

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ТРАВЫ КЛЕВЕРА ЛУГОВОГО (*TRIFOLIUM PRATENSE* L.)

Т.Ш. Нгуен

аспирант, кафедра промышленной технологии лекарственных препаратов,
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

З.Р. Дитковская

химик-аналитик, испытательная лаборатория (Центр контроля качества лекарственных средств),
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ю.Э. Генералова

химик-аналитик, испытательная лаборатория (Центр контроля качества лекарственных средств),
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

И.Е. Каухова

д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой промышленной технологии лекарственных препаратов,
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
E-mail: irina.kaukhova@pharminnotech.com

В.В. Сорокин

к.фарм.н., доцент, зав. кафедрой процессов и аппаратов химической технологии,
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Химические элементы влияют на физиологические процессы в организме человека. Дефицит любого из них может привести к серьезным метаболическим нарушениям и поставить под угрозу здоровье организма, поэтому поиск новых видов растительного сырья как ценных дополнительных источников макро- и микроэлементов является актуальной задачей. Определение элементного состава лекарственного растительного сырья позволяет прогнозировать профиль его эффективности и безопасности.

Цель исследования - изучение качественного и количественного состава травы клевера лугового для расширения спектра лекарственных средств на основе данной растительной субстанции.

Материал и методы. Объект исследования - образцы травы клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) (ООО «Компания Хорст», г. Барнаул), 2019 г. приобретенные в аптечной сети. Определение элементного состава образцов травы клевера лугового проводили методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой на спектрометре Optima™ 8000 с программным обеспечением WinLab for ICP («Perkin Elmer Inc.», США).

Результаты. В образцах травы клевера лугового обнаружено 11 химических элементов, в том числе с максимальным содержанием калия, кальция и магния - основных элементов данного сырья. Кроме того, в исследованных образцах отсутствуют такие токсичные элементы, как кадмий, свинец, ртуть и мышьяк.

Выводы. Наличие в изученных образцах травы клевера лугового 11 элементов с максимальным содержанием калия, магния, кальция, которые являются необходимыми для нормального функционирования и развития организма элементами, а также отсутствие токсичных элементов позволяют при разработке лекарственных средств рассматривать траву клевера лугового как потенциальный источник жизненно важных макро- и микроэлементов.

Ключевые слова: трава клевера лугового, элементный состав.

Для цитирования: Нгуен Т.Ш., Дитковская З.Р., Генералова Ю.Э., Каухова И.Е., Сорокин В.В. Определение элементного состава травы клевера лугового (*Trifolium pratense* L.). Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2020;23(2):51–55. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-02-08>

Химические элементы играют ключевую роль в организме человека, выполняя необходимые функции [1]. Так, калий является основным катионом во внутриклеточной жидкости и функционирует в кислотно-щелочном равновесии, регуляции осмотического давления, проводимости

нервного импульса, сокращения мышц, особенно сердечной мышцы, функции клеточной мембраны и Na^+/K^+ -АТФазы [2]. Кальций оказывает влияние на важные функции, такие как сокращение мышц, свертывание крови, формировании костей и зубов и др. [2–4]. Магний участвует в работе централь-

ной нервной системы [5]. Цинк является важным микроэлементом, участвующим в иммунной функции, в процессах пролиферации, дифференцировке и созревании лимфоцитов, в активации многих ферментов и др. [6, 7].

Кроме того, такие элементы, как железо, кобальт, медь, цинк, марганец, молибден, входят в состав коферментов и во многом определяют ход обменных процессов организма [5]. Дефицит макро- и микроэлементов может привести к серьезным метаболическим нарушениям и поставить под угрозу здоровье организма [7]. Так, сниженный внеклеточный кальций в крови увеличивает раздражительность нервной ткани, очень низкие уровни могут вызывать спонтанные разряды нервных импульсов, приводящие к тетании и конвульсиям. Дефицит железа связан с изменениями во многих метаболических процессах, способных влиять на функционирование мозга, среди которых метаболизм нейротрансмиттеров, синтез белков, органогенез [2].

