

УДК 543.054;543.544.5.068.7

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЭКСТРАКТАХ РОМАШКИ АПТЕЧНОЙ (*MATRICARIA CHAMOMILLA* L.) В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ИЗВЛЕЧЕНИЯ

© 2023 г. З. А. Темердашев^{a, *}, Т. К. Чубукина^a, Е. А. Виницкая^{a, b}, Н. В. Киселева^a

^a Кубанский государственный университет
ул. Ставропольская, 149, Краснодар, 350040 Россия

^b Субтропический научный центр Российской академии наук
ул. Яна Фабрициуса, 2/28, Сочи, 354002 Россия

*e-mail: TemZA@kubsu.ru

Поступила в редакцию 09.09.2022 г.

После доработки 04.10.2022 г.

Принята к публикации 04.10.2022 г.

Обсуждаются результаты исследования водных и водно-спиртовых экстрактов фенольных соединений ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.) в зависимости от условий их извлечения различными способами. Объект исследований – собранная в различных регионах России ромашка аптечная. Фенольные компоненты в их нативных формах извлекали из лекарственного сырья различными способами: настаиванием, мацерацией, микроволновым, ультразвуковым, субкритическим и фармакопейным. Содержания индивидуальных компонентов и суммарное содержание фенольных соединений в экстрактах ромашки аптечной оценивали хроматографическими методами. ВЭЖХ-определение фенольных соединений с диодно-матричным и масс-спектрометрическим детектированием проводили в градиентном режиме элюирования смесью ацетонитрил–0.1%-ная муравьиная кислота. В водных и водно-спиртовых экстрактах ромашки аптечной идентифицировали хлорогеновую кислоту, гликозиды феруловой кислоты, лютеолин-7-О-глюкозид, дикофеилхинную и цикориювую кислоты, апигенин-7-глюкозид, апигенин. По содержаниям фенольных соединений в экстрактах цветов ромашки различных производителей с различных территорий изучили зависимость данного показателя от географического места произрастания растительного сырья. Максимальное суммарное содержание фенольных соединений (10.1 мг/г) наблюдали в экстракте ромашки аптечной торговой марки “Фармацвет” (Московская обл., Красногорск).

Ключевые слова: ромашка аптечная (*Matricaria chamomilla* L.), фенольные соединения, экстракция, ВЭЖХ.

DOI: 10.31857/S0044450223040151, EDN: KZWUHC

Широкое распространение при производстве препаратов терапевтического воздействия получили лекарственные растения семейства Астровые (*Asteraceae*) – полынь, тысячелистник, ромашка, череда, календула, одуванчик и другие [1–3]. Эти лекарственные растения обладают антиоксидантной активностью и проявляют разнообразные терапевтические свойства, обусловленные наличием в их составе комплекса ряда действующих соединений [2–6]. Например, антиоксидантное, противоопухолевое, гепатопротекторное, химиопротекторное и противовоспалительное действие связано с наличием в экстрактах лекарственного растительного сырья (ЛРС) лупеола. Противовоспалительное, антиоксидантное и противораковое действие обусловлено присутствием апигенина и

лютеолина, а цинарин обеспечивает антимикробные и противовоспалительные свойства [4]. Фенольные соединения (ФС) в этих лекарственных растениях преимущественно представлены флавоноидами, фенольными кислотами (гидроксibenзойными и гидроксикоричными) и их производными [7].

Для определения ФС в экстрактах лекарственных растений традиционно используют методы суммарного их определения в пересчете на рутин [8]. Однако для полноценной оценки фармакологической активности ЛРС важно знать качественный состав и содержание индивидуальных компонентов, определяющих фитотерапевтические свойства ромашки аптечной. Для этих целей применяют высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) [4, 9–11], которая в со-

четании с разными вариантами детектирования позволяет идентифицировать и определять содержание ФС в их нативном виде [11, 12].

Способ экстракции сказывается на содержании ФС в экстракте ромашки аптечной [13]. При хроматографическом определении ФС в экстрактах ЛРС в зависимости от выбранного способа экстракции меняется также состав (качественный и количественный) извлечений, что усложняет оценку компонентного состава экстрактов. Для экстракции фенольных веществ из растительного сырья семейства Астровые используют жидкостную экстракцию водно-спиртовыми смесями — мацерацию [4, 10, 14], водой — настаивание [15–21], а также жидкостную экстракцию с дополнительным физическим воздействием — ультразвуковым [1, 22], микроволновым [11, 23], повышением температуры и давления [11, 24].

Ромашка аптечная (*Matricaria chamomilla* L.) исследуется достаточно широко [5, 6], но сведения по оценке эффективности способов извлечения целевых соединений, позволяющие сопоставить различные способы экстракции компонентов из растительного материала, практически отсутствуют. В табл. 1 приведены некоторые примеры способов извлечения целевых соединений из ромашки аптечной.

Целью данной работы является хроматографическая оценка индивидуального и суммарного содержания фенольных соединений в водных и водно-спиртовых экстрактах в условиях различных способов извлечения из ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Растительный материал. Объекты исследования — цветки ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.) производителя “Родные травы” (республика Адыгея, партия 250321); цветки ромашки (*Chamomillae flores*) торговых марок “ФармаЦвет” (Московская обл., Красногорск, партия 210820), “Грин Сайд” (Алтайский край, Барнаул, партия 02) и “Фитофарм” (Краснодарский край, Анапа, серия 010215). Также осуществляли сбор ромашки в стадии цветения на территории г. Краснодара (Краснодарский край). Растительное сырье предварительно измельчали и просеивали, выделяя фракции размером 0.5–1.0 мм, затем растительный материал усредняли путем перемешивания [8].

Реактивы и стандартные образцы. Использовали ацетонитрил (HPLC-S, Biosolve BV, Нидерланды), муравьиную кислоту (85%, ЛенРеактив, Россия), этанол (ректифицированный, высшей очистки) и метанол х.ч. (Вектон, Россия). Деионизованную воду с удельным сопро-

тивлением 18.2 МОм·см (25°C) получали на установке Milli-Q-UV (Millipore, Франция).

Для идентификации аналитов использовали стандартные образцы хлорогеновой кислоты, лютеолин-7-О-гликозида, *транс*-феруловой кислоты, цикориевой кислоты и апигенина (Sigma-Aldrich, Германия).

Экстракция фенольных компонентов из ромашки аптечной. Извлечение фенольных соединений из ромашки аптечной проводили с учетом рекомендаций Государственной Фармакопеи РФ (ГФ) [8], традиционными и современными способами с интенсификацией процесса ультразвуком и микроволновым излучением, а также при повышенных давлении и температуре.

Для извлечения ФС из ромашки аптечной рекомендованным ГФ методом навеску пробы (1.0000 г) помещали в колбу со шлифом емк. 250 мл, прибавляли 70%-ный этанол (100 мл). Колбу с содержимым присоединяли к обратному холодильнику, нагревали на кипящей водяной бане в течение 45 мин, периодически встряхивая. Затем колбу с экстрактом охлаждали до комнатной температуры, фильтровали раствор через вату в мерную колбу емк. 100 мл, объем раствора доводили до метки 70%-ным этанолом. Перед хроматографическим анализом полученный экстракт фильтровали через фильтр с диаметром пор 45 мкм.

