

ОПТИМИЗАЦИЯ ЭКСТРАКЦИИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ИРИДОИДОВ ИЗ ТРАВЫ *LAMIAM MACULATUM* ПО РАСТВОРИТЕЛЮ

Соболевская П. А., Шабат Д. А., Терлецкая В. А.

Научный руководитель: канд. фарм. наук, доц. Лукашов Р. И.

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Резюме. В ходе исследования было выполнено количественное определение биологически активных веществ, экстрагированных из травы растения *Lamium maculatum* с использованием различных органических растворителей. Результаты были получены методом спектрофотометрии по реакции с реактивом Фолина-Чокальтеу для фенольных соединений и по реакции с раствором гидроксилamina щелочного РЗ для иридоидов. Наиболее эффективным растворителем для экстрагирования фенольных соединений и иридоидов является пропанол-1 в концентрациях 20% и 100% соответственно. Полученные данные позволяют увеличить выход веществ при их извлечении из растительного сырья могут быть использованы при производстве лекарственных препаратов.

Ключевые слова: фенольные соединения, иридоиды, *Lamium maculatum*, эффективные растворители, оптимизация экстракции.

Актуальность. Вид *Lamium maculatum* произрастает на территории Республики Беларусь, что составляет ресурсную базу и перспективность его использования как лекарственного растительного сырья. Однако исследования по данному сырью крайне ограничены, в частности исследован только химический состав биологически активных веществ, а именно было идентифицировано и определено содержание экдизона, фенилпропаноидного глюкозида и флавоноидов [1,2]. Из *Lamium maculatum* также были выделены 10 соединений, среди которых выявлены D-маннитол, бета-ситостерол, даукостерол, рутин, аллантоин, актеозид, стигмастерол и т.д. [1,3]. Таким образом, исследование извлечений яснотки крапчатой позволит углубить понимание использования данного лекарственного

растительного сырья, источника фенольных соединений (ФС) и иридоидов [4,5].

Цель работы: оптимизировать извлечение фенольных соединений и иридоидов из растения *Lamium maculatum* с использованием этанола, метанола, пропанола-1 и пропанола-2 в различных концентрациях.

Задачи:

1. Определить зависимость содержания фенольных соединений и иридоидов в извлечениях из *Lamium maculatum* от концентрации используемых экстрагентов

2. Выявить наиболее эффективный для экстрагирования фенольных соединений и иридоидов растворитель и его концентрацию

Материалы и методы.

Исследование проводили с использованием яснотки крапчатой

травы (*Lamii maculati herba*), которая была заготовлена институтом экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича Национальной академии наук Беларуси в Волковысском районе в мае 2024 года. Сушка собранного сырья проводилась естественным способом в защищённом от света месте.

Для получения экстрактов из *Lamium maculatum* использовали точную навеску массой 0,05 г. Экстрагирование проводили различными растворителями водой, 10% – 100%, с кратностью в 10% (об/об) этанолом и метанолом в тех же концентрациях, 20% – 100%, с кратностью в 20% (об/об) пропанолом-1 и пропанолом-2 в тех же концентрациях. Процесс экстрагирования осуществлялся на водяной бане при температуре 60°C в течение 1,5 часов. Соотношение массы сырья к объёму экстрагента составляло 1:100.

Для установления концентрации фенольных соединений использовали следующую методику: к 0,050 мл подготовленного экстракта добавляли 0,075 мл реактива Фолина-Чокальтеу и 2,38 мл 10% раствора карбоната натрия с последующим доведением объёма до 5,0 мл дистиллированной водой. Спустя 30 минут производили измерение оптической плотности при 760 нм. В качестве компенсационного раствора использовали раствор, состоящий из 0,075 мл реактива Фолина-Чокальтеу и 2,43 мл 10% раствора карбоната натрия, разбавленного до 5,00 мл дистиллированной водой. Оценка содержания фенолов проводилась на основе хлорогеновой кислоты с

использованием метода калибровочной кривой [6].

Для установления концентрации иридоидов использовали следующую методику: к 0,50 мл полученного экстракта добавляли 0,50 мл щелочного раствора гидроксиламина РЗ. После 5-минутной выдержки вносили 1,0 мл 1 М раствора соляной кислоты и 0,50 мл раствора хлорида железа (III) (10 г/л) в 0,1 М соляной кислоте. Для приготовления компенсационного раствора к 0,5 мл исходного экстрагента соответствующей концентрации примешивали 0,50 мл щелочного раствора гидроксиламина РЗ. Спустя 5 минут добавляли 1,0 мл 1 М раствора хлористоводородной кислоты и 0,50 мл раствора хлорида железа (III) (10 г/л) в 0,1 М растворе соляной кислоты. Полученную смесь перемешивали и определяли значение оптической плотности при длине волны 512 нм. Расчёт процентного содержания общей фракции иридоидов производился в пересчёте на гарпагида ацетат [6].

