

КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ РАСТЕНИЙ РОДА *LAMIAM* И ПРИМЕСНЫХ К НИМ ВИДОВ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Терлецкая В.А., асп. 1 курса обучения (ORCID: 0009-0000-8848-4617)

Руководитель: Лукашов Р.И., заведующий кафедрой фармацевтической химии, к.ф.н., доцент (ORCID: 0000-0001-9547-5372)

Белорусский государственный медицинский университет
220116, Минск, пр-т Дзержинского 83, Республика Беларусь

E-mail: terleckaiava@mail.ru

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии установлены преобладающие фенольные соединения в растениях рода *Lamium*: хлорогеновая кислота в яснотке крапчатой, рутин в яснотке пурпурной, вербаскозид в яснотке пурпурной и яснотке крапчатой. Установлены оптимальные экстрагенты для извлечения индивидуальных биологически активных веществ: этанол 40 % для кислоты хлорогеновой, этанол 40 % для рутина, этанол 70 % для вербаскозида. В извлечениях были идентифицированы кислоты феруловая и транс-феруловая, лютеолин-7-глюкозид.

Ключевые слова: *Lamium album*, *Lamium purpureum*, *Lamium maculatum*, *Lamium galeobdolon*, высокоэффективная жидкостная хроматография, флавоноиды, гидроксикоричные кислоты.

Виды рода *Lamium* широко распространены на территории Республики Беларусь, обладают широким спектром фармакологической активности [1], но их качественный и количественный состав остаётся малоизученным. В предыдущих исследованиях мы установили содержание суммы фенольных соединений, флавоноидов и гидроксикоричных кислот в приведённых видах, для дальнейшей разработки необходимо установить количественный состав индивидуальных биологически активных веществ (БАВ).

Цель: установить содержание индивидуальных фенольных соединений в растениях рода *Lamium*;

Задачи:

- 1) Определить количество кислоты хлорогеновой, рутина, вербаскозида в извлечениях из яснотки белой (*Lamium album*), яснотки пурпурной (*Lamium purpureum*), яснотки крапчатой (*Lamium maculatum*), яснотки зеленчуковой (*Lamium galeobdolon*).
- 2) Подобрать оптимальный экстрагент в ряду вода очищенная-этанол 40 %-этанол 70 %-этанол 96 % для экстракции фенольных соединений.
- 3) Провести идентификацию фенольных соединений в извлечениях, используя соответствующие стандартные образцы.

Яснотки белой трава (*Lamii albi herba*) заготовлена в г. Минске; яснотки пурпурной трава (*Lamii purpurei herba*), крапивы двудомной трава (*Urticae dioicae herba*), будры плющевидной трава (*Glechomae hederaceae herba*) заготовлены в д. Нечатово; яснотки крапчатой трава (*Lamii maculati herba*), заготовлена в г. Волковыске; яснотки зеленчуковой трава (*Lamii galeobdoli herba*) заготовлена в г. Кличеве в период массового цветения в 2022 году.

Точную навеску сырья массой около 0,20 г экстрагировали водой Р, 40, 70 или 96 % (об/об) этиловым спиртом на водяной бане в течение 30 минут при 60 °С и соотношении сырьё:экстрагент 1:50.

Извлечения центрифугировались на высоких оборотах (7000) в течение 5 минут с помощью центрифуги СМ-70М.07. Для анализа в вials отбирался 1,0 мл. Вода очищенная для хроматографирования деионизировалась на приборе «ДВ-1» и фильтровалась через вакуумный фильтр. Анализ извлечений проводили на жидкостном хроматографе Ultimate 3000 с насосом на четыре растворителя и устройством для вакуумной дегазации элюента, автосамплером с термостатом, термостатом для колонок с краном переключения, диодно-матричным и флуоресцентным детекторами. Обработку хроматограмм и спектров поглощения проводили с помощью компьютерной программы Chromeleon 7.

Условия хроматографирования [2]: (таблица 1).