Для экстракции ФС *мацерацией* из ромашки аптечной навеску пробы (1.0000 г) помещали в коническую колбу со шлифом емк. 250 мл, добавляли растворитель (100 мл) и оставляли отстаиваться при комнатной температуре. В качестве растворителя использовали 70%-ный этанол. Перед хроматографическим анализом полученный экстракт фильтровали через фильтр с диаметром пор 45 мкм.

Для извлечения ФС ромашки аптечной также готовили *настой*. Для этого навеску измельченной пробы (0.5000 г) помещали в коническую колбу с притертой пробкой объемом 100 мл и заливали деионизованной водой (25 мл) при ~95°C. Перед хроматографическим анализом полученный экстракт фильтровали через фильтр с диаметром пор 45 мкм.

Для проведения *ультразвуковой экстракции* (УЗЭ) ФС из ромашки аптечной навеску сухой измельченной пробы (0.5000 г) помещали в коническую колбу с притертой пробкой объемом 100 мл. В качестве растворителя использовали водно-спиртовые смеси разного состава (25 мл). Экстракция проходила в ультразвуковой ванне УЗВ–4.0/1 ТТЦ (Сапфир, Россия) с частотой ультразвукового излучения 35 кГц в течение 30 мин. После фильтрования через вату в мерную колбу емк. 25 мл объем раствора доводили до метки растворителем. Перед хроматографическим анали-

Таблица 1. Примеры извлечения фенольных соединений из цветов ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.) различными способами

Способ экстракции	Экстрагент	Условия экстракции	Метод анализа	Определяемые компоненты	Литература
Мacerация	80%-ный метанол	Встряхивание 90 мин	ВЭЖХ–МС/МС	4-Гидроксифенилуксусная кислота, изоскополетин, ресвератрол, ализарин, дантрон, хризин, пиноцембрин, ликвиритигенин, изоликвиритигенин, <i>цис, транс</i> -абсцизовая кислота, формонетин, алоэ-эмодин, эмодин, пиностробин, галангин, рейн, диосметин, гесперетин, морин, эллаговая кислота, рамнетин, урсоловая кислота, 18β-глициретиновая кислота, нарингин, глициризин	[4]
	70%-ный метанол	Нагрев до 70°C	ВЭЖХ–ДМД	Апигенин-7-О-(4"-ацетил)-глюкозид, апигенин-7-О-(3"-ацетил)-глюкозид, апигенин-7-О-(6"-ацетил)-глюкозид, лютеолин, апигенин, эвпатолигитин, хризоспленол D, хризоспленгитин	[10]
	80%-ный метанол	Встряхивание 30 мин, выдерживание в течение 5 дней в темноте	УВЭЖХ–МС/МС	Хлорогеновая кислота, кофейная кислота, умбеллиферон, кверцетин-3-глюкозид, рутин, апигенин-7-глюкозид, кверцитрин, кверцетин, лютеолин, кемпферол, апигенин, изораменгитин	[14]
Настой	Вода	Выдерживание в течение 10–15 мин	ВЭЖХ–МС/МС	Лютеолин, рутин, гесперидин, гесперетин, апигенин, <i>p</i> -гидроксibenзойная кислота, галловая кислота, кофейная кислота, <i>p</i> -кумаровая кислота, хлорогеновая кислота	[16]
	Вода	Выдерживание в течение 10 мин	ВЭЖХ–МС/МС	Апигенин, лютеолин, гесперетин, рутин	[20]
	Вода	Выдерживание в течение 3–40 мин	ВЭЖХ–ДМД–МС/МС	Неохлорогеновая кислота, хлорогеновая кислота, криптохлорогеновая кислота, глюкозиды феруловой кислоты, галактозид кверцетина, глюкозид кверцетина, глюкозид лютеолина, 3,4-дикафеоилхнинная кислота, 3,5-дикафеоилхнинная кислота, 4,5-дикафеоилхнинная кислота, ацетилглюкозид апигенина, глюкозид апигенина	[21]
УЗЭ	70%-ный этанол	Выдерживание в течение 40 мин	УВЭЖХ–ДМД–МС/МС	Апигенин-7-О-глюкозид, фенилэтиловый эфир кофейной кислоты, катехин, галловая кислота, димер проантоцианидина, глюкозид феруловой кислоты, 5-О-ферулоилхнинная кислота, хлорогеновая кислота, лютеолин, эпикатехин, лютеолин-7-О-глюкозид, кофеоил-гексозид-метилглютарат, кверцетин-3-глюкозид, 3- <i>p</i> -кумароилхнинная кислота, пеларгонидин-сулциниларабинозид или пеларгонидин-малонилтрамозид, <i>p</i> -кумароил-гексозидметилглютарат, апигенин-дикафеоилхнинная кислота, пинобанксин-3-О-бутират, гиперфирин, апигенин-О-глокуронид, алгиперфирин	[11]
	100%-ный метанол	Выдерживание в течение 30 мин при 40°C	УВЭЖХ–МС	Хлорогеновая кислота, (Z)-2-β-D-глюкопиранозилокси-4-метоксикоричная кислота, кверцетин-7-β-D-глюкопиранозид, кверцетин-глюкозид, (E)-2-β-D-глюкопиранозилокси-4-метоксикоричная кислота, лютеолин-7-О-β-D-глюкозид, патулетин-7-О-глюкозид, апигенин-7-О-глюкозид, ацетил-глюкозид апигенина, герниарин, апигенин, хризоспленгитин, енин-дишклизефир	[25]