Данные, полученные в ходе исследования, были обработаны с помощью пакета Анализ данных Microsoft Excel (16.0/2019 год). Каждое измерение проводилось в 3-х повторностях ($n=3$), различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Результаты представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ($M \pm SD$). Достоверность различий между группами оценивали с помощью t -критерия Стьюдента для независимых выборок.

Результаты и их обсуждение.
Экстракция фенольных соединений

показала, что оптимальным экстрагентом является вода (содержание фенольных соединений – $2,68 \pm 0,63$ %, выход ФС в 15,6 раз больше, что статистически более значимо, чем при экстракции 100% этанолом, $p=0,190$) (рис. 1).

Экстракция иридоидов показала, что оптимальная концентрация этанола – 90% (содержание иридоидов – $3,25 \pm 0,04$ %, выход в 2,35 раз больше, что статистически более значимо, чем при экстракции водой, $p=0,010$) (рис.2).

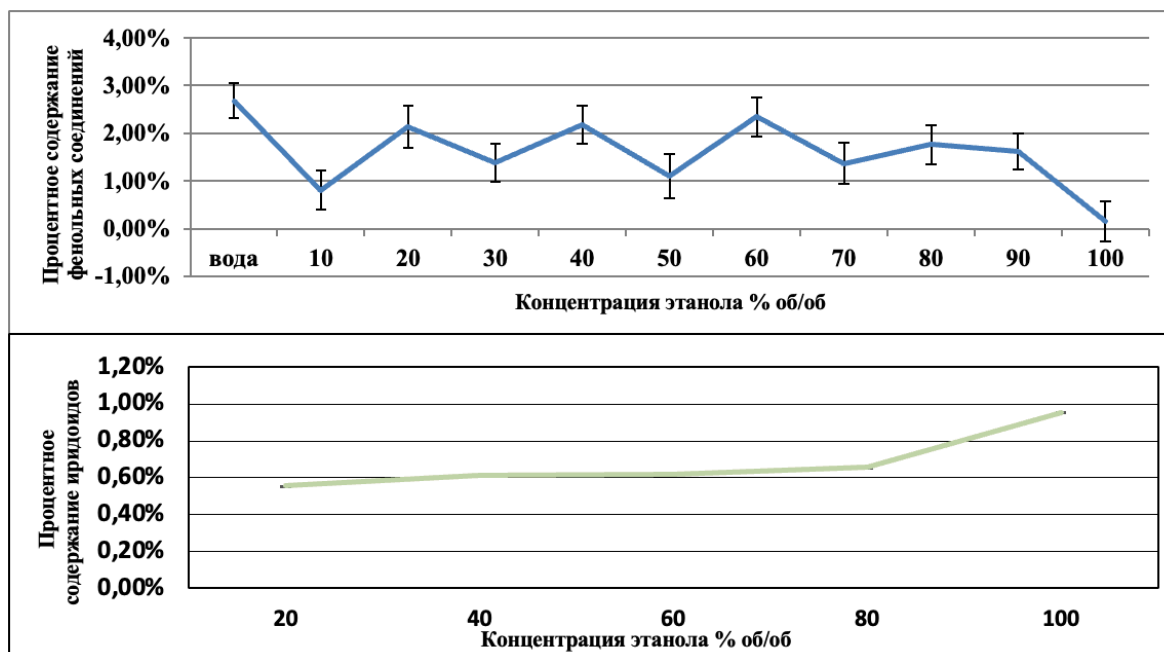


Рис. 1, 2 – Количественное содержание фенольных соединений и иридоидов при экстракции этанолом разных концентраций