Таблица 1 – Условия хроматографирования

Время (мин)	Подвижная фаза А (% об/об)	Подвижная фаза В (% об/об)
0	90	10
0 – 13	90 → 78	10 → 22
13 – 14	78 → 60	22 → 40
14 – 20	60	40

Колонка длиной 0,25 м и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная силикагелем октадецилсилильным для хроматографии Р с размером частиц 5 мкм;

Температура: 35 °С;

Подвижная фаза: подвижная фаза А: кислота фосфорная Р – вода Р (1:999, об/об); подвижная фаза В: ацетонитрил Р;

Скорость подвижной фазы: 1,5 мл/мин;

Детектор: диодно-матричный детектор, диапазон длин волн 190 – 800 нм;

Объем вводимой пробы: 10 мкл.

Идентификацию соединений проводили путём сравнения времени удерживания и УФ-спектра с соответствующими параметрами стандартных образцов: кислоты хлорогеновой, кислоты кофейной, изокверцетина, рутина, кислоты феруловой, кислоты транс-феруловой, кверцетин-3-глюкуроида, дигидрокверцетина, кемпферол-3-глюкозида, лютеолин-7-глюкозида, миррицетина, лютеолина, кверцетина. Количественное определение проводили методом градуировочного графика.

ВЭЖХ-анализ показал, что наибольшее количество компонентов экстрагируется водой при температуре 100 °С (от 54 до 83), наименьшее количество компонентов экстрагируется 96 % этанолом – от 20 до 36. Наименьшее количество компонентов обнаружено в экстракте *G.hederacea* (24-56), наибольшее – в экстракте *L.purpureum* (36-82) (рис. 1).

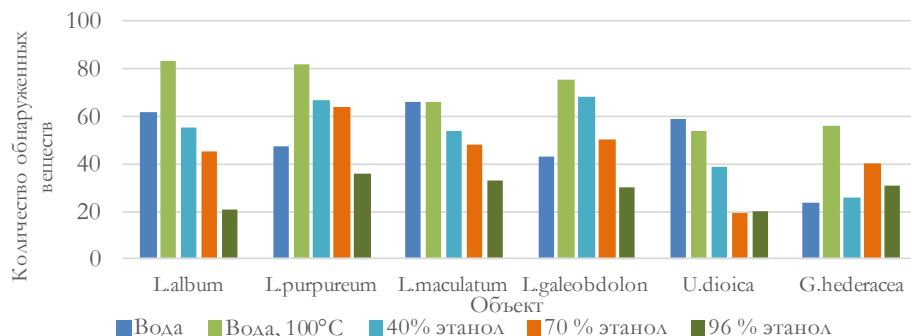


Рисунок 1. Количество обнаруженных компонентов при анализе методом ВЭЖХ

Исходя из общей площади пиков, наиболее эффективна экстракция 70 % этанолом (95,3-338,9), наименее эффективна – 96 % этанолом (17,0-94,9). Наименьшая общая площадь компонентов зафиксирована в экстрактах *L.galeobdolon*, наибольшая – в экстрактах *L.maculatum* (94,9-338,9) (рис. 2).

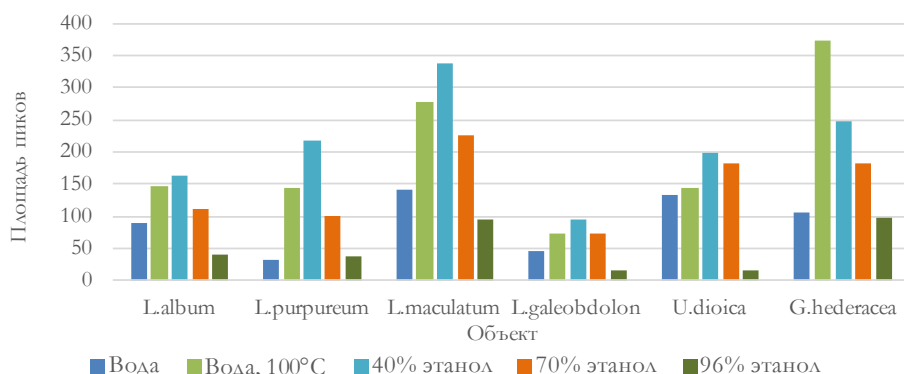


Рисунок 2. Общие площади пиков исследованных экстрактов

По содержанию хлорогеновой кислоты лидирует *L.maculatum* (45,8-206,3), наименьшее количество содержится в *L.galeobdolon* (3,6-8,4). Оптимальный экстрагент для хлорогеновой кислоты – этанол 40 % (8,4-206,3), наименее эффективный – вода при 60 °С (0-51,1) (рис. 3).

