Milani, Ladan Nourbakhsh. Prebiotic effect of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) fructans on the growth performance of *Bifidobacterium bifidum* and *Escherichia coli* // *Asian Pacific Journal of Tropical Disease.* – 2016. – V. 6(5). – P. 385–389.
3. Elaheh Mansouri, Ali Mohamadi Sani, Elnaz Milani, Ladan Nourbakhsh. Prebiotic effectiveness of inulin extracted from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) // *BioTechnology an Indian Journal (BTAIJ).* – 2015. – V. 11(12). – P. 476–482.
4. Srinameb B.O., Nuchadomrong S., Jogloy S., Patanothai A., Srijaranai S. Preparation of Inulin Powder from Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) Tuber // *Plant Foods Hum. Nutr.* – 2015. – V. 70(2). – P. 221–226. DOI: 10.1007/s11130-015-0480-y.
5. Гепатозащитные свойства густого экстракта клубней топинамбура «Интерес» (ГЭКТИ) и «Сарват» (ГЭКТС), культивируемых в Республике Таджикистан, при токсическом гепатите / Шахсуфбекова О.М. [и др.]. // *Universum: Медицина и фармакология: электрон. научный журн.* – 2016. – №8. – Т. 30 [Электронный ресурс]. – URL: <http://7universum.com/ru/med/archive/item/3525>.
6. Государственная фармакопея РФ XIV издания. Федеральная электронная медицинская библиотека Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Москва, 2018. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://femb.ru/feml>.
7. Зеленков В.Н. Иммунобиологическая активность препарата ТОПИКС в экспериментах *in vivo* / В.Н. Зеленков, В.С. Кожевников, Е.Ю. Ермолович, О.П. Колесникова [и др.] // *Топинамбур и топинсолнечник – проблемы возделывания и использования. Тезисы докладов 5-й Международной межотраслевой конференции.* – Тверь, 1993. – С. 47–48.
8. Зеленков В.Н. Топинамбур: агробиологический портрет и перспективы инновационного применения. Монография – М.: РГАУ-МСХА, 2012. – 161 с.
9. Кочнев Н.К., Калиничева М.В. Топинамбур – биоэнергетическая культура XXI века. – М.: Типография АРЕС, 2002. – 75 с.
10. Сайбель О.Л., Даргаева Т.Д., Зеленков В.Н. Топинамбур (*Helianthus tuberosus* L.) – перспективный источник сырья для получения профилактических и лечебных средств //



- Бутлеровские сообщения. – 2017. – Т. 51. – №8. – С. 58–64.
11. Титок В. Топинамбур – культура многофункционального назначения / В. Титок, А. Веевник, М. Ярошевич // Наука и инновации, 2014. – №5. – С. 26–28.
12. Шахсуфбекова О.М. Изучение сахароснижающих свойства Диатона и водно-спиртового экстракта клубней топинамбура «Сарват» (ВСЭКТС) на фоне толерантности к глюкозе (ТТГ) / О.М. Шахсуфбекова, Д.А. Азонов // Universum: Медицина и фармакология: электрон. научный журнал. – 2016. – №12(34). [Электронный ресурс]. – URL: <http://7universum.com/ru/med/archive/item/4032>.
- 
- 

## ON THE ISSUE OF STANDARDIZATION OF JERUSALEM ARTICHOKE GRASS

**O.L. Saybel, E.A. Konyaeva, A.I. Radimich, T.D. Dargayeva**

*All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (VILAR), Moscow, Russia*

*The results of the study of a new type of medicinal plant raw material - Jerusalem artichoke grass, proposed as a raw material for the production of medicines. The criteria of authenticity (morphological and anatomical diagnostic signs, thin-layer chromatography) and quality (nomenclature of numerical indicators) of this type of raw materials are established. A method of quantitative determination of the content of active substances has been developed. The proposed quality criteria are included in the draft pharmacopoeial article.*

**Keywords:** Jerusalem artichoke, grass, phenolic compounds, chlorogenic acid