

КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ТРАВЫ ПОСТЕННИЦЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ МЕТОДОМ ВЭЖХ

Воравко В.А.

Научный руководитель: Борабанова Н.М.

Белорусский государственный медицинский университет

ver.voravko200301@gmail.com

Аннотация: Представлены результаты установления качественного и количественного состава водно-спиртового 70% экстракта травы постенницы лекарственной (*Parietaria officinalis* L.), распространенного сорного

растения, активно используемого в народной медицине и французской гомеопатии как кровоостанавливающее при кровотечениях различного генеза, диуретическое, отхаркивающее и антибактериальное средство.

На данный момент лекарственное растительное сырье требует стандартизации в целях дальнейшего расширения рынка биологически активных добавок и, возможно, лекарственных средств. В работе проводился анализ высушенной воздушно-теневым способом травы постенницы лекарственной, собранной на территории Гомельской и Минской областей Республики Беларусь в июле-августе 2021, 2022, 2023 годов, с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии. Результатами стало обнаружение гидроксикоричных кислот (хлорогеновой и кофейной) и рутина, были получены данные количественного анализа рутина методом добавок, в котором к экстракту добавляли эквивалентный объем раствора стандарта рутина гидрата и сравнивали полученные площади пиков рутина в пробах со стандартом и без него. Рассчитаны значения содержания рутина в растительном сырье с помощью формулы, учитывающей разбавление испытуемого раствора со стандартом в два раза по сравнению с пробой без стандарта. Оценивали степень разрушения рутина при хранении сырья.

Введение и цель: Постенница лекарственная (лат. *Parietaria officinalis*, семейство *Urticaceae*) — распространенное сорное растение, которое произрастает в умеренной климатической зоне, в том числе на территории Республики Беларусь и в Прибалтийском районе России. Трава постенницы лекарственной как лекарственное растительное сырье входит только во Французскую гомеопатическую фармакопею, где указана лишь методика проведения тонкослойной хроматографии без дальнейшей идентификации веществ. Постенница лекарственная издавна применяется в народной медицине в виде настоя и экстракта как кровоостанавливающее при легочных, маточных, геморроидальных кровотечениях, в качестве мочегонного, муколитического средства, а наружно — для достижения ранозаживляющего и антибактериального эффектов. Растение имеет потенциал использования в медицине и фармации, что обуславливает необходимость дальнейшего его изучения.

Цель: идентификация и количественный анализ биологически активных веществ (БАВ) в траве постенницы лекарственной методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), определение степени сохранения БАВ различных годов заготовки сырья.

Материалы и методы: Для анализа использовали извлечение из измельченного сырья *Parietaria officinalis* размером до 6 мм, собранного на территории Гомельской и Минской областей Республики Беларусь в июле-августе 2021, 2022 и 2023 года и высушенного воздушно-теневым способом, с при-

менением 70% этанола (соотношение сырья и экстрагента 1:50) на водяной бане при температуре 80оС в течение 45 минут.

Применяли хроматограф жидкостный Dionex UltiMate 3000 («Thermo Fisher Scientific», США), программу Chromeleon 7. В качестве стандартов были взяты водно-этанольные растворы рутина гидрата (0,1 мг рутина гидрата, что соответствует 0,097 мг рутина, на 1 мл 70% спирта этилового), кофейной, хлорогеновой, феруловой кислоты, кемпферола-3-глюкозида, дигидрокверцетина (1 мг на 10 мл 70% спирта этилового каждый).

В основу методики идентификации биологически активных веществ (БАВ) в траве постенницы лекарственной с помощью метода ВЭЖХ легла видоизмененная методика из частной фармакопейной статьи государственной фармакопеи Республики Беларусь 2016 года на траву эхинацеи пурпурной.