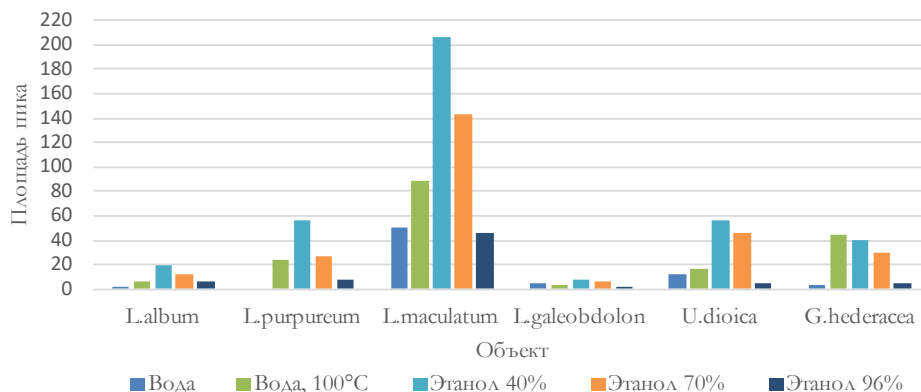


Рисунок 3. Содержание хлорогеновой кислоты в различных экстрактах

Источник с наибольшим содержанием рутина – *L.purpureum* (0-41,139), в извлечениях из *L.galeobdolon* рутин не обнаружен. Максимальная эффективность экстракции рутин этанолом 40 % (0-41,139), в водных экстрактах при 60 °С рутин не обнаружен (рис. 4).

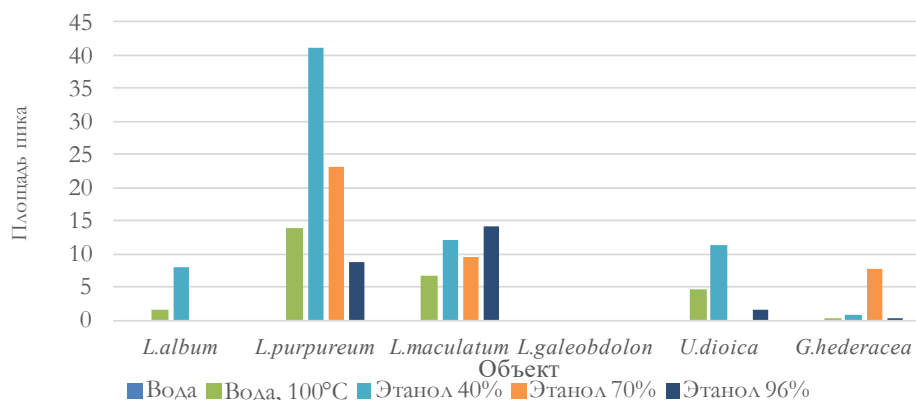


Рисунок 4. Содержание рутина в различных экстрактах

По содержанию вербаскозида превалирует яснотка крапчатая (3,648-17,176). В извлечениях из *U.dioica* и *G.hederacea* вербаскозид не обнаружен, что даёт основание считать его маркерным соединением для дифференциации данных видов. Большую эффективность продемонстрировал этанол 70 % (3,39-17,18), меньшую – вода очищенная (1,77-3,65) (рис. 5).

