

ПОСТЕННИЦА ЛЕКАРСТВЕННАЯ КАК ИСТОЧНИК ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Авторы: Воравко В.А., Борабанова Н.М.

Кафедра фармацевтической химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

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 [1, 2, 3]. Трава 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 [1, 4].

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-теневым 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 [5].

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 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 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).

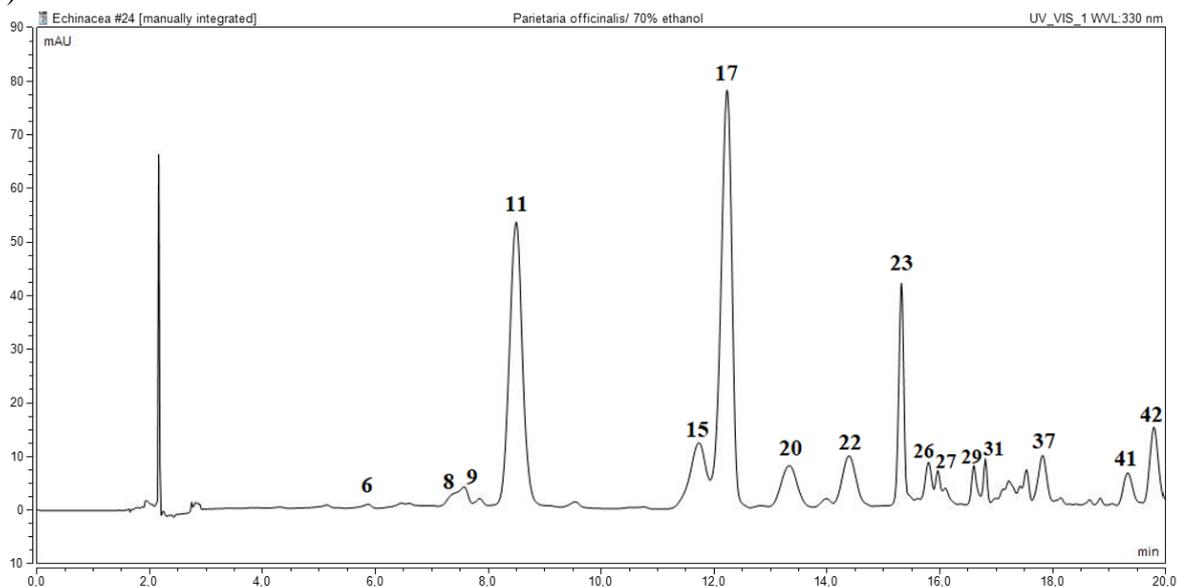


Рисунок 1 – Результат ВЭЖХ (хроматограмма) с обозначением наиболее чётких пиков

С помощью заколов 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 – $(4,35 \pm 0,17) \text{ mAu} \cdot \text{min}$;

испытуемый раствор 2 – $(19,49 \pm 0,82) \text{ mAu} \cdot \text{min}$.

Подставляя числовые значения в формулу, получаем:

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

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. Szczęśniak // Przyroda sudetów. – Jelenia góra, 2019. – Т.22. – С. 27-32.
4. Phamacopée 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/pharmacopée/la-pharmacopée-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.