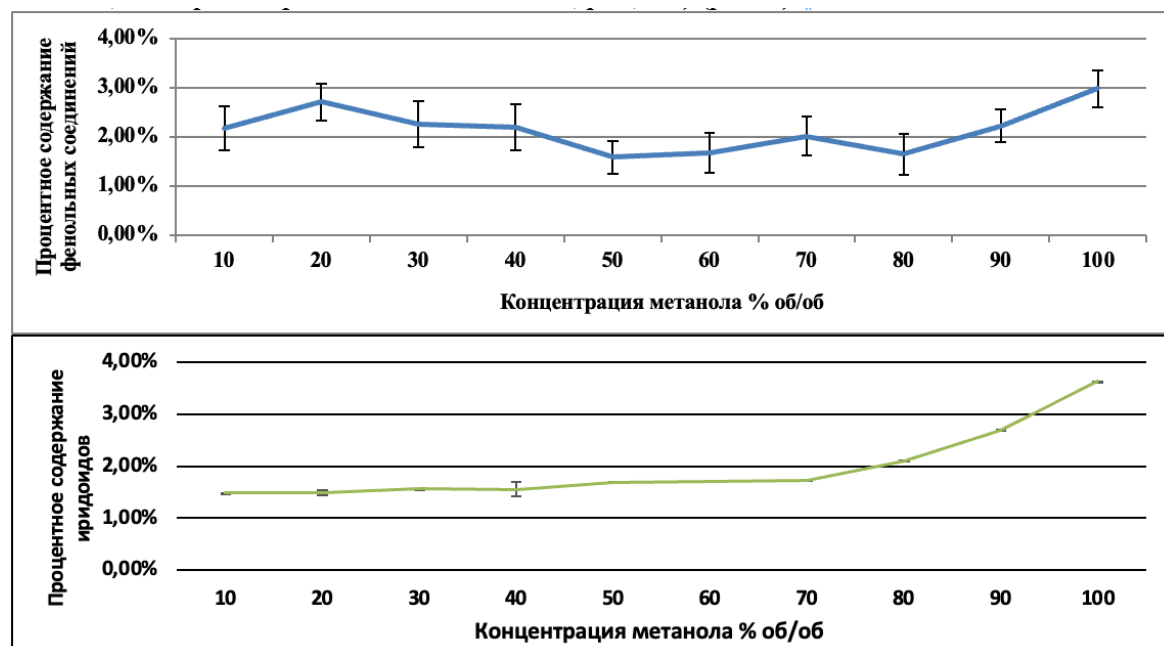


Рис. 3, 4 – Количественное содержание фенольных соединений и иридоидов при экстракции метанолом разных концентраций