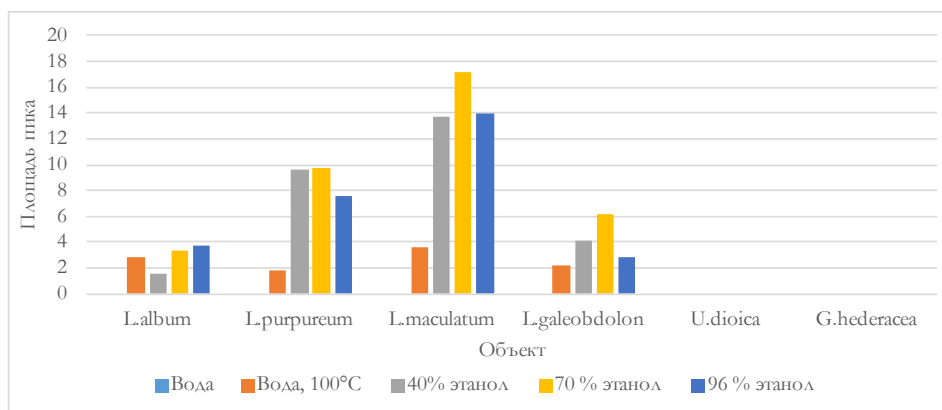


Рисунок 5. Содержание вербаскозида в различных экстрактах

Информация об идентифицированных веществах представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Вещества, идентифицированные в растениях рода *Lamium* и примесных видах

	t _{уд} , мин	<i>L. album</i>	<i>L. purpureum</i>	<i>L. maculatum</i>	<i>L. galeobdolon</i>	<i>U. dioica</i>	<i>G. hederacea</i>
Вербаскозид	14,72	+	+	+	+	+	+
Кислота хлорогеновая	7,35	+	+	+	+	+	+
Кислота кофейная	9,26	-	-	-	+	-	+
Изокверцетин	15,25	+	-	-	-	-	+
Рутин	14,05	+	+	+	-	+	+
Кислота феруловая	14,79	+	-	+	+	+	-
Кислота транс-феруловая	14,80	+	-	+	+	+	-
Лютеолин-7-глюкозид	16,74	-	+	-	-	-	+

Данные ВЭЖХ подтверждают ранее полученные результаты тонкослойной хроматографии [3]: кислота хлорогеновая обнаруживается в извлечениях из всех исследованных видов, кислота кофейная в извлечениях из яснотки зеленчуковой и будры плющевидной, рутин – во всех исследованных извлечениях за исключением экстракта яснотки зеленчуковой.

Данные ВЭЖХ подтверждают ранее полученные данные спектрофотометрии (СФМ) [4]: содержание суммы определённой группы БАВ соотносится с содержанием конкретного вещества (таблица 3).

Таблица 3 – Вещества, идентифицированные в растениях рода *Lamium* и примесных видах

Данные, полученные методом ВЭЖХ		Данные, полученные методом СФМ	
Соединение	Вид, в котором преобладает соединение	Группа БАВ	Вид, в котором преобладает соединение
Вербаскозид	<i>L. maculatum</i>	Сумма ФС	<i>L. maculatum</i>
Хлорогеновая кислота	<i>L. maculatum</i>	Сумма ГКК	<i>L. maculatum</i>
Рутин	<i>L. purpureum</i>	Сумма флавоноидов	<i>L. purpureum</i>

Таким образом ВЭЖХ-анализ показал, что по содержанию хлорогеновой кислоты лидирует *L. maculatum* (45,8-206,3), наименьшее количество содержится в *L. galeobdolon* (3,6-8,4). Оптимальный экстрагент для хлорогеновой кислоты – этанол 40 % (8,4-206,3), наименее эффективный – вода при 60 °С (0-51,1). Источник с наибольшим содержанием рутина – *L. purpureum* (0-41,139), в извлечениях из *L. galeobdolon* рутин не обнаружен. Максимальная эффективность экстракции рутина этанолом 40 % (0-41,139), в водных экстрактах при 60 °С рутин не обнаружен. В извлечениях были идентифицированы кислоты феруловая и транс-феруловая, лютеолин-7-гликозид.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках задания 2.2.3 «Получить и стандартизировать экстракционные лекарственные формы с повышенным содержанием биологически активных веществ» (№ гос. регистрации 20220401) в рамках государственной программы научных исследований 2 «Химические процессы, реагенты и технологии, биорегуляторы и биоорхимия» подпрограммы 2.2 «Синтез и направленное модифицирование регуляторов биопроцессов (Биорегуляторы)» 2021-2025 гг.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.31 Фармакогнозия