Таблица 1. Окончание

Способ экстракции	Экстрагент	Условия экстракции	Метод анализа	Определяемые компоненты	Литература
УЗЭ	80%-ный этанол	Выдерживание в течение 30 мин при 40°C	ВЭЖХ-МС/МС	Протокатехиновая, гентизиновая, 4-ОН-бензойная кислота, ванильная, кофейная, сирингиновая, <i>p</i> -кумаровая, салициловая, феруловая, синаптическая, розмариновая кислоты, рутин, гиперозид, изокверцетин, кемпферол-3-рутинозид, астрагалин, апигенин-7-глюкозид	[22]
МВЭ	70%-ный этанол	Выдерживание в течение 40 мин, 480 Вт, 70°C	УВЭЖХ-ДМД-МС/МС	Апигенин-7-О-глюкозид, фенилэтиловый эфир кофейной кислоты, катехин, галловая кислота, димер проантоцианидина, глюкозид феруловой кислоты, 5-О-ферулоилхиновая кислота, хлорогеновая кислота, лютеолин, эпикатехин, лютеолин-7-О-глюкозид, кофеил-тексоид-метилглутарат, кверцетин-3-глюкозид, 3- <i>p</i> -кумароилхиновая кислота, пеларгонидин-сукциниларабинозид или пеларгонидин-малониларабинозид, <i>p</i> -кумароил-тексоидметилглутарат, апигенин, дикаффеолихиновая кислота, пинобанксин-3-О-бутират, гиперфирин, апигенин-О-глюкуронид, алгиперфирин	[11]
СКЭ	Вода	Выдерживание в течение 40 мин при 1.6 бар, 200°C	УВЭЖХ-ДМД-МС/МС	Апигенин-7-О-глюкозид, фенилэтиловый эфир кофейной кислоты, катехин, галловая кислота, димер проантоцианидина, глюкозид феруловой кислоты, 5-О-ферулоилхиновая кислота, хлорогеновая кислота, лютеолин, эпикатехин, лютеолин-7-О-глюкозид, кофеил-тексоид-метилглутарат, кверцетин-3-глюкозид, 3- <i>p</i> -кумароилхиновая кислота, пеларгонидин-сукциниларабинозид или пеларгонидин-малониларабинозид, <i>p</i> -кумароил-тексоидметилглутарат, апигенин, дикаффеолихиновая кислота, пинобанксин-3-О-бутират, гиперфирин, апигенин-О-глюкуронид, алгиперфирин	[11]
	Вода	Выдерживание при 5 МПа, 200°C, дериватизация с БСТФА	ГХ-МС	Лютеолин, 3,5,7-флавонол, 2-фенилэтанол, 4-фенилбутан-2-ол, изооугенол, инозит, метоксибензол, 3-гидроксибутилбензол, гидроксиметилбензол, гидроксиэтилбензол, <i>p</i> -крезол, 2-гидрокси-4-метоксиацетофенон, 4-гидроксиацетофенон, умбеллиферон, 6,7-гидроксикумарин, β-D-глюкопиранозид, масляная, бензойная, фенилуксусная, валериановая, винилиновая, пропионовая, винная, 4-гидроксibenзойная, гидроксимасляная, 2-гидроксизогексановая, <i>p</i> -гидроксикоричная, каприловая, каприновая, 2-кетовалериановая, кофейная, лимонная, линолевая, миристиновая, молочная, малоновая, олеиновая, пальмитиновая, пеларгоновая, протокатехиновая, себациновая, стеариновая, янтарная, тетроническая, феруловая, фумаровая, хиновая, этилмалоновая кислоты и др., 2,2-диметилсукцинат, этилинолеат, этилолеат, этилпальмитат, углеводороды	[24]

Обозначения: УЗЭ – ультразвуковая экстракция; МВЭ – микроволновая экстракция; СКЭ – экстракция при повышенных температуре и давлении (субкритическая экстракция); БСТФА – N, O-бис(триметилсилил)трифторацетамид; ВЭЖХ-МС/МС – высокоэффективная жидкостная хроматография с tandemным масс-спектрометрическим детектированием; УВЭЖХ-МС/МС – ультра высокоэффективная жидкостная хроматография с tandemным масс-спектрометрическим детектированием; ВЭЖХ-ДМД-МС/МС – высокоэффективная жидкостная хроматография с диодно-матричным и tandemным масс-спектрометрическим детектированием; УВЭЖХ-ДМД-МС/МС – ультра высокоэффективная жидкостная хроматография с диодно-матричным и tandemным масс-спектрометрическим детектированием; ГХ-МС – газовая хромато-масс-спектрометрия.

зом полученный экстракт фильтровали через фильтр с диаметром пор 45 мкм.

Микроволновую экстракцию (МВЭ) ФС из ромашки аптечной проводили с использованием микроволновой системы ETHOS EX (Milestone, Италия). Навеску сухой измельченной пробы (0.5000 г) помещали в ячейку-экстрактор, куда добавляли растворитель (25 мл). В качестве растворителя использовали водно-спиртовые смеси различного состава. Продолжительность экстракции составляла 30 мин при мощности микроволнового излучения 300 Вт и температуре 75°C. Далее экстракт фильтровали через вату в мерную колбу емк. 25 мл и доводили объем раствора до метки растворителем. Перед хроматографическим анализом экстракт пропускали через фильтр с диаметром пор 45 мкм.

Экстракцию ФС из ромашки аптечной *в динамических условиях при повышенных температуре и давлении* (субкритическая экстракция, СКЭ) проводили на экспериментальной установке, подробно описанной в работе [26]. Экстрагент (деионизованная вода/водно-спиртовые смеси) подавали насосом от жидкостного хроматографа LC20AD (Shimadzu, Япония), в качестве ячейки-экстрактора использовали стальной корпус хроматографической колонки размером 150 × 4.6 мм, которую подключали к установке двумя стальными капиллярами. Для предотвращения закипания экстрагента и поддержания требуемого давления в системе использовали ограничитель давления P-455 (Upchurch Scientific, США). Высушенную и измельченную навеску пробы (0.2000 г) помещали в ячейку-экстрактор в печи термостата. Экстрагент предварительно продували азотом для удаления растворенного кислорода и с помощью насоса заполняли им систему. Затем останавливали поток экстрагента и включали нагрев термостата. По достижении термостатом заданной температуры выдерживали систему в течение 10 мин при постоянной температуре и остановленном потоке экстрагента, после чего его подавали в систему со скоростью 1 мл/мин. Давление в системе по показаниям манометра насоса составляло 80–150 атм. На выходе собирали 10 мл экстракта в стеклянные емкости. Перед хроматографическим анализом экстракт пропускали через фильтр с диаметром пор 45 мкм.

ВЭЖХ-определение фенольных соединений с диодно-матричным и масс-спектрометрическим детектированием в экстрактах ромашки аптечной. ВЭЖХ-определение ФС в полученных экстрактах проводили на хроматографе LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония), состоящем из дегазатора DGU-20A₅, насоса LC20AD, автоматического дозатора SIL-20A, термостата колонок CTO-20AC, спектрофотометрического детектора на основе диодной матрицы SPD-M20A, масс-спектрометриче-

ского детектора LCMS2010EV. Фенольные соединения разделяли на хроматографической колонке Luna C18 100A, 250 × 2.0 мм, 5 мкм (Phenomenex, США) с предколонкой C18 4 × 2.0 мм, 5 мкм (Phenomenex, США) в режиме градиентного элюирования. Подвижной фазой являлась смесь ацетонитрил (А)—0.1%-ная муравьиная кислота (В): 0.01–2 мин от 95 до 90% В, 2–10 мин от 90 до 80% В, 10–18 мин от 80 до 70% В, 18–28 мин от 70 до 10% В, 28–30 мин 10% В, 30–31 мин от 10 до 95% В. Скорость потока подвижной фазы составляла 0.40 мл/мин при температуре термостата колонки 40°C и объеме вводимой пробы 5 мкл. Спектрофотометрическое детектирование на диодно-матричном детекторе осуществляли в диапазоне длин волн 190–800 нм. При МС-детектировании веществ применяли ионизацию электро-распылением: напряжение интерфейса — 3.5 кВ, напряжение на скимере — 1.5 В, температура ионного источника — 180°C, скорость потока азота — 1.5 л/мин, скорость сканирования масс-спектра 2000 а.е.м./с, диапазон сканируемых масс 120–700 *m/z*. Анализ проводили в режиме отрицательной ионизации. Сбор и последующую обработку первичных данных осуществляли с помощью программного обеспечения LCMS Solution (Shimadzu, Япония).