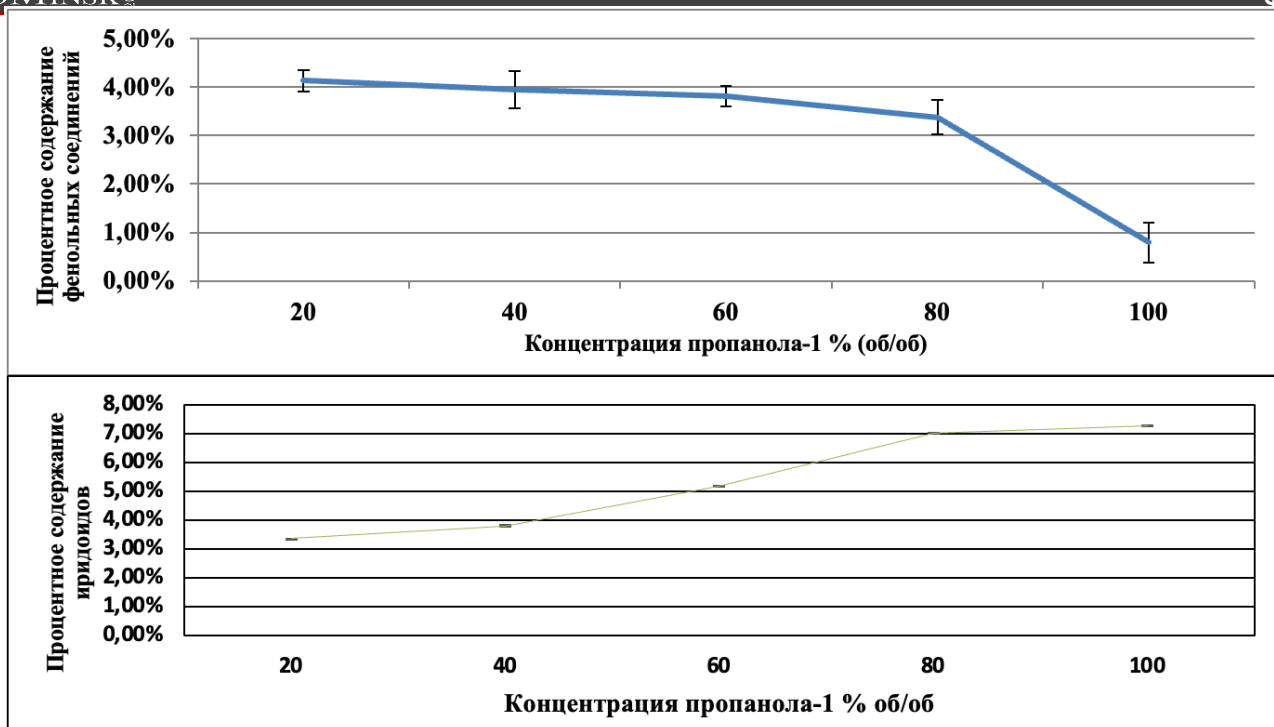


Рис. 5, 6 – Количественное содержание фенольных соединений и иридоидов при экстракции пропанолом-1 разных концентраций

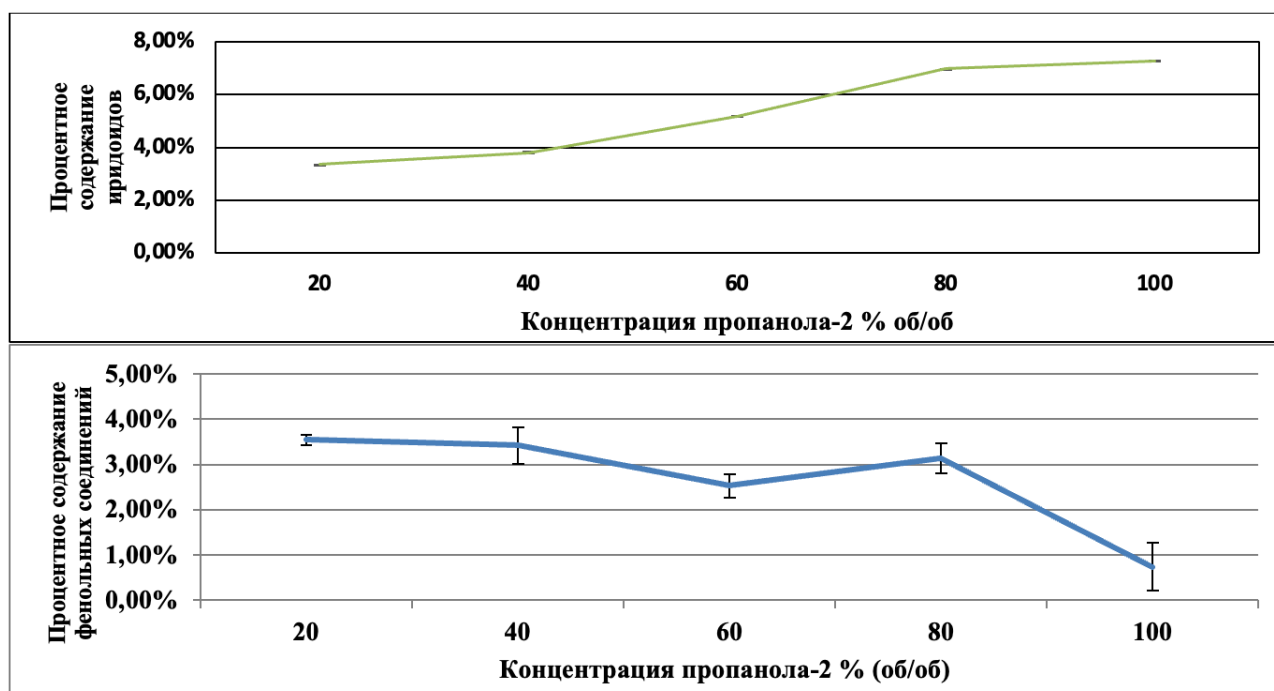


Рис. 7, 8 – Количественное содержание фенольных соединений и иридоидов при экстракции пропанолом-2 разных концентраций

Для экстракции фенольных соединений наиболее оптимальная концентрация метанола – 100% (содержание фенольных соединений – $2,98 \pm 0,11\%$, выход ФС в 1,87 раз

больше, что статистически значимо выше, чем при экстракции 50% метанолом, $p=0,199$) (рис. 3).

Экстракция иридоидов показала, что оптимальная

концентрация метанола – 100% (содержание иридоидов – $3,63 \pm 0,0\%$, выход в 2,45 раз больше, что статистически более значимо, чем при экстракции 10% метанолом, $p=0,010$) (рис. 4).