Определение макро- и микроэлементов в лекарственном растительном сырье (ЛРС) дает возможность прогнозировать его профиль эффективности и безопасности, поскольку элементы обладают собственной терапевтической активностью. Вместе с тем важно определить уровень токсичных элементов (свинца, кадмия, ртути и мышьяка) в ЛРС для оценки его безопасности [8, 9].

Клевер луговой, или клевер красный (*Trifolium pratense* L.), является одним из самых важных кормовых растений рода клевер (*Trifolium*). Это растение используется в народной медицине в качестве лекарственной травы для лечения различных заболеваний, а также широко применяется в официальной медицине [10, 11]. В практической медицине трава клевера используется для получения лекарственных средств, обладающих гиполлипидимическим, антисклеротическим, сосудокрепляющим, противовоспалительным, желчегонным, диуретическим, противоязвенным, регенирующим функцию печени действиями. Одним из таких препаратов является «Атероклефит» (ЗАО «Эвалар»), представляющий собой экстракт красного клевера на 40%-ном спирте этиловом [12].

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я – изучение качественного и количественного состава травы клевера лугового для расширения спектра лекарственных средств на основе данной растительной субстанции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Определение элементного состава образцов травы клевера лугового (ООО «Компания Хорст», г. Барнаул), приобретенных в аптечной сети, проводили методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой на спектрометре Optima™ 8000 с программным обеспечением WinLab for ICP («Perkin Elmer Inc.», США) на базе центра коллективного пользования ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России.

Пробоподготовка. Навеску измельченного образца лекарственного растительного сырья массой около 0,4 г (точная навеска) помещали в сосуд для разложения вместимостью 60 мл. К навеске добавляли 5 мл кислоты азотной концентрированной (65%, «Sigma Aldrich»), 3 мл перекиси водорода (37%, ООО «Нева Реактив»), аккуратно перемешивали, оставляли на 10 мин. Сосуд закрывали пробкой, предварительно развальцованной для обеспечения герметичности, с алюминиевой мембраной, закрывали навинчивающейся крышкой, помещали в микроволновую систему BERGHOF Speed Wave Entry Two, устанавливали температурный режим для минерализации растительных объектов. Температурный режим микроволнового разложения проб контролировался программным обеспечением и включал в себя три этапа: 1) 150 °С, 5 мин, мощность 50%; 2) 190 °С, 15 мин, мощность 80%; 3) 50 °С, 10 мин, мощность 0%.

По окончании программы разложения сосуда с пробами охлаждали до комнатной температуры, сосуды аккуратно вскрывали, содержимое количественно переносили в мерные колбы вместимостью 50 мл (класс точности А, РМР), доводили до метки водой очищенной.

Для определения химических элементов полученный раствор разбавляли в 100 раз. Для этого 250 мкл исходного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл (класс А, РМР) и доводили до метки растворителем.

Все пробы готовили и анализировали в трёх повторностях.

Приготовление растворителя (blank): 15,4 мл кислоты азотной концентрированной и 30 мл перекиси водорода разбавляли водой деионизованной до 500 мл.

Приготовление калибровочных растворов стандартных образцов (СО). Для приготовления калибровочных растворов анализируемых элемен-

тов использовали мультиэлементный стандартный раствор Multi-Element Calibration Standard 3 («Perkin Elmer») с концентрацией всех элементов 10 мг/л. Для приготовления калибровочных растворов с концентрациями 0,1 мг/мл, 0,5 мг/мл, 1,0 мг/мл брали аликвоты исходного стандартного раствора объемами 0,5 2,5 и 5,0 мл соответственно, помещали их в мерные колбы вместимостью 50 мл и доводили до метки растворителем.