Фенольные соединения идентифицировали сопоставлением времен удерживания, спектров поглощения и масс-спектров с аналогичными характеристиками стандартов индивидуальных соединений, приведенными в литературе (табл. 2). Пример хроматограммы водно-спиртового экстракта ромашки аптечной, полученного по методике Фармакопеи РФ, в оптимальных условиях хроматографирования представлен на рис. 1.

При оценке содержания ФС в экстрактах ромашки аптечной использовали рассчитанные метрологические характеристики (табл. 3). Для всех соединений получили градуировочные зависимости, диапазоны линейности, пределы определения и обнаружения с использованием соответствующих стандартных образцов в 70%-ном этаноле. Все градуировочные кривые строили по данным шести параллельных измерений; в каждом случае проводили не менее трех параллельных определений одной концентрации раствора ФС. Содержание гликозидов феруловой кислоты в сырье определяли по градуировочной зависимости, полученной для феруловой кислоты, умножая на отношение молекулярной массы аналита к молекулярной массе феруловой кислоты ввиду их структурного подобия и схожести коэффициентов поглощения [28]. Аналогично рассчитывали содержание дикофеилхинной кислоты по градуировочной зависимости цикориевой кислоты, апигенин-7-глюкозида — по апигенину.

Таблица 2. Параметры ВЭЖХ-определения фенольных соединений с диодно-матричным и масс-спектрометрическим детектированием в водно-этанольных экстрактах цветов ромашки аптечной

Соединение	t_R , мин*	$\lambda_{\max}$, нм*	m/z
Хлорогеновая кислота (стандарт)	8.3	327	353
Гликозид феруловой кислоты I ([21, 27])	9.3	300	355
Гликозид феруловой кислоты II ([21, 27])	12.6	300	355
Лютеолин-7-О-гликозид (стандарт)	14.3	345	447
Дикофеилхинная кислота ([21])	15.9	327	515
Цикориевая кислота (стандарт)	16.2	327	473
Апигенин-7-гликозид ([21, 27])	16.4	268; 333	431
Апигенин (стандарт)	23.2	268; 327	269

* t_R — время удерживания; $\lambda_{\max}$ — длина волны поглощения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оптимальный состав растворителя для экстракции фенольных соединений из цветов ромашки аптечной. Правильный выбор растворителя позволяет повысить эффективность извлечения ФС из ромашки аптечной. Учитывая накопленный опыт [26, 29] и литературные данные [30], сравнили эффективность извлечения фенольных соединений из ромашки аптечной при УЗЭ и МВЭ с использованием водно-этанольных и водно-метанольных смесей с различной концентрацией спирта (30, 50, 70 и 100%, по объему). Эффективность извлечения компонентов оценивали по суммарному содержанию ФС: лютеолин-7-О-гликозида, гликозидов феруловой кислоты, апигенин-7-гликозида, апигенина, хлорогеновой, дикофеилхинной и цикориевой кислот (рис. 2). Из полученных диаграмм видно, что эффективность 70%-ных водно-метанольной и водно-эта-

нольной смесей при извлечении суммы ФС из растительного материала способами УЗЭ и МВЭ сопоставима. С другой стороны, 70%-ный этанол — более экологичный растворитель и перспективен для дальнейшего практического использования в медицинской практике, поэтому его выбрали для дальнейших исследований.

Эффективность экстракции фенольных соединений из ромашки аптечной различными способами. Изучали и сравнивали различные способы экстракции компонентов: экстракцию по Государственной Фармакопее РФ [8], мацерацию, настаивание, ультразвуковую, микроволновую и субкритическую экстракцию. Параметры каждого из способов экстракции оптимизировали по суммарному содержанию ФС в экстрактах ромашки.

Для определения оптимального времени экстрагирования строили зависимости суммарного содержания ФС от времени проведения мацера-

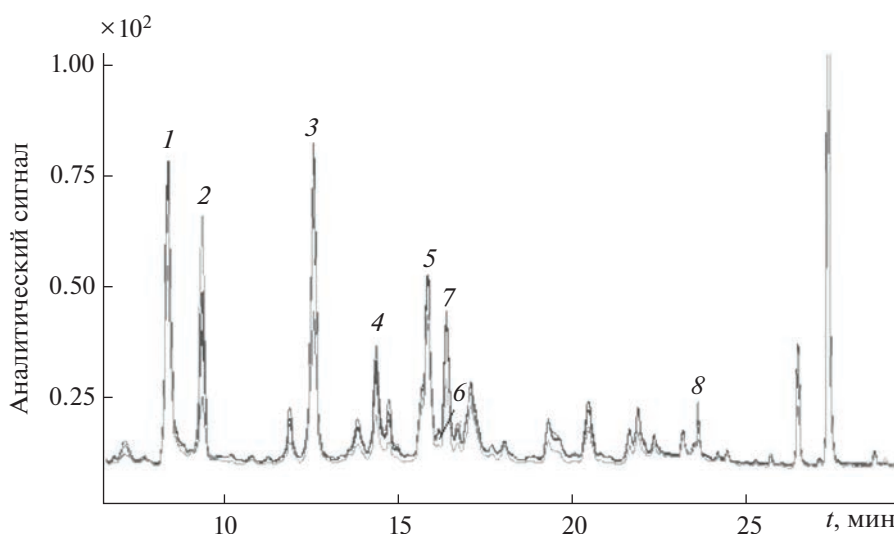


Рис. 1. ВЭЖХ-хроматограмма этанольного экстракта цветов ромашки аптечной, полученного по методике Фармакопее РФ, в режиме диодно-матричного и масс-спектрометрического детектирования: 1 — хлорогеновая кислота, 2 — гликозид феруловой кислоты I, 3 — гликозид феруловой кислоты II, 4 — лютеолин-7-О-гликозид, 5 — дикофеилхинная кислота, 6 — цикориевая кислота, 7 — апигенин-7-гликозид, 8 — апигенин.

Таблица 3. Метрологические характеристики методики определения фенольных соединений в экстрактах ромашки аптечной методом ВЭЖХ с диодно-матричным и масс-спектрометрическим детектированием

Фенольное соединение	Уравнение регрессии	R^2	Диапазон линейности, мкг/мл	$c_{\text{мин}}$, мкг/мл*	$c_{\text{н}}$, мкг/мл
Хлорогеновая кислота	$y = (33100 \pm 100)x$	0.9996	0.3–100	0.10	0.3
Лютеолин-7-О-глюкозид	$y = (36200 \pm 200)x$	0.9994	0.1–100	0.03	0.10
Цикориевая кислота	$y = (30200 \pm 100)x$	0.9995	0.3–200	0.10	0.3
Апигенин	$y = (51900 \pm 600)x$	0.9999	1–100	0.4	1.0
Феруловая кислота	$y = (48300 \pm 700)x$	0.9998	0.1–50	0.02	0.10

Примечание: $c_{\text{мин}}$ – предел обнаружения, $c_{\text{н}}$ – предел определения.