При экстракции фенольных соединений оптимальной концентрацией пропанола-1 является 20% (содержание фенольных соединений – $4,13 \pm 0,39\%$, выход ФС в 5,23 раза больше, что статистически более значимо, чем при экстракции 100% пропанолом-1, $p=0,026$). Не обнаружено статистических различий с пропанолом-1 40% ($p=0,364$) и 60% ($p=0,367$), однако выбор пропанола-1 в концентрации 20% обусловлен меньшим расходом экстрагентов (рис. 5).

Экстракция иридоидов показала, что оптимальная концентрация пропанола-1 – 100% (содержание иридоидов – $7,28 \pm 0,04\%$, выход в 2,17 раз больше, что статистически более значимо, чем при экстракции 20% пропанолом-1, $p=0,002$) (рис. 6).

Аналогично пропанолу-1, наиболее эффективной концентрацией пропанола-2 при экстракции фенольных соединений является 20% (содержание фенольных соединений – $3,55 \pm 0,28\%$, выход ФС в 4,8 раз больше, что статистически значимо выше, чем при экстракции 100%

пропанолом-2, $p=0,178$). Не обнаружено статистических различий с пропанолом-2 40% ($p=0,603$), однако выбор пропанола-2 в концентрации 20% обусловлен меньшим расходом экстрагентов (рис. 7).

Экстракция иридоидов показала, что оптимальная концентрация пропанола-2 – 100% (содержание иридоидов – $7,28 \pm 0,02\%$, выход в 2,17 раз больше, что статистически более значимо, чем при экстракции 20% пропанолом-2, $p=0,001$) (рис. 8).

Выводы:

Таким образом, наиболее эффективным растворителем для экстракции фенольных соединений из *Lamium maculatum* является пропанол-1 20% (содержание ФС – $4,13 \pm 0,39\%$), а для экстракции иридоидов – пропанол-1 100% (содержание иридоидов – $7,28 \pm 0,04\%$). Впервые в рамках данного исследования были определены наиболее эффективные растворители и их концентрации для извлечения фенольных соединений и иридоидов.

Полученные данные позволят экстрагировать максимальное количество целевых веществ из *Lamium maculatum*, что, в свою очередь, будет способствовать производству препаратов на основе этого лекарственного растения.

Литература

1. Lamium Plants – A Comprehensive Review on Health Benefits and Biological Activities / B. Salehi, L. Armstrong, A. Rescigno [et al.] // *Molecules*. – 2019. – Vol. 24, №10. – P.1913.
2. Shuya C. Identification and determination of ecdysone and phenylpropanoid glucoside and flavonoids in *Lamium maculatum* by capillary zone electrophoresis / C. Shuya, C. Xingguo, H. Zhide // *Biomed Chromatography*. – 2003. – Vol.17, №7. – P.477-482.
3. Studies on chemical constituents in herb of *Lamium maculatum* L. var *Kansuense* / YR. Deng, L. He, WQ. Li [et al.] // *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. – 2003. – Vol.28, №8. – P.730-802.

4. Phenolic constituents of *Lamium album* L. subsp. *album* flowers: Anatomical, histochemical, and phytochemical study/ Sulborska, A.; Konarska, A.; Matysik-Wo' // *Molecules*. – 2020. Vol. 25. – P.6025.

5. Iridoids: Research Advances in Their Phytochemistry, Biological Activities, and Pharmacokinetics. / C. Wang, X. Gong, A. Bo [et al.] // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25, №2. – P.287.

6. Государственная Фармакопея Республики Беларусь: в 2 Т. Т.2. Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья / Министерство здравоохранения Республики Беларусь; РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении». 2-е изд. Минск, 2016. - 1367 с.

OPTIMIZATION OF THE EXTRACTION OF PHENOLIC COMPOUNDS AND IRIDOIDS FROM THE HERB *LAMIUM MACULATUM* BY SOLVENT

Sabaleuskaya P. A., Shabat D. A., Tsiarletsкая V. A.

Tutor: PhD, associate professor Lukashou R. I.

Belarusian State Medical University, Minsk

Resume. During the study, a quantitative determination of biologically active substances extracted from the herb of the *Lamium maculatum* plant was performed using various organic solvents. The results were obtained spectrophotometrically by reaction with the Folin-Ciocalteu reagent for phenolic compounds and by reaction with alkaline hydroxylamine solution P3 for iridoids. The most effective solvent for extracting phenolic compounds and iridoids was propanol-1 at concentrations of 20% and 100%, respectively. The obtained data will increase the yield of substances extracted from plant materials and can be used in the production of medicinal products.

Keywords: phenolic compounds, iridoids, *Lamium maculatum*, effective solvents, optimization of the extraction.