76.31.35 Фармхимия

ЛИТЕРАТУРА

1. A review on biological effects of *Lamium album* (white dead nettle) and its components / S Kelayeh [et al.] // J Herbmed Pharmacol. 2019. Vol. 8(3). P.185-193.
2. Государственная Фармакопея Республики Беларусь: в 2 т. Т. 2. Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья. / Министерство здравоохранения Республики Беларусь; Республиканское унитарное предприятие «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении». 2-е изд. Минск, 2016. 1367 с.
3. Терлецкая В. А., Лукашов Р. И. Хроматографический анализ водных и водно-спиртовых извлечений из растений рода *Lamium*. // Ботаника (исследования): сборник научных трудов. Выпуск 52. Минск, 2023. С.294-300.
4. Терлецкая В. А., Лукашов Р. И. Сравнительный анализ содержания биологически активных веществ в извлечениях из травы яснотки белой и яснотки крапчатой // Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения. Сборник научных трудов X Международной научно-практической конференции молодых ученых. Москва. 2022. С.294-300.

SUMMARY

QUALITATIVE AND QUANTITATIVE COMPOSITION OF PLANTS OF THE GENUS *LAMIAM* AND RELATED SPECIES GROWING IN THE TERRITORY OF THE REPUBLIC OF BELAURS

Tsiarletskaia V.A., PhD 1st year of study (ORCID: 0009-0000-8848-4617)

Head: Lukashou R.I., Head of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Ph.D., Associate Professor (ORCID: 0000-0001-9547-5372)

Belarusian State Medical University

220116, Minsk, Dzerzhinsky Ave. 83, Republic of Belarus

E-mail: terleckaiava@mail.ru

Using high-performance liquid chromatography, the dominant phenolic compounds in plants of the genus *Lamium* were determined: chlorogenic acid in the *Lamium purpureum*, rutin in the *Lamium purpureum*, verbascoside in the *Lamium purpureum* and the *Lamium maculatum*. Optimal extractants for the extraction of individual biologically active substances have been established: ethanol 40 % for chlorogenic acid, ethanol 40 % for rutin, ethanol 70 % for verbascoside. Ferulic and trans-ferulic acids and luteolin-7-glycoside were identified in the extracts.

Key words: *Lamium album*, *Lamium purpureum*, *Lamium maculatum*, *Lamium galeobdolon*, high-performance liquid chromatography, flavonoids, hydroxycinnamic acids.

REFERENCES

1. A review on biological effects of *Lamium album* (white dead nettle) and its components / S Kelayeh [et al.] // J Herbmed Pharmacol. 2019. Vol. 8(3). P.185-193.

2. State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus: in 2 vol. Vol. 2. Quality control of substances for pharmaceutical use and medicinal plant raw materials. / Ministry of Health of the Republic of Belarus; Republican Unitary Enterprise «Center for Expertise and Testing in Healthcare». 2nd ed. Minsk, 2016. 1367 p.

3. Terletsкая V. A., Lukashou R. I. Chromatographic analysis of aqueous and aqueous-alcoholic extracts from plants of the genus *Lamium* // Collection of scientific works «Botany (research)». – Minsk, 2023 – pp. 294-300.

4. Tsarletsкая V.A. Comparative analysis of the content of biologically active substances in extracts from the herb white and speckled damselfish // V.A. Tsarletsкая, R.I. Lukashou// Modern trends in the development of health-preserving technologies, Collection of scientific papers of the X International Scientific and Practical Conference of Young Scientists. – Moscow. – 2022. – P. 290-294.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ХИМИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**XIV ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ
МОЛОДЕЖНОГО НАУЧНОГО ОБЩЕСТВА**

«МОЛОДАЯ ФАРМАЦИЯ – ПОТЕНЦИАЛ БУДУЩЕГО»

28 марта – 02 апреля 2024 года

**СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ КОНФЕРЕНЦИИ
PROCEEDINGS OF THE CONFERENCE**