ции, настаивания и УЗЭ (рис. 3). В качестве экстрагентов для мацерации и УЗЭ использовали 70%-ный этанол, а для экстракции настаиванием – свежее кипяченую деионизованную воду. Для построения кинетической кривой извлечения ФС из ромашки различными способами отбирали аликвоты экстракта объемом 1 мл через заданный промежуток времени.

Суммарная концентрация ФС в экстракте мацерацией достигала максимальных значений в течение 1440 мин (24 ч) и далее оставалась неизменной (рис. 3а). В случае извлечения аналитов настаиванием (рис. 3б), концентрации соединений при экстрагировании сырья в течение свыше 15 мин не менялись. Более продолжительное время экстракции данным способом способствовало деградации некоторых фенольных соединений, например, лютеолин-7-О-глюкозида и дикофе-

илхинной кислоты. При настаивании практически не извлекается апигенин, так как агликоны флавоноидов нерастворимы в воде [31, 32]. Кинетическая кривая УЗЭ аналитов из ромашки аптечной (рис. 3в) позволила установить, что суммарное содержание ФС достигает максимальных значений (9.1 ± 0.1 мг/г) при экстракции в течение 30 мин непрерывного воздействия ультразвуком.

Субкритическая экстракция широко используется для извлечения различных классов соединений, в том числе фенольных, из лекарственного растительного сырья. При этом на эффективность извлечения компонентов влияют температура и состав используемого экстрагента. Для установления оптимальных значений данных параметров исследовали зависимость суммарного содержания ФС в экстракте ромашки от температуры СКЭ с использованием различных экстрагентов (рис. 4). В ка-

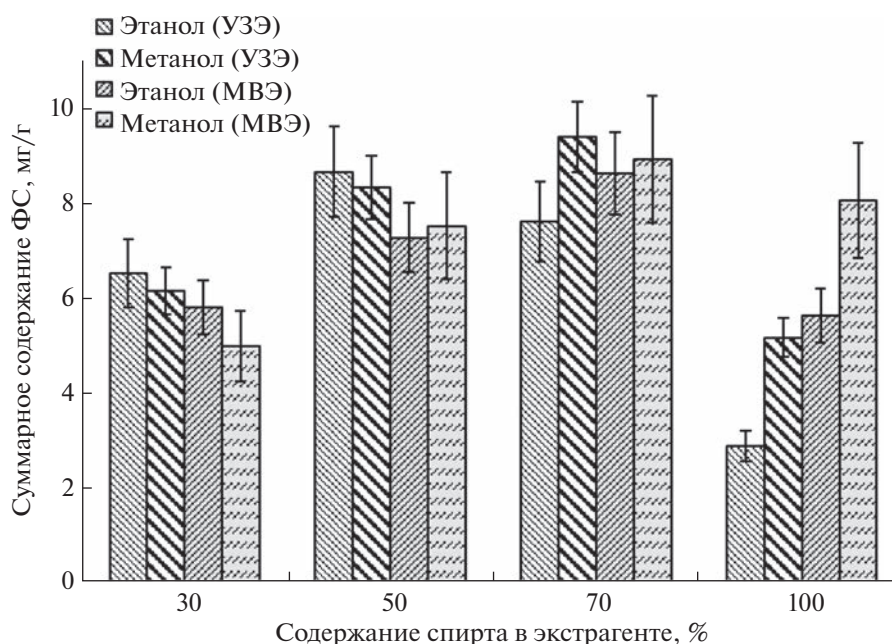


Рис. 2. Суммарное содержание фенольных соединений в экстрактах ромашки аптечной, полученных под воздействием ультразвука и микроволнового излучения.

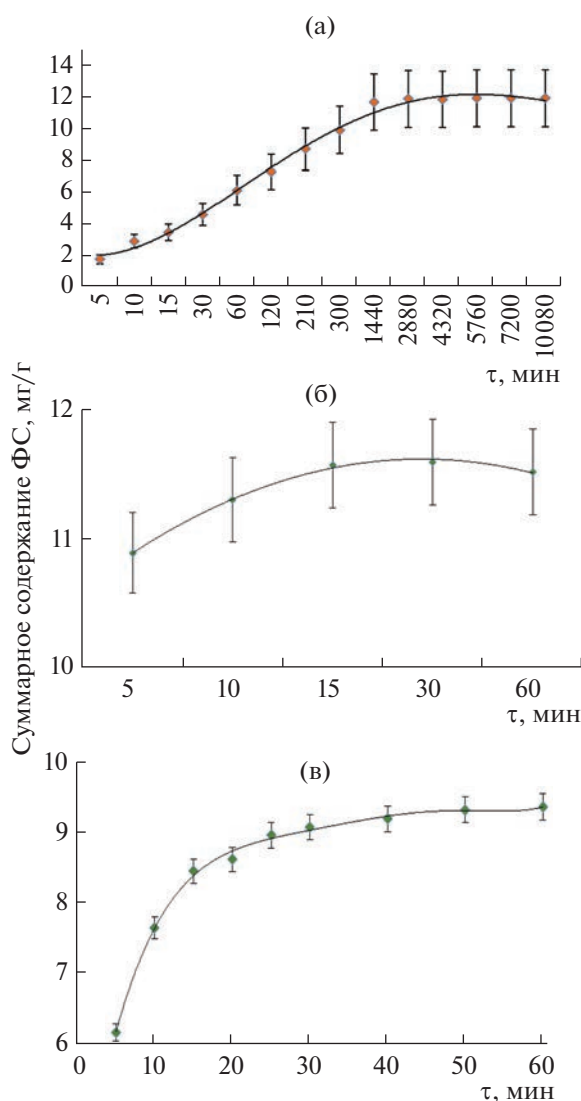


Рис. 3. Зависимость суммарного содержания фенольных соединений в экстракте ромашки аптечной от времени мацерации (а), настаивания (б) и воздействия ультразвука (в).

честве экстрагентов использовали деионизованную воду [11, 24], 50 и 70%-ный этанол [24]. Температуру варьировали в диапазоне 100–165°C с шагом в 15°C. Эффективность субкритического способа экстракции для извлечения ФС также оценивали по суммарному содержанию ФС в экстракте. Как известно [11, 24], применение воды и 70%-ной водно-этанольной смеси в качестве экстрагентов для СКЭ ФС различных классов из растительного материала достаточно эффективно. При 120°C эффективность извлечения суммы аналитов водой и 70%-ным этанолом максимальна (6.6 ± 0.2 и 11.7 ± 0.3 мг/г соответственно), но дальнейшее ее повышение приводит к снижению концентрации ФС, что обусловлено их термической деградацией (рис. 4). С учетом полученной

зависимости можно заключить, что оптимальная температура СКЭ ФС из ромашки аптечной деионизованной водой и 70%-ным этиловым спиртом составляет 120°C.