Условия проведения анализа. Скорость основного потока аргона – 10 л/мин, скорость вспомогательного потока аргона – 0,2 л/мин, скорость потока аргона для распыления пробы – 0,7 л/мин. Мощность генератора для стабилизации плазмы – 1300 Вт. Скорость подачи раствора перистальтическим насосом – 1,5 мл/мин, для промывки – ускоренная подача растворителя 2,5 мл/мин, время задержки записи спектра – 40 с, время считывания одного спектра 1,0 с, число повторов (записей спектра одного элемента) – 3.

В качестве аналитической выбирали длину волны, на которой проявляется максимальная интенсивность эмиссии для каждого элемента. Все измерения проводили в аксиальном режиме обзора плазмы.

Для проведения измерения последовательно анализировали растворитель и все градуировочные растворы в порядке возрастания концентраций. На основании измеренных интенсивностей эмиссии в программном обеспечении строили график линейной зависимости интенсивностей от концентраций аналитов в растворах и уравнение линейной регрессии. После чего анализировали пробы; содержание элементов в испытуемых растворах рассчитано автоматически по уравнению линейности.

Содержание элемента в пробе (мг/кг) рассчитывали по следующей формуле:

$$X = \frac{C_x \times V_{кл} \times q}{m} \times 1000,$$

где C_x – концентрация элемента по градуировочной прямой, мг/л; $V_{кл}$ – объем мерной колбы, л (0,050 л); q – коэффициент разбавления (показывает во сколько раз проба была разбавлена до анализа); m – масса навески, г.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исследованных образцах травы клевера лугового обнаружено 11 химических элементов.

Среди них выявлено максимальное содержание калия, кальция и магния, которые можно рассматривать как основные элементы данного растения и которые являются важными элементами для человека и растений (таблица). Также в образцах травы клевера лугового отсутствуют токсичные элементы кадмий, свинец, ртуть и мышьяк, что соответствует требованиям ГФ XIV ОФС.1.5.3.0009.15 «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» [13].

Таблица. Элементный состав травы клевера лугового

Элемент	Длина волны, нм	Трава клевера лугового (ООО «Компания Хорст», г. Барнаул)		
		$X_{ср}$, мг/кг	RSD, %	q
Al	396,153	144,9	1,32	1
Ba	455,403	14,4	0,53	1
Ca	393,366	13813,8	0,21	100
Cu	327,393	9,8	1,24	1
Fe	259,939	104,8	0,72	1
K	766,49	21240	0,63	100
Mg	279,077	3104	1,19	100
Mn	257,61	40,2	0,51	1
Na	589,592	146,9	1,96	1
Sr	407,771	71,6	1,13	1
Zn	213,857	24	0,58	1
Не обнаружены: As, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Li, Ni, Pb, Se, Hg				

ВЫВОДЫ

1. Изучен минеральный состав образцов травы клевера лугового методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой. Обнаружено 11 элементов с максимальным содержанием калия, магния, кальция, которые являются необходимыми для нормального функционирования и развития организма. Установлено, что в траве клевера лугового отсутствуют следующие токсичные элементы: кадмий, свинец, ртуть и мышьяк.

2. Количественный и качественный составы травы клевера лугового подчеркивают терапевтическую значимость сырья и позволяют использовать данный вид в дальнейшем в качестве потенциального источника жизненно важных макро- и микроэлементов при создании лекарственных средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Gharibzahedi S.M.T., Jafari S.M.* The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. *Trends in Food Science & Technology*. 2017; 62:119–132.
2. *Soetan K.O., Olaiya C.O., Oyewole O.E.* The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants-A review. *African journal of food science*. 2010; 4(5):200–222.
3. *Stein A.J.* Global impacts of human mineral malnutrition. *Plant and soil*. 2010; 335(1–2):133–154.
4. *Tajima T., Iijima K., Watanabe T., Yamaguchi H.* The influence of calcium ions on the synthesis of collagen and glycosaminoglycans in human diploid cells in culture. *Experimental pathology*. 1981; 19(4):219–225.
5. *Гурьев А.М., Юсубов М.С., Калинкина Г.И., Цыбукова Т.Н.* Элементный состав аира болотного (*Acorus calamus* L.). *Химия растительного сырья*. 2003; 2:45–48.
6. *Суина И.О., Генералова Ю.Э., Тернинко И.И.* Изучение элементного состава травы кирказона ломоносовидного. Сборник материалов VIII Всеросс. науч. конф. студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фарма-

ция – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 23–24 апреля 2018 г.) СПб: Изд-во СПбХФУ. 2018; 655–658.