Испытуемый раствор: к 0,2 г измельченного сырья прибавляют 10 мл 70% (об/об) раствора этанола, выдерживают на водяной бане при температуре 80оС в течение 45 минут и фильтруют, после чего избавляются от взвешенных частиц центрифугированием на микроцентрифуге два раза по 5 минут, помещают экстракт в виалу. Условия хроматографирования: подвижная фаза А — кислота фосфорная-вода (0,1 % об.); подвижная фаза В — ацетонитрил; хроматографическая колонка — HPLC-COLUMN 250*4.6 mm MZ-Aqua Perfect C18 («MZ-Analysentechnik», Германия); скорость потока подвижной фазы — 1,5 мл/мин; температура колонки — +35оС; объем вводимой пробы — 20 мкл; время элюирования — 20 минут; детектор спектрофотометрический с длиной волны 330 нм.

Элюирование в градиентном режиме: 0-6 мин (10-15% В), 6-11 мин (15-18% В), 11-14 мин (18-26% В), 14-20 мин (26-40% В). Для количественного определения рутина методом добавок был изготовлен испытуемый раствор 2: в виалу помещали 1,000 мл испытуемого раствора и 1,000 мл раствора рутина гидрата.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили при помощи программы Microsoft Office Excel 2010 (пакет «Анализ данных»). Испытание выполняли три раза ($P = 95 \%$; $n = 3$). Результаты представляли в виде $X \pm \sigma$, где X — среднее значение; σ — стандартное отклонение выборочного среднего. Значения статистически значимо различались при $p < 0,05$.

Для расчетов использовалась формула для метода добавок:

$C_x = (C_{доб} \times V_{доб} \times u_x) / ((V_{доб} + V_x) \times u_{доб} - V_x \times u_x)$ где C_x — концентрация рутина в испытуемом растворе, мкг/мл; $C_{доб}$ — концентрация рутина в стандартном растворе рутина, мкг/мл; V_x — объем испытуемого раствора, мл; $V_{доб}$ — объем стандартного раствора рутина, мл; $(V_x + V_{доб})$ — объем испытуемого раствора 2, мл; u_x — площадь пика на хроматограмме испытуемого раствора, $mAu \cdot \min$; $u_{доб}$ — площадь пика на хроматограмме испытуемого раствора 2, $mAu \cdot \min$.

Результаты: Была получена и проанализирована хроматограмма, на которой с помощью заколов стандартов хлорогеновой и кофейных кислот были идентифицированы пики хлорогеновой кислоты и кофейной кислоты. С использованием стандарта в виде раствора рутина гидрата был идентифицирован рутин. Также методом добавок было рассчитано количественное содержание рутина в испытуемом растворе, для чего потребовалось изготовить испытуемый раствор 2. Полученные результаты аналитического эффекта (площадей пиков) для лекарственного растительного сырья 2021 года заготовки: испытуемый раствор — $(4,91 \pm 0,22) \text{ mAu} \cdot \text{min}$; испытуемый раствор 2 — $(14,00 \pm 0,63) \text{ mAu} \cdot \text{min}$. Подставляя числовые значения в формулу, получаем:

$C_x = (97,00 \text{ мкг/мл} \times 1 \text{ мл} \times (4,91 \pm 0,19) \text{ mAu} \cdot \text{min}) / ((1 \text{ мл} + 1 \text{ мл}) \times (14,00 \pm 0,63) \text{ mAu} \cdot \text{min} - 1 \text{ мл} \times (4,91 \pm 0,19) \text{ mAu} \cdot \text{min}) = 20,63 \pm 0,93 \text{ мкг/мл}$. Полученные результаты аналитического эффекта (площадей пиков) для лекарственного растительного сырья 2022 года заготовки: испытуемый раствор — $(12,15 \pm 0,58) \text{ mAu} \cdot \text{min}$; испытуемый раствор 2 — $(17,94 \pm 0,86) \text{ mAu} \cdot \text{min}$.