По данным [24], использование 50%-ного этанола в качестве экстрагента для СКЭ ФС из ромашки аптечной считается предпочтительным. В связи с этим изучили зависимость суммарного содержания ФС ромашки аптечной от температуры СКЭ 50%-ным этанолом. Полученные зависимости показывают целесообразность проведения СКЭ при более низких температурах (рис. 4). Строили зависимость суммарного содержания ФС от температуры в диапазоне от 75 до 135°C. Наибольшая суммарная концентрация ФС (11.1 ± 0.7 мг/г) в экстракте наблюдается при 100°C. Отметим, что эффективность извлечения ФС СКЭ 70%-ным этанолом при 120°C и 50%-ным этанолом при 100°C сопоставима.

Содержания ФС в экстрактах ромашки аптечной, полученные в оптимальных условиях для различных способов экстракции, представлены в табл. 4. Можно отметить, что выбор способа экстракции неоднозначен, и во многом он определяется поставленными задачами. Тем не менее отметим ряд отличий. Использование МВЭ для экстракции ФС малоэффективно, так как концентрации хлорогеновой кислоты и гликозидов феруловой кислоты имеют наименьшие значения, что, вероятно, связано с их деградацией под действием температуры и микроволнового излучения.

Сравнительный анализ способов извлечения (ГФ, мацерация, настаивание и СКЭ) по суммарному содержанию ФС показывает, что по своей эффективности они сопоставимы. Эффективность извлечения выбранных компонентов свежеекстрагированной деионизованной водой при настаивании оказалась сопоставима со способами, в которых в качестве экстрагентов использовали водно-спиртовые растворы. Однако, как отмечено ранее, водные системы не извлекают агликоны флавоноидов — достаточно ценные соединения, и это значительно снижает перспективность практического использования такой процедуры для экстракции ФС из ромашки аптечной. Содержания компонентов, полученных при мацерации и настаивании различными растворителями, сопоставимы, несмотря на схожий процесс их осуществления (табл. 4).

Суммарное содержание извлеченных при УЗЭ ФС несколько выше, чем при МВЭ, и ниже, чем при других способах экстракции (табл. 4). Однако процедура УЗЭ более экспрессна и позволяет оперативно проводить предварительный скрининг и идентификацию ФС, характерных для экстрактов ромашки аптечной.

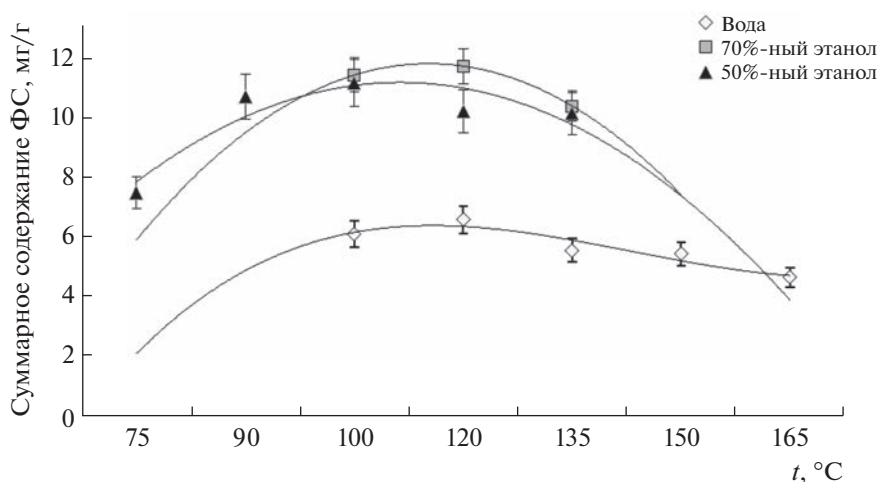


Рис. 4. Зависимость суммарного содержания фенольных соединений в экстракте ромашки аптечной от температуры субкритической экстракции различными экстрагентами.

Анализ экстрактов цветов ромашки аптечной различных торговых марок. Данные о качественном и количественном составе растительного материала используют при установлении качества выпускаемой продукции. Однако содержание активных компонентов в ромашке аптечной в значительной степени может зависеть от географических особенностей произрастания лекарственного растительного сырья, условий выращивания и хранения [21, 27]. В табл. 5 приведены содержания ФС в полученных при УЗЭ экстрактах образцов ромашки аптечной различных производителей, а также в собранном самостоятельно на территории г. Краснодара образце.

Содержания ФС в образцах торговых марок “Грин Сайд” и “Фитофарм” близки между собой как по концентрациям индивидуальных соединений, так и по суммарному содержанию анализов. Такое сходство, вероятно, связано с использова-

нием одного и того же растительного материала со схожими климатическими условиями его выращивания. Отметим высокое содержание хлорогеновой (2.0 ± 0.1 мг/г), дикофеилхинной (1.2 ± 0.3 мг/г) и цикориевой кислот (0.12 ± 0.01 мг/г), а также лютеолин-7-О-глюкозида (0.64 ± 0.05 мг/г) в экстракте образца “Родные травы” по сравнению с экстрактами ромашки аптечной других компаний.

Содержания ФС в экстрактах ромашки аптечной из полученного при самостоятельном сборе растительного материала сильно отличаются от их концентраций в других образцах. Показатель суммы ФС в данном образце (14.9 ± 0.5 мг/г) определяет дикофеилхинная кислота (12.0 ± 0.4 мг/г). В других образцах максимальное содержание ФС определяется концентрациями гликозидов феруловой кислоты (около 60%), что согласуется с данными [21, 27]. Кроме этого, содержание апи-

Таблица 4. Концентрации (мг/г) некоторых индивидуальных фенольных соединений и их суммарное содержание в экстрактах ромашки аптечной, полученных различными способами ($n = 3$, $P = 0.95$)

Соединение	Фармакопея РФ	Мацерация	Настаивание	УЗЭ	МВЭ	СКЭ
Хлорогеновая кислота	2.4 ± 0.1	2.4 ± 0.1	2.5 ± 0.2	2.0 ± 0.1	1.8 ± 0.4	2.3 ± 0.3
Гликозид феруловой кислоты I	2.2 ± 0.1	2.5 ± 0.1	2.55 ± 0.04	2.2 ± 0.3	1.68 ± 0.02	2.4 ± 0.2
Гликозид феруловой кислоты II	2.7 ± 0.1	3.0 ± 0.1	2.94 ± 0.03	2.5 ± 0.2	2.2 ± 0.4	2.9 ± 0.1
Лютеолин-7-О-глюкозид	0.80 ± 0.03	0.83 ± 0.01	0.52 ± 0.05	0.64 ± 0.05	0.6 ± 0.1	0.83 ± 0.03
Дикофеилхинная кислота	1.7 ± 0.1	1.8 ± 0.1	1.6 ± 0.1	1.2 ± 0.3	1.3 ± 0.2	1.5 ± 0.1
Цикориевая кислота	0.140 ± 0.003	0.14 ± 0.02	0.18 ± 0.02	0.12 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.102 ± 0.005
Апигенин-7-глюкозид	1.0 ± 0.1	1.0 ± 0.1	0.80 ± 0.04	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.2	1.1 ± 0.1
Апигенин	0.07 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.013 ± 0.003	0.02 ± 0.01	0.05 ± 0.02	0.051 ± 0.004
Суммарное содержание ФС	11.0 ± 0.5	11.7 ± 0.7	11.1 ± 0.3	9.4 ± 0.9	8.6 ± 0.1	11.1 ± 0.9

Таблица 5. Концентрации (мг/г) некоторых индивидуальных фенольных соединений и их суммарное содержание в водно-этанольных экстрактах образцов ромашки аптечной различных производителей, полученных ультразвуковой экстракцией ($n = 3$, $P = 0.95$)

Соединение	Самостоятельный сбор на территории г. Краснодар	ФармаЦвет	Грин Сайд	Фитофарм	Родные травы
Хлорогеновая кислота	1.50 ± 0.05	1.0 ± 0.2	0.50 ± 0.03	0.37 ± 0.02	2.0 ± 0.1
Гликозид феруловой кислоты I	0.017 ± 0.001	2.791 ± 0.008	1.804 ± 0.003	1.8 ± 0.3	2.2 ± 0.3
Гликозид феруловой кислоты II	0.017 ± 0.002	3.09 ± 0.07	1.83 ± 0.03	1.8 ± 0.2	2.5 ± 0.2
Лютеолин-7-О-глюкозид	0.258 ± 0.008	0.53 ± 0.08	0.369 ± 0.004	0.36 ± 0.05	0.64 ± 0.05
Дикофеилхинная кислота	12.0 ± 0.4	0.80 ± 0.10	0.488 ± 0.007	0.46 ± 0.04	1.2 ± 0.3
Цикориевая кислота	0.38 ± 0.04	0.051 ± 0.007	0.057 ± 0.004	0.077 ± 0.005	0.12 ± 0.01
Апигенин-7-глюкозид	0.21 ± 0.02	1.70 ± 0.10	0.61 ± 0.02	0.6 ± 0.1	0.8 ± 0.1
Апигенин	0.46 ± 0.04	0.05 ± 0.03	0.040 ± 0.002	0.050 ± 0.007	0.02 ± 0.01
Суммарное содержание ФС	14.9 ± 0.5	10.1 ± 0.4	5.7 ± 0.1	5.6 ± 0.6	9.4 ± 0.9

генина и цикориевой кислоты в образце, собранном на территории г. Краснодара, на порядок выше, чем в других образцах. Вероятно, что данный образец содержал ромашку других видов [27], однако это требует дальнейших исследований и подтверждения.

Изучены содержания нативных форм некоторых ФС в водных и водно-спиртовых экстрактах цветов ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.), полученных мацерацией, настаиванием, ультразвуковым, микроволновым, фармакопейным и субкритическим способами. Эффективность применения всех рассмотренных способов экстракции, за исключением ультразвуковой экстракции, по суммарному извлечению фенольных соединений из растительного сырья сопоставима. Определены суммарные содержания и концентрации индивидуальных фенольных соединений в экстрактах цветов ромашки аптечной различных производителей. Максимальное суммарное содержание фенольных соединений (10.1 мг/г) наблюдали в экстракте ромашки аптечной торговой марки “ФармаЦвет”.

Работа выполнена в рамках Госзадания Минобрнауки РФ (проект № FZEN-2020-0022) с использованием научного оборудования ЦКП “Эколого-аналитический центр” Кубанского государственного университета.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Oniszczuk A., Olech M., Oniszczuk T., Wójtowicz A., Krawczyk W. Puffed cereals with added chamomile – Quantitative analysis of polyphenols and optimization of their extraction method // Ann. Agric. Environ. Med. 2017. V. 24. № 2. P. 222. <https://doi.org/10.5604/12321966.1233564>
2. Berechet M., Manaila E., Stelescu M., Crăciun G. The composition of essential oils obtained from *Achillea millefolium* and *Matricaria chamomilla* L., originary from Romania // Rev. Chim. 2018. V. 68. № 12. P. 2787. <https://doi.org/10.37358/rc.17.12.5979>
3. Chau C.-F., Wu S.-H. The development of regulations of Chinese herbal medicines for both medicinal and food uses // Trends Food Sci Technol. 2006. V. 17. № 6. P. 313. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.005>
4. Šibul F., Orčić D., Berežni S., Anačkov G., Mimica-Dukić N. HPLC–MS/MS profiling of wild-growing scentless chamomile // Acta Chromatogr. 2020. V. 32. № 2. P. 86. <https://doi.org/10.1556/1326.2019.00546>
5. Singh O., Khanam Z., Misra N., Srivastava M. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview // Pharmacogn. Rev. 2011. V. 5. № 9. P. 82. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.79103>
6. Srivastava J.K., Shankar E., Gupta S. Chamomile: A herbal medicine of the past with a bright future (Review) // Mol. Med. Rep. 2010. V. 3. № 6. P. 895. <https://doi.org/10.3892/mmr.2010.377>
7. Тараховский Ю.С., Ким Ю.А., Абдралилов Б.С., Музафаров Е.Н. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. Пушино: Synchronbook, 2013. 310 с.
8. Государственная Фармакопея Российской Федерации. Изд. 14. М., 2018. Т. 4. С. 6394.
9. Bączek K.B., Wiśniewska M., Przybył J., Kosakowska O., Węglarz Z. Arbuscular mycorrhizal fungi in chamomile (*Matricaria recutita* L.) organic cultivation // Ind. Crops Prod. 2019. V. 140. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111562>
10. Xie X.-Y., Chen F.-F., Shi Y.-P. Simultaneous determination of eight flavonoids in the flowers of *Matricaria chamomilla* by high performance liquid chromatography // J. AOAC Int. 2014. V. 97. № 3. P. 778. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.13-029>
11. Cvetojević A., Švare-Gajić J., Mašković P., Savić S., Nikolić L. Antioxidant and biological activity of chamomile extracts obtained by different techniques: Perspective of using superheated water for isolation of biologi-