7. *Lopez H.W., Leenhardt F., Coudray C., Remesy C.* Minerals and phytic acid interactions: is it a real problem for human nutrition? *International journal of food science and technology*. 2002; 37(7):727–739.
8. *Тернинко И.И., Нгуен Т.Х.И., Генералова Ю.Э.* Сравнительная оценка минерального состава травы котовника кошачьего (*Nepeta cataria* L.) из разных мест произрастания. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2018; 3(24):152–156.
9. *Juknevičius S., Sabienė N.* The content of mineral elements in some grasses and legumes. *Ekologija*. 2007; 53(1):44–52.
10. *Sabudak T., Guler N.* Trifolium L. – a review on its phytochemical and pharmacological profile. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*. 2009; 23(3):439–446.
11. *Дренин А.А.* Флавоноиды и изофлавоноиды трех видов растений родов *Trifolium* L. и *Vicia* L.: Автореферат дисс. ... канд. хим. наук. Сургут. 2008. 109 с.
12. *Доркина Е.Г., Гаврилин М.В., Терехов А.Ю., Сергеева Е.О., Саджая Л.А., Шестаков Г.Г.* Изучение химического состава травы клевера красного и разработка на ее основе препарата «Атероклефит». *Материалы XIII Российского национального конгресса «Человек и Лекарство»*. Краснодар. 2008; 55–58.
13. Государственная фармакопея РФ. XIV изд-е. Т. 1–4. М.: 2018. Режим доступа: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>.

Поступила после доработки 27 января 2020 г.

DETERMINATION OF THE MINERAL ELEMENT COMPOSITION OF RED CLOVER GRASS (*TRIFOLIUM PRATENSE* L.)

© Authors, 2020

Nguyen Thi Sen

Post-graduate Student,

Department of Industrial Technology of Drugs, Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

Z.R. Ditkovskaya

Chemist-analyst,

The testing laboratory (Centre for Quality Control of Drugs), Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

Yu.E. Generalova

Chemist-analyst,

The testing laboratory (Centre for Quality Control of Drugs), Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

I.E. Kaukhova

Dr.Sc. (Pharm.), Professor, Head of Department of Industrial Technology of Drugs,

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

E-mail: irina.kaukhova@pharminnotech.com

V.V. Sorokin

Ph.D. (Pharm.), Associate Professor, Head of Department of Processes and Equipment of Chemical Industry,

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

Chemical element influence physiological processes in the human body. Deficiency of any of the main minerals can lead to serious metabolic disorders and jeopardize the health of the human body, so the search for new types of plant materials as valuable additional sources of macro- and microelements is an actual task. Determination of the mineral composition makes it possible to predict the efficacy and safety profile of medicinal plants.

The aim. The study of the qualitative and quantitative composition of meadow red clover grass to expand the range of medicines based on this plant substance.

Material and Methods. The object of this study was red clover grass (*Trifolium pratense* L.) of firm «Horst Company LLC», Barnaul, acquired in the pharmacy chain in 2019. The mineral composition of red clover grass was determined by the method inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy on an Optima™ 8000 spectrometer with WinLab for ICP software (Perkin Elmer Inc., USA).

Results. 11 elements with a maximum content of K, Ca, and Mg ions were found in the red clover grass as the main mineral elements of this raw material. In addition, the following toxic elements are absent in red clover grass: cadmium, lead, mercury and arsenic.

Conclusions. The mineral composition of red clover grass was studied. Eleven elements were found with a maximum content of potassium, magnesium, calcium, which are necessary for the normal functioning and development of the body. The following toxic elements were found to be absent in the red clover grass: cadmium, lead, mercury and arsenic. Based on the results obtained in the development of medicines, red clover grass can also be considered as a potential source of essential mineral elements.

Key words: red clover grass, mineral composition.

For citation: Nguyen Thi Sen, Ditkovskaya Z.R., Generalova Yu.E., Kaukhova I.E. Sorokin V.V. Determination of the mineral element composition of red clover grass (*Trifolium pratense* L.). Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2020; 23(2):51–55. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-02-08>

REFERENCES

- Gharibzadeh S.M.T., Jafari S.M. The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. Trends in Food Science & Technology. 2017; 62: 119–132.
- Soetan K.O., Olaiya C.O., Oyewole O.E. The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants-A review. African journal of food science. 2010; 4(5):200–222.
- Stein A.J. Global impacts of human mineral malnutrition. Plant and soil. 2010; 335(1–2):133–154.
- Tajima T., Iijima K., Watanabe T., Yamaguchi H. The influence of calcium ions on the synthesis of collagen and glycosaminoglycans in human diploid cells in culture. Experimental pathology. 1981; 19(4):219–225.
- Gur'ev A.M., Yusubov M.S., Kalinkina G.I., Cybukova T.N. Elementnyi sostav aira bolotnogo (*Acorus calamus* L.). Himiya rastitel'nogo syr'ya. 2003; 2: 45–48.
- Suina I.O., Generalova Yu.E., Terninko I.I. Izuchenie elementnogo sostava travy kirkazona lomonosovidnogo. Sbornik materialov VIII Vseross. nauch. konf. studentov i aspirantov s mezhdunarodnym uchastiem «Molodaya farmaciya – potencial budushchego» (Sankt-Peterburg, 23–24 aprelya 2018 g.) SPb: Izd-vo SPHFU. 2018; 655–658.
- Lopez H.W., Leenhardt F., Coudray C., Remesy C. Minerals and phytic acid interactions: is it a real problem for human nutrition? International journal of food science and technology. 2002; 37(7):727–739.
- Terninko I.I., Nguen T.H.I., Generalova Yu.E. Sravnitel'naya ocenka mineral'nogo sostava travy kotovnika koshach'ego (*Nepeta cataria* L.) iz raznyh mest proizrastaniya. Razrabotka i registraciya lekarstvennyh sredstv. 2018; 3(24):152–156.
- Juknevičius S., Sabienė N. The content of mineral elements in some grasses and legumes. Ekologija. 2007; 53(1):44–52.
- Sabadak T., Guler N. Trifolium L. – a review on its phytochemical and pharmacological profile. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives. 2009; 23(3):439–446.
- Drenin A.A. Flavonoidy i izoflavonoidy trekh vidov rastenij rodov *Trifolium* L. i *Vicia* L.: Avtoreferat diss. ... kand. him. nauk. Surgut. 2008. 109 c.
- Dorkina E.G., Gavrilin M.V., Terekhov A.Yu., Sergeeva E.O., Sadzhaya L.A., Shestakov G.G. Izuchenie himicheskogo sostava travy klevera krasnogo i razrabotka na ee osnove preparata «Ateroklefit». Materialy XIII Rossijskogo nacional'nogo kongressa «Chelovek i Lekarstvo». Krasnodar. 2008; 55–58.
- Gosudarstvennaya farmakopeya RF. XIV izd-e. T. 1–4. M.: 2018. Rezhim dostupa: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>.



Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
**«Всероссийский научно-исследовательский институт
 лекарственных и ароматических растений»**
 приглашает к сотрудничеству
 фармпроизводителей и сельхозпредприятия
 для совместного продвижения наших научных разработок.
 Мы предлагаем лекарственные фитопрепараты к производству
 и агротехнологии лекарственных и ароматических культур
 для выращивания в различных регионах России

Тел. контакта: 8(495)388-55-09; 8(495)388-61-09; 8(495)712-10-45
 Fax: 8(495)712-09-18
 e-mail: vilarnii.ru
www.vilarnii.ru