Подставляя числовые значения в формулу, получаем:

$C_x = (97,00 \text{ мкг/мл} \times 1 \text{ мл} \times (12,15 \pm 0,58) \text{ mAu} \cdot \text{min}) / ((1 \text{ мл} + 1 \text{ мл}) \times (17,94 \pm 0,86) \text{ mAu} \cdot \text{min} - 1 \text{ мл} \times (12,15 \pm 0,58) \text{ mAu} \cdot \text{min}) = 49,66 \pm 2,38 \text{ мкг/мл}$ полученные результаты аналитического эффекта (площадей пиков) для лекарственного растительного сырья 2022 года заготовки: испытуемый раствор — $(13,62 \pm 0,65) \text{ mAu} \cdot \text{min}$; испытуемый раствор 2 — $(18,14 \pm 0,86) \text{ mAu} \cdot \text{min}$. Подставляя числовые значения в формулу, получаем: $C_x = (97,00 \text{ мкг/мл} \times 1 \text{ мл} \times (13,62 \pm 0,65) \text{ mAu} \cdot \text{min}) / ((1 \text{ мл} + 1 \text{ мл}) \times (18,14 \pm 0,86) \text{ mAu} \cdot \text{min} - 1 \text{ мл} \times (13,62 \pm 0,65) \text{ mAu} \cdot \text{min}) = 58,30 \pm 2,77 \text{ мкг/мл}$. Таким образом, соотношение количеств рутина в экстрактах травы постенницы лекарственной 2021, 2022, 2023 годов заготовки равно 1,0:2,4:2,8, соответственно, что говорит о постепенном разрушении БАВ в лекарственном растительном сырье при хранении.

Выводы: Методом ВЭЖХ в 70% водно-этанольном извлечении из травы постенницы лекарственной были идентифицированы рутин, хлорогеновая и кофейная кислоты.

Количественное содержание рутина в экстракте травы *P.officinalis*, приготовленном на 70% этаноле для сырья 2021 года заготовки составило $20,63 \pm 0,93 \text{ мкг/мл}$, для сырья 2022 года заготовки — $49,66 \pm 2,38 \text{ мкг/мл}$ и для травы 2023 года заготовки — $58,30 \pm 2,77 \text{ мкг/мл}$, что свидетельствует о разрушении рутина в сырье за 2 года хранения практически на 65% от исходного количества.

Ключевые слова: высокоэффективная жидкостная хроматография, *Parietaria officinalis*, фенольные соединения, рутин, лекарственное растительное сырье.



МЕДИЦИНСКАЯ
ВЕСНА 2024



СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
НАУК О ЖИЗНИ



Key words: high-performance liquid chromatography, *Parietaria officinalis*, phenolic compounds, rutin, medicinal plant raw materials.

Библиографический список литературы:

1. Лавренова, Г. В. Энциклопедия лекарственных растений / Г. В. Лавренова, В. К. Лавренов. — СПб.: Издательский дом «Нева», 2003. — Т.2. — 272 с.
2. Brandes, D. Die gattung *Parietaria* L. in Deutschland. The genus *Parietaria* L. in Germany / D. Brandes // *Florist Rundbriefe*. — 2018. — № 52. — С. 45 — 68.
3. Bubel, K. Stanowisko *Parietaria officinalis* L. (Urticaceae) w Sobótce-Górcze (Masyw Ślęży) / K. Bubel, E. Szczęśniak // *Przyroda sudetów*. — Jelenia góra, 2019. — Т.22. — С. 27-32.
4. Pharmacopée Française XI éd / Commission nationale de pharmacopée, Association pour le développement de la recherche appliquée a la pharmacopée (Paris) [Электронный ресурс]. — 2019. — URL: <https://ansm.sante.fr/documents/reference/pharmacopoe/la-pharmacopoe-francaise>. (дата обращения: 27.10.2023).
5. Государственная фармакопея Республики Беларусь: в 2 т. Т. 2: Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении» / под общ. ред. С.И. Марченко. — Молодечно: Победа, 2016. — 1368 с.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования

Первый Московский государственный медицинский университет
имени И.М. Сеченова

Министерства здравоохранения Российской Федерации
(Сеченовский Университет)

СБОРНИК ТЕЗИСОВ

Всероссийской научно-практической конференции
с международным участием

МЕДИЦИНСКАЯ ВЕСНА — 2024

16–17 мая 2024 года
Сеченовский Университет,
Москва