- cally active compounds // *Ind. Crops Prod.* 2015. V. 65. P. 582.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.09.044>
12. Mulinacci N., Romani A., Pinelli P., Vincieri F.F., Prucher D. Characterization of *Matricaria recutita* L. flower extracts by HPLC-MS and HPLC-DAD analysis // *Chromatographia*. 2000. V. 51. № 5–6. P. 301.
<https://doi.org/10.1007/BF02490607>
13. Ajila C.M., Brar S.K., Verma M., Tyagi R., Godbout S., Valéro J. Extraction and analysis of polyphenols: Recent trends // *Crit. Rev. Biotechnol.* 2011. V. 31. № 3. P. 227.
<https://doi.org/10.3109/07388551.2010.513677>
14. Nováková L., Vildová A., Mateus J.P., Gonçalves T., Solich P. Development and application of UHPLC-MS/MS method for the determination of phenolic compounds in Chamomile flowers and Chamomile tea extracts // *Talanta*. 2010. V. 82. № 4. P. 1271.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.06.057>
15. Valduga A.T., Gonçalves I.L., Magri E., Delalibera Finzer J.R. Chemistry, pharmacology and new trends in traditional functional and medicinal beverages // *Food Res. Int.* 2019. V. 120. P. 478.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.091>
16. Sentkowska A., Biesaga M., Pyrzynska K. Effects of brewing process on phenolic compounds and antioxidant activity of herbs // *Food Sci. Biotechnol.* 2016. V. 25. № 4. P. 965.
<https://doi.org/10.1007/s10068-016-0157-9>
17. Maschi O., Cero E.D., Galli G.V., Caruso D., Bosio E., Dell'Agli M. Inhibition of human cAMP-phosphodiesterase as a mechanism of the spasmolytic effect of *Matricaria recutita* L. // *J. Agric. Food Chem.* 2008. V. 56. № 13. P. 5015.
<https://doi.org/10.1021/jf800051n>
18. Kassi E., Papoutsis Z., Fokialakis N., Messari I., Mitakou S., Moutsatsou P. Greek plant extracts exhibit selective estrogen receptor modulator (SERM)-like properties // *J. Agric. Food Chem.* 2004. V. 52. № 23. P. 6956.
<https://doi.org/10.1021/jf0400765>
19. Macchioni F., Perrucci S., Cecchi F., Cioni P.L., Morelli I., Pampiglione S. Acaricidal activity of aqueous extracts of chamomile flowers, *Matricaria chamomilla*, against the mite *Psoroptes cuniculi* // *Med. Vet. Entomol.* 2004. V. 18. № 2. P. 205.
<https://doi.org/10.1111/j.0269-283X.2004.00488.x>
20. Sentkowska A., Biesaga M., Pyrzynska K. Retention study of flavonoids under different chromatographic modes // *J. Chromatogr. Sci.* 2016. V. 54. № 4. P. 516.
<https://doi.org/10.1093/chromsci/bmv174>
21. Raal A., Orav A., Püssa T., Valner C., Malmiste B., Arak E. Content of essential oil, terpenoids and polyphenols in commercial chamomile (*Chamomilla recutita* L. Rauschert) teas from different countries // *Food Chem.* 2012. V. 131. № 2. P. 632.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.042>
22. Kobayashi Y., Nakano Y., Inayama K., Sakai A., Kamiya T. Dietary intake of the flower extracts of German Chamomile (*Matricaria recutita* L.) inhibited compound 48/80-induced itch-scratch responses in mice // *Phytomedicine*. 2003. V. 10. № 8. P. 657.
<https://doi.org/10.1078/0944-7113-00283>
23. Ramos M.F.S., Santos E.P., Bizarri C.H.B., Mattos H.A., Padilha M.R.S., Duarte H.M. Preliminary studies towards utilization of various plant extracts as antisolar agents // *Int. J. Cosmet. Sci.* 2007. V. 18. № 3. P. 87.
<https://doi.org/10.1111/j.1467-2494.1996.tb00140.x>
24. Павлова Л.В., Платонов И.А., Куркин В.А., Афанасьева П.В., Новикова Е.А., Муханова И.М. Оценка эффективности извлечения биологически активных соединений экстрагентами в субкритическом состоянии из цветков ромашки аптечной (*Chamomilla recutita* R.), произрастающей в Самарской области // *Сверхкритические флюиды: теория и практика*. 2018. Т. 13. № 1. С. 16. (Pavlova L.V., Platonov I.A., Kurkin V.A., Afanasyeva P.V., Novikova E.A., Mukhanova I.M. Evaluation of the extraction efficiency of biologically active compounds from chamomile flowers (*Chamomilla recutita* R.) grown in the Samara region by extractants in the subcritical state // *Russ. J. Phys. Chem. B*. 2018. V. 12. № 8. P. 1212.)
<https://doi.org/10.1134/S2070205114060173>
25. Avula B., Wang Y.-H., Isaac G., Yuk J., Wrona M., Yu K., Khan I. Metabolic profiling of Hoodia, Chamomile, Terminalia species and evaluation of commercial preparations using ultrahigh-performance liquid chromatography quadrupole-time-of-flight mass spectrometry // *Planta Med.* 2017. V. 83. № 16. P. 1297.
<https://doi.org/10.1055/s-0043-109239>
26. Милевская В.В., Статкус М.А., Темердашев З.А., Киселева Н.В., Бутыльская Т.С., Шилько Е.А. Экстракция и определение биологически активных компонентов зверобоя и препаратов на его основе // *Журн. аналит. химии*. 2016. Т. 71. № 7. С. 768. (Milevskaya V.V., Temerdashev Z.A., Kiseleva N.V., Butyl'skaya T.S., Shil'ko E.A., Statkus M.A. Extraction and determination of biologically active components of St. John's wort and its pharmaceutical preparations // *J. Anal. Chem.* 2016. V. 71. № 7. P. 741.)
<https://doi.org/10.7868/S0044450216070136>
27. Avula B., Wang Y.-H., Wang M., Avonto C., Zhao J., Smillie T.J., Rua D., Khan I.A. Quantitative determination of phenolic compounds by UHPLC-UV-MS and use of partial least-square discriminant analysis to differentiate chemo-types of Chamomile/Chrysanthemum flower heads // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2014. V. 88. P. 278.
<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2013.08.037>
28. Сычев К.С. Методы высокоэффективной жидкостной хроматографии и твердофазной экстракции. М., 2006. С. 90.
29. Милевская В.В., Статкус М.А., Темердашев З.А., Киселева Н.В., Верниковская Н.А. Способы экстрагирования биологически активных веществ из лекарственных растений на примере компонентов зверобоя // *Журн. аналит. химии*. 2015. Т. 70. № 12. С. 1255. (Milevskaya V.V., Statkus M.A., Temerdashev Z.A., Kiseleva N.V., Vernikovskaya N.A. Methods for the extraction of biologically active substances from medicinal plants based on an example of St. John's wort components // *J. Anal. Chem.* 2015. V. 70. № 12. P. 1432.)
<https://doi.org/10.7868/S0044450215120129>
30. Biesaga M. Influence of extraction methods on stability of flavonoids // *J. Chromatogr. A*. 2011. V. 1218. № 18. P. 2505.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.02.059>
31. Карпук В.В. Фармакогнозия. Минск: БГУ, 2011. С. 65.
32. The Science of Flavonoids / Ed. Grotewold E. N.Y.: Springer, 2006. P. 50.