

УДК 615.322; 581.6; 582.635.5

**АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ТРАВЫ ПОСТЕННИЦЫ
ЛЕКАРСТВЕННОЙ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ
ХРОМАТОГРАФИИ**

Воравко В.А.; Борабанова Н. М.*

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Беларусь

** автор для переписки – 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 использующегося 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-теньевым способом травы постенницы лекарственной, собранной на территории Гомельской и Минской областей Республики Беларусь в июле-августе 2021 года, с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии. Результатами стало обнаружение гидроксикоричных кислот (хлорогеновой и кофейной) и рутина, были получены данные полуколичественного 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.

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

**ANALYSIS OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF THE HERB
PARIETARIA OFFICINALIS BY HIGH-PERFORMANCE LIQUID
CHROMATOGRAPHY**

Voravko V.A.; Borabanova N.M.*

Belarusian State Medical University, Minsk, Dzerzhinsky Avenue, 83, 220083, Belarus

** corresponding author – ver.voravko200301@gmail.com*

Abstract The results of establishing the qualitative and quantitative composition of a hydroalcoholic 70% extract of the herb *Parietaria officinalis* L., a common weed plant actively used in folk medicine and French homeopathy as a hemostatic agent for bleeding of various origins, a diuretic, expectorant and antibacterial agent, are presented. At the moment, medicinal plant raw materials require standardization in order to further expand the market for dietary supplements and, possibly, medicines. The work analyzed the air-shade-dried herb *Parietaria officinalis*, collected in the Gomel and Minsk regions of the Republic of Belarus in July-August 2021, using the high-performance liquid chromatography method. The results were the detection of hydroxycinnamic acids (chlorogenic and caffeic acids) and rutin, data were obtained from a semi-quantitative analysis of rutin by the additive method, in which an equivalent volume of a solution of the rutin hydrate standard was added to the extract and the resulting peak areas of rutin were compared in samples with and without the standard. The values of rutin content in plant materials were calculated using a formula that takes into account the dilution of the test solution with a standard by two times compared to a sample without a standard.

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

Введение

Постенница лекарственная (*Parietaria officinalis*, семейство *Urticaceae*) – распространённое сорное растение, произрастающее в умеренном климате, в том числе на территории Республики Беларусь и в Прибалтийском районе России (Лавренова и соавт., 2003; Brandes, 2018; Bubel и соавт., 2019). Травя постенницы лекарственной как лекарственное растительное сырьё входит лишь во Французскую гомеопатическую фармакопею, где указана только методика проведения тонкослойной хроматографии без дальнейшей идентификации веществ. Постенница лекарственная издавна применяется в народной медицине в виде настоя и экстракта как кровоостанавливающее при лёгочных, маточных, геморроидальных кровотечениях, как мочегонное, муколитическое, наружно – для того, чтобы достичь ранозаживляющий и антибактериальный эффекты. Растение имеет потенциал использования в медицине и фармации, что обуславливает необходимость дальнейшего его изучения (Лавренова и соавт., 2003; Phamascorée Française XI éd, 2019).

Цель: идентификация и полуколичественный анализ биологически активных веществ травы постенницы лекарственной методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

- 1) провести качественный анализ биологически активных веществ, содержащихся в водно-этанольном извлечении из травы постенницы лекарственной с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и стандартов;
- 2) установить полуколичественное содержание рутина в водно-этанольном экстракте травы *Parietaria officinalis*;

Материалы и методы

Для анализа использовали извлечение из измельчённого сырья *Parietaria officinalis*, собранного на территории Гомельской и Минской областей Республики Беларусь в июле-августе 2021 года и высушенного воздушно-теньевым способом, с применением 70% этанола (соотношение сырья и экстрагента 1:50) на водяной бане при температуре 80°C в течение 45 минут. Использовали 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 БАВ в траве постенницы лекарственной с помощью метода ВЭЖХ легла видоизменённая методика из частной фармакопейной статьи государственной фармакопеи Республики Беларусь на траву эхинацеи пурпурной (государственная фармакопея Республики Беларусь, 2016).

Испытуемый раствор: к 0,2 г измельчённого сырья прибавляют 10 мл 70% (об/об) раствора этанола, выдерживают на водяной бане при температуре 80°C 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 – +35°C;

объём 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 полуколичественного определения рутина методом добавок был изготовлен *испытуемый раствор 2*: в вials 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 $\bar{X} \pm \sigma$, где $\bar{X}$ – среднее значение; σ – стандартное отклонение выборочного среднего. Значения статистически значимо различались при $p < 0,05$.

Для расчётов использовалась формула для метода добавок:

$$C_x = \frac{C_{\text{доб}} \times V_{\text{доб}} \times y_x}{(V_{\text{доб}} + V_x) \times y_{\text{доб}} - V_x \times y_x}$$

где:

C_x – концентрация рутина в испытуемом растворе, мкг/мл;

$C_{\text{доб}}$ – концентрация рутина в стандартном растворе рутина, мкг/мл;

V_x – объём испытуемого раствора, мл;

$V_{\text{доб}}$ – объём стандартного раствора рутина, мл;

$(V_x + V_{\text{доб}})$ – объём испытуемого раствора 2, мл;

y_x – площадь пика на хроматограмме испытуемого раствора, mAu*min;

$y_{\text{доб}}$ – площадь пика на хроматограмме испытуемого раствора 2, mAu*min.

Результаты и обсуждение

Была получена и проанализирована хроматограмма, на которой порядковыми номерами по ходу элюирования отмечены наиболее значимые хорошо разделённые пики (рис. 1).

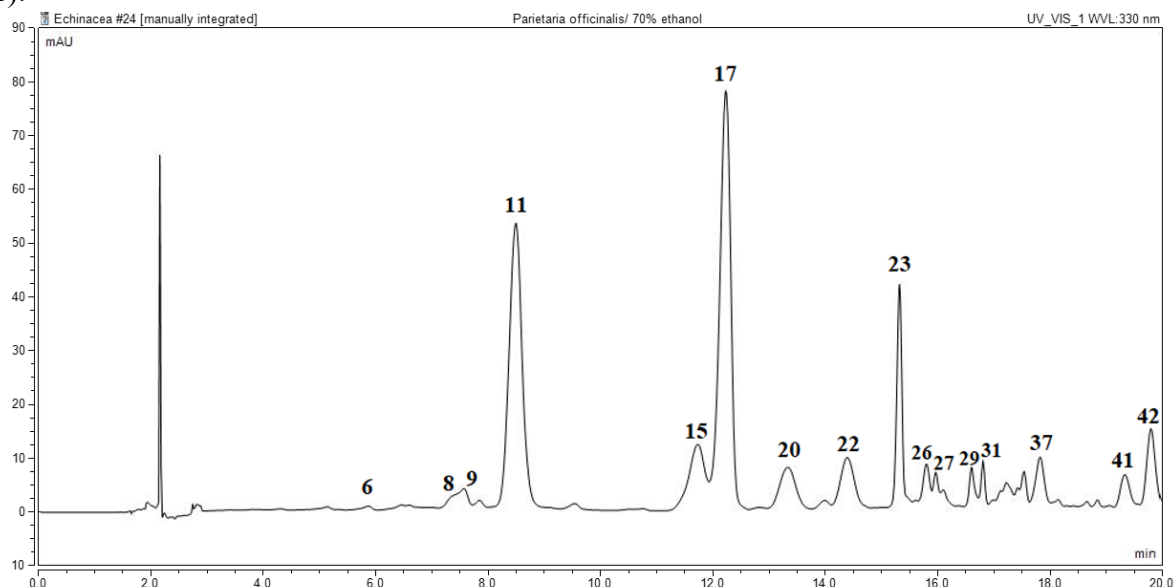


Рисунок 1 – Результат ВЭЖХ (хроматограмма) с обозначением основных пиков

С помощью анализа стандартов хлорогеновой и кофейных кислот были идентифицированы пики номер 11 (хлорогеновая кислота) и 17 (кофейная кислота).

С использованием стандарта в виде *раствора рутина гидрата* был идентифицирован пик номер 23.

Также методом добавок было рассчитано количественное содержание рутина в испытуемом растворе, для чего потребовалось изготовить *испытуемый раствор 2*.

Полученные результаты аналитического эффекта (площадей пиков):

испытуемый раствор – $(4,35 \pm 0,17)$ mAu*min;

испытуемый раствор 2 – $(19,49 \pm 0,82)$ mAu*min.

Подставляя числовые значения в формулу, получаем:

$$C_x = \frac{97,00 \frac{\text{мкг}}{\text{мл}} \times 1 \text{ мл} \times (4,35 \pm 0,17) \text{ мАу} \cdot \text{мин}}{(1 \text{ мл} + 1 \text{ мл}) \times (19,49 \pm 0,82) \text{ мАу} \cdot \text{мин} - 1 \text{ мл} \times (4,35 \pm 0,17) \text{ мАу} \cdot \text{мин}} =$$
$$= 12,2 \pm 2,4 \frac{\text{мкг}}{\text{мл}}$$

Заключение

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

Полуколичественное содержание рутина в экстракте травы *P.officinalis*, приготовленном на 70% этаноле, с применением метода добавок составило $12,2 \pm 2,4$ мкг рутина на 1 мл экстракта ($0,061 \pm 0,012\%$ в лекарственном растительном сырье).

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-Górcie (Masyw Ślęży) / K. Bubel, E. Szcześniak // *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/pharmacopree/la-pharmacopree-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.



**ФБГНУ ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ И АРОМАТИЧЕСКИХ РАСТЕНИЙ**

**XI МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ
КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ**

к 300-летию РАН

**СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ
РАЗВИТИЯ ТЕХНОЛОГИЙ
ЗДОРОВЬЕСБЕРЕЖЕНИЯ**

30 ноября-1 декабря 2023 года



СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ

Москва